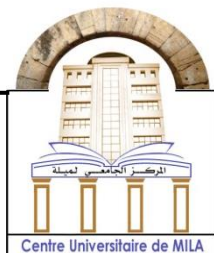


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N°Ref :.....

Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf- Mila

Institut des Sciences de la Nature et de la Vie

**Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de
Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie végétale

Thème :

**Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles
du girofle (*Syzygium aromaticum*) et du romarin
(*Rosmarinus officinalis*)**

Présenté par :

- BOUMELIT Asma
- RABIA Insaf

Devant le jury :

Présidente	: Dr. ZERAFA C.	MCB	Centre universitaire Mila
Examinatrice	: Dr. HIMOUR S.	MCB	Centre universitaire Mila
Promotrice	: Dr. NOUICHI S.	MCB	Centre universitaire Mila

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciement

*Tout d'abord, nous tenons à remercier **Allah** le tout puissant de nous avoir donné le courage, la patience et la force d'entamer et d'achever ce travail.*

*Nos remerciements les plus sincères s'adressent à notre promotrice **Dr. NOUICHI Siham** ayant eu la bonté et la patience de satisfaire notre curiosité, de nous aider dans la réalisation de ce travail par ses conseils précieux, réponses et recommandations.*

Nous tenons également à remercier les membres de jury constitué de :

***Dr ZERAFA Chafia** comme étant présidente et **Dr HIMOUR Sara** comme étant examinatrice, d'avoir accepté d'examiner ce travail. Merci à vous d'avoir pris le temps de lire et d'évaluer ce modeste travail.*

*Nous tenons également à exprimer nos vifs remerciements au **Dr MIROUH** et toute son équipe du laboratoire d'analyses médicales–Ferdjioua et plus précisément **Mme Imane**, qui nous ont offert l'opportunité d'effectuer notre stage dans les meilleures conditions.*

*Un remerciement particulier va aux ingénieurs des laboratoires pédagogiques du Centre Universitaire de Mila, surtout Mesdames **Amina**, **Assia** et **Hala**, pour leur aide considérable.*

Nous devons également exprimer nos vifs remerciements et notre profonde gratitude à tous nos chers enseignants qui nous ont fortement impressionné par leur grande expérience et leur concrète contribution au bon déroulement de notre formation tout au long du cursus.

Enfin, nous remercions chaleureusement toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Insaf et Asma

Dédicaces

Je dédie ce travail

*Aux personnes les plus chères à mon cœur : mes parents, qui m'ont
comblé d'amour et d'affection*

À mes sœurs

Meriem, Zineb, Douaa.

À Insaf mon binôme.

À mes amies

Karima, Aya, Intissar, BOutheina, Saliha, Nadjlaa

Et Enfin, à toute ma promotion

Asma

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail de fin d'étude

*À mes chers parents **Nabila** et **Abdelfatah***

*Ceux qui m'ont soutenu et encouragé durant toutes ces années
d'études, qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde
reconnaissance*

*À mes chers frères **Adem** et **Siradj***

Qui m'ont chaleureusement supporté tout au long de ce parcours

À ma famille et mes proches

Ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité

*À toutes mes chères amies **Noussaiba**, **Ikram**, **Asma**, **Rokia**, **Amira**,
Zineb, **Dounia**, **Chaima**, **Nessrine**, **Moufida**, **Maroua**, **Zina**, **Fati**,
Youssra, **Wiam** et la liste est longue...*

*Celles qui ont partagé avec moi les moments d'émotion lors de la
réalisation de ce mémoire*

*À mon chère binôme **Asma***

Pour son entente et sa sympathie

À tous ceux que j'aime et qui m'aiment

Que ce travail traduit mon affection

Insaf

Résumé

Cette étude a pour objectif l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de clou de girofle (*Syzygium aromaticum* L.) et du romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) sur six souches bactériennes différentes. Les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation, avec un rendement de 2,44% pour le clou de girofle et de 0,5% pour le romarin. Les résultats montrent que l'huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum* L.) avait un effet antibactérien contre toutes les souches testées, avec des zones d'inhibition allant de 13 mm à 40 mm. L'huile essentielle de romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) a montré un effet antibactérien contre les souches de *Staphylococcus aureus* et de *Bacillus subtilis* et *E.coli*.

La méthode de micro dilution en milieu liquide a montré que les concentrations de 0,09 % à 1,56% d'huile de girofle ont inactivé les six souches étudiées. Pour l'huile de romarin, une concentration de 0,38% a été suffisante pour inhiber la croissance de la souche *Bacillus subtilis*. En ce qui concerne les concentrations minimales bactéricides en milieu solide, des concentrations allant de 0,78% à 3,12% pour l'huile de girofle et 25% pour l'huile de romarin ont été nécessaires pour inhiber toute type de croissance. Selon le rapport CMB/CMI, l'huile essentielle de romarin agit comme un agent bactériostatique tandis que celle de girofle a un effet bactéricide sur les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*), et un effet bactériostatique sur les souches à Gram négatif qui sont *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella Kentucky*.

Par conséquent et sur la base de ces résultats prometteur, on peut proposer l'usage de ces substances naturelles en tant qu'agents antibactériens en industrie pharmaceutiques comme alternatif thérapeutique.

Mots clés : Huile essentielle, girofle, romarin, bactéries, activité antibactérienne.

Abstract

This study aimed to evaluate the antibacterial activity of clove (*Syzygium aromaticum* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oils against six different bacterial strains. The essential oils were extracted using hydrodistillation, with a yield of 2.44% for clove and 0.5% for rosemary. The results showed that clove essential oil had antibacterial effects against all tested strains, with inhibition zones ranging from 13 mm to 40 mm. Rosemary essential oil exhibited antibacterial effects against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, and *E. coli*.

The microdilution method in liquid broth demonstrated that concentrations of clove oil ranging from 0.09% to 1.56% deactivated the six studied strains. For rosemary oil, a concentration of 0.38% was sufficient to inhibit the growth of *Bacillus subtilis*. Regarding the minimum bactericidal concentrations in solid medium, concentrations ranging from 0.78% to 3.12% for clove oil and 25% for rosemary oil were required to inhibit all type of growth. According to the CBM/CMI ratio, rosemary EO acted as a bacteriostatic agent, while clove oil had a bactericidal effect on Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*) and a bacteriostatic effect on Gram-negative strains such as *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Salmonella* Kentucky.

Based on these promising results, these natural substances can be proposed for use as antibacterial agents in the pharmaceutical industry as therapeutic alternatives.

Keywords: Essential oil, clove, rosemary, bacteria, antibacterial activity.

ملخص

تهدف هذه الدراسة الى تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لزيت القرنفل (*Syzygium aromaticum* L.) واكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis* L.) على ستة سلالات بكتيرية مختلفة. تم استخراج الزيوت العطرية بواسطة التقطير المائي، بنسبة مردود تصل الى 2.44% لزيت القرنفل و 0.5% لاكليل الجبل. أظهرت النتائج أن زيت القرنفل (*Syzygium aromaticum* L.) كان له تأثير مضاد للبكتيريا ضد جميع السلالات المختبرة، مع مساحات تثبيط يتراوح قطرها بين 13 مم و 40 مم. كما أظهر زيت اكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis* L.) تأثيرا مضادا للبكتيريا ضد سلالات *Staphylococcus aureus* , *Bacillus subtilis* و *E. coli*. أظهرت طريقة التخفيف المجهري في الوسط السائل أن التراكيز من 0.09% إلى 1.56% من زيت القرنفل قد أبطلت نشاط السلالات الستة المدروسة. بالنسبة لزيت اكليل الجبل ، فقد كان 0.38% من التركيز كافيا لتثبيط نمو سلالة *Bacillus subtilis*. فيما يتعلق بأدنى تراكيز القتل البكتيري في الوسط الصلب، كانت هناك حاجة لتراكيز تتراوح بين 0.78% إلى 3.12% لزيت القرنفل و 25% لزيت اكليل الجبل لكبح أي نمو. ووفقاً للنسبة CMI / CMB، يعمل زيت اكليل الجبل العطري كعامل مثبط لتكاثر البكتيريا بينما يعمل زيت القرنفل كقاتل بكتيري نهائي ضد البكتيريا ذات الجرام الإيجابي (*Staphylococcus aureus* و *Bacillus subtilis*)، ومثبط البكتيريا ضد السلالات السالبة للغرام وهي *E. coli*، *Pseudomonas aeruginosa*، و *Salmonella Kentucky*.

وبالتالي وبناءً على هذه النتائج الواعدة، يمكن اقتراح استخدام هذه المواد الطبيعية كبداية مضادة للبكتيريا في صناعة الأدوية كخيار علاجي بديل.

الكلمات المفتاحية: زيت عطري، قرنفل، اكليل الجبل، بكتيريا، نشاط مضاد للبكتيريا.

Tables des matières

Remerciement	
Dédicaces	
Résumé	
Tables des matières	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Étude botanique des plantes étudiées

I.1. Définition des plantes aromatiques	5
I.2. Domaines d'application des plantes aromatiques.....	5
I.2.1. En alimentaire	5
I.2.2. En cosmétologie.....	5
I.2.3. En médecine.....	6
I.3. Généralités sur les espèces étudiées	6
I.3.1. Le Giroflier (<i>Syzygium aromaticum</i> L.).....	6
I.3.1.1. Origine.....	6
I.3.1.2. Classification botanique	7
I.3.1.3. Description morphologique de la plante	7
I.3.1.4. Répartition géographique	9
I.3.1.5. Composition chimique	9
I.3.1.6. Utilisation de clou de girofle	9
I.3.1.7. Propriétés biologiques	10
I.3.1.8. Toxicité	12
I.3.2. Le Romarin (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.)	13
I.3.2.1. Définition	13

I.3.2.2. Origine du nom	13
I.3.2.3. Description botanique	13
I.3.2.4. Classification botanique	14
I.3.2.5. Répartition géographique	14
I.3.2.6. Principes actifs	14
I.3.2.7. Utilisation de Romarin	15
I.3.2.8. Propriétés du Romarin.....	16
I.3.2.9. Composition biochimique du Romarin	18

Chapitre II : Généralités sur les huiles essentielles

II.1. Historique	21
II.2. Définition d'huile essentielle	21
II.3. Les propriétés des huiles essentielles	22
II.4. Localisation des huiles essentielles dans les plantes.....	23
II.5. Composition chimique des huiles essentielles	23
II.6. Activités biologiques des huiles essentielles.....	26
II.7. Mode d'action antibactérienne des huiles essentielles	28
II.8. Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	29
II.9. Rôle des huiles essentielles	30
II.10. Domaines d'application des huiles essentielles	31
II.11. Toxicité des huiles essentielles	32

Partie pratique

Chapitre III : Matériels et méthodes

III.1. Objectif de l'étude	37
III.2. Présentation de la zone d'étude.....	37
III.3. Enquête ethnobotanique.....	38
III.4. Évaluation de l'activité antibactérienne des HE du girofle et du romarin.....	38
III.4.1. Matériel	38
III.4.1.1. Matériel végétal	38
III.4.1.2. Matériel bactériologique.....	39

III.4.1.3. Matériel et équipement du laboratoire.....	41
III.4.2. Méthodes	41
III.4.2.1. Extraction des huiles essentielles	41
III.4.2.2. Calcul du rendement de l'extraction.....	42
III.4.2.3. Densité relative	43
III.4.2.4. Étude de l'activité antibactérienne des huiles de girofle et du romarin.....	43
III.4.2.5. Tests de l'activité antibactérienne	44
 <i>Chapitre IV : Résultats et Discussion</i>	
IV.1. Résultats de l'enquête ethnobotanique	51
IV.2. Résultats de l'étude expérimentale sur les huiles essentielles	67
IV.2.1. Rendement en huiles essentielles	67
IV.2.2. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles extraites	68
IV.2.3. Potentiel hydrogène (pH)	68
IV.2.4. Densité relative	69
IV.3. Résultats de l'étude de l'activité antibactérienne des deux huiles essentielles testées	69
IV.3.1. Résultats de l'aromatogramme.....	69
IV.3.2. Résultats du test de micro-Atmosphère	73
IV.3.3. Évaluation de l'activité antibactérienne de l'association huiles/antibiotiques.	75
IV.3.4. Détermination des concentrations minimales inhibitrice CMI et bactéricide CMB.....	78
Conclusion.....	82
Références bibliographiques.....	85
Annexes	103

Liste des abréviations

°C: Degré Celsius.

AFNOR : Association Française de Normalisation.

ATB : antibiotique.

ATCC: American Type Culture Collection.

BMH : bouillon Mueller Hinton.

C : Chloramphénicol.

CMB : Concentration minimale bactéricide.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

CN : Gentamycine.

COVID : coronavirus disease.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

GN : gélose nutritive.

h : heure.

HE : Huile essentielle.

HEg : Huile essentielle du girofle.

HEr : Huile essentielle du romarin.

ml : millilitre .

mm : millimètre

NaCl : Chlorure de Sodium.

nm : Nanomètre.

PH : potentiel hydrogène.

S : seconde.

uL : microlitre.

Liste des tableaux

Tableau 01 : Généralités sur les souches bactériennes utilisées.....	40
Tableau 02 : Caractéristiques des souches de <i>Salmonella</i> étudiées.	41
Tableau 03 : Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d’inhibition....	45
Tableau 04 : Taux de rendement en HE des deux plantes étudiées	67
Tableau 05 : Propriétés organoleptiques des HE du girofle et du romarin	68
Tableau 06 : Densité de romarin et du girofle.....	69
Tableau 07 : Résultats de l’évaluation de l’activité antibactérienne des huiles essentielles étudiées par aromatogramme.....	71
Tableau 08 : Valeurs des diamètres d’inhibition par la phase volatile des souches testées	74
Tableau 09 : Valeurs des diamètres d’inhibition due à l’association HEg au chloramphénicol	75
Tableau 10 : Valeurs des diamètres d’inhibition due à l’association HEg à la gentamycine.....	76
Tableau 11 : Valeurs des diamètres d’inhibition due à l’association HEr au chloramphénicol	77
Tableau 12 : Valeurs des diamètres d’inhibition due à l’association HEr à la gentamycine.....	78
Tableau 13 : Valeurs des CMI et CMB des deux huiles essentielles.....	80

Liste des figures

Figure 01 : Allure d'un giroflier de Madagascar.....	7
Figure 02 : Feuilles jeunes de couleur rose et feuilles matures de couleur verte du giroflier	8
Figure 03 : Boutons floraux et fleurs du giroflier.....	8
Figure 04 : <i>Syzygium aromaticum</i> L. Pousse florifère et, en dessous, bouton floral. A droite : fruit surmonté des restes du calice	9
Figure 05 : <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	14
Figure 06 : Structure chimique de quelques composés aromatiques des huiles essentielles.....	25
Figure 07 : Carte géographique de la région de Mila.....	38
Figure 08 : Romarin (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.)	39
Figure 09 : Clous de girofle (<i>Syzygium aromaticum</i> L.)	39
Figure 10 : Extraction de l'huile essentielle par l'appareil de type Clevenger	42
Figure 11 : Disques du papier Whatman stérilisés	43
Figure 12 : Densité optique des suspensions bactériennes préparées.....	44
Figure 13 : Etapes de la méthode de l'aromatogramme.....	46
Figure 14 : Principe de la méthode de diffusion par disque.....	46
Figure 15 : Illustration de la méthode des microatmosphères.....	47
Figure 16 : Répartition de la population selon le milieu de vie	51
Figure 17 : Représentation de la répartition des personnes enquêtées en fonction du sexe.....	52
Figure 18 : Répartition des personnes enquêtées en fonction des classes d'âge.....	52
Figure 19 : Répartition des personnes enquêtées en fonction de leurs niveaux intellectuels.....	53
Figure 20 : Répartition des personnes enquêtées en fonction de leurs professions	54
Figure 21 : Taux des personnes enquêtées ayant utilisé des plantes aromatiques.....	54
Figure 22 : Taux des types de produits végétaux souvent utilisés	56
Figure 23 : Taux d'utilisation des HE auprès des gens enquêtés	57
Figure 24 : Taux d'achat d'huiles essentielles là où elles sont vendues.....	57

Figure 25 : Évaluation du niveau de connaissances des enquêtés sur la préservation des HE.....	58
Figure 26 : Age de prescription des HE aux enfants	59
Figure 27 : Modes d'utilisation des huiles essentielles	60
Figure 28 : Taux d'utilisation du girofle	61
Figure 29 : Fins d'usage du girofle	61
Figure 30 : Formes d'utilisation du girofle.....	62
Figure 31 : Taux de satisfaction après utilisation de l'HE du girofle.....	63
Figure 32 : Taux d'observation d'effets indésirables après utilisation de l'HE de girofle..	63
Figure 33 : Taux d'utilisation du romarin	64
Figure 34 : Motifs d'utilisation du romarin.....	65
Figure 35 : Formes d'usage du romarin	65
Figure 36 : Degré de satisfaction après utilisation de l'HE du romarin	66
Figure 37 : Taux de constatations des effets indésirables après utilisation de l'HE du romarin	67
Figure 38 : Résultat de la méthode aromatochrome sur <i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>Spizizenii</i> .	73
Figure 39 : Résultat de méthode atmosphère pour <i>Staphylococcus aureus</i>	74
Figure 40 : Résultat d'Association huiles essentielles /chloramphénicol sur <i>Salmonella</i> Kentucky.....	78
Figure 41 : Evaluation des CMB des huiles étudiées vis-à-vis les différentes souches bactériennes testées.....	80

Introduction

Introduction

Les plantes aromatiques et médicinales ont joué un rôle crucial dans le développement des civilisations à travers l'histoire. Dans toutes les régions du monde, on peut constater que ces plantes ont toujours été d'une grande importance dans le domaine médical. Cependant, ce n'est qu'au début du XXe siècle que les scientifiques ont commencé à s'y intéresser de manière plus approfondie (Yano et *al.*, 2006).

L'utilisation des plantes médicinales et aromatiques a diminué avec le développement de la chimie de synthèse. Cependant, les effets néfastes des médicaments ont suscité un regain d'intérêt scientifique pour ces plantes. Cela a conduit à de nouvelles recherches, notamment dans l'espoir de trouver des solutions pour traiter certaines maladies infectieuses en utilisant des huiles essentielles extraites des plantes aromatiques. Cette approche est de plus en plus justifiée par l'émergence de germes résistants aux antibiotiques. Il devient donc nécessaire de s'adapter aux thérapies antibactériennes et de repenser les traitements existants (Philippon, 2008 ; Kempf et *al.*, 2011). Ainsi, des études récentes ont montré que les huiles essentielles et leurs constituants ont un grand potentiel en tant qu'agents antimicrobiens et dans de nombreux domaines industriels et médicaux. La diversité moléculaire des métabolites qu'il contient lui confère des rôles et propriétés biologiques très divers, ainsi qu'une utilisation moins nocive, puisqu'il n'a pas d'effets secondaires (Amarti et *al.*, 2008 ; Mazari et *al.*, 2010 ; Goetz et Gedera, 2012). Pour la même raison, aucune résistance particulière n'a été décrite dans les huiles essentielles et il est important de noter que certaines sont des alternatives ou des compléments efficaces aux antibiotiques sans montrer le même effet secondaire (Amarti et *al.*, 2010 ; Rosato et *al.*, 2010) .

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), dans certains pays en développement d'Asie, d'Afrique et d'Amérique latine, environ 80% de la population dépend de la médecine traditionnelle, en particulier en milieu rural. Cela est dû à la proximité et à l'accessibilité de ce type de soins, qui sont abordables, ainsi qu'au manque d'accès à la médecine moderne pour ces populations.

En Algérie, la médecine traditionnelle a longtemps été utilisée en raison de la richesse et de la diversité de la flore du pays, qui constitue un véritable réservoir de plantes, avec environ 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Ces plantes sont considérées comme des matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la fabrication de futurs médicaments.

Dans ce contexte, notre travail a pour objectif de valoriser deux plantes aromatiques : le girofle (*Syzygium aromaticum* L.) et le romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) à travers l'étude de l'activité antibactérienne de leurs huiles essentielles.

Ainsi, ce manuscrit est divisé en deux parties :

- Une synthèse bibliographique mettant l'accent sur deux chapitres :
 - ✓ Le premier chapitre élucide des généralités sur les plantes aromatiques et de leurs domaines d'application en termes généraux et des deux plantes étudiées (*Syzygium aromaticum* L.) et (*Rosmarinus officinalis* L.).
 - ✓ Dans le deuxième chapitre nous elucidons des généralités sur les huiles essentielles (historique, localisation, composition, activités biologiques, mode d'action, méthodes d'extraction et domaines d'application).
- La partie pratique, consacrée au travail personnel est scindée à son tour en deux étapes :
 - ✓ Une enquête ethnobotanique sur les plantes aromatiques et les huiles essentielles extraites de ces plantes, mettant l'accent sur le girofle et le romarin.
 - ✓ En ce qui concerne les travaux expérimentaux réalisés aux laboratoires nous nous sommes intéressés à tester l'activité antibactérienne des huiles essentielles de ces deux plantes vis-à-vis certaines souches bactériennes, et ce après leur extraction par la méthode d'hydrodistillation.

Après avoir obtenu les résultats, nous nous sommes engagés à les discuter et les comparer aux études précédentes. Ensuite, nous concluons de manière générale en résumant l'ensemble des résultats obtenus, et nous finalisons le manuscrit en incluant une liste des références bibliographiques utilisées ainsi que des annexes.

Synthèse bibliographique

Chapitre I :
Étude botanique des plantes
étudiées

I.1. Définition des plantes aromatiques

Les plantes aromatiques sont des végétaux qui contiennent suffisamment de molécules aromatiques dans un ou plusieurs organes producteurs : feuilles, fleurs, tiges, fruits, écorces, racines etc (Neffati et Sghaier, 2014).

I.2. Domaines d'application des plantes aromatiques

I.2.1. En alimentaire

En plus de les utiliser comme épices dans la cuisine, il est constaté que le retour rapide aux produits naturels est dû aux dommages causés par les aliments artificiels ou nuisibles pour la santé. Cette tendance a conduit l'industrie alimentaire à se réinventer et à introduire de nouveaux ingrédients, matériaux et produits à base d'additifs naturels sur le marché. Un groupe clé de ces nouveaux produits sont les plantes médicinales et aromatiques, qui remplacent les additifs synthétiques tout en maintenant la qualité des aliments. L'industrie alimentaire utilise des extraits et des huiles essentielles de ces plantes pour améliorer la qualité, la durabilité et la stabilité des produits tout en augmentant leurs propriétés nutraceutiques bénéfiques pour la santé. À l'avenir, il est prévu que l'utilisation de ces plantes augmentera en raison de la sensibilisation accrue des consommateurs. Cependant, les produits et les compléments alimentaires à base de plantes médicinales et aromatiques doivent être évalués avant d'être produits. Il est donc nécessaire d'introduire ce type d'évaluation et de recherche dans notre pays (Tuğba, 2023).

I.2.2. En cosmétologie

L'utilisation d'extraits de plantes dans les produits cosmétiques est en augmentation. Un produit cosmétique contenant des ingrédients actifs d'origine naturelle peut servir de bouclier contre les agressions externes et internes de la peau et aider à traiter divers problèmes cutanés. Les produits naturels conviennent également pour les soins capillaires, ainsi que pour colorer ou teindre les cheveux. Les plantes et les huiles aromatiques sont utilisées depuis longtemps pour leur parfum, leur vertu cosmétique, médicinale ou culinaire. Les huiles essentielles offrent des avantages significatifs comme leur arôme plaisant, leur propriété émolliente et leur action nourrissante pour la peau ou les cheveux. Dans le futur, il est possible que l'identification de nouveaux végétaux, extraits, et huiles ait une importance commerciale considérable, ainsi que la confirmation des multiples vertus et propriétés cosmétiques de nombreuses herbes communes. De nouvelles méthodes d'isolement et d'extraction fourniront des produits de qualité supérieure, mais cela nécessite une

coopération multidisciplinaire de différents experts tels que les botanistes, les chimistes préparatoires, les chimistes analytiques, les toxicologues, et les biologistes pour une évaluation de l'activité cosmétique, en plus de leur rôle pharmaceutique habituel (Aburjai et Natsheh, 2003).

I.2.3. En médecine

Les plantes aromatiques ont traditionnellement été associées à des plantes médicinales car, en plus de leur utilisation courante, la majorité d'entre elles ont des applications thérapeutiques. Elles sont largement utilisées dans des systèmes médicaux traditionnels comme l'Ayurveda (Inde), l'ancien système médical chinois et une variété d'autres systèmes médicaux traditionnels.

L'aromathérapie est une alternative de médecine naturelle qui dépend uniquement d'herbes aromatiques et d'huiles essentielles pour le traitement. Les huiles essentielles ont été utilisées depuis la nuit des temps pour améliorer la santé ou le comportement d'une personne. Cependant, nous devons nous rappeler que les matériaux naturels sont des produits chimiques et leur mauvaise utilisation peut être dangereuse. Les huiles essentielles peuvent être appliquées par le massage, les traitements topiques et l'inhalation, et l'aromathérapie est définie comme l'application thérapeutique ou l'utilisation médicale de ces composés aromatiques pour la guérison holistique, selon l'association nationale d'aromathérapie holistique (NAHA). La recherche se poursuit actuellement à la recherche de nouveaux composés médicamenteux efficaces à l'aide de plantes aromatiques, ce qui est crucial à une époque où la résistance aux antibiotiques est en hausse (Muler, 2022).

I.3. Généralités sur les espèces étudiées

I.3.1. Le Giroflier (*Syzygium aromaticum* L.)

I.3.1.1. Origine

Le Giroflier, du nom latin *Syzygium aromaticum* appartenant à la grande famille des Myrtacées, est largement cultivé en Inde, Indonésie, à Madagascar, au Pakistan et au Sri Lanka. Il est utilisé comme épices dans tout le monde (Allahverdiyev et al., 2013).

I.3.1.2. Classification botanique

La classification du giroflier est la suivante (Ghedira et *al.*, 2010) :

- **Règne** : Plantae
- **Sous-règne** : Tracheobionta
- **Embranchement** : Magnoliophyta
- **Sous-embranchement** : Magnoliophytina
- **Classe** : Magnoliopsida
- **Sous classe** : Rosidae
- **Ordre** : Myrtales
- **Famille** : Myrtaceae.
- **Genre** : *Syzygium*.
- **Espèce** : *Syzygium aromaticum* L.

I.3.1.3. Description morphologique de la plante

Il s'agit d'un grand arbre fruitier, élancé et de forme conique qui mesure en moyenne 10 à 12 mètres de hauteur mais peut atteindre jusqu' à 19 à 20 mètres (Figure 01). Son port est pyramidal et son tronc gris clair est ridé (Barbelet, 2015). De nos jours, il ressemble souvent à un arbuste car il est régulièrement taillé pour faciliter la cueillette.



Figure 01 : Allure d'un giroflier de Madagascar (Barbelet, 2015).

Ses feuilles mesurent de 8 à 10 cm de long et sont coriaces, opposées, pétiolées, ovales, aux limbes lancéolés. La face supérieure est vert rougeâtre et la face inférieure est vert

sombre légèrement ponctué. Elles sont aromatiques et dégagent une forte odeur de clou de girofle au froissement. Le pétiole portant le limbe mesure entre 0,5 et 1 cm de long. Les nervures sont nombreuses mais peu visibles et la marge de la feuille est lisse. À l'état adulte, les feuilles sont vert foncé luisant, mais lorsqu'elles se développent, elles sont de couleur rose et comme saupoudrées d'or (Figure 2) (Barbelet, 2015).



Figure 02 : Feuilles jeunes de couleur rose et feuilles matures de couleur verte du giroflier (Barbelet, 2015).

L'inflorescence comprend de petites cymes compactes et ramifiées de 4-5 cm, regroupées en panicules de trois à cinq petites fleurs parfumées. Le calice tubulaire est blanc cassé puis rouge, avec quatre sépales rouges charnus et persistants, et la corolle est blanc rosé, avec quatre dialypétales blancs (Barbelet, 2015).

Quant aux "griffes de girofles", moins appréciées, il s'agit en fait des pédicelles floraux qui se terminent par une série de petites bractées en forme de griffes (Barbelet, 2015).



Figure 03 : Boutons floraux et fleurs du giroflier (Barbelet, 2015).

Les fruits sont nommés « antofles » dans le commerce. Ce sont des petites baies elliptiques d'environ 2,5 cm de long et 1 cm de large (Figure 4). Ils sont de couleur pourpre,

généralement uniloculaire, et ont une ou parfois deux graines à enveloppe rouge (Ramarijaona Rabary, 1985 ; Heywood, 1996 ; Boullard, 2001).

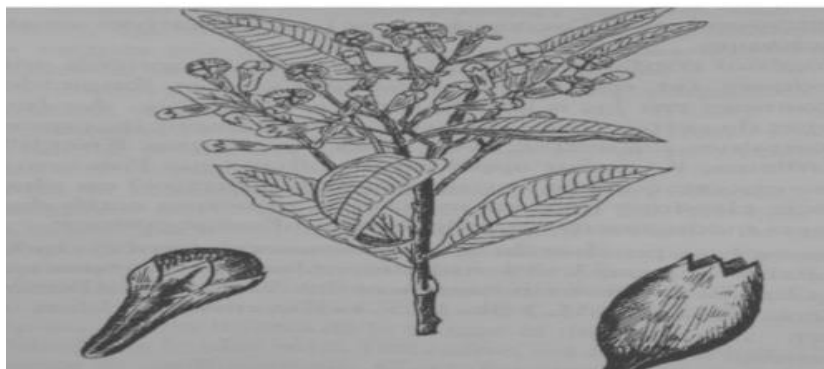


Figure 04 : *Syzygium aromaticum* L. Pousse florifère et, en dessous, bouton floral.

A droite : fruit surmonté des restes du calice (Boullard, 2001).

I.3.1.4. Répartition géographique

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

I.3.1.5. Composition chimique

Le clou de girofle est riche en substances bioactives telle que :

- Huile essentielle (20%) : l'HE contenant d'eugénol (85-95% de l'huile de clou de girofle), acétate d'eugénol (5 à 10 %), alpha- et bêtacaryophyllène (5 à 12%) et un dérivé cétonique (Paul et Ferdinand, 2005 ; Ghedira et al., 2010).
- Autres constituants : flavonoïdes (environ 0,4%), tanins (environ 12%), acide phénolique, stérols, triterpène et des chromons (Max et robert, 2003).

I.3.1.6. Utilisation de clou de girofle

- **Domaine médicinale**

Les fleurs du giroflier possèdent des vertus antiseptiques et anesthésiques connues depuis longtemps, particulièrement utilisées pour apaiser les douleurs dentaires. Le clou de girofle était initialement utilisé comme ingrédient dans le khôl, un onguent ophtalmique. L'huile essentielle de clou de girofle est réputée pour ses propriétés anti-inflammatoires et antibactériennes. Elle peut être utile pour traiter plusieurs types d'infections, notamment urinaires, digestives et cutanées (Ghagra, 2019).

- **Domaine culinaire**

Le clou de girofle est utilisé dans de nombreux plats tels que le pain d'épices, les biscuits en mélange avec la cannelle, le pot-au-feu, les marinades, la choucroute et il est indispensable à la plupart des currys. Il est également utilisé en infusion dans le thé (Ghagra, 2019).

- **Domaine de la cosmétique**

Le clou de girofle sert de parfum d'ambiance sous forme de « pomme d'ambre » que l'on fabrique en piquant toute la surface d'une orange de clous de girofle. Cette pratique permet de diffuser l'odeur de clou de girofle, qui est un phénol tel que l'eugénol (Ghagra, 2019).

I.3.1.7. Propriétés biologiques

- **Activité anti-bactérienne**

Des études ont été menées par Paruju et Obioma (2011), afin de tester l'action de *Syzygium aromaticum* L. sur une bactérie bien spécifique abondante au niveau des plaques dentaires et à l'origine des caries. Cette bactérie nommée *Streptococcus mutans* a été préférentiellement inhibée. Ces études ont démontré l'utilité des clous de girofle dans les dentifrices et les bains de bouches afin de prévenir l'apparition des plaques dentaires et de caries. Yadaz et al. (2015) ont réalisé des tests in vitro et in vivo sur des otites de rats dont le but était de dévoiler le pouvoir de l'eugénol sur les souches de *S. aureus* sensible et résistante à la méticilline ; le résultat était positif.

Grâce à son efficacité bactéricide, le clou de girofle peut soulager les ulcères gastriques causés par l'*Helicobacter pylori* (Mahaboobalis et al., 2005). Il peut également prévenir la contraction du VIH, en inhibant l'*Haemophilus ducreyi*, bactérie responsable de l'ulcération des muqueuses génitales, favorisant ainsi la transmission du VIH. Cette même bactérie est résistante aux antibiotiques et provoque la maladie du chancre (Lindeman et al., 2014). Musthafa et Voravuthikunchai (2015) ont confirmé l'efficacité bactéricide de l'eugényle acétate, deuxième actif de *Syzygium aromaticum* L. à une concentration de 10%. Ce métabolite secondaire freine la fonction des protéases de *P.aeruginosa*, inhibe la formation de la pyocyanine et pyoverdine, qui sont des facteurs de virulence, abaisse la production du pigments atphyloxanthine et diminue l'activité hémolytique de *S.aureus*.

- **Activité anti-virale**

L'étude in vitro menée par Tragoolpua et Jatisatienr (2011) fait partie des moindres recherches sur les activités anti-virales de *Syzygium aromaticum* L. ; elle a démontré l'inhibition de deux types de HSV : le HSV1 et le HSV2 par la plante pour sa contenance en eugénol.

- **Activité acaricide**

Selon une étude menée in vitro par Mahakittikun et *al.* (2014), l'activité acaricide a donné un taux de mortalité de 81% sur les acariens. Cette étude a montré que le clou de girofle pourrait être un excellent pulvérisant et traitement pour les matelas contaminés par *Dermatophagoides pteronyssinus* (un acarien présent dans les maisons), en faveur des pesticides écologiques. Le benzyl benzoate est le traitement de référence pour la gale ; une autre étude menée par Pasay et *al.* (2010) a affirmé que *Syzygium aromaticum* L. est plus efficace que ce traitement, avec un taux de mortalité élevé au bout de 15 minutes, incluant tous types de *sarcoptes scabiei* (résistants ou non). Baudoux en 2006 a estimé la posologie de cette plante à 1 ml de l'huile essentielle en bandant et en laissant agir pendant 12 heures après application sur toute la surface corporelle.

- **Activité anti-fongique**

L'étude de Lairungruang et *al.* (2014) a montré que le *Syzygium aromaticum* L. inhibe le *candida albicans* (un organisme mycotique faisant partie de la famille des champignons) avec une CMI égale à 0,156 mg/ml. Certaines souches de levures ou de dermatophytes présentent une résistance aux traitements à base d'amphotéricine B ou de fluconazole. Pinto et *al.* (2009) désignent le clou de girofle comme étant une alternative thérapeutique antifongique pour l'être humain. La raison de cette nomination par les chercheurs est que l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* L. possède un large spectre d'activité sur les souches manifestant une résistance au fluconazole telles que : *candida krusei* et *candida glabrata*, mais aussi efficace contre les dermatophytes, *aspergillus* et quelques souches de candidas comme *c. albicans*, *c.tropicalis* et *c. parapsilosis*. Faucon (2009) a déterminé que la posologie de prise de cette plante comme médicament est de 0,5 ml de l'HE de clous de girofle (dilution dans 10 ml d'huile végétale), 2 à 3 applications locales par jour, et ce pendant 15 jours.

- **Activité anti-obésité**

Al-okbi et *al.* (2014), ont observé que la consommation quotidienne d'H.E. ou d'émulsion contenant de l'H.E. de *Syzygium aromaticum* L. ou d'une microémulsion d'eugénol par des rats souffrant d'hyperglycémie ou d'un taux de cholestérol élevé, leur a corrigé ces valeurs supérieures à la norme, ce qui pourrait être un effet protecteur contre les maladies cardiovasculaires.

- **Activité insecticide**

Dans le cadre d'une étude visant à comparer les activités biologiques sur *Callosobruchus maculatus* entre quatre espèces végétales (*Ficus carica*, *Eucalyptus globulus*, *Olea europaea* et *Citrus limon*) avec *Syzygium aromaticum* L. Kellouche et Soltani en 2004 ont montré les résultats suivants : les cinq espèces ont réduit la durée de vie des adultes. Cependant, le clou de girofle, avec la plus faible dose de 1%, a été le plus toxique avec une survie inférieure à 24 heures ; le plus intrigant étant que les autres plantes réduisaient la fécondité, tandis que *Syzygium aromaticum* L. inhibait totalement la prolifération de cet insecte. A partir d'une concentration de 0,2%, le clou de girofle s'est révélé être extrêmement mortel pour *Callosobruchus maculatus*.

I.3.1.8. Toxicité

L'utilisation abusive du clou de girofle peut être toxique. De grandes quantités doivent être évitées pendant la grossesse. Le clou de girofle peut être irritant pour les voies gastro-intestinales et devrait être évité chez des personnes ayant des ulcères gastriques, des colites ou le syndrome du côlon irritable. En cas de surdose, les clous de girofle peuvent causer des nausées, des vomissements, des diarrhées et de fortes hémorragies digestives. Une surutilisation peut conduire à une insuffisance rénale, des modifications de la fonction hépatique, une dyspnée, une perte de conscience, des hallucinations et même la mort. L'huile de clou de girofle, riche en eugénol peut irriter la peau et les muqueuses. En usage externe, elle est potentiellement dermo-caustique. Par voie interne, c'est un toxique neurologique à très forte dose. Cette huile est contre-indiquée chez les femmes enceintes, qui allaitent, les enfants, en cas d'eczémas et de fragilité cutanée. Son emploi dépend de la dose ; 100 g de clous de girofle en une fois est mentionné comme toxique (Kacemi, 2017).

I.3.2. Le Romarin (*Rosmarinus officinalis* L.)

I.3.2.1. Définition

Le Romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) est une plante qui pousse naturellement sur les coteaux arides, les garrigues et les endroits rocheux de la région méditerranéenne et au sud jusqu'aux limites sahariennes. Depuis l'Antiquité, cette plante est utilisée pour améliorer et stimuler la mémoire. De nos jours, elle est encore brûlée par les étudiants en Grèce dans leurs chambres durant les périodes d'examens (Boullard, 2001).

I.3.2.2. Origine du nom

Nom commun : Romarin - Autre nom : herbes aux couronnes, herbes aux troubadours, encensier, arbre de marine, rose de mere, rose de marine, roumaniou, roumarine.

Nom scientifique : *Rosmarinus officinalis* L., le mot romarin (*Rosmarinus*) dérive du latin « Ros » rosée ; « Marinus » : marin ou de marine et en anglophones : rosmay (Boullard, 2001).

I.3.2.3. Description botanique

Le romarin est un arbuste qui fait partie de la famille des labiées (Figure 05). Il peut mesurer jusqu'à 1,5 mètre de hauteur. Ce qui le rend facilement reconnaissable à toutes les saisons, ce sont ses feuilles coriaces persistantes, sans pétiole, beaucoup plus longues que larges, avec des bords légèrement enroulés. Elles sont de couleur vert sombre luisant sur le dessus et blanchâtres en dessous. Sa floraison commence souvent dès le mois de février (parfois en janvier) et se poursuit jusqu'au avril-mai. Les fleurs de romarin peuvent être de couleur bleu pâle ou violettes (mais il existe une variété à fleurs blanches nommée *Rosmarinus officinalis* L. *albiflorus*). Le calice est velu et présente des dents bordées de blanc. Les fleurs portent deux étamines ayant une petite dent vers leur base. Comme pour la plupart des lamiacées, le fruit du romarin est un tetrakène de couleur brune (Boullard, 2001).

I.3.2.4. Classification botanique

- **Règne** : plante
- **Embranchement** : Spermaphytes
- **Classe** : Dicotylédones
- **Ordre** : Lamiales (labiales)
- **Famille** : Lamiaceae
- **Genre** : *Romarinus*
- **Espèce** : *Romarinus officinalis* L. (Quezel et Santa, 1963).



Figure 05 : *Romarinus officinalis* L. (photo personnel).

I.3.2.5. Répartition géographique

Le Romarin pousse spontanément dans le sud de l'Europe et est originaire du bassin méditerranéen (aux altitudes faibles), en Provence et en Corse (Chevallier, 2013). Il remonte le long de la vallée du Rhône, sur les contreforts sud du Massif central (Languedoc, Roussillon (Garnier et al., 1961) et parfois sur les causses de la région Midi Pyrénées. Il se retrouve dans les garrigues, maquis, pelouses sèches ; souvent sur les sols calcaires (Escuder, 2007).

I.3.2.6. Principes actifs

Les principaux constituants du romarin responsables des différentes propriétés sont :

- ✓ Les acides phénoliques : acide vanillique, acide caféique, acide p-coumarique.

- ✓ Les flavonoïdes : genkwanine, cirsimaritrine (Ibañez et *al.*, 2003), ériocitrine, hespéridine, diosmine, lutéoline (Okamura et *al.*, 1994), apigénine (Yang et *al.*, 2008).

I.3.2.7. Utilisation de Romarin

- **Usage sur la sphère abdominale**

Le romarin favorise la digestion et élimine les gaz intestinaux. Il est également employé pour stimuler les sécrétions gastriques et l'appétit. La plante peut être utilisée en décoction, infusion ou macération dans de l'huile d'olive (Schneider, 2002). Elle peut également être consommée sous forme de vin médicinal pour stimuler la fonction biliaire et soulager les douleurs associées à la paresse d'estomac, à l'inflammation de la vésicule biliaire et à la congestion du foie (Aruoma, 1996). Enfin, le romarin a des propriétés antispasmodiques et diurétiques (Escuder, 2007).

- **Usage dans le traitement des blessures**

Les feuilles séchées entières ou coupées de Romarin sous forme liquide ou semi-solide sont traditionnellement utilisées dans la gestion et le traitement des blessures, il améliore la régénération du tissu et réduit l'inflammation. Les preuves cliniques sont limitées à des études sur les animaux et des études de cas. Le produit commercial est Herbor® (extrait de Romarin) (Maver et *al.*, 2015). Les feuilles peuvent être utilisées en compresses pour améliorer la cicatrisation et l'infusion de romarin peut aider à nettoyer les plaies (Escuder, 2007). Une teinture de romarin peut être utilisée pour soulager les maux de dents en bain de bouche prolongé (Aruoma, 1996).

- **Usage dans l'insuffisance circulatoire**

Le romarin possède des propriétés hypertensives qui lui permettent d'être utilisé en usage externe pour soulager les évanouissements qui sont causés par une insuffisance circulatoire (Chevallier, 2013), particulièrement chez les personnes fatiguées, anémiées ou hypotendues de manière chronique (Escuder, 2007). Pour améliorer la circulation sanguine et fluidifier le sang, les feuilles de romarin peuvent être utilisées dans le bain en les faisant infuser dans de l'eau (50 g pour 1L d'eau). Elles sont également efficaces pour traiter les troubles circulatoires sous forme de pommades, huiles ou liniments (Prajapati et *al.*, 2005).

- **Usage comme fortifiant/tonique**

En cas de stress prolongé ou de maladies chroniques, l'utilisation de 2 ml de teinture de romarin mélangés à de l'eau deux fois par jour peut aider à accélérer la convalescence. Le romarin est particulièrement efficace dans le traitement de l'asthénie et pour stimuler les glandes surrénales (Chevallier, 2013). En tant que tonique pour le système cardiaque et le corps en général, le romarin peut être bénéfique pour les personnes convalescentes et anémiées (Escuder, 2007). Il peut être consommé par voie orale, soit sous forme d'infusion (20 à 30 g de sommités fleuries par litre d'eau bouillante), soit sous forme de vin après macération de 30 à 60 g de sommités fleuries dans un litre de bon vin pendant 3 jours. Il est recommandé de prendre deux à trois verres par jour pour bénéficier de ses vertus toniques (Debuigne et *al.*, 2009).

- **Usage comme antioxydant**

Le romarin possède des propriétés antioxydantes grâce à ses flavonoïdes et diterpènes, ce qui peut aider à réduire les effets des radicaux libres (Debuigne et *al.*, 2009). Le diabète de type 1 est un trouble endocrinien qui touche environ 5% de la population mondiale et peut causer des complications liées au stress oxydatif. Les antioxydants naturels, comme le *Rosmarinus officinalis* L., sont donc d'un grand intérêt, surtout à long terme. Une expérience a été menée pour évaluer les effets d'un additif contenant de l'extrait de romarin, de la vitamine E et des acides gras polyinsaturés ajouté dans la viande dans l'alimentation standard. Les résultats ont montré des différences entre les enfants diabétiques traités et non traités, mais des recherches plus approfondies sont nécessaires (Balderas et *al.*, 2010).

I.3.2.8. Propriétés du Romarin

- **Activité antibactérienne**

On a étudié les effets des extraits aqueux et méthanoliques du romarin sur la croissance du *Streptococcus sobrinus* et sur l'activité de l'enzyme glucosyltransferase. Les résultats ont indiqué que ces extraits peuvent prévenir les caries en inhibant la croissance du *Streptococcus sobrinus* et éliminer les plaques dentaires en réduisant l'activité de la glucosyl transférase (Tsai et *al.*, 2007). Une nouvelle étude a été mise en place pour rechercher de nouveaux antibiotiques et des agents antimicrobiens en examinant les effets des extraits de certains composés isolés de plantes sur 29 bactéries et levures pertinentes pour la dermatologie. L'extrait d'acide carnosique obtenu à partir de la supercritique du dioxyde de

carbone (CO₂) de romarin a présenté un large spectre antimicrobien, empêchant la croissance de 28 sur 29 germes (Weckesser et *al.*, 2007).

- **Activité antifongique**

D'après les résultats obtenus, l'huile essentielle de romarin à une concentration de 450 ppm a complètement inhibé la biosynthèse de l'aflatoxine. Ainsi, cette huile essentielle présente un fort potentiel en tant que conservateur naturel contre l'*aspergillus parasiticus* (Rasooli et *al.*, 2008). En utilisant la technique standard de diffusion sur gélose, une étude a évalué l'activité biologique de onze huiles essentielles, y compris celle extraite du romarin. Les résultats ont indiqué que ces huiles ont une activité inhibitrice modérée sur les cinq souches de levure examinées, à savoir *Candida albicans*, *Rhodotorula glutinis*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Yarrowia lipolytica* (Sacchetti et *al.*, 2005).

- **Activité antivirale**

D'après l'évaluation de l'extrait commercial de romarin, une inhibition de l'infection causée par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) a été observée à une concentration très faible. Néanmoins, une concentration modérée de carnasol a démontré une activité anti-VIH qui n'était pas cytotoxique (Aruoma et *al.*, 1996).

- **Activité ovicide**

Il a été prouvé que l'huile essentielle de romarin possède des propriétés ovicides contre trois types de moustiques (*anopheles stephensi*, *aedes aegypti* et *culexquinque fasciatus*) (Gui et Ai, 2007). De plus, cette huile présente des effets répulsifs sur les moustiques (*aedes aegypti*) (Prajapati et *al.*, 2005).

- **Activité anti-oxydante**

On sait depuis environ 30 ans que le romarin possède une activité anti-oxydante (Nassu et *al.*, 2003). Cette propriété lui a valu d'être largement reconnu en tant qu'épice ayant l'activité anti-oxydante la plus élevée (Wang et *al.*, 2008). Des recherches ont été menées par divers auteurs sur l'utilisation des extraits de romarin comme agent antioxydant afin de préserver les produits à base de viande (Nassu et *al.*, 2003 ; Fernandez- Lopez et *al.*, 2005 ; Balentine et *al.*, 2006).

- **Effet anti-cancérogène**

Le romarin, qui contient des composants tels que le carnosol, le rosmaridiphénol, le rosmanol et l'acide rosmarinique, est considéré comme une thérapie contre le cancer (Quezel et Santa, 1963).

- **Effet anti-acétylcholinestérase**

On a examiné les extraits aqueux et méthanoliques de onze plantes utilisées dans la médecine traditionnelle chinoise pour améliorer la mémoire. On a utilisé la méthode colorimétrique d'Ellman pour évaluer leur activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase. L'extrait méthanolique de romarin a présenté une inhibition modérée (17%) de l'enzyme à une concentration de 0,1% (Adsersen et *al.*, 2006).

- **Effet hypoglycémiant**

Les résultats de l'expérience menée sur trois groupes de lapins, dont un groupe ayant une glycémie normale, un autre ayant une hyperglycémie provoquée par l'administration orale de glucose et un dernier groupe de lapins diabétiques d'alloxane, ont révélé que l'extrait éthanolique de romarin a montré une activité hypoglycémiante notable à une dose de 200 mg/kg (Bakirel et *al.*, 2008).

- **Effet anti-hépatotoxique**

Plusieurs études ont examiné les effets du romarin comme traitement anti-hépatotoxique. Les chercheurs se sont concentrés sur l'extraction méthanolique du romarin pour déterminer ses effets sur les marqueurs histologiques et biochimiques du foie, après une exposition au tétrachlorure de carbone (CCL4). Les résultats ont montré que cette extraction a prévenu la peroxydation lipidique et la nécrose, tout en normalisant les niveaux de bilirubine, de glycogène et l'activité de l'alanine aminotransférase. En outre, l'activité de la glutathion-S-transférase (GST) a augmenté (Marie et *al.*, 2004).

I.3.2.9. Composition biochimique du Romarin

Dans la plante de romarin, on peut trouver de l'huile essentielle contenant de l' α -pinène (7 à 80%), de la verbénone (1 à 37%), du camphre (1 à 35%), de l'eucalyptol (1 à 35%), du bornéol (4 à 19%), de l'acétate de bornyle (jusqu'à 10%) et du camphène. En outre, le romarin contient également des dérivés triterpéniques tels que l'acide ursolique, l'acide oléanolique, et l'acétate de germanicol (2 à 4%), des lactones diterpéniques telles que la picrosalvine, des dérivés de l'acide canosolique, le rosmanol, le romadial, des acides phénoliques, des acides

gras hydroxylés principalement des dérivés de l'acide décanoïque, des acides gras organiques tels que l'acide citrique, glycolique et glycérique, des stérols, de la choline, du mucilage, et de la résine (Beloued , 1998).

Chapitre II :
Généralités sur les huiles
essentielles

II.1. Historique

Bien que les Chinois n'aient pas été les précurseurs dans l'utilisation des huiles essentielles, ils ont écrit le premier livre contenant des recettes à base de ces huiles. L'utilisation des huiles essentielles a commencé en Égypte ancienne environ 2500 ans avant J.-C. et servait à diverses fins telles que la médecine, la parfumerie, la cosmétique et les rites religieux pour l'embaumement des corps. Les Égyptiens pratiquaient une forme rudimentaire de distillation à l'aide de la macération et de l'essorage.

Au 20ème siècle, l'utilisation des huiles essentielles est réapparue après que René-Maurice Gattefossé, considéré comme le père de l'aromathérapie, ait découvert ses propriétés curatives après avoir subi un accident en 1910, ce qui lui a conduit à faire des recherches qui ont abouti à la publication du premier ouvrage sur l'aromathérapie en 1931.

L'utilisation des huiles essentielles à des fins médicinales, notamment pendant la guerre d'Indochine pour traiter les blessures des soldats, a également contribué à leur popularité. Le médecin français Jean Valnet a également contribué à la crédibilité de l'aromathérapie auprès de la médecine française en publiant un livre sur le sujet en 1964 et en décrivant ses posologies et ses activités antimicrobiennes.

Pierre Franchomme, biochimiste français, a fondé le premier laboratoire spécialisé en huiles essentielles en 1975, visant à réduire les problèmes thérapeutiques et les effets secondaires liés à leur utilisation. Enfin, Dominique Baudoux, un pharmacien belge, a repris la direction du laboratoire de Pierre Franchomme en 1991 et a rendu les huiles essentielles plus faciles à utiliser. Aujourd'hui, l'aromathérapie est très répandue et appréciée pour son caractère naturel et sa grande efficacité (Touhami, 2017).

II.2. Définition d'huile essentielle

Selon la dernière édition de la pharmacopée européenne, une huile essentielle est une substance odorante, souvent complexe, provenant d'une matière première botaniquement définie d'origine végétale. Cette huile peut être obtenue de différentes manières, soit par distillation à la vapeur ou par distillation sèche, ou encore par un procédé mécanique approprié qui n'utilise pas de chaleur. Afin de préserver sa composition, cette huile est souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique. Ces extraits sont volatils et hydrophobes et sont obtenus à partir de plus de 17500 plantes aromatiques appartenant aux familles d'angiosperme telles que les Lamiaceae, Rutaceae, Myrtaceae, Zingiberaceae et Asteraceae (Zabka et Pavela, 2018).

Les huiles essentielles sont biosynthétisées par la plante dans diverses parties telles que les fleurs (jasmin, rose, violette...), les bourgeons (girofle), les feuilles (thym, eucalyptus, sauge), les fruits (anis, badiane), l'écorce (cannelle), les zestes (agrumes), les graines (cardamome), le bois (santal), les rhizomes et les racines (gingembre) (El asbahani et *al.*, 2015). Elles sont des composés produits par deux sortes de glandes de sécrétion :

- Les tissus de sécrétion externes se trouvant dans des papilles épidermiques, des cellules coniques de l'épiderme situées généralement sur les pétales de fleurs, ou dans des cellules glandulaires trichomes spécifiques à la famille des lamiacées.
- Les huiles essentielles peuvent également être secrétées dans des tissus de sécrétion internes comme les canaux de sécrétion (essentiellement chez les apiacées), les poches schizogènes présentes dans l'espace intercellulaire, qui se remplissent de gouttelettes d'huile essentielle émanant des cellules environnantes.

Enfin, les huiles essentielles peuvent être produites par des cellules à sécrétion intracellulaire, où elles s'accumulent dans les vacuoles à forte concentration (El asbahani et *al.*, 2015).

II.3. Les propriétés des huiles essentielles

- **Propriétés physiques**

Les huiles essentielles ont une consistance liquide et volatile à température ambiante, les distinguant ainsi des huiles fixes. Elles présentent une large gamme de couleurs allant de l'incolore au brun clair, à l'exception de l'huile essentielle de matricaire qui arbore une teinte bleu-vert. Leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau, oscillant entre 0,850 et 0,950, à l'exception des huiles essentielles de cannelle et de sassafras. L'huile essentielle de wintergreen est la plus dense, avec une densité allant de 1,160 à 1,195 à 20°C (Franchomme et *al.*, 1990).

Les huiles essentielles ont un indice de réfraction élevé et ont tendance à dévier la lumière polarisée. Elles ont la capacité de se dissoudre dans les graisses et les solvants apolaires, et leur solubilité varie dans les alcools mais reste très faible dans l'eau, ce qui les rend liposolubles (Bruneton, 2008).

- **Propriétés chimiques**

Les huiles essentielles subissent une oxydation sous l'effet de la lumière, entraînant une altération de leur parfum et leur transformation en résine. Elles réagissent également

avec le chlore, le brome et l'iode en dégageant de la chaleur et peuvent former des hydrates en se mélangeant avec de l'eau. La lipophilie de ces huiles facilite leur pénétration à travers les membranes physiologiques, notamment au niveau cutané (Bruneton, 2008).

II.4. Localisation des huiles essentielles dans les plantes

Les huiles essentielles sont exclusives aux végétaux et peuvent être stockées dans différents organes des plantes aromatiques, tels que les fleurs (comme l'oranger, la rose, la lavande et le bouton floral du girofle), les feuilles (telles que l'eucalyptus, la menthe, le thym, le laurier, la sarriette et la sauge), les fruits (comme le fenouil, l'anis et l'épicarpe des agrumes), les tiges (comme la citronnelle), les rhizomes et les racines (tels que le gingembre, le vétiver et l'iris), les graines (telles que la noix de muscade et la coriandre) et les bois et les écorces (comme la cannelle, le santal et le bois de rose) (Leon, 2005 ; Teixeira *et al.*, 2013).

La production et la rétention d'huiles essentielles ont généralement lieu dans des structures spécialisées comme des cellules glandulaires, souvent situées à la surface des plantes (Brunechon, 1987).

Les huiles essentielles sont synthétisées dans ces cellules et sont ensuite stockées dans des cellules spéciales telles que les cellules à huiles essentielles (dans les familles Lauraceae ou Zingiberaceae), les poils sécréteurs (dans la famille Lamiaceae), les poches sécrétrices (dans les familles Myrtaceae ou Rutaceae) ou dans des canaux sécréteurs (dans les familles Apiaceae ou Asteraceae) (Bruneton, 1999).

Lorsque les poches à essences sont situées dans les tissus internes, les gouttelettes d'huile essentielle peuvent également être transportées dans l'espace intracellulaire. Les membranes qui entourent ces gouttelettes sur le site de stockage sont constituées d'esters, d'acides gras hydroxylés hautement polymérisés, ainsi que de groupements peroxydes. En raison de leur forte lipophilie et de leur faible perméabilité aux gaz, ces membranes limitent considérablement l'évaporation et l'oxydation des huiles essentielles à l'air (Teuscher *et al.*, 2005).

II.5. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges variables et complexes de différents composés chimiques (Figure 06) dissous l'un dans l'autre, formant des solutions homogènes.

Les essences sont principalement composées de deux groupes distincts de composés odorants, qui prédominent dans la plupart d'entre elles. Ces groupes sont constitués de

terpènes (mono et sesquiterpènes), ainsi que de composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Ce dernier est le composé majoritaire dans certaines essences telles que l'anis, la cannelle et le girofle.

- **Les composés terpéniques**

Les terpénoïdes représentent la famille de produits naturels la plus variée en termes de structure, de stéréochimie et de fonctionnalité, avec plus de 55000 molécules identifiées. (Christianson, 2008). Chaque année, des centaines de nouvelles structures sont signalées (Sacchetti et *al.*, 1997 ; Penuelas et *al.*, 2005 ; Withers et *al.*, 2007).

Tous les terpénoïdes ont pour origine deux précurseurs simples à cinq atomes de carbone, l'isopentényldiphosphate (IPP) et son isomère, le diméthylallyl diphosphate (DMAPP). Ces précurseurs sont assemblés et modifiés de mille façons différentes pour former tous les types de terpénoïdes (Dewick, 1999).

La plupart des terpénoïdes connus ont été extraits de plantes où ils jouent un rôle de métabolites primaires et secondaires. Les terpénoïdes sont produits par tous les tissus végétatifs, y compris les racines, ainsi que par les différentes parties florales chez les plantes (Dudareva et *al.*, 2004).

Les terpénoïdes regroupent différentes molécules possédant des propriétés physiques et chimiques variées, du fait de leur grande diversité de structure. Ils peuvent être volatils, semi-volatils ou non-volatils, saturés ou insaturés, linéaires, ramifiés, cycliques ou acycliques, chiraux ou achiraux, et certaines peuvent posséder des groupes fonctionnels oxygénés tels que des alcools, des aldéhydes, des cétones, des esters ou des éthers, ainsi que des atomes d'azote ou de soufre. Par ailleurs, leur solubilité dans l'eau peut être variable (Bohlmann et *al.*, 2008 ; Schwab et *al.*, 2008).

- **Les composés aromatiques**

À la différence des composés terpéniques, les composés aromatiques sont moins fréquents dans les huiles essentielles. Néanmoins, ces composés ont une grande importance car ils sont généralement responsables des caractéristiques organoleptiques de ces huiles. Un exemple à citer serait l'eugénol, qui est responsable de l'odeur du clou de girofle (Kunle et Okogum, 2003).

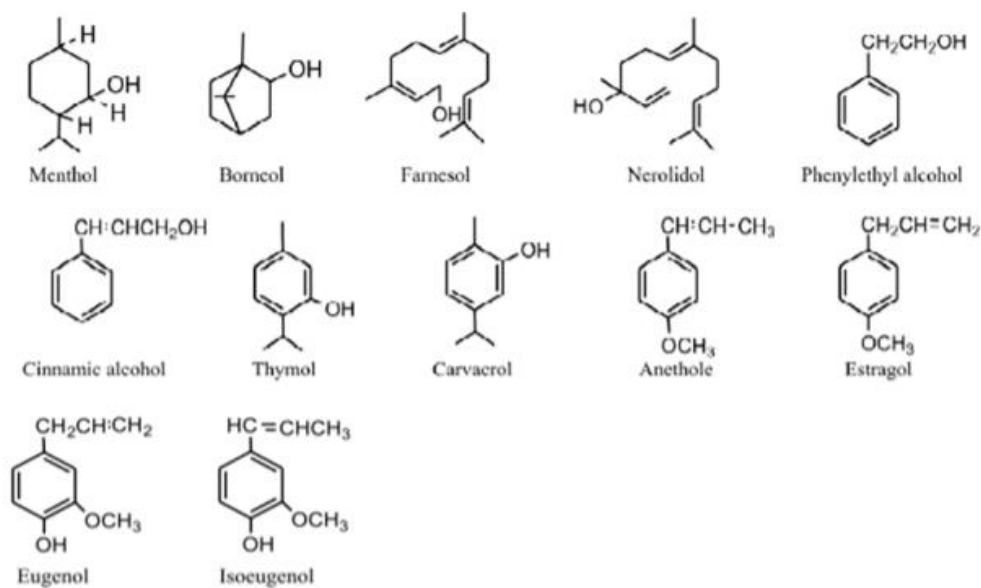


Figure 06 : Structure chimique de quelques composés aromatiques des huiles essentielles (Lakhdar, 2015).

- **Les composés d'origines diverses**

En raison de leur méthode d'extraction, les huiles essentielles peuvent contenir différentes composantes aliphatiques, souvent à faible masse moléculaire, qui peuvent être entraînées lors de l'hydro-distillation. Ces composantes peuvent être des nitrocomposés, des composés sulfurés, des caroténoïdes ou des acides gras (Teisseire, 1991).

- **Alcools :** Menthol, géraniol, linalol, ...
- **Aldéhydes :** Géraniol, citronellal, ...
- **Cétones :** Camphre, pipéritone
- **Phénols :** Thymol, carvacrol ...
- **Esters :** Acétate de géranyle, ...
- **Acides :** Acide gérannique, ...
- **Oxydes :** 1,8-cinéole, ...
- **Phénylpropanoïdes :** Eugénol.
- **Terpènes :** Limonène, para-cymène,...
- **Autres :** Ethers, composés sulfurés, composés azotés, sesquiterpène, ...

II.6. Activités biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont utilisées en phytothérapie à cause de leurs nombreuses propriétés biologiques qui sont étroitement liées à la nature de leurs constituants et aux groupements ou fonctions chimiques qu'elles possèdent.

- **Activité antioxydante**

Les HEs sont connues pour leurs propriétés antioxydantes. Leur capacité à piéger les radicaux libres joue un rôle primordial dans la conservation des denrées alimentaires (Chemat et *al.*, 2007 ; Amorati et *al.*, 2013) ainsi que dans la prévention de certaines maladies (cardiopathies, cancer, Alzheimer,..etc.).

En général, l'activité antioxydante est due à la présence de phénols et de polyphénols dans l'huile essentielle (Santhakumar et *al.*, 2014). Nous pouvons distinguer deux types d'activité antioxydante en fonction de leur niveau d'action : une activité primaire (directe) et une activité préventive (indirecte). Les composés ayant une activité primaire seront en mesure d'interrompre la chaîne d'autocatalyse de l'oxydation (Korkina, 2007 ; Miguel, 2010), alors que ceux qui possèdent une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la complication des ions métalliques ou la réduction d'oxygène, etc (Miguel, 2010).

- **Activité anti-inflammatoire**

Plusieurs études ont évalué le potentiel anti-inflammatoire des HEs. La réaction inflammatoire implique une variété de mécanismes d'action qui varient en fonction de la nature de l'agent pathogène, de l'organe affecté et de la réponse physiologique de l'hôte. Une régulation précise est nécessaire pour rétablir l'homéostasie du tissu lésé après l'élimination de l'agent pathogène. (Adorjan et Buchbauer, 2010 ; Korkina et *al.*, 2011 ; Zuzarte et *al.*, 2013 ; da Silveira et *al.*, 2014). Des études ont prouvé que les HEs ainsi que leurs composants ont un potentiel anti-inflammatoire et qu'ils sont capables de moduler les systèmes enzymatique et immunitaire (Kim et *al.*, 2004). Elles peuvent cibler différents sites d'action au niveau cellulaire et leur effet ne peut pas être attribué à un mécanisme unique à cause de la large variabilité de leurs composants.

- **Activité antifongique**

Les infections fongiques sont un problème urgent aujourd'hui. En effet, leur propagation est largement favorisée par l'utilisation abusive et parfois trop légère des

antibiotiques. Bien que ces antibiotiques soient mentionnés en premier lieu pour leurs actions antibactériennes, ils sont également actifs contre les champignons. Toutefois, la durée de ce type de traitement est plus longue que pour le traitement antibactérien. Les huiles essentielles possèdent des vertus antifongiques attribuées à la présence de certains groupements fonctionnels chimiques dans leur composition tels que le menthol, néomenthol, menthone et acétate de menthyle, ayant montré leur efficacité sur des champignons tels que *Aspergillus flavus*, *Aspergillus sulphurens*, *Aspergillus fumigatus* et *Mucor fragilis*. Plusieurs travaux montrent que leur pouvoir inhibiteur est essentiellement dû à la réactivité de la fonction aldéhyde avec le groupement thiol des acides aminés impliqués dans la division cellulaire (Kurita et al., 1979).

D'autres auteurs ont démontré que la formation d'un complexe entre le donneur d'électrons et l'aldéhyde aboutit à un changement de l'état ionique de la membrane traduisant par un déséquilibre d'échange avec le milieu extérieur. Ce déséquilibre entraîne la destruction cellulaire (Baser and Buchbauer, 2015). Cependant, les phénols (eugénol, chavicol 4-allyl-2-6- diméthoxyphénol) sont plus antifongiques que les aldéhydes testés (Laib, 2010).

- **Activité antibactérienne**

Depuis la découverte par Delacroix en 1881 de l'action des huiles essentielles contre les bactéries, de nombreuses recherches ont démontré le pouvoir antibactérien de certaines essences sur une large palette de micro-organismes, y compris sur des bactéries résistantes aux antibiotiques (Bakkali et al., 2008). Ce pouvoir antibactérien varie d'une huile à l'autre et d'une souche à l'autre, mais il dépend toujours de la dose (Kalemba et Kunicka, 2003). Plusieurs huiles essentielles montrent un spectre d'action très large, ce qui a été observé depuis longtemps (Oussalah et al., 2007) et confirmé par des études plus récentes. Par exemple, l'huile essentielle de menthe poivrée (*Mentha piperita*), de coriandre (*Coriandrum sativum*) et d'anis (*Pimpinella anisum*) ont été efficaces contre les bactéries gram-positives (*Staphylococcus aureus*) et gram-négatives (*Escherichia coli*) (Bazargani et Rohloff, 2016). Khoddami et al. (2018) ont également rapporté, que l'huile essentielle de *Semenovia suffruticosa* avait une très bonne activité contre différentes souches, dont *B. subtilis*, *Streptococcus pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* et *A. baumannii*.

Enfin, les huiles essentielles de cannelle, de clou de girofle, d'eucalyptus, d'origan, de thym et de romarin ont également montré une activité contre *E. coli*, *S. aureus*, *Trueperella*

pyogenes et *Fusobacterium necrophorum* (Braga Paiano et al., 2019). Ces exemples démontrent bien la bonne activité antibactérienne des huiles essentielles, qui s'étend sur un grand nombre de genres bactériens. Cela leur permet d'avoir une large gamme d'applications en tant qu'agents antibactériens (Owen et Laird, 2018).

II.7. Mode d'action antibactérienne des huiles essentielles

En raison de la variabilité des profils des composés des huiles essentielles, il est probable que leur action antibactérienne ne peut pas être attribuée à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action cellulaires (Guinoiseau, 2010).

Le mode d'action des huiles essentielles dépend principalement des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne (Boucekrit, 2018). Ce processus peut affecter la conformation de la membrane et entraîner des perturbations chémo-osmotiques et des fuites d'ions potassium (Bouyahya et al., 2018). Certains composés phénoliques des huiles essentielles peuvent interférer avec les protéines de la membrane des micro-organismes, comme l'enzyme ATPase, soit en agissant directement sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en perturbant la translocation des protons dans la membrane, prévenant ainsi la phosphorylation de l'ADP. Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés a aussi été signalée chez *Enterobacter aerogenes*. Les huiles essentielles peuvent également inhiber la synthèse de l'ADN, l'ARN, les protéines et les polysaccharides (El Amri et al., 2014).

- **Activité antivirale**

Les virus sont sensibles aux molécules aromatiques contenues dans les HEs, ce qui confère à ces dernières la capacité de combattre certaines pathologies virales, les HEs arrêtent le développement des virus et facilitent l'élimination du mucus tout en stimulant le système immunitaire (Herman, 1993).

- **Activité antiparasitaire**

Les HEs de géranium, de citronnelle, de menthe ou de lavande diffusées dans l'air sont efficaces pour protéger des attaques des insectes, en particulier des moustiques. Elles tiennent à distance tous ces petits indésirables (poux, mites...) mais, pour une protection plus sûre, il vaut mieux les appliquer directement sur le corps (elles devront alors être diluées) ou sur les vêtements (elles peuvent être utilisées pures) (Buronzo, 2008).

- **Activité cicatrisante**

Les HEs présentent des propriétés cicatrisantes reconnues depuis l'antiquité et utilisées en temps de guerre pour soigner les blessés. En effet, elles ont le pouvoir de régénérer les tissus qui ont été abîmés et de favoriser la cicatrisation des blessures. Leur pouvoir antiseptique leur permet de désinfecter en même temps les plaies, en protégeant l'organisme des processus de décomposition, des microbes et de leur éventuel déchet nocif (Buronzo, 2008).

II.8. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles peuvent être extraites de différentes manières, soit par des méthodes traditionnelles telles que l'hydrodistillation ou l'enfleurage (Meyer-Warnod et al., 1984), soit par des méthodes innovantes telles que l'extraction au CO₂ supercritique ou l'extraction assistée par micro-ondes sans solvant (Capuzzo et al., 2013).

- **L'hydrodistillation**

C'est une méthode qui consiste à chauffer un mélange d'eau ou d'autres solvants avec la plante, pour évaporer l'huile essentielle. Cette vapeur est ensuite liquéfiée dans un condenseur, qui peut être équipé ou non d'un retour d'eau dans le ballon. Le recyclage, appelé cohobage, est effectué à l'aide d'un système nommé Clevenger. La distillation peut être réalisée soit en immergeant la plante dans l'eau, soit en injectant directement de la vapeur sur une grille perforée placée sur la matière végétale, sans contact avec l'eau (Fabrocini, 2007).

Les principes volatils sont entraînés par les vapeurs d'eau, puis refroidis et enfin séparés de la phase par décantation (Buronzo, 2008).

- **Enfleurage**

Il s'agit d'une méthode complexe appelée enfleurage qui, mis à part pour les fleurs, n'est plus couramment utilisée. Dans cette méthode, les fleurs sont délicatement placées sur des plaques grasses qui absorbent leur parfum. Les corps gras ainsi obtenus sont ensuite épuisés par un solvant. Les fleurs sont remplacées par d'autres fraîches jusqu'à ce que le corps gras soit saturé de l'arôme des fleurs. Au bout de 24 heures, les corps gras et les huiles essentielles sont séparés (Buronzo, 2008).

- **Extraction au CO₂ supercritique**

L'extraction de fluides supercritiques (EFS) est une méthode qui vise à séparer les composants en utilisant des fluides supercritiques plutôt qu'un solvant d'extraction. Cette technique est largement utilisée pour extraire des huiles essentielles, dont près de 90 % sont extraites à l'aide de dioxyde de carbone (CO₂) pour des raisons pratiques. Le CO₂ présente plusieurs avantages, tels qu'une pression critique relativement faible (74 bars) et une température de 32°C. De plus, il est relativement non toxique, ininflammable, non corrosif et sûr. Le CO₂ de haute pureté est également facilement disponible à un coût relativement abordable et il est facilement éliminé de l'huile extraite (Rozzi et *al.*, 2002).

Selon Pourmortazavi et *al.* (2007), le principal inconvénient du CO₂ réside dans son absence de polarité qui limite son efficacité pour extraire les composés polaires.

D'après Fadel et *al.* (1999), il a été remarqué que les extraits préparés par EFS ont présenté une plus grande activité antioxydante que ceux obtenus par d'autres techniques. La méthode d'extraction utilisée a permis d'obtenir un rendement supérieur, un coefficient de diffusion accru et une viscosité plus faible. L'extraction au dioxyde de carbone peut être utilisée pour obtenir de nombreuses huiles essentielles qui ne peuvent pas être distillées par vapeur.

- **Extraction assistée par micro-onde**

L'extraction à la micro-onde est une méthode rapide et économique car elle ne nécessite pas l'utilisation de solvants et n'est pas dangereuse sur le plan thermique (Mandal et *al.*, 2007). Golmakani et *al.* (2008) ont réussi à extraire des principes actifs de plantes en utilisant un four à micro-ondes. Cependant, l'efficacité de l'hydrodistillation assistée par les micro-ondes dépend principalement de la puissance de ces dernières (Brachet et *al.*, 2002). Cette méthode utilise un montage similaire à celui de l'hydrodistillation classique, où le matériel végétal est chauffé dans un réacteur par les micro-ondes à l'intérieur du four, puis les vapeurs sont entraînées dans le col de cygne, condensées dans un réfrigérant et recueillies dans un essencier (Lucchesi, 2006).

II.9. Rôle des huiles essentielles

Les huiles essentielles jouent un rôle crucial dans la nature en produisant l'odeur distinctive des plantes aromatiques, qui est essentielle pour attirer les insectes pollinisateurs nécessaires à la reproduction des plantes. De plus, ces huiles ont des propriétés défensives contre les prédateurs et les maladies (De Sousa, 2015), grâce à leurs effets antibactériens,

antifongiques et antiviraux, offrant une protection accrue pour les plantes (Bakkali et *al.*, 2008).

II.10. Domaines d'application des huiles essentielles

- **Agro-alimentaire**

Tous les domaines de l'industrie agroalimentaire utilisent des huiles essentielles, y compris les boissons sans alcool, les confiseries, les produits laitiers, les viandes, les sauces, les soupes, les collations, les produits de boulangerie et même l'alimentation animale.

Les huiles essentielles ou leurs extraits sont utilisés pour leurs qualités à la fois antibactériennes et aromatiques. Les premières leur permettant d'être utilisées comme agents de conservation alimentaires (Burt, 2004 ; Tiwari et *al.*, 2009).

Les huiles essentielles sont de plus en plus utilisées en tant qu'additifs aromatisants dans l'industrie alimentaire en raison de la tendance actuelle à consommer des produits naturels et exotiques. Cette tendance est liée à une prise de conscience générale de la protection de l'environnement et du développement de l'agriculture biologique. Les huiles essentielles sont donc une voie intéressante pour la recherche dans ce contexte.

- **Parfumerie et cosmétique**

Les huiles essentielles sont utilisées dans les parfums et les cosmétiques pour leurs propriétés antimicrobiennes qui augmentent la durée de conservation des produits. Elles sont également utilisées pour leur parfum dans les produits d'entretien personnels ou ménagers (Aburjai et Natsheh, 2003).

Il est possible de mesurer la fréquence d'utilisation des huiles essentielles dans ce marché en examinant la composition des produits de consommation courante tels que les shampoings, les savons, les eaux de toilette, les liquides vaisselles ou les nettoyeurs pour surfaces à domicile. Il est important de noter que le terme "huile essentielle" n'est pas souvent mentionné. C'est en raison des exigences réglementaires qui recommandent souvent l'utilisation des termes "aroma" ou "parfum" ("fragrance" en anglais) pour englober toutes les compositions aromatiques ou parfumantes et leurs matières premières (AFSSAPS, 2008).

- **En pharmacie**

Les huiles essentielles issues de plantes sont couramment utilisées dans des contextes naturels, notamment pour préparer des infusions à partir de plantes telles que la menthe, la mélisse, la verveine et les fleurs d'oranger, ou sous forme de préparations galéniques simples. Elles sont même utilisées pour aromatiser les formes médicamenteuses destinées à une administration orale (Bruneton, 1999).

- **Domaine médical**

Les huiles essentielles sont très diverses et ont des effets pharmacodynamiques variés qui en font un outil thérapeutique important. Certaines huiles essentielles sont bénéfiques pour la digestion grâce à leurs effets eupeptiques et carminatifs. Elles sont efficaces contre la formation de gaz au niveau abdominal (HE de basilic, de sarriette, d'anis) et elles favorisent la formation des sucs gastriques nécessaires à une bonne digestion (HE de cumin, d'estragon, de menthe poivrée) (Buronzo, 2008). Les HEs de marjolaine, de lavande ou de mélisse peuvent arrêter les spasmes, c'est-à-dire les contractions qui se manifestent de façon involontaire dans le corps, aussi bien au niveau rénal qu'au niveau des viscères (coliques, hoquet ...) (Zaibet, 2016).

De plus, les huiles essentielles de cyprès, de citron, de genièvre, de menthe poivrée et de sauge sont particulièrement efficaces pour soulager les jambes lourdes, ainsi que pour combattre la cellulite (Buronzo, 2008).

Les propriétés bénéfiques des huiles essentielles de thym et de romarin ont été utilisées également pour apaiser divers maux tels que la fatigue, les maux de tête et les douleurs musculaires, ainsi que pour atténuer des problèmes respiratoires.

Cependant, d'autres huiles essentielles peuvent avoir des effets stimulants sur le système nerveux central et provoquer des convulsions à fortes doses.

II.11. Toxicité des huiles essentielles

Depuis un certain temps, les professionnels de santé ainsi que des personnes non formées en aromathérapie ont de plus en plus recours aux huiles essentielles. Cependant, étant donné leur caractère naturel, il y a une confusion qui s'installe entre leur côté naturel et leur absence de dangerosité. Cela dit, bien que ces huiles soient naturelles, elles ne sont pas sans toxicité car certaines ont une dose létale très basse et/ou peuvent entraîner des effets secondaires importants. La toxicité des HE est directement liée à leur composition chimique,

les composés poly-insaturés étant plus toxiques que les autres comme les cétones, lactones et phénols (Attou, 2017).

- **Enfants et nourrissons**

En général, les huiles essentielles ne doivent pas être utilisées pour les enfants de moins de sept ans, sauf sur conseil d'un médecin ou d'un pharmacien formé en aromathérapie. Certaines huiles essentielles sont interdites chez les enfants en raison de leur toxicité, notamment celles riches en aldéhydes aromatiques, cétones, phénols ou terpènes. L'huile essentielle d'*eucalyptus globulus* ne doit pas être utilisée chez les enfants de moins de sept ans, mais l'huile d'*eucalyptus radiata* est bien tolérée. Les huiles riches en aldéhydes terpéniques et éthers doivent être diluées avant utilisation et utilisées avec précaution. Des effets indésirables graves ont été constatés chez des enfants exposés à des produits cosmétiques contenant certains composés aromatiques, ce qui a conduit à leur retrait du marché (Festy, 2013).

- **Femme enceinte ou allaitante**

L'automédication est fortement déconseillée pendant la grossesse et l'allaitement, que ce soit en allopathie ou en aromathérapie. Les trois premiers mois de la grossesse sont particulièrement critiques car le développement du fœtus, surtout du système nerveux et des organes, est à son apogée. Cependant, selon certains aromathérapeutes tels que Baudoux et Festy, certaines huiles essentielles peuvent être utilisées pendant la grossesse. Il faut éviter les huiles essentielles à cétones, à phénol et à aldéhydes aromatiques comme la sauge officinale, le romarin à camphre, l'hysope officinale, la menthe poivrée, le girofle, la cannelle, la sarriette des montagnes, le thym vulgaire à thymol, l'huile de palmarosa, le cyprès toujours vert, l'eucalyptus mentholé et l'hélichryse italienne (Baudoux, 2001 ; Baudoux, 2006).

En revanche, certaines huiles essentielles peuvent être utilisées à condition d'éviter la voie orale, de respecter une période de traitement de courte durée ainsi que de ne pas appliquer d'huiles essentielles sur la zone abdominale et dorsolombaire.

- **Personnes à terrain allergique**

Les huiles essentielles sont très concentrées et peuvent causer des réactions allergiques chez les personnes sensibles. Il est conseillé de tester chaque huile essentielle avant son utilisation. Des études ont montré des cas de réactions allergiques, notamment des dermatites de contact, chez les personnes exposées aux huiles essentielles, telles que les fleuristes. L' α -

pinène, présent dans de nombreuses huiles essentielles, est connu pour être un allergène potentiellement dangereux (Dharmagunawardena et *al.*, 2002 ; Uter et *al.*, 2010).

- **Photosensibilisation**

C'est un état qui se manifeste par une sensibilité accrue de la peau aux rayonnements solaires, en particulier aux rayons ultraviolets, pouvant entraîner des réactions érythémateuses susceptibles de favoriser la formation de cancer. Les huiles essentielles issues des zestes de citrus tels que le citron, l'orange, la mandarine, la lime, le cédrat, le pamplemousse et le combawa, ainsi que les plantes *Ammi Visnaga* (khella) et *Angelica Archangelica* (angélique) présentent un risque de photosensibilisation après application et exposition au soleil. Par conséquent, il est recommandé de ne jamais les utiliser avant une exposition solaire ou dans les 48 heures qui suivent leur application (Attou, 2017).

Partie prartique

Chapitre III :
Matériels et méthodes

III.1. Objectif de l'étude

Cette étude a pour objectif d'évaluer l'effet antibactérien "in vitro" des huiles essentielles du girofle et du romarin sur différentes souches bactériennes.

Cette étude s'est déroulée entre mars et mai et a été menée en deux parties distinctes : La première partie consistait en une enquête ethnobotanique menée en utilisant un questionnaire et portant sur l'utilisation générale des plantes aromatiques et des huiles essentielles.

La seconde partie de l'étude était dédiée à une investigation expérimentale, qui à son tour s'est articulée en deux parties distinctes. Dans la première, nous avons extrait les huiles essentielles des parties aériennes des deux plantes aromatiques, puis nous avons évalué leur activité antibactérienne.

III.2. Présentation de la zone d'étude

La wilaya de Mila se situe au Nord-Est de l'Algérie, entre la latitude 36°26'59" N et la longitude 6°15'51" E, couvrant une superficie de 3 481 km² et située à 464 km de la capitale Alger et à 70 km de la mer Méditerranée.

La wilaya de Mila est limitée, au Nord par la wilaya de Jijel, Au Nord-est par la wilaya de Skikda, à l'Est par la wilaya de Constantine, à l'Ouest par la wilaya de Sétif, et au Sud par la wilaya d'Oum el Bouaghi (Figure 7). Elle se caractérise par un relief diversifié avec des montagnes et des collines au Nord, et des plaines fertiles de Milev au Sud, tandis que l'extrême Sud est constitué de hauts plateaux. Le climat varie du Nord au Sud, allant de l'humidité au Nord au semi-aride au centre et au Sud. La pluviométrie varie de 600 à 900 mm au Nord de la wilaya à moins de 400 mm au Sud.

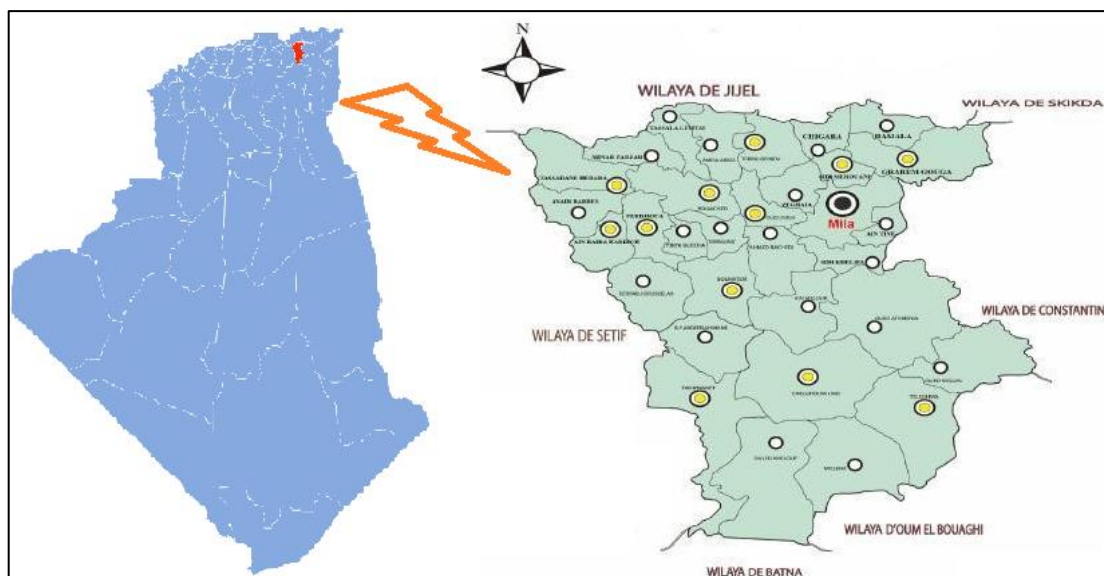


Figure 07 : Carte géographique de la région de Mila.

III.3. Enquête ethnobotanique

Durant les mois d'avril 2023, une enquête ethnobotanique a été menée pour collecter des données à l'aide d'un questionnaire en ligne publié sur des réseaux sociaux (Annexe 1), comportant des questions précises sur l'informateur et les plantes étudiées. Le questionnaire a été préparé français ensuite traduit en arabe pour faciliter le processus de l'enquête.

Le questionnaire était divisé en trois parties distinctes :

- La première partie a pour but de recueillir des informations relatives au répondant, telles que son sexe, son âge, son niveau d'éducation et sa situation familiale.
- La deuxième partie est centrée sur les connaissances des personnes enquêtées en matière de plantes aromatiques et de produits dérivés, ainsi que sur leur utilisation d'huiles essentielles, leurs modes de conservation et leurs modes d'utilisation.
- Enfin, la troisième partie du questionnaire vise à documenter l'utilisation des deux types de plantes étudiées et de leurs huiles essentielles.

III.4. Évaluation de l'activité antibactérienne des HE du girofle et du romarin

III.4.1. Matériel

III.4.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal étudié est constitué de :

- En ce qui concerne le romarin, notre étude a été réalisée sur les feuilles et les fleurs de *Rosmarinus officinalis* L. (Figure 8) La collecte a été réalisée dans leurs habitats naturels durant le mois d'avril 2023. La récolte a été effectuée dans la région de Zeghaia (wilaya de Mila).
- Alors que les boutons floraux pour le girofle « clou de girofle » (Figure 09), disponible dans le marché tout au long de l'année, ont été fournis par un herboriste dans la région de Zeghaia.



Figure 08 : Romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) (Photo personnelle).



Figure 09 : Clous de girofle (*Syzygium aromaticum* L.) (Photo personnelle).

III.4.1.2. Matériel bactériologique

Six souches bactériennes ont été choisies pour la diversité de leurs profils de sensibilité vis-à-vis aux antibiotiques.

Quatre souches proviennent de la collection de référence ATCC (American Type Culture Collection). Leurs caractéristiques sont présentées dans le tableau 1

Tableau 01 : Généralités sur les souches bactériennes utilisées (Hart et Shears, 1997 ; Joli et Reynaud, 2002 ; Dellaras, 2007).

Souches bactériennes Testées	Caractères bactériologiques	Code	Habitat	Pouvoir pathogène
<i>Escherichia coli</i>	Gram -	ATCC 8739	Tube digestif	-Septicémie, méningite du nourrisson, de plaies opératoires et gastroentérites. -Douleurs abdominales et des diarrhées sanglantes.
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	Gram -	ATCC 9027	Eau et sols humides - Surface des végétaux.	-Infections nosocomiales (personnes fragilisées ou immunodéprimées) -Infections urinaires, oculaires et pulmonaires.
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>Spizizenii</i>	Gram +	ATCC 6633	Les sols et eaux	-Un contaminant des aliments d'origine végétale (riz, épices). -Contaminant des drogues et de médicaments. -Toxi-infection alimentaire
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram +	ATCC 6538	Fosses nasales, gorge Tube digestif	-Infection hospitalière. Responsable des abcès, des plaies, des septicémies, de pneumonie et de l'intoxication alimentaire

En outre des souches de référence, deux souches de *Salmonella* de deux sérovars différents et d'origine alimentaire ont également été utilisées (Tableau 02)

Tableau 02 : Caractéristiques des souches de *Salmonella* étudiées.

Sérovar	Gram	Origine	Pouvoir pathogène
<i>Salmonella</i> Kentucky <i>Salmonella</i> Infantis	-	Viandes rouges	Les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes. Gastro-entérites à <i>Salmonella</i> : Il peut s'ensuivre des infections purement digestives, les gastro-entérites. Celles-ci se traduisent par de la diarrhée, des vomissements et de la fièvre.

III.4.1.3. Matériel et équipement du laboratoire

Les instruments et les équipements ainsi que les réactifs et produits utilisés pour extraire les huiles et étudier l'activité antibactérienne, sont consignés en annexe 2.

III.4.2. Méthodes

III.4.2.1. Extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles de girofle et de romarin ont été extraites aux laboratoires pédagogiques du centre universitaire Abdelhafid Boussouf, de Mila.

Pour faciliter l'extraction des huiles et obtenir un bon rendement, il faut passer par l'étape du séchage des feuilles de romarin effectuée à l'ombre, à l'abri de l'humidité durant trois semaines (21 jours) et à une température ambiante.

L'extraction de l'huile essentielle a été faite par la méthode d'hydrodistillation des feuilles, des fleurs et des clous sèches des plantes, à l'aide d'un appareil de type Clevenger (Figure 10). Les vapeurs chargés d'huile, en traversant un réfrigérant, se condensent et sont récupérées dans une ampoule à décanter. L'eau et l'huile se séparent par différence de densité. Les huiles obtenues ont été conservées dans des flacons en verre, à + 4°C et à l'abri de la lumière.



Figure 10 : Extraction de l'huile essentielle par l'appareil de type Clevenger (Photo personnelle).

III.4.2.2. Calcul du rendement de l'extraction

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse sèche du matériel végétal à traiter. Le rendement, exprimé en pourcentage, est calculé par la formule suivante (Selvakumar et *al.*, 2012) :

$$Rd = m/m_0 \times 100$$

Avec :

Rd : rendement en H.E exprimée en pourcentage ;

m : masse en gramme de l'HE ;

m₀ : masse en gramme de la matière végétale sèche.

Potentiel hydrogène (pH)

Cette mesure a été effectuée à l'aide du papier pH.

III.4.2.3. Densité relative

Selon la norme AFNOR (1992), la densité relative de l'huile essentielle est le rapport de la masse d'un certain volume de l'huile à 20°C et la masse égal d'un volume de l'eau distillée à 20°C.

Mode opératoire : la détermination de la densité est réalisée à l'aide d'une seringue de 1 ml. Le volume prélevé est de 0,20 ml pour l'huile, ainsi que pour l'eau. La densité d'HE est calculée à partir de la relation suivante :

$$D_{20} = \frac{m_1 - m_0}{m - m_0}$$

Dans laquelle :

M_1 : Masse en g de la seringue contenant 0,20 ml d'HE .

M_0 : Masse en g de la seringue vide.

M : Masse en g de la seringue contenant 0,20 ml d'eau distillée.

III.4.2.4. Étude de l'activité antibactérienne des huiles de girofle et du romarin

L'étude de l'activité antibactérienne a été réalisée au laboratoire d'analyses médicales, Dr Mirouh, Ferdjioua, wilaya de Mila.

- **Préparation des disques**

Des disques ayant un diamètre de 6 mm ont été obtenus en découpant du papier Whatman n°40 à l'aide d'un emporte-pièce. Ces cercles ont été placés dans un tube à essai, soumis à une stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes, puis conservés à température ambiante dans un récipient hermétiquement fermé (Figure 11).



Figure 11 : Disques du papier Whatman stérilisés (Photo personnelle).

- **Préparation des suspensions bactériennes**

Afin d'obtenir une culture de bactéries jeunes et des colonies bien isolées, les souches bactériennes à tester sont ensemencées sur des boîtes de Petri contenant de la gélose nutritive (GN) et incubées pendant 24 heures. Ensuite, quelques colonies bien isolées et identiques sont prélevées à l'aide d'une anse de platine et mises dans 5 ml d'eau physiologique stérile contenant 0,9 % de sel (NaCl). La suspension est ensuite homogénéisée et la densité optique est mesurée à une longueur d'onde de 625 nm (Figure 12). On considère que cette densité correspond à une concentration de 10^8 CFU/ml. Si la densité est trop faible, de la culture est ajoutée, et si elle est trop forte, de l'eau physiologique stérile est ajoutée pour ajuster la densité. L'ensemencement doit être effectué dans les 15 minutes suivant la préparation de l'inoculum.

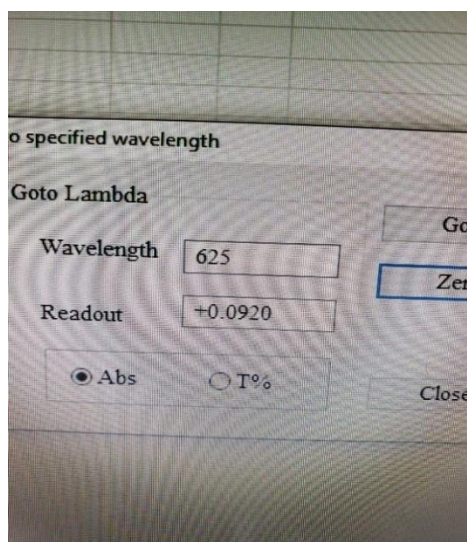


Figure 12 : Densité optique des suspensions bactériennes préparées (Photo personnelle).

III.4.2.5. Tests de l'activité antibactérienne

La méthode de diffusion des disques a été utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles de girofle et de romarin, car elle est simple et efficace pour tester la sensibilité des souches bactériennes. Ensuite, les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) ont été déterminées par micro-dilution en milieu liquide, ce qui permet également de savoir si l'activité antibactérienne de l'huile essentielle est bactériostatique ou bactéricide.

- **Méthode de diffusion de disques (aromatogramme)**

Nous avons utilisé la méthode d'aromatogramme pour évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de girofle et de romarin (Figure 14). Cette méthode consiste à faire diffuser des disques sur un milieu gélosé (Bendjelali et *al.*, 1986).

Des disques de papier Wattman déposés à égale distance de telle façon à éviter le chevauchement des zones d'inhibition à la surface des boîtes ensemencées par les souches à tester.

A l'aide d'une pince stérile, on dépose :

- Deux disques imprégnés d'une quantité d'huile essentielle 5 µl (brute) (1 huile par disque)
- Un troisième disque est imbibé par 5 µl du DMSO (Témoin négatif).
- Deux (02) disques d'antibiotique gentamycine (CN) et le chloramphénicol (C) sont utilisés comme témoins positifs.

Les boîtes sont ensuite fermées et laissées diffuser à la température ambiante pendant 30 mn et mises à l'étuve à une température de 37°C pendant 24 heures. La lecture se fait par la mesure du diamètre en mm de la zone d'inhibition autour de chaque disque (Figure).

Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peuvent être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'huile essentielle (Ponce et *al.*, 2003) (Tableau).

Tableau 03 : Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition (Ponce et *al.*, 2003).

Sensibilité	Zone d'inhibition
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



L'ensemencement des bactéries Dépose les disques dans les boites de pétri Mettre des huiles essentielles et du DMSO

Figure 13 : Étapes de la méthode de l'aromatogramme (Photos personnelles).

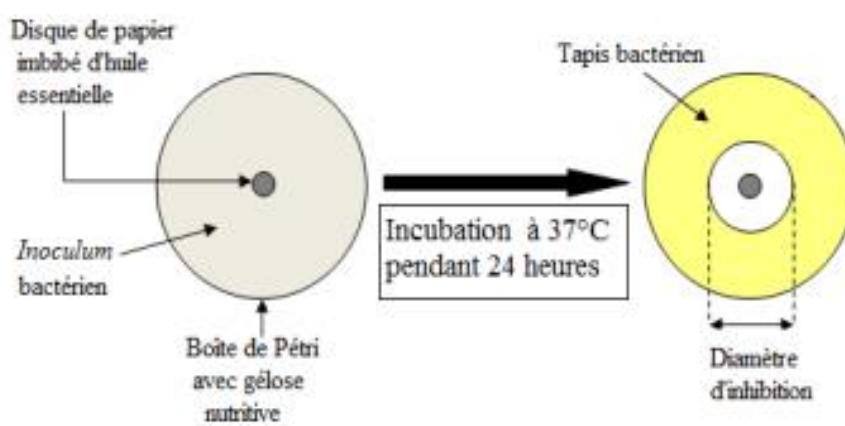


Figure 14 : Principe de la méthode de diffusion par disque (Ouaar et *al.*, 2018).

- **Micro-atmosphère**

En utilisant cette méthode, il est possible d'examiner l'impact des éléments volatils des huiles essentielles sur les microorganismes. Des boîtes de Pétri contenant des milieux de culture gélosés sont préparées avec une épaisseur de 4 mm. Des cultures bactériennes sont inoculées sur ces géloses et un disque de filtre papier stérilisé de 6 cm de diamètre est placé au centre du couvercle de chaque boîte. Juste avant la fermeture de chaque boîte, une quantité de 5 μ L de l'huile testée est déposée sur le disque. Une deuxième boîte de pétri est préparées de la même manière en utilisant une quantité de 10 μ L de l'HE. Les boîtes sont immédiatement fermées et placées à l'envers. Cette technique ne permet pas de mesurer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, mais seulement l'activité de leurs composants volatils lors de l'incubation à température.

La méthode de préparation de l'inoculum, de l'ensemencement, de l'incubation et de la lecture des résultats est la même que celle utilisée pour l'aromatogramme.

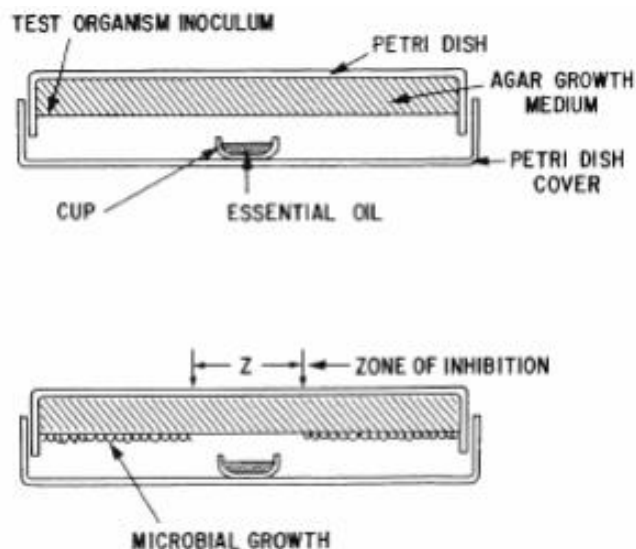


Figure 15 : Illustration de la méthode des microatmosphères (Zaika, 1988).

- **Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)**

La CMI est définie comme étant la plus faible concentration capable d'inhiber toute croissance microbienne visible à l'œil nu. La méthode de micro-dilution en bouillon est utilisée pour déterminer la CMI. Tous les tests ont été effectués dans le milieu Mueller Hinton en bouillon. Les huiles étudiées sont dissoutes dans le diméthyl-sulfoxyde (DMSO). Des dilutions en série ont été préparées dans une microplaque de 96 puits (Figure) dans la gamme de concentrations choisie : 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,19%, 0,09%, 0,04%, 0,02%, 0,01%, 0,006%, 0,003%.

Une micro dilution des huiles essentielles à tester, est produite dans une microplaque contenant 20 µl DMSO, de manière à générer une gamme de dilution de base 2, selon le protocole suivant :

- 20 µl de l'huile essentielle sont ajoutés dans le premier puits de chaque ligne à partir duquel est effectuée une dilution géométrique de base 2.
- Puis 160 µl de bouillon Mueller Hinton (BMH) inoculé avec 20 µl d'une suspension bactérienne sont ajoutés à chaque puits.
- Chaque ligne est réservée pour une souche déterminée, ce travail a été effectué sur six souches donc sur six lignes. Des puits contenant de BMH inoculés par la souche

déterminée sont utilisés comme contrôles positifs, ceux contenant le DMSO et BMH non inoculés sont utilisés comme contrôle négatif.

Après 18 heures d'incubation à 37°C, la CMI de l'huile essentielle est déduite à partir du premier puits de la gamme dépourvu de croissance microbienne.

- **Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)**

La CMB est définie comme étant la plus faible concentration de l'huile essentielle qui détruit 99,9% de la concentration cellulaire finale. Après la détermination de la CMI, les puits contenant les concentrations en huile essentielle strictement supérieures à la CMI ont servi pour la détermination de la CMB. Pour ce faire, un échantillon de 15µL de chaque puits (ne présentant pas de croissance) sont transférés dans des boîtes de Pétri préalablement coulé par le milieu Mueller Hinton. Les boîtes sont incubées dans une étuve à 37°C pendant 24 heures. Cette technique nous permet de vérifier si les cellules sont viables et cultivables. Le rapport CMB/CMI est calculé, il permet de déterminer le pouvoir antibiotique de l'huile essentielle. Lorsque ce rapport est inférieur ou égal à 4, on dit que l'huile est bactéricide et lorsqu'il est supérieur à 4, l'huile est qualifiée de bactériostatique.

- **Étude de l'association huiles essentielles/antibiotiques**

La méthode utilisée pour évaluer l'effet antibactérien de l'association HEs/ATBs est la méthode de diffusion sur milieu solide recommandée par Mandal *et al.* (2010) et Toroglu (2011).

Selon cette méthode, des boîtes de pétri contenant du milieu de culture MH sont préparées. Ensuite, une suspension bactérienne estensemencée sur la surface de la gélose à l'aide d'un écouvillon stérile.

Dans chaque boîte de pétri, on applique deux disques imprégnés de cinq microlitres d'huile essentielle. Un disque est réservé à l'huile essentielle de clou de girofle, tandis que le deuxième est destiné à l'huile essentielle de romarin. De plus, un disque contenant un antibiotique (le chloramphénicol ou la gentamicine) est également placé à une distance de 3 cm de chacun des disques des huiles essentielles et à 1 cm du bord de la boîte.

Les boîtes de pétri sont ensuite refermées et incubées à une température de 37°C pendant 18 à 24 heures.

Après incubation, la lecture se fait en mesurant le diamètre des zones d'inhibition en mm.

Ces résultats sont ensuite interprétés de la manière suivante :

- Si les zones d'inhibition de l'HE seule et de l'ATB restent inchangées par rapport à leur utilisation individuelle, cela indique une indifférence.
- On parle d'antagonisme quand la zone d'inhibition obtenue après l'association est moins importante que celle observée lorsque l'HE ou l'ATB est utilisé individuellement.
- Alors que la synergie indique que la zone d'inhibition de l'huile essentielle ou de l'antibiotique après l'association est plus importante que celle obtenue avec l'HE ou l'ATB utilisé individuellement.

Le test statistique Student a été calculé à l'aide du Logiciel XL-Stat 2014 pour comparer les résultats de ces associations.

Chapitre IV :

Résultats et Discussion

IV.1. Résultats de l'enquête ethnobotanique

Les informations collectées via les questionnaires ont été saisies et traitées dans Excel. Les questions jugées significatives ont fait l'objet d'une analyse approfondie à travers des graphes en pourcentage, afin de faciliter la comparaison des données.

- **Description de la population étudiée**

Nous avons recensé 213 réponses à notre questionnaire. Les répondants provenaient de différentes wilayas d'Algérie et avaient des âges variés.

La majorité de la population étudiée provenait des régions urbaines (67 %) contre 33% pour les zones rurales (Figure 16).

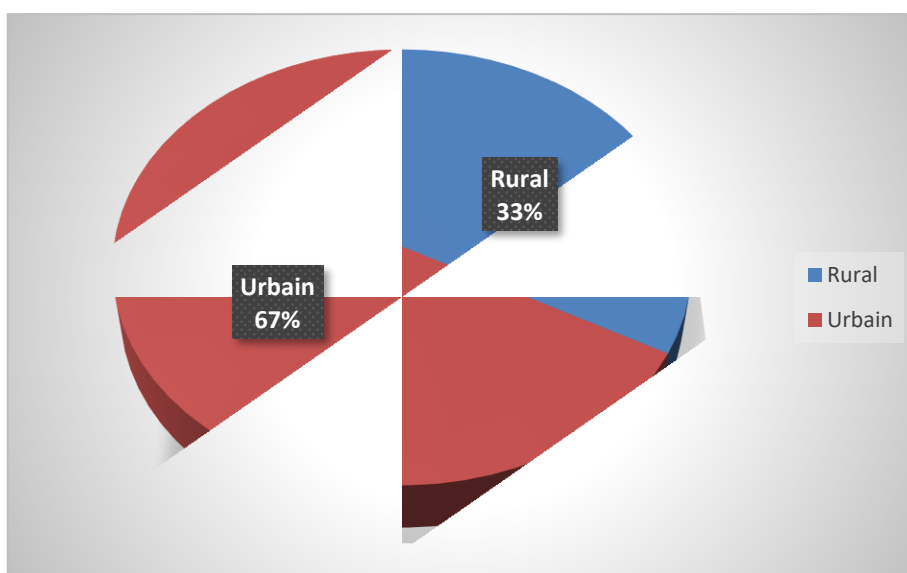


Figure 16 : Répartition de la population selon le milieu de vie.

- **Sexe**

Sur les 213 personnes ayant répondu à notre questionnaire, la question n°2 a révélé que 90% étaient des femmes tandis que les hommes représentaient 10%. Ainsi, une majorité de femmes a participé à notre sondage (Figure 17).

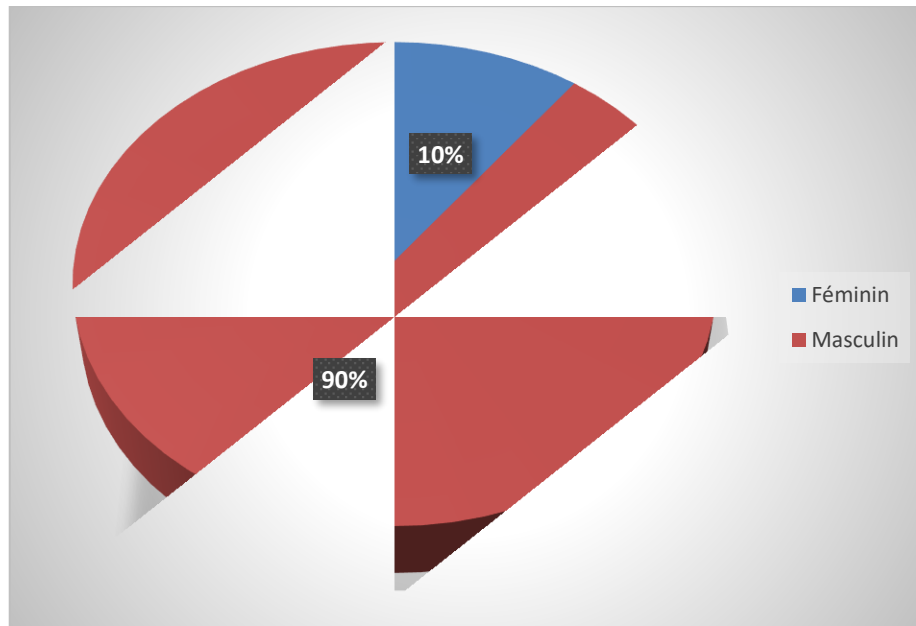


Figure 17 : Représentation de la répartition des personnes enquêtées en fonction du sexe.

- **Age**

La classe dominante dans notre échantillon est celle des 18-34 ans, qui représente 77,93% de celui-ci. Ensuite, nous avons la classe des 35-49 ans (18,31%) suivie par celle des 50-64 ans (2,35%). La proportion restante de l'échantillon représente les personnes de 65 ans et plus (0,94%) et celles de moins de 18 ans (0,47%) (Figure 18).

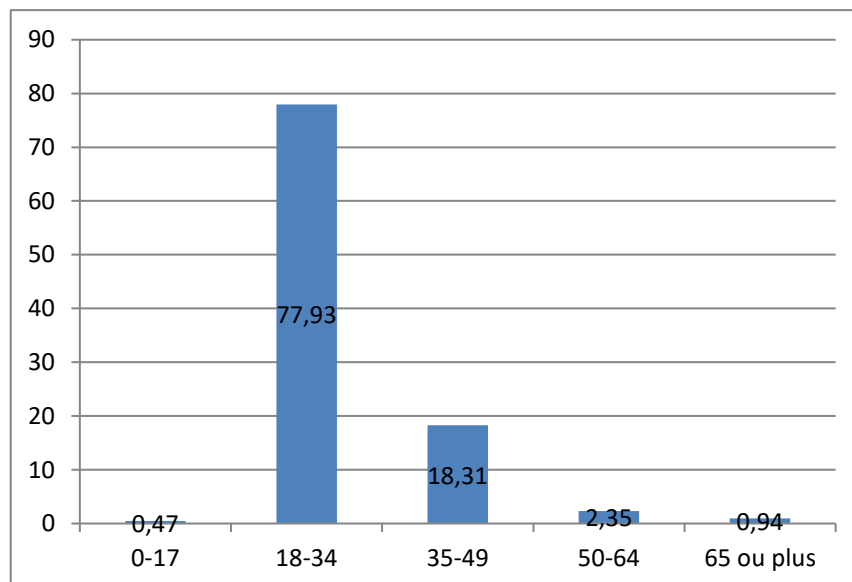


Figure 18 : Répartition des personnes enquêtées en fonction des classes d'âge.

- **Niveau intellectuel**

En ce qui concerne la distribution des personnes enquêtées selon leur niveau intellectuel (Figure 19), la majorité avait le niveau universitaire (83%), les 17% restant se répartissaient entre une scolarisation secondaire, une scolarisation primaire (3%), une scolarisation moyenne (2%) et seulement 2% des interrogés avaient de niveaux d'analphabètes.

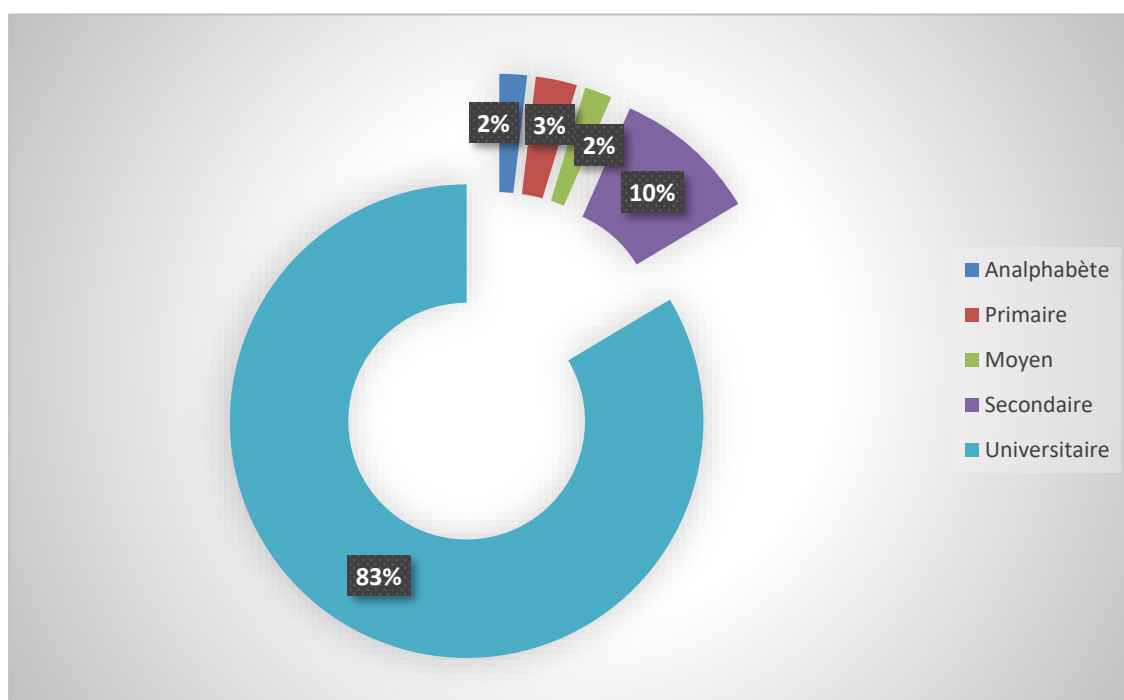


Figure 19 : Répartition des personnes enquêtées en fonction de leurs niveaux intellectuels.

- **Profession**

En ce qui concerne la répartition des répondants selon leur profession (Figure 20), nous constatons que les étudiants constituent la majorité avec 34,27%, suivis des personnes sans emploi avec 31,92%. En troisième position (14,43%) se trouvaient d'autres professions non mentionnées dans notre questionnaire. Les professions médicales et paramédicales représentent 4,69% des répondants, tandis que les cadres ne représentent que 1,4% et les retraités 0,46%.

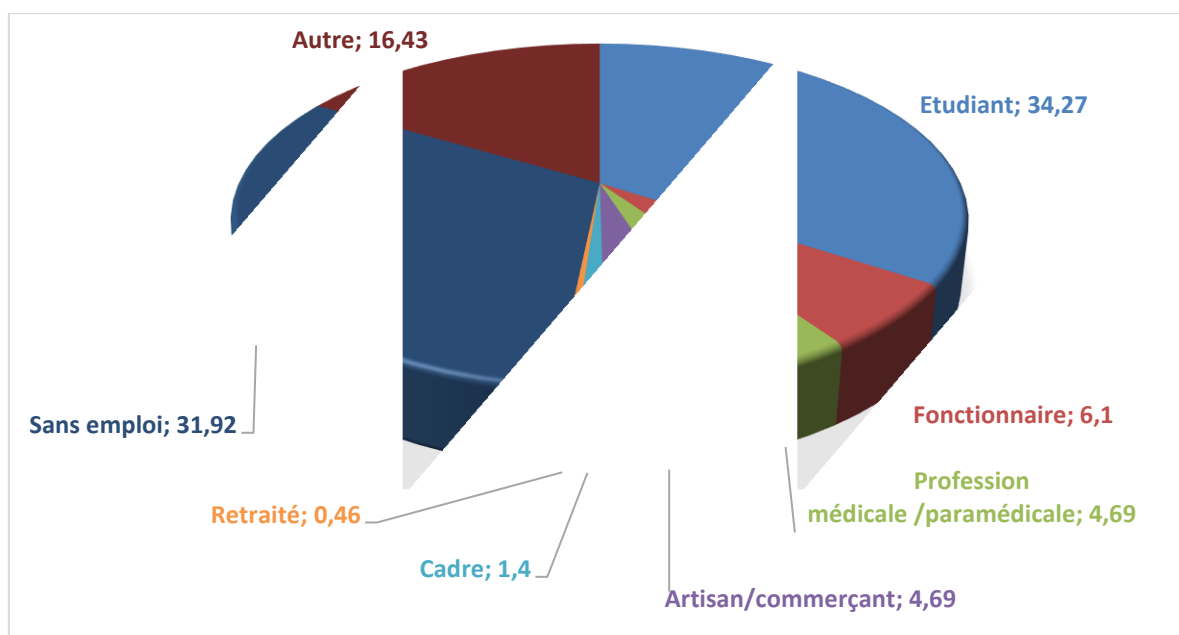


Figure 20 : Répartition des personnes enquêtées en fonction de leurs professions.

- **Utilisation des plantes ou des produits à base de plantes aromatiques**

D'après le chiffre recensés (Figure 21), 99% des personnes étudiées ont affirmé leurs utilisation des plantes aromatiques ou leurs produits.

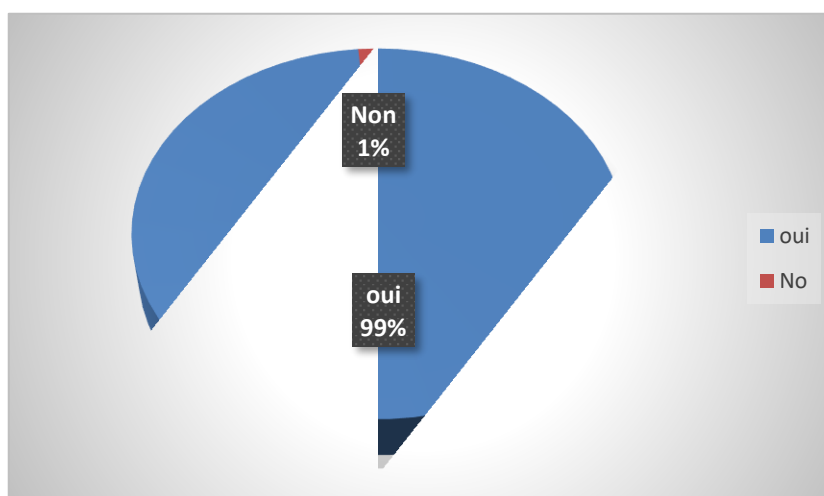


Figure 21 : Taux des personnes enquêtées ayant utilisé des plantes aromatiques.

Ce résultat très élevé est expliqué par le fait que le titre du questionnaire en ligne indique clairement son sujet général, ce qui n'attire que les personnes ayant déjà utilisé ces plantes ou ayant un intérêt pour ce domaine.

En prenant en compte cette constatation, nous pourrions analyser la répartition de la catégorie des personnes utilisant les plantes aromatiques (99%) en utilisant les critères socio-démographiques détaillés précédemment dans la première partie du questionnaire.

Ainsi, nous expliquons la prédominance des femmes parmi les informateurs interrogés probablement par le fait qu'elles sont le plus souvent impliquées dans la préparation de recettes à base de plantes destinées à être utilisées notamment à des fins alimentaires ou thérapeutiques pour les membres de leur famille. Nos résultats concordent avec ceux de Alaoui et Laaribya (2017) et Bentabet et *al.* (2022) qui ont rapporté que les connaissances traditionnelles qui sont préservées et transmises de génération en génération par les populations rurales représentent un héritage familial oral, particulièrement dominant chez les femmes et transmis de mère en fille.

En ce qui concerne la catégorie d'âge, nous avons remarqué que les jeunes étaient les plus nombreux à répondre, ce qui peut sembler en contradiction avec les résultats des études précédentes (Bachiri et *al.*, 2015 et Alaoui et Laaribya, 2017) qui suggèrent que les jeunes s'intéressent moins à la phytothérapie et aux recettes et préparations traditionnelles. Toutefois, cette observation pourrait s'expliquer par le mode de distribution du questionnaire qui a été réalisé en ligne, laquelle est davantage utilisée par les jeunes que par d'autres tranches d'âge.

Les résultats de notre étude ont révélé que les universitaires représentaient la catégorie la plus importante, contrairement à nos attentes qui étaient que les personnes ayant des niveaux intellectuels faibles à modérés seraient les plus grands utilisateurs de plantes, comme cela est communément admis. Cette situation s'explique par deux raisons principales : d'une part, la majorité des répondants étaient des jeunes, et d'autre part, les bienfaits biologiques de différentes plantes ont été largement soulignés lors d'études menées à l'échelle nationale ou régionale, notamment dans le contexte de la pandémie de COVID-19. Cette mise en avant générale de l'utilisation des préparations traditionnelles à base de plantes a donc contribué à un engagement plus large dans la consommation de ces produits.

En ce qui concerne la répartition des utilisateurs en fonction de leur profession, nous avons observé que les étudiants et les personnes au chômage constituent les catégories les plus importantes. Cela peut s'expliquer par la situation socio-économique de ces deux groupes, qui rend le recours à un médecin et l'achat de médicaments plus coûteux que l'utilisation de plantes médicinales.

- **Types de produit végétal souvent utilisé**

Selon notre observation (Figure 22), les individus interrogés ont tendance à acheter davantage de plantes aromatiques, qu'elles soient fraîches ou séchées, avec des pourcentages respectifs de 20,11% et 19,69%. Ceci est expliqué par la facilité d'obtention. Ensuite, les tisanes prêtes à l'emploi sont achetées à 16,53%, suivies des hydrolats à 15,84% et des produits cosmétiques tels que les crèmes à 8,82%. Enfin, le pourcentage le plus bas concerne les compléments alimentaires, tels que les gélules, qui sont achetés à un taux de 4,55%.

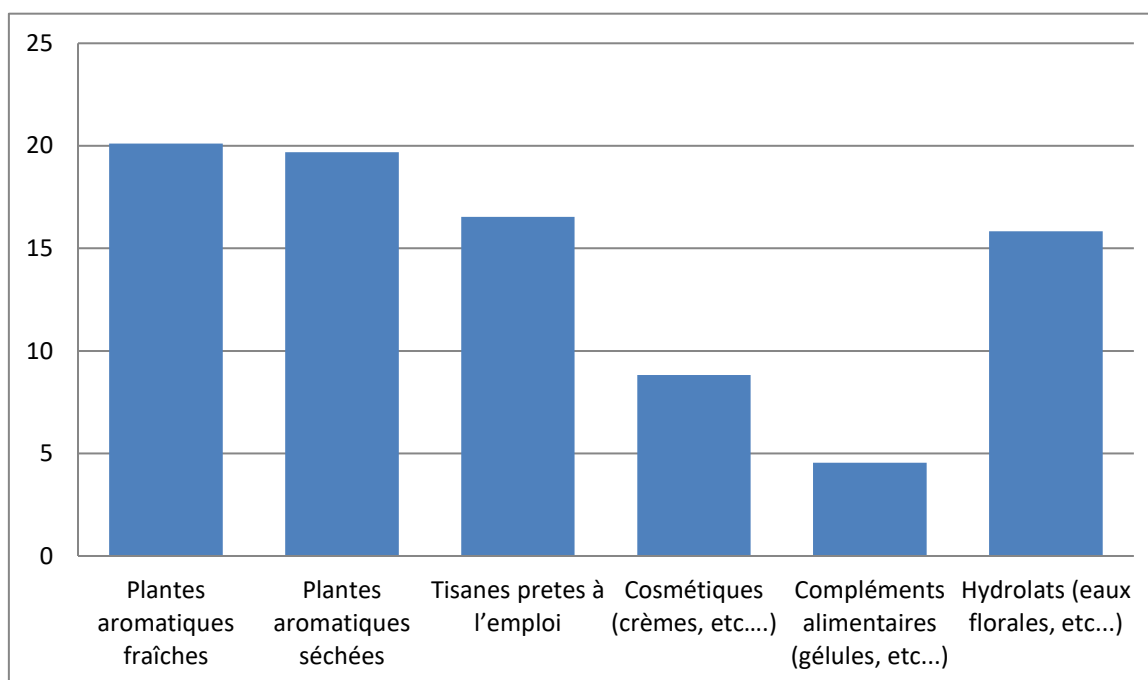


Figure 22 : Taux des types de produits végétaux souvent utilisés.

- **Utilisation éventuelle des huiles essentielles**

Selon notre étude, nous avons constaté que 84,03% contre 15,96% utilisaient les huiles essentielles (Figure 23).

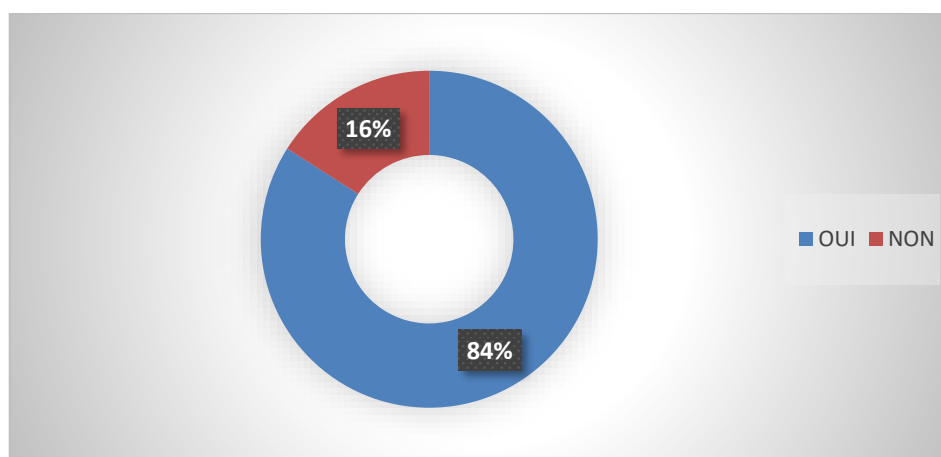


Figure 23 : Taux d'utilisation des HE auprès des gens enquêtés.

- **Lieux d'achat des huiles essentielles**

La majorité des personnes questionnées achètent des huiles essentielles auprès des herboristes (66,66%), tandis que 19,16% les achètent des pharmacies, (10%) des épiceries et supermarchés et enfin 4,16% de ces gens commandent les HE sur des sites Internet (Figure 24).

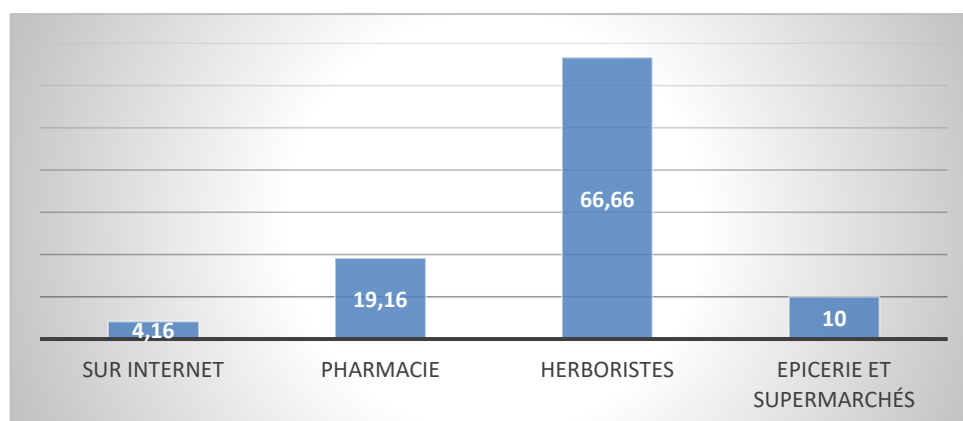


Figure 24 : Taux d'achat d'huiles essentielles là où elles sont vendues.

Nos résultats ont montré que les huiles essentielles sont largement adoptées par les personnes interrogées, avec une utilisation atteignant 84,03%. Cette tendance peut être due à une prise de conscience croissante des bienfaits de ces huiles sur la santé, ainsi qu'à leur usage dans des pratiques médicales alternatives. En ce qui concerne les lieux d'achat, il est intéressant de constater que la majorité des personnes (66,66%) les achètent chez des herboristes, qui bénéficient d'une expertise en plantes et en médecine naturelle rassurant les consommateurs quant à la qualité des produits. Un pourcentage de 19,16% achète en pharmacie, renforçant également la crédibilité des produits offerts. En revanche, seuls 10% des participants achètent des huiles essentielles dans des épiceries ou des supermarchés,

peut-être en raison de la réputation souvent discutée en matière de qualité des produits naturels vendus sur ces espaces.

Enfin, seulement 4,16% des répondants achètent sur des sites internet, peut-être en raison de la méfiance face aux produits contrefaits. En somme, cette étude montre une augmentation de l'utilisation des huiles essentielles par les consommateurs, mais un achat toujours lié à des vendeurs spécialisés et reconnus pour leur expertise.

- **Informations sur la conservation des huiles essentielles**

D'après les données recueillies (Figure 25), la plupart des personnes interrogées ont une bonne compréhension des pratiques recommandées pour la conservation des huiles essentielles. D'après les résultats obtenus, il en ressort que 32,68 % des individus interrogés stockent les huiles essentielles dans des flacons fermés, 29,02 % sont conscients qu'il est nécessaire de les ranger dans un lieu sec, et 27,56 % préfèrent les conserver à l'abri de la lumière. Ceci suggère que la plupart des personnes interrogées ont une compréhension adéquate des pratiques recommandées pour la conservation des huiles essentielles, en adoptant l'une des mesures conseillées.

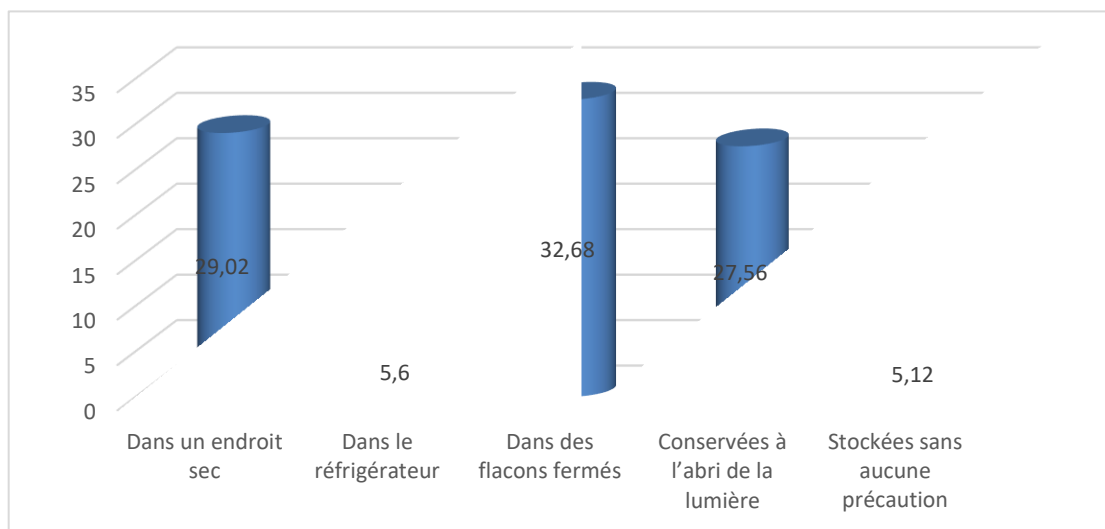


Figure 25 : Évaluation du niveau de connaissances des enquêtés sur la préservation des HE.

Seulement 5,6 % des personnes optent pour le réfrigérateur, une méthode recommandée pour certaines huiles vulnérables à la chaleur et à l'oxydation. Tandis qu'environ 5% des participants ne prennent aucune précaution, ce qui peut affecter la qualité et l'efficacité des huiles essentielles. En conclusion, ces résultats montrent une compréhension suffisante des pratiques de conservation des huiles essentielles, mais il est

primordial de mieux informer les consommateurs sur les bonnes pratiques afin de garantir la qualité et la longévité des huiles.

- **Age de prescription per os des HE aux enfants**

D'après les conclusions, la plupart des individus (à hauteur de 54%) n'administrent pas les huiles essentielles aux enfants. Environ 21% en donnent à partir de l'âge de 7 ans, tandis que 15% en donnent à partir de 3 ans. Seulement 10% donnent des HE dès la naissance (Figure 26).

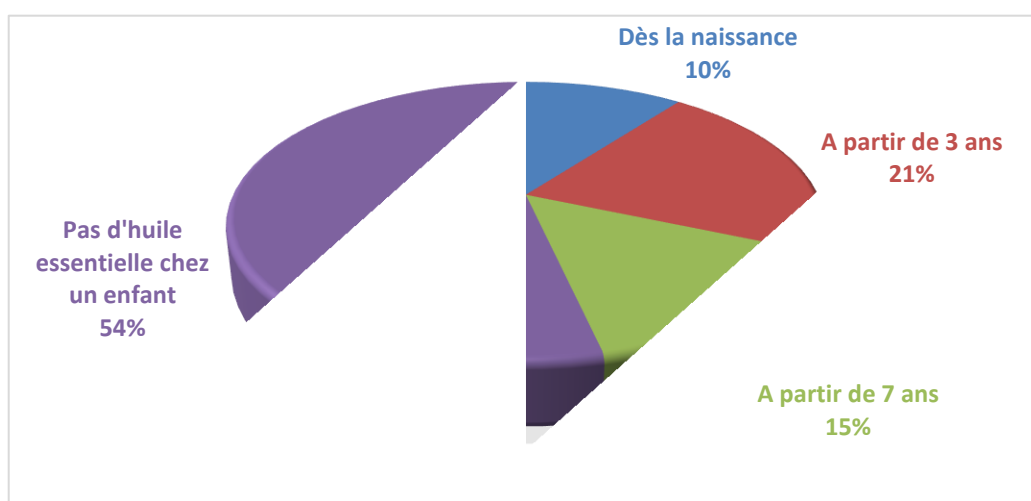


Figure 26 : Age de prescription des HE aux enfants.

Les conclusions de cette étude peuvent être interprétées de différentes manières en fonction du contexte et des normes médicales en vigueur. En général, les résultats suggèrent que la plupart des gens sont méfiants quant à l'utilisation d'huiles essentielles chez les enfants et préfèrent attendre un certain âge avant de les administrer. Cette prudence pourrait être attribuée au fait que certaines huiles essentielles peuvent contenir des ingrédients actifs dangereux pour les enfants, ainsi qu'à une méconnaissance de leur utilisation chez les enfants. Il a été démontré dans certaines études que l'usage des huiles essentielles chez les enfants devrait être effectué avec prudence et qu'il peut y avoir des effets secondaires tels que des irritations de la peau, des problèmes gastro-intestinaux et des problèmes respiratoires. En outre, les normes médicales peuvent varier d'un pays à l'autre et d'une culture à l'autre, il est donc important de prendre en compte les recommandations spécifiques à chaque contexte lors de l'utilisation des huiles essentielles chez les enfants.

En somme, même si la majorité des individus ne sont pas prêts à administrer des huiles essentielles aux enfants, il est important de se référer aux normes médicales spécifiques à chaque contexte et de mener des recherches approfondies avant toute utilisation chez les enfants.

- **Mode d'utilisation des huiles essentielles**

En analysant les réponses des enquêtés, il est possible de constater que la majorité des utilisations recensées des huiles essentielles se font par application cutanée avec un taux de 63%. Cette popularité peut s'expliquer par sa simplicité et son efficacité pour absorber les huiles essentielles à travers la peau, offrant ainsi des avantages pour la santé.

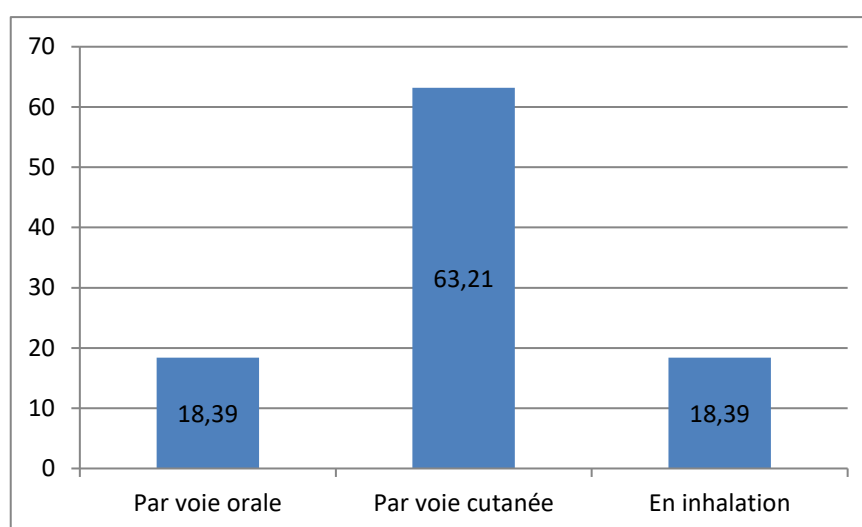


Figure 27 : Modes d'utilisation des huiles essentielles.

En revanche, l'utilisation orale et l'inhalation sont toutes deux utilisées à hauteur de 18,39%. Bien que l'inhalation soit une méthode courante pour obtenir rapidement les bienfaits des huiles essentielles pour soulager certaines conditions respiratoires, l'utilisation orale est controversée et doit être pratiquée sous la supervision d'un professionnel de la santé qualifié car elle peut présenter des risques pour la santé. Il est à noter que ces résultats ne sont pas forcément représentatifs de l'ensemble de la population et que l'utilisation des huiles essentielles doit être faite avec prudence et sous contrôle médical.

- **Le girofle**
 - **Utilisation du girofle**

Nous avons constaté que la majorité des personnes étudiées (96%) ont déjà utilisé le girofle (Figure 28).

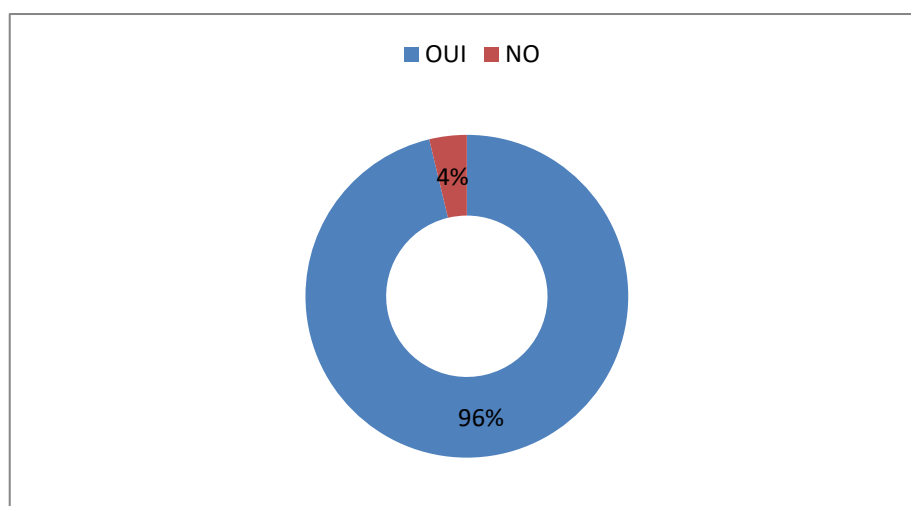


Figure 28 : Taux d'utilisation du girofle.

- **Usage de la plante**

En se basant sur les témoignages de personnes ayant déjà expérimenté l'utilisation du clou de girofle, il ressort que celui-ci était principalement utilisé à des fins thérapeutiques à hauteur de 55%, suivi de son usage dans le domaine alimentaire, qui représentait 32% des cas, et enfin dans le domaine cosmétique à 13% des cas (Figure 29).

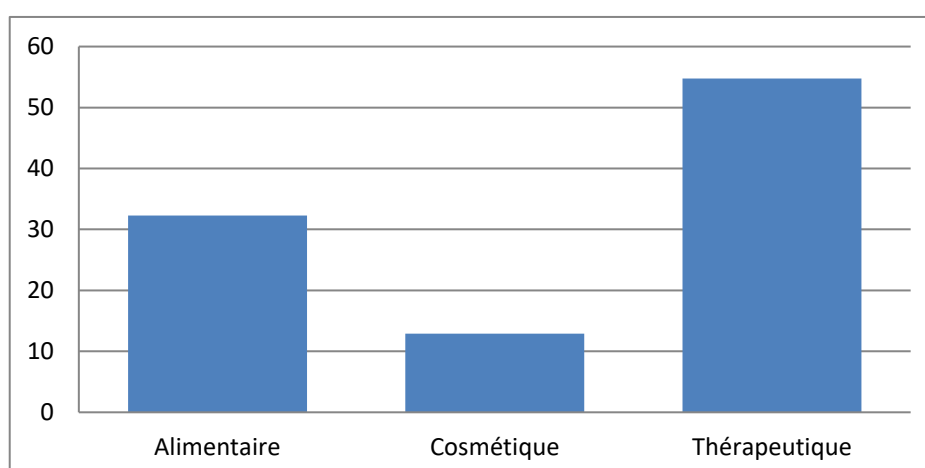


Figure 29 : Fins d'usage du girofle.

Ces résultats indiquent que la plupart des personnes étudiées ont eu recours au clou de girofle, ce qui laisse supposer que cette épice est très répandue dans la vie de tous les jours.

De plus, il est pertinent de noter que la majorité des utilisations de cette épice ont été à des fins thérapeutiques, ce qui souligne les vertus médicinales attribuées au clou de girofle. Par ailleurs, l'utilisation de cette épice dans le domaine culinaire était également courante, témoignant ainsi de son utilisation fréquente pour apporter de la saveur et de l'odeur aux aliments. Pour finir, l'utilisation du clou de girofle dans le domaine cosmétique était moins répandue, mais cela suggère que cette épice peut aussi être utile pour améliorer l'apparence de la peau et des cheveux. En général, cette étude suggère que le clou de girofle est une épice très polyvalente, utilisée de manière extensive à des fins médicinales, culinaires et cosmétiques.

- Élément utilisé

D'après les résultats des réponses obtenues (Figure 30), il apparaît que la majorité des utilisateurs (57%) favorisent l'utilisation du bouton floral pour ses nombreux usages et sa simplicité d'utilisation. Il est intéressant de remarquer que l'huile essentielle arrive en seconde position (26 %) dans les préférences, car elle est reconnue pour sa grande efficacité thérapeutique et sa longue durée de conservation. La poudre de bouton floral est également une forme appréciée (16%), probablement en raison de sa polyvalence en cuisine et sa capacité à être ajoutée à des boissons chaudes. Finalement, l'extrait aqueux demeure la forme la moins populaire (1%), peut-être du fait de sa faible concentration en ingrédients actifs ou de la nécessité de le mélanger à d'autres ingrédients pour une utilisation efficace.

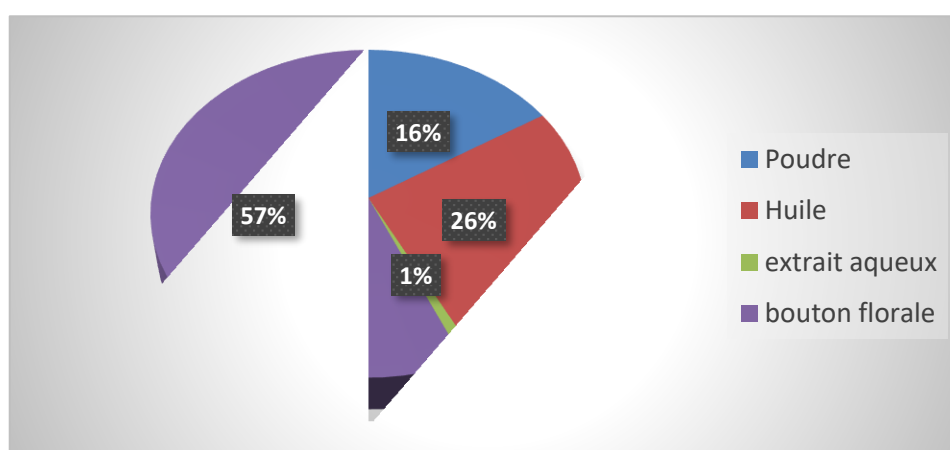


Figure 30 : Formes d'utilisation du girofle.

Les individus déclarant avoir utilisé cette huile essentielle (26%) ont rapporté recourir à l'huile essentielle de girofle en tant qu'analgésique pour soulager les douleurs dentaires, articulaires et les céphalées.

- Degré de satisfaction après utilisation de l'HE du girofle

D'après les témoignages de personnes ayant utilisé l'huile essentielle de girofle, il a été constaté que leur niveau de satisfaction variait. La majorité (71,27%) des utilisateurs était satisfaite, 23,4% étaient très satisfaits. Tandis que 4,25% ont déclaré être légèrement satisfaits et seulement 1,06% étaient insatisfaits (Figure 31).

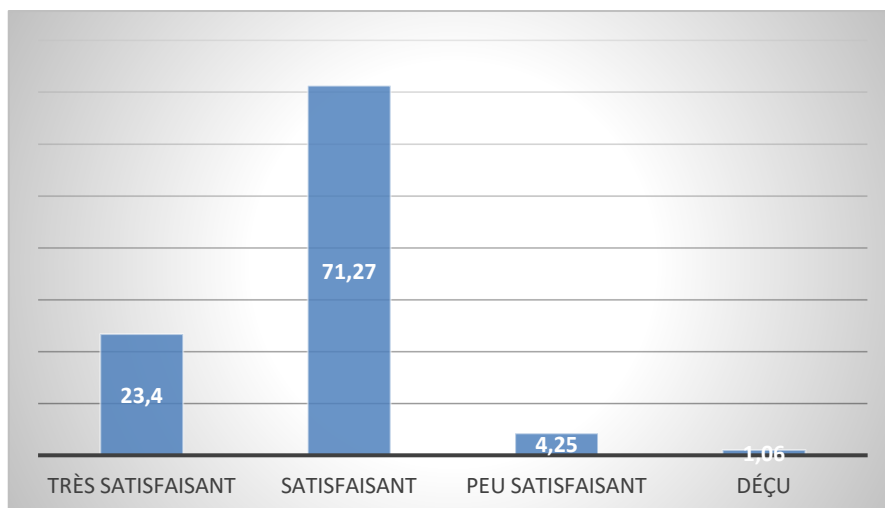


Figure 31 : Taux de satisfaction après utilisation de l'HE du girofle.

- Constatation éventuelle des effets indésirables

D'après les résultats présentés par la figure 32, il ressort que la grande majorité des personnes ayant utilisé l'huile essentielle de girofle, soit 88%, ont déclaré qu'elle ne causait pas d'effets secondaires.

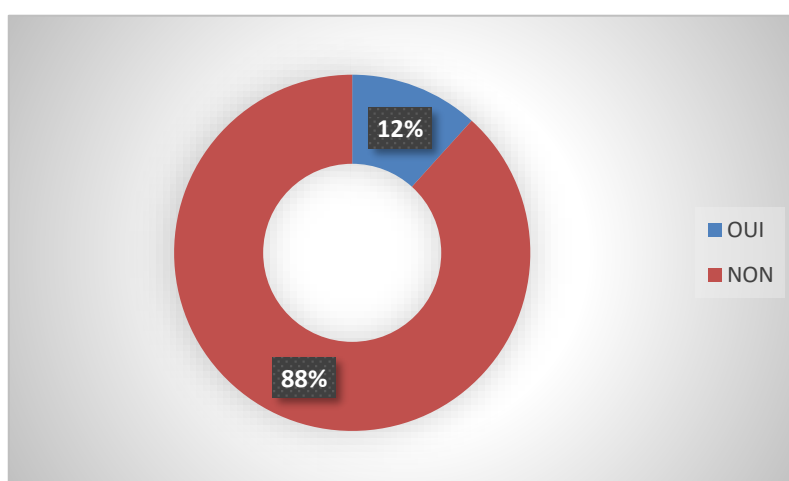


Figure 32 : Taux d'observation d'effets indésirables après utilisation de l'HE de girofle.

Toutefois, certains utilisateurs ont signalé des effets secondaires indésirables tels qu'une légère sensation d'engourdissement de la bouche et de la langue, des problèmes bucco-dentaires et de la gingivite, une sensation d'anesthésie et des cheveux secs. Il convient

de noter que l'utilisation de l'huile essentielle de girofle peut avoir des résultats différents selon les individus et que les effets secondaires potentiels doivent être pris en compte avant son utilisation. Il est recommandé de consulter un professionnel de la santé avant d'utiliser une huile essentielle, surtout si vous avez des problèmes de santé ou si vous êtes enceinte ou allaitante.

- **Le romarin**

- **Utilisation du romarin**

Il a été affirmé par 87% des personnes interrogées qu'elles utilisent du romarin (Figure 33).

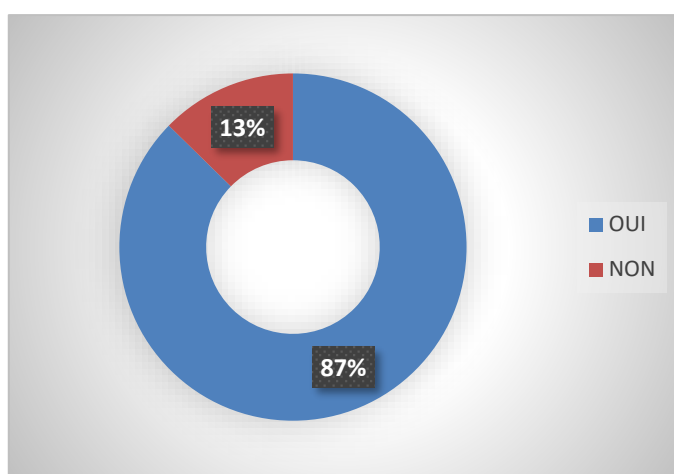


Figure 33 : Taux d'utilisation du romarin.

- **Motifs d'usage de la plante**

Le constat selon lequel 87% des personnes interrogées utilisent du romarin est significatif et indique que cette herbe est répandue dans la société. Le romarin est une herbe couramment utilisée en cuisine et pour ses propriétés médicinales et cosmétiques. A l'instar du cas du clou de girofle, les individus utilisant le romarin ont indiqué y avoir principalement recours pour des motifs thérapeutiques (40%) (Figure 34), ce qui est cohérent avec les études scientifiques qui ont démontré ses bienfaits pour la santé humaine.

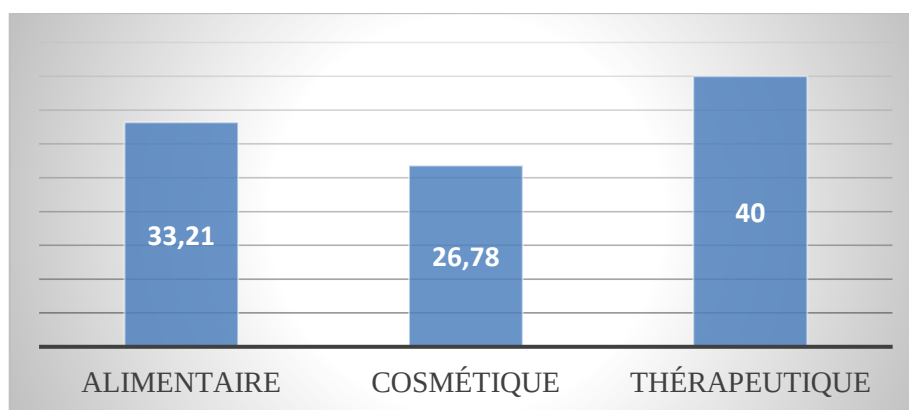


Figure 34 : Motifs d'utilisation du romarin.

Environ 33,21% des utilisateurs de romarin l'apprécient pour son goût en cuisine, où il est souvent utilisé pour aromatiser les viandes, légumes et soupes. Enfin, 27,78% des utilisateurs de romarin l'utilisent pour des soins cosmétiques, car il possède des propriétés antioxydantes et antibactériennes qui peuvent contribuer à la croissance des cheveux, réduire les pellicules et améliorer l'apparence de la peau. Cette étude montre que le romarin est largement utilisé pour ses applications thérapeutiques, alimentaires et cosmétiques, soulignant ainsi son importance pour la santé et le bien-être.

- Formes d'usages du romarin

Selon les résultats présentés par la figure, il est évident que les feuilles sont la partie du romarin la plus utilisée avec une proportion de 43%, suivies de la plante entière à 34% et de l'huile à 14%. En revanche, la poudre et l'extrait aqueux sont les moins utilisés avec respectivement seulement 4% et 5%.

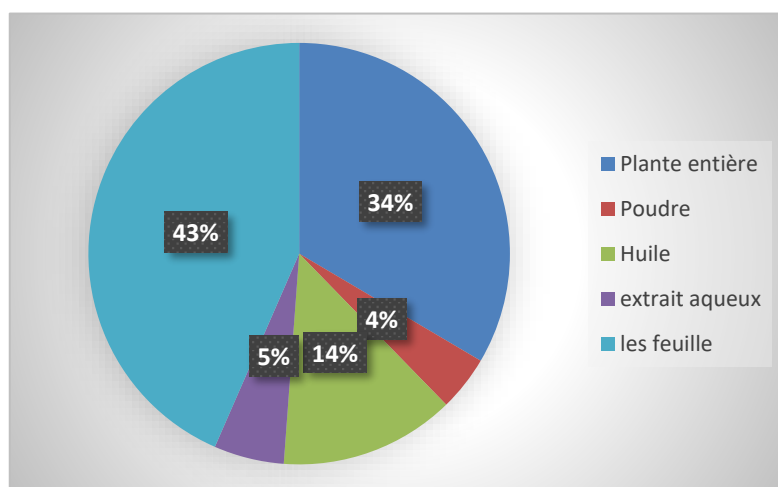


Figure 35 : Formes d'usage du romarin.

Cela peut être expliqué par le fait que la plupart des informateurs ignorent probablement la présence d'huiles essentielles dans cette plante, ainsi que par le manque de ressources, d'outils, de connaissances et d'expérience nécessaires pour valoriser efficacement cette plante.

Selon les résultats, 14% des participants qui ont admis avoir utilisé de l'huile essentielle de Romarin ont déclaré l'avoir utilisée pour traiter la chute de cheveux, renforcer et allonger les cheveux ; traiter les problèmes de peau comme le mélasma; et pour soulager les douleurs abdominales.

Ces utilisateurs ont connu des niveaux de satisfaction différents après avoir utilisé le produit (Figure 36). En effet, 43,47% ont qualifié leur expérience de satisfaisante, 26,08% ont été très satisfaits, un pourcentage légèrement inférieur a été légèrement satisfait et enfin 4,34% ont exprimé leur insatisfaction.

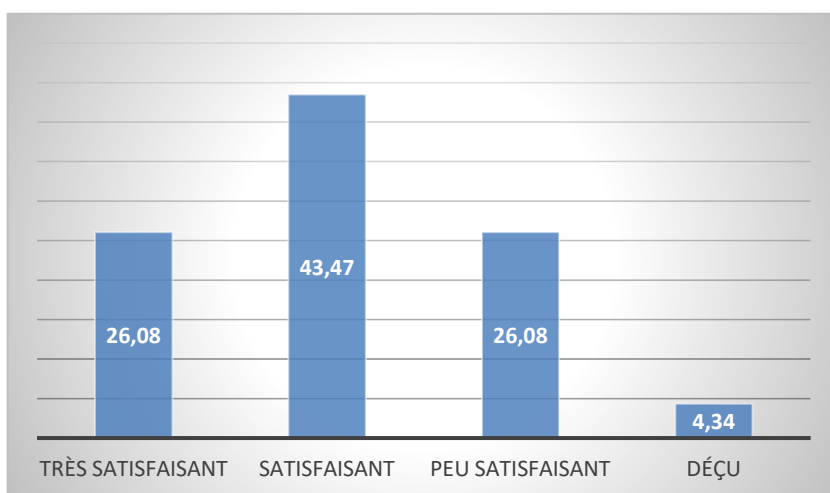


Figure 36 : Degré de satisfaction après utilisation de l'HE du romarin.

- Effets secondaires constatés

Un taux de 87% des individus ayant utilisé l'HE ont déclaré ne pas avoir ressenti des effets secondaires (Figure 37). Tandis que 13% ont signalé avoir remarqué des symptômes non spécifiques notamment une allergie suite à l'odeur forte de l'huile.

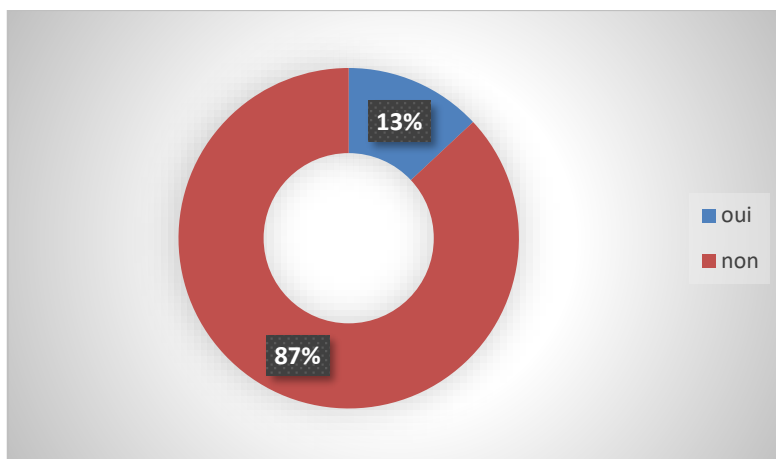


Figure 37 : Taux de constations des effets indésirables après utilisation de l'HE du romarin.

IV.2. Résultats de l'étude expérimentale sur les huiles essentielles

IV.2.1. Rendement en huiles essentielles

L'extraction de nos échantillons effectués par hydrodistillation a fourni les rendements moyens de 2,44% pour l'huile de girofle et de 0,5 % pour le romarin (tableau).

Tableau 04 : Taux de rendement en HE des deux plantes étudiées.

Plante	Extraction n°	Poids végétal (g)	Poids d'HE (g)	Rendement (%)	Moyenne (%)
Le clou de girofle	1	50	1,35	2,7	2, 44
	2	30	0,65	2,17	
Romarin	1	30	0,09	0,3	0, 5
	2	30	0,21	0,7	

Le faible rendement en HE du girofle de 2,44% peut être attribué à une perte d'huile dans la phase aqueuse du distillat et à la simplicité de notre dispositif d'hydrodistillation. En termes de quantité, bien que ce pourcentage soit inférieur aux normes AFNOR (5% - 8%), ce rendement reste satisfaisant dans le contexte de cette étude.

En termes de valeurs, le rendement en HE de clous de girofle est significativement meilleur par rapport aux rendements rapportés par Adli (2015) qui a enregistré un rendement égal à 0,84%, et ceux enregistrés par Hamad et *al.* (2017), qui ont obtenu un rendement de 0,75%. D'autre part, nos résultats sont largement inférieurs à ceux de Banouh et Azzouz

(2019), qui ont obtenus un taux de 3,4%, ainsi que ceux de Adli et *al.* (2017) qui ont rapporté un rendement de l'huile de girofle à 10,60 %.

En ce qui concerne l'HE du romarin, nos résultats (0,5%) sont conformes aux exigences des normes AFNOR (0,5-2%). La valeur du rendement enregistrée durant ce travail est supérieure à celle (0,35%) de Bousbia (2011) et inférieure à celles rapportées par l'étude de Bozin et *al.* (2008) qui ont enregistré un rendement de 1,18% et ceux de Messabhia et *al.* (2022) obtenant un taux de 1,63%.

Ces divergences entre les différents résultats sont dues aux différents facteurs : les espèces végétales, les saisons, les régions géographiques, les produits et les réactifs utilisés dans l'extraction, les organes, le génotype des plantes, la période de récolte, le degré les conditions le temps et la température de séchage et la présence des mauvaises herbes (Ghasemian, 2019).

IV.2.2. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles extraites

Les propriétés organoleptiques des huiles extraites de chacune des plantes étudiées sont exposées dans le tableau suivant.

Tableau 05 : Propriétés organoleptiques des HE du girofle et du romarin.

Huile essentielle	Couleur	Aspect	Odeur	Saveur
Huile de girofle	Liquide jaune clair	Limpide	Caractéristique	Piquante
Huile de romarin	Jaune verdâtre.	Limpide	Caractéristique	Douce

IV.2.3. Potentiel hydrogène (pH)

Le pH enregistré des deux huiles extraites soit celle du clou de girofle et celle du romarin est aux environs de la valeur 5. Cette valeur indique une faible acidité. Le degré d'acidité est lié à la fraîcheur et les conditions de stockage des plantes aromatiques. Il varie d'un genre à un autre, et plus l'acidité est élevée, meilleure sera la qualité sanitaire de l'huile (Alili et *al.*, 2022). La valeur du pH enregistrée durant notre étude est inférieure à celle rapportée par Bouzaa et *al.* (2022) pour l'huile de girofle (pH = 6,79).

IV.2.4. Densité relative

Les résultats du calcul de la densité relative à 20°C pour les deux huiles sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 06 : La densité de romarin et du girofle.

Poids de la seringue vide	Poids de la seringue eau	Poids de la seringue girofle	Poids de la seringue romarin	Densité de girofle	Densité de romarin
6,44 g	7,03 g	7,10 g	7,22 g	1,32	1,11

La valeur de la densité relative de l'huile essentielle de girofle est de 1,32 pour le girofle. Ce résultat est en accord avec les normes.

Tandis que l'HE du romarin a montré une densité relative de 1,11. Cette valeur supérieur à celle de l'eau et non conformes aux exigences de la norme AFNOR qui indique que la densité du romarin est comprise entre 0,907 et 0,920, ainsi qu'aux données de la littérature telles que celles de Bousbia (2011). Ceci pourrait s'expliquer par des erreurs dans le calcul ou dans le protocole d'extraction.

IV.3. Résultats de l'étude de l'activité antibactérienne des deux huiles essentielles testées

La mesure du diamètre de la zone d'inhibition permet d'estimer la sensibilité ou la résistance d'une souche bactérienne à une huile essentielle donnée (Fertout-Mouri et al, 2016).

IV.3.1. Résultats de l'aromatogramme

L'aromatogramme est une méthode dérivée de la méthode des disques qui permet de comparer l'efficacité des huiles essentielles entre elles. Les disques sont tous chargés de la même quantité d'huile essentielle, ce qui permet de sélectionner l'huile essentielle la plus efficace pour une bactérie donnée.

Les résultats du test d'antibiogramme montrent une variation dans l'efficacité de l'huile essentielle de clou de girofle et du romarin ainsi que celle des deux antibiotiques testés à savoir le chloramphénicol et la gentamycine vis-à-vis des souches bactériennes

testées : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella* Kentucky et *Salmonella* Infantis.

Le tableau indique que les six souches bactériennes qui ont été testées étaient sensibles au chloramphénicol. La souche *Salmonella* Infantis a présenté le diamètre d'inhibition le plus faible, avec 23 mm, tandis que la bactérie *Staphylococcus Aureus* a présenté le plus grand diamètre d'inhibition, avec 33 mm. Hormis la souche *Salmonella* Kentucky, qui était résistante à la gentamycine, cet antibiotique a été également efficace contre les autres souches bactériennes testées. Pour *Staphylococcus aureus*, un diamètre d'inhibition de 28 mm a été observé. En revanche, le DMSO utilisé en tant que contrôle négatif n'a démontré aucune activité antibactérienne pour toutes les souches testées.

Les résultats des tests effectués ont montré que les effets antibactériens des deux huiles essentielles testées variaient selon les souches bactériennes et d'une huile à l'autre. L'huile essentielle de clou de girofle a montré une inhibition modérée (17 mm) sur *Salmonella* Kentucky initialement résistante à la gentamycine, mais son action était relativement faible sur *E. coli* (13 mm). Toutefois, cette huile a montré une excellente action sur *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* Infantis et *bacillus subtilis* subsp. *spizizenii*, atteignant un diamètre d'inhibition de 40 mm sur *Pseudomonas aeruginosa*. Nos résultats sont en accord avec ceux de Rhayour et al (2002) qui ont rapporté que l'huile essentielle de clou de girofle est fortement antibactérienne. La première étude démontrant le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle du clou de girofle était menée en 1947 par Bartel. L'activité antibactérienne de *Syzygium Aromaticum* L., pourrait s'expliquer par la présence de différents constituants, notamment son composé majoritaire qui est l'eugénol (Scalbert, 1991 ; Bruneton, 1993 ; Elegami et al, 2002 Hatano et al., 2005 ; Sanogo, 2006 ; Surveswaran et al, 2007).

Les travaux de Valero et Giner en 2006, ont prouvé que l'eugénol parmi d'autres composés a provoqué l'inhibition de la croissance des bactéries *Escherichia coli* et *Pseudomonas auroginosa*.

Tableau 07 : Résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles étudiées par aromatogramme.

Souches bactériennes	Diamètres				
	C	CN	HEg	HEr	DMSO
<i>Escherichia coli</i>	30	24	13	12	6
	S	S	(+)	(+)	(-)
<i>Staphylococcus aureus</i>	33	28	20	27	6
	S	S	(+++)	(+++)	(-)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27	21	40	6	6
	S	S	(+++)	(-)	(-)
<i>Bacillus subtilis subsp. Spizizenii</i>	27	30	31	18	6
	S	S	(+++)	(++)	(-)
<i>Salmonella Kentucky</i>	27	11	17	6	6
	S	R	(++)	(-)	(-)
<i>Salmonella Infantis</i>	23	22	20	6	6
	S	S	(+++)	(-)	(-)

C : Chloramphénicol, CN : Gentamycine, HEg : Huile essentielle du girofle ; HEr : Huile essentielle du romarin ; S : Sensible, R : Résistant, (-) : Non sensible ou résistant, (+) : Sensible, (++) : Très sensible, (+++) : Extrêmement sensible.

En ce qui concerne l'huile essentielle du romarin, un effet antibactérien contre les souches à Gram positif a été observé. Une excellente inhibition a été notée contre le *Staphylococcus aureus* avec un diamètre de 27 mm. L'effet de l'HE du romarin était également remarquable contre le *Bacillus subtilis subsp. Spizizenii* en enregistrant un diamètre d'inhibition de 18 mm. En ce qui concerne les souches à Gram négatif, en dehors d'une légère action inhibitrice sur *E. coli* avec un diamètre de 12 mm, l'huile essentielle de romarin n'a démontré aucune activité antibactérienne contre les quatre autres souches.

L'étude réalisée par Mouas et *al.*, en 2017 soutient nos propres résultats concernant la sensibilité de *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* à l'huile essentielle de romarin.

Ces résultats révèlent que l'huile essentielle du girofle s'est avérée le plus actif et possède un large spectre d'action contre toutes les souches testées. Tandis que l'huile du romarin a montré une activité restreinte contre les bactéries à Gram positif.

L'efficacité microbienne d'une huile essentielle est due à la nature et à la teneur de ses différents constituants. Des études antérieures ont indiqué que les composés polys phénoliques sont responsables de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes (Funatogawa et *al.*, 2004 ; Buzzini et *al.*, 2008 ; Min et *al.*, 2008). En outre, de nombreux auteurs, ont constaté que le changement dans la composition chimique d'HEs affecte directement leurs propriétés biologiques (Celiktaş et *al.*, 2007; Van Vuuren et *al.*, 2009). La sensibilité d'un microorganisme à l'huile essentielle dépend des propriétés de l'huile et du microorganisme (Ferah et *al.*, 2002).

En 2014, Seladji a entrepris une évaluation de la sensibilité de certaines bactéries à l'huile essentielle de clou de girofle. Les résultats ont démontré que les souches bactériennes à Gram négatif, en particulier *Pseudomonas* et *Escherichia coli*, étaient très sensibles à l'huile essentielle de clou de girofle. En revanche, aucune activité antibactérienne n'a été observée contre *Staphylococcus aureus*.

Une étude ultérieure menée par Boukartaba et Hammoum en 2019 a révélé que *Bacillus cereus* était le plus sensible à l'huile essentielle de clou de girofle avec une zone d'inhibition de 30 mm, suivi d'*Escherichia coli* avec 21 mm et *Pseudomonas aeruginosa* avec 14 mm. Les travaux de Benfekih en 2015 ont montré une activité moyenne de l'huile essentielle de clou de girofle vis-à-vis des bactéries à Gram négatif, avec une zone d'inhibition de 10,5 mm à 15 mm, mais aucune activité contre la bactérie *Staphylococcus*. Certains auteurs (Tamboli et Lee, 2013 ; Yala et *al.*, 2016) ont expliqué la différence de sensibilité aux antimicrobiens entre les bactéries Gram positif et Gram négatif par la structure et à la composition de leurs enveloppes cellulaires (membrane cytoplasmique, membrane externe et paroi cellulaire).

Une étude réalisée par Leclerc et *al* en 1995 a révélé que la membrane externe de lipopolysaccharides chez les bactéries Gram négatif constituait une barrière imperméable aux substances hydrophobes, ce qui les rend moins susceptibles de croître. En revanche, les bactéries Gram positif ne possédant pas cette membrane externe, la couche de peptidoglycane étant située à l'extérieur, elles sont plus sensibles au contact avec les huiles essentielles (Burt, 2004). De plus, les bactéries Gram négatif présentent souvent des

protéines membranaires appelées pompes à efflux, qui expulsent les agents antimicrobiens de la cellule avant qu'ils ne puissent agir, comme le souligne Loucif en 2011.



Figure 38 : Résultat de la méthode aromatogramme sur *Bacillus subtilis* subsp. *Spizizenii* (Photo personnelle).

IV.3.2. Résultats du test de micro-Atmosphère

Certains auteurs (Tamboli et Lee, 2013 ; Yala et *al.*, 2016) ont expliqué la différence de sensibilité aux antimicrobiens entre les bactéries Gram positif et Gram négatif par la structure et à la composition de leurs enveloppes cellulaires (membrane cytoplasmique, membrane externe et paroi cellulaire).

Une étude réalisée par Leclerc et *al* en 1995 a révélé que la membrane externe de lipopolysaccharides chez les bactéries Gram négatif constituait une barrière imperméable aux substances hydrophobes, ce qui les rend moins susceptibles de croître. En revanche, les bactéries Gram positif ne possédant pas cette membrane externe, la couche de peptidoglycane étant située à l'extérieur, elles sont plus sensibles au contact avec les huiles essentielles (Burt, 2004). De plus, les bactéries Gram négatif présentent souvent des protéines membranaires appelées pompes à efflux, qui expulsent les agents antimicrobiens de la cellule avant qu'ils ne puissent agir, comme le souligne Loucif en 2011.

Ce résultat pourrait s'expliquer également par le fait que les doses utilisées n'étaient pas suffisantes ou par une absence de composants à propriétés antibactériennes dans la phase gazeuse de l'HE du romarin. En ce qui concerne l'huile essentielle du girofle, nous n'avons pas observé des zones d'inhibitions montrées par aucune des souches bactériennes testées en utilisant une quantité de 5 μ L, tandis qu'une dose de 10 μ L a montré un effet antibactérien faible sur *Staphylococcus aureus* (12 mm) et très bon sur le *Bacillus subtilis* (22 mm). Ces deux bactéries ayant montré une certaine sensibilité vis-à-vis la phase volatile de cette huile

appartiennent aux groupe des bactéries à Gram positif. Aucune inhibition n'a été observé par la phase volatile de l'huile du romarin pour le reste des souches ayant un Gram négatif.

Tableau 08 : Valeurs des diamètres d'inhibition par la phase volatile des souches testées.

Souches bactériennes	HEg		HEr	
	5 µL	10 µL	5 µL	10 µL
<i>E. coli</i>	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	12 (+)	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0	0
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>Spizizenii</i>	0	22 (+++)	0	0
<i>Salmonella</i> Kentucky	0	0	0	0
<i>Salmonella</i> Infantis	0	0	0	0

Cette observation concorde avec plusieurs publications sur l'activité antibactérienne des HE (Fontanay et *al.*, 2015). Ainsi, il est généralement connu que les bactéries Gram négatif sont considérées comme étant plus résistantes aux huiles essentielles que les bactéries à Gram positif (Su et *al.*, 2012 ; Ait Chaouche, 2018).



Figure 39 : Résultat de méthode atmosphère pour *Staphylococcus aureus* (Photo personnelle).

IV.3.3. Évaluation de l'activité antibactérienne de l'association huiles/antibiotiques

Les résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'association entre chaque huile essentielle testée et chacun des antibiotiques utilisés sont exposés dans les tableaux 9, 10, 11 et 12.

Bien que non significatives d'un point de vue statistique ($P > 0,05$) sur l'ensemble des associations effectuées, des variations différentes ont été observées sur plusieurs cas de combinaisons huile/antibiotique.

- **Association huile essentielle de girofle/ chloramphénicol**

Les résultats du tableau ont révélé un effet antagoniste notable sur l'efficacité de l'huile essentielle de girofle contre le *Pseudomonas aeruginosa* après sa combinaison avec le chloramphénicol. Le diamètre de la zone d'inhibition est passé de 40 mm à 21 mm. Un constat similaire a été fait avec le *Bacillus subtilis*, où le diamètre de la zone d'inhibition a diminué de 8 mm. On a également observé une diminution de l'efficacité de l'huile essentielle de girofle après son association avec le chloramphénicol pour les deux souches de salmonelles et le *Staphylococcus aureus*, bien que dans une moindre mesure. Une indifférence résultante de cette association a été notée avec l'*E.coli*

Tableau 09 : Valeurs des diamètres d'inhibition due à l'association HEg au chloramphénicol.

Souches	Chloramphénicol		P	HE de girofle		P
	Seul	Associé		Seule	Associée	
<i>E. coli</i>	30	26	0,68	13	12	0,06
<i>Staphylococcus aureus</i>	33	28		20	17	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27	31		40	21	
<i>Bacillus subtilis</i>	27	28		31	23	
<i>Salmonella</i> Kentucky	27	24		17	14	
<i>Salmonella</i> Infantis	23	26		20	16	

En ce qui concerne l'effet de l'autre molécule antibiotique représentée par le chloramphénicol, des variations légères ont été observées suite à son association à l'HE de girofle et ce pour l'ensemble des souches. Ces variations vont d'un effet légèrement antagoniste avec *Staphylococcus aureus*, *E.coli* et *Salmonella* Kentucky à un effet synergétique relativement faible avec *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella* Infantis, en passant par une indifférence dans son effet contre le *Bacillus subtilis*.

- **Association huile essentielle du girofle/gentamycine**

A l'instar de l'association de l'huile essentielle du girofle avec le chloramphénicol, les résultats de son association à la gentamycine présentés par le tableau, ont également montré une diminution nette de l'activité de l'huile sur le *Pseudomonas aeruginosa*. Le diamètre de la zone d'inhibition est passé de 40 mm à 19 mm. D'autres réductions de l'effet de l'huile de girofle ont été notées avec le *Bacillus subtilis*, *Salmonella* Kentucky et *Salmonella* Infantis. La zone d'inhibition du *Staphylococcus aureus* s'est légèrement agrandie, tandis qu'une indifférence nette a été observée pour l'*E. coli*.

En revanche, l'activité de l'antibiotique n'a pas montré des variations attirantes après son association à l'huile essentielle, de légères augmentations ou réductions dans les zones d'inhibition n'excédant pas les 5 mm ont été notées avec l'ensemble des souches testées.

Tableau 10 : Valeurs des diamètres d'inhibition due à l'association HEg à la gentamycine.

Souches	Gentamycine		P	HE de girofle		P
	Seule	Associée		Seule	Associée	
<i>E. coli</i>	24	19	0,15	13	13	0,15
<i>Staphylococcus aureus</i>	28	26		20	24	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21	24		40	19	
<i>Bacillus subtilis</i>	30	27		31	22	
<i>Salmonella</i> Kentucky	11	10		17	14	
<i>Salmonella</i> Infantis	22	19		20	13	

- **Association huile essentielle du romarin/chloramphénicol**

Les résultats obtenus pour cette association ont révélé que l'activité antibactérienne limitée de l'huile essentielle de romarin enregistrée précédemment n'a pas été améliorée après son association avec le chloramphénicol. L'huile a perdu son effet sur *E. coli*. De plus, son activité contre le *Staphylococcus aureus* a considérablement diminué. De manière globale, l'indifférence a caractérisé le reste des résultats. De même pour l'effet du chloramphénicol, son association à l'huile du romarin n'a pas été concluante, les variations enregistrées n'étaient pas intéressantes.

Tableau 11 : Valeurs des diamètres d'inhibition due à l'association HEr au chloramphénicol.

Souches	Chloramphénicol		P	HE de romarin		P
	Seule	Associée		Seule	Associée	
<i>E. coli</i>	30	26	0,68	12	7	0,29
<i>Staphylococcus aureus</i>	33	28		27	15	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27	31		6	6	
<i>Bacillus subtilis</i>	27	28		18	20	
<i>Salmonella Kentucky</i>	27	24		6	6	
<i>Salmonella Infantis</i>	23	26		6	6	

- **Association huile essentielle du romarin/gentamycine**

L'association de l'huile essentielle de romarin et de la gentamycine a eu des effets bénéfiques uniquement sur l'huile, dont l'activité antibactérienne s'est améliorée en présence des souches avec lesquelles elle avait déjà démontré son efficacité. Les diamètres des zones d'inhibition ont augmenté de 7 mm pour *Bacillus subtilis*, de 9 mm pour le *Staphylococcus aureus* et de 10 mm pour *E. coli*.

Tableau 12 : Valeurs des diamètres d'inhibition due à l'association HEr à la gentamycine.

Souches	Gentamycine		P	HE de romarin		P
	Seule	Associée		Seule	Associée	
<i>E. coli</i>	24	19	0,15	12	22	0,12
<i>Staphylococcus aureus</i>	28	26		27	36	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21	24		6	6	
<i>Bacillus subtilis</i>	30	27		18	25	
<i>Salmonella</i> Kentucky	11	10		6	6	
<i>Salmonella</i> Infantis	22	19		6	6	

Combiner des huiles essentielles et des molécules synthétiques telles que les antibiotiques pourraient être considéré comme une stratégie prometteuse pour surmonter la résistance bactérienne et améliorer l'efficacité de ces deux agents. De plus, la réduction de la dose efficace des antibiotiques permet de diminuer les effets indésirables attribués à ces molécules en les associant aux huiles essentielles.

**Figure 40 :** Résultat d'Association huiles essentielles /chloramphénicol sur *Salmonella* Kentucky (Photo personnelle).

IV.3.4. Détermination des concentrations minimales inhibitrice CMI et bactéricide CMB

Nous nous sommes intéressées à la détermination de la concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle du girofle car c'est elle qui a démontré l'activité

antibactérienne la plus intéressante. En ce qui concerne l'huile essentielle du romarin, la CMI a été déterminée seulement pour le *Bacillus subtilis*. Pour *Staphylococcus aureus* et *E. coli*, la CMI n'a pas été évaluée pour des raisons techniques. Les résultats enregistrés et présentés par le tableau ont montré que la concentration minimale inhibitrice de l'HE du romarin sur le *Bacillus subtilis* était à 0,39%, tandis que la concentration minimale bactéricide était à 25%. En calculant le rapport CMB/CMI, nous avons constaté qu'il est largement supérieur à 4 ce qui signifie que l'HE du romarin peut être qualifié de substance bactériostatique.

En ce qui concerne l'HE du girofle, nous avons constaté que les valeurs des CMI et des CMB varient d'une souche bactérienne à une autre. La valeur la plus basse a été enregistré avec l'*E. coli* dont une concentration de 0,09% était suffisante pour inhiber toute croissance visible. La valeur la plus élevée n'a pas dépassé la concentration de 1,56% avec le *Staphylococcus aureus*. Les quatre souches restantes ont été inhibées sous l'action de l'HE du girofle à des concentrations comprises entre 0,19% et 0,78%.

Cependant, les valeurs des concentrations minimales bactéricides (CMB) variaient, ce qui conduit à des rapports CMB/CMI inférieurs à 4 pour les bactéries à Gram positif, à savoir *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*. Cela suggère que l'huile essentielle de girofle a un effet bactéricide sur ce groupe de bactéries. Selon Rhayour (2002), l'huile essentielle de girofle exerce une activité principalement bactéricide grâce à son constituant majoritaire qui est l'eugénol, ce dernier appartient à la famille des phénols.

En ce qui concerne les souches bactériennes à Gram négatif, à l'exception de *Salmonella* Infantis pour laquelle le rapport CMB/CMI est de 4, indiquant un effet bactéricide, les autres souches (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella* Kentucky) présentaient toutes des rapports supérieurs à 4. Cela suggère que le clou de girofle avait un effet bactériostatique sur ces souches. En 2020, l'étude réalisée par Tasdadat a révélé des résultats similaires à nos propres découvertes concernant l'action bactéricide des clous de girofle sur *Pseudomonas aeruginosa* et *E. coli*. Cependant, nos recherches ont montré que l'huile a un effet bactéricide sur *Staphylococcus aureus*, ce qui diffère de ces résultats. Selon Hermal (1993), la sensibilité des microorganismes peut varier selon le germe testé car une HE peut être bactéricide vis-à-vis de certaines souches, bactériostatique vis-à-vis d'autres ou n'avoir aucun effet.

En général, la variabilité des résultats est probablement due à l'influence de plusieurs facteurs tels que la méthodologie, les microorganismes testés et les huiles essentielles utilisées (Pattnaik et *al.*, 1996).

Tableau 13 : Valeurs des CMI et CMB des deux huiles essentielles.

Souches	HE de girofle			HE du romarin		
	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI
<i>E. coli</i>	0,09%	3,12%	34,66	/	/	/
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,56%	1,56%	1	/	/	/
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,19%	1,56%	8,21	/	/	/
<i>Bacillus subtilis</i>	0,78%	0,78%	1	0,39%	25%	64,10
<i>Salmonella</i> Kentucky	0,19%	1,56%	8,21	/	/	/
<i>Salmonella</i> Infantis	0,39%	1,56%	4	/	/	/



Figure 41 : Evaluation des CMB des huiles étudiées vis-à-vis les différentes souches bactériennes testées (Photo personnelle).

Conclusion

Conclusion

Les plantes aromatiques continuent d'être une source fiable d'ingrédients actifs connus pour leurs propriétés curatives. Avec la diffusion de microorganismes pathogènes résistants aux antibiotiques, on observe un regain d'intérêt pour les molécules naturelles qui en sont extraites.

La présente étude nous a permis d'évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques sur six souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella* Kentucky et *Salmonella* Infantis).

L'extraction des huiles essentielle par hydrodistillation a montré un rendement de 2,44% sur 80 g de clou de girofle utilisé. L'huile obtenue est d'une couleur jaune clair, d'odeur caractéristique avec un aspect limpide et une saveur piquante.

Quant à l'huile essentielle du romarin, nous avons obtenu un rendement de 0,5% sur 60 g de romarin sèches, cette huile est de couleur jaune verdâtre, d'odeur caractéristique avec un aspect limpide et une saveur douce.

Ce résultat est considéré comme satisfaisant malgré le fait que cette technique ait l'inconvénient d'être longue et les rendements qui en découlent sont généralement très faibles. En ce qui concerne l'étude de l'activité antibactérienne, les résultats obtenus ont montré un effet antibactérien intéressant de l'huile essentielle de clou de girofle contre toutes les souches testées avec des zones d'inhibition allant de 13 mm à 40 mm. Tandis que l'huile essentielle du romarin n'a montré son effet antibactérien que sur les souches à Gram positif, soit le *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* avec des diamètres d'inhibition respectifs de 27 et 18 mm. Ceci a été expliqué par la différence des compositions chimiques de chaque huile et son pouvoir antibactérien.

Les résultats obtenus du test de micro-atmosphère ont montré que les phases volatiles des deux huiles étudiées n'ont aucun effet sur toutes les souches bactériennes étudiées en utilisant une concentration de 5 µL. En doublant la quantité de l'huile par disque (10 µL), le romarin n'a toujours manifesté aucun effet sur toutes les souches testées alors que le girofle avait une activité à cette dose contre les souches à Gram (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*).

Les associations entre les antibiotiques et les huiles essentielles ont donné des résultats variables dans différentes situations. Par exemple, une interaction antagoniste a été observée lorsque le chloramphénicol a été associé à l'huile essentielle de girofle en présence de *Staphylococcus aureus*, d'*E. coli* et de *Salmonella* Kentucky. Cependant, une synergie a été constatée lorsque cette association a été utilisée contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella* Infantis. En revanche, aucune différence intéressante n'a été observée lorsque cet antibiotique a été associé à l'huile essentielle de romarin.

L'association de la gentamicine ont révélé des résultats montrant soit une nette diminution, soit de légères augmentations de l'activité de l'huile essentielle de girofle sur les souches testées. Tandis que l'association de l'huile essentielle de romarin et de la gentamicine a démontré des effets bénéfiques uniquement sur l'huile essentielle elle-même.

En ce qui concerne la détermination des concentrations minimales inhibitrices par la méthode de micro dilution en milieu liquide, les six souches ont été inactivées sous l'influence de l'huile de girofle à des concentrations allant de 0,09% à 1,56 %. Quant à l'huile de romarin, elle a inhibé la croissance visible du *Bacillus subtilis* à une concentration de 0,38 %.

Les valeurs des concentrations minimales bactéricide en milieu solide étaient comprises entre 0,78% et 3,12 % pour l'huile essentielle de clou de girofle et à 25% pour l'huile essentielle de romarin.

Selon les résultats du rapport CMB/CMI, l'HE du romarin peut être qualifié de substance bactériostatique. Quant à l'HE du girofle, son effet était bactéricide avec *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Salmonella* Infantis et bactériostatique avec *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella* Kentucky.

Au terme de ce mémoire, la continuité de ce travail s'avère primordial et plusieurs axes de recherche sont ouverts. En perspectives, il serait donc intéressant de mener une étude plus approfondie sur les deux plantes (clou de girofle et le romarin), d'optimiser le procédé d'extraction et de tester son effet antimicrobien sur un plus large éventail de souches microbiennes.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Aburjai, T., Natsheh, F. M. (2003). Plants used in cosmetics. *Phytotherapy Research*, 17(9), 987-1000.
- Aburjai, T., Natsheh, F. M. (2003). Plants used in cosmetics. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 17(9), 987-1000.
- Adli, D. E. H., Kahloula, K., Slimani, M., Brahmi, M., & Benreguieg, M. (2018). Effets prophylactiques de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* chez les rats wistar en développement coexposés au plomb et au manganèse. *Phytothérapie*, 16(S1), S1-S7.
- Adorjan, B., Buchbauer, G. (2010). Biological properties of essential oils: an updated review. *Flavour and fragrance journal*, 25(6), 407-426.
- Adersen, A., Gauguin, B., Gudiksen, L., Jäger, A. K. (2006). Screening of plants used in Danish folk medicine to treat memory dysfunction for acetylcholinesterase inhibitory activity. *Journal of ethnopharmacology*, 104(3), 418-422.
- AFSSAPS (agence française de sécurité sanitaire des produits santé). (2008). Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. <https://www.antafrma.fr/img/afssaps.pdf>. Consulté le 24/05/2023.
- Ait Chaouche, S., F. (2018). Composition chimique et activité antioxydante, antimicrobienne et insecticide des huiles essentielles et des extraits de deux *Lamiaceae* (Doctoral dissertation, Ecole Nationale Supérieure Agronomique).
- Alaoui, A., & Laaribya, S. (2017). Etude ethnobotanique et floristique dans les communes rurales Sehoul et Sidi-Abderrazak (cas de la Maamora-Maroc Septentrional). *Nature & Technology*, (17).
- Alice, D. (2011). Faisabilité de la mise en place d'une indication géographique sur le clou de girofle à Madagascar. Ecole supérieure d'Agro-Développement International ISTOM;Thèse de Doctorat, pp, 65-72.

Alili, D., Brahim, O., & Doumandji, A. (2022). Obtention et caractérisation physicochimique et chromatographique de l'huile essentielle des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. (Fenouil sauvage). *Agrobiologia*, 12(1), 2850-2861

Allahverdiyev, A. M., Bagirova, M., Yaman, S., Koc, R. C., Abamor, E. S., Ates, S. C., Baydar, S. Y., Elcicek, S., Oztel, O. N. (2013). Development of new antiherpetic drugs based on plant compounds. In *Fighting multidrug resistance with herbal extracts, essential oils and their components* (pp. 245-259). Academic Press.

Al-Okbi, S. Y., Mohamed, D. A., Hamed, T. E., Edris, A. E. (2014). Protective effect of clove oil and eugenol microemulsions on fatty liver and dyslipidemia as components of metabolic syndrome. *Journal of medicinal food*, 17(7), 764-771.

Amarti F, Satrani B, Aafi A, Ghanmi M, Farah A, Aberchane M, El Ajjouri M, El Antry S et Chaouch A. (2008). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus capitatus* et de *Thymus bleicherianus* du Maroc. *Phytothérapie*. 6, 342-347.

Amarti F, Satrani B, Aafi A, Ghanmi M, Farah A, Aberchane M, El Ajjouri M, El Antry S et Chaouch A. (2008). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus capitatus* et de *Thymus bleicherianus* du Maroc. *Phytothérapie*. 6, 342-347.

Amorati, R., Foti, M. C., Valgimigli, L. (2013). Antioxidant activity of essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(46), 10835-10847.

Apostolides, N. Valentini, G., Bellomaria, B., Laouer, H. (2011). Comparative Study of the Essential Oils from *Rosmarinus eriocalyx* Jordan & Fourr. from Algeria and *R. officinalis* L. from Other Countries. *Journal of Essential Oil Research*, 9, 167-175.

Aruoma, O. I., Spencer, J. P. E., Rossi, R., Aeschbach, R., Khan, A., Mahmood, N., ... Halliwell, B. (1996). An evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of rosemary and Provençal herbs. *Food and Chemical Toxicology*, 34(5), 449-456.

Bachiri, L., Labazi, N., Daoudi, A., Ibijbijien, J., Nassiri, L., Echchegadha, G., & Mokhtari, F. (2015). Etude ethnobotanique de quelques lavandes marocaines spontanées. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 1308-1318.

- Bakırel, T., Bakırel, U., Keleş, O. Ü., Ülgen, S. G., Yardibi, H. (2008). In vivo assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan-diabetic rabbits. *Journal of ethnopharmacology*, 116(1), 64-73.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.
- Balderas, C., Villasenor, A., García, A., Rupérez, F. J., Ibanez, E., Senorans, J., ... Barbas, C. (2010). Metabolomic approach to the nutraceutical effect of rosemary extract plus Ω -3 PUFAs in diabetic children with capillary electrophoresis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 53(5), 1298-1304.
- Balentine, C. W., Crandall, P. G., O'bryan, C. A., Duong, D. Q., Pohlman, F. W. (2006). The pre-and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science*, 73(3), 413-421.
- Banouh, R., Azzouz, A. (2019). Evaluation de l'activité antibactérienne, antifongique et activité antioxydante de l'huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*). Mémoire de master.
- Barbelet, S. (2015). *Le giroflier: historique, description et utilisations de la plante et de son huile essentielle* (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- Bartel, A. T. (1947). Some physiological characteristics of four. *Journal of Agricultural Research*, 74, 97.
- Baser, K. H. C., Buchbauer, G. (2009). Handbook of essential oils: science, technology, and applications. CRC press.
- Bassole, I. H. N., Ouattara, A. S., Nebie, R., Ouattara, C. A. T., Kabore, Z. I., Traore, S. A. (2003). Chemical composition and antibacterial activities of the essential oils of *Lippia chevalieri* and *Lippia multiflora* from Burkina Faso. *Phytochemistry*, 62(2), 209-212.
- Baudoux, D (2001). Les cahiers pratiques d'aromathérapie selon l'école française. Vol. 1, Vol. 1., Luxembourg : Ed. Inspir.
- Baudoux, D (2006). Les cahiers pratiques d'aromathérapie selon l'école française. Vol.5, Luxembourg ; Bruxelles : Éd. Inspir ; Éd. Amyris.

Baudoux, D. (2006). Les cahiers pratiques d'aromathérapie selon l'école française. Inspir 5 : 316 .

Bellakhdar, J. (1997). Contribution à l'étude de la pharmacopée traditionnelle au Maroc: la situation actuelle, les produits, les sources du savoir (enquête ethnopharmacologique de terrain réalisée de 1969 à 1992) (Doctoral dissertation, Université Paul Verlaine-Metz).

Belletti, N., Lanciotti, R., Patrignani, F., Gardini, F. (2008). Antimicrobial efficacy of citron essential oil on spoilage and pathogenic microorganisms in fruit-based salads. *Journal of food science*, 73(7), 331-338.

Beloued, A. (1998). Plantes médicinales d'Algérie. Ed office des publications universitaire, Algérie, P100.

Bentabet, N., Rajaa, R., & Sakina, N. (2022). Enquête ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales utilisées dans le traitement des maladies dermatologiques dans la ville d'Ain Temouchent. *Journal of applied Biosciences*, 170(1), 17704-17719.

Bentabet. N., Rahal, R., Nassour, S. (2022). Enquête ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales utilisées dans le traitement des maladies dermatologiques dans la ville d'Ain Temouchent. *Journal of Applied Biosciences*, 170, 17704– 17719.

Bohlmann, J., Keeling, C. I. (2008). Terpenoid biomaterials. *The Plant Journal*, 54(4), 656-669.

Boucekrit, M. (2018). Etude de la composition chimique et de l'activité biologique des huiles essentielles de deux *Apiaceae* *Elaeoselinum asclepium* (L.) Bertol. Et *Margotia gummifera* (Desf.) Lange. Thèse de Doctorat en Sciences. Université Ferhat Abbas Sétif 1

Boukartaba Halima, Hammoum Karima. "Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* L." (2019).

Boullard, B. (2001). Dictionnaire des plantes médicinales du monde. Paris : Estem. P174. Med-Chclist. Edition W. Greuter. H. M. Burdet-volume : 3; P2316(1986)

Bousbia, N. (2011). Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. 2011. Thèse de doctorat. Université d'Avignon.

- Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., ... & Dakka, N. (2018). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 16(S1), S173-S183.
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Jovin, E. (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(19), 7879-7885
- Brachet, A., Christen, P., Veuthey, J. L. (2002). Focused microwave-assisted extraction of cocaine and benzoylecgonine from coca leaves. *Phytochemical Analysis*, 13(3), 162-169.
- Brunechon J. (1987). Pharmacognosie. Ecole technique de documentation, Ed. Ravoilie.
- Bruneton J. (1999). Pharmacognosie- phytochimie, plantes médicinales. 4eme Ed. Tec & amp; Doc, Paris, 1288.
- Bruneton J. (1999). Pharmacognosie. Phytochimie des plantes médicinales. 2^{ème} édition. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris.
- Buronzo A. (2008). Grand guide des huiles essentielles : Santé, Beauté, Bien- Etre, Hachette pratique. 14.
- Buronzo A., (2008). Grand guide des huiles essentielles, santé, beauté, bien être, édition Hachette Pratique, France, page 14, 23-26.
- Burt, S. (2004)- Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94: 223-253.
- Buzzini, P., Arapitsas, P., Goretti, M., Branda, E., Turchetti, B., Pinelli, P., ... & Romani, A. (2008). Antimicrobial and antiviral activity of hydrolysable tannins. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry, 8(12), 1179.
- Capuzzo, A., Maffei, M. E., Occhipinti, A. (2013). Supercritical fluid extraction of plant flavors and fragrances. *Molecules*, 18(6), 7194-7238.
- Celiktas, O. Y., Kocabas, E. H., Bedir, E., Sukan, F. V., Ozek, T., & Baser, K. H. C. (2007). Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*, 100(2), 553-559.

Chemat, F., Abert Vian, M., Dangles, O. (2007). Essential oils as antioxidants. *International Journal of Essential Oil Therapeutics*, 1(1), 4–15.

Chevallier, A. (2013) Larousse des plantes médicinales. Paris : Larousse, 335p.

Christianson, D. W. (2008). Unearthing the roots of the terpenome. *Current opinion in chemical biology*, 12(2), 141-150.

Combe, J., Simonnet, F., Simonnet, G. (1988). Action du xibornol sur la division cellulaire et les synthèses macromoléculaires des bactéries à gram positif. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 46 (1),19-26.

Connolly, J. D.; Hill, R. A. (1991). Dictionary of terpenoids. London, Chapman and Hall.

Croteau, R. (1986). Biochemistry of monoterpenes and sesquiterpenes of the essential oils. *Herbs, spices, and medicinal plants: recent advances in botany, horticulture, and pharmacology*, 1, 81-133.

Da Silveira, E. S., R.D.C., Andrade, L.N., De Oliveira, R.D.R.B., De Sousa, D.P. (2014). A review on anti-inflammatory activity of phenylpropanoids found in essential oils. *Molecules*. 19 (2), 1459–1480.

De Sousa D. P. (2015). Bioactive essential oils and cancer. 1st Ed. New York, USA : Springer International Publishing. 292.

Debuigne G., Couplan F., Vignes P., Vignes D. (2009). Petit Larousse des plantes médicinales. Paris : Larousse, , 383p.

Dewick, P. M. (1999). The biosynthesis of C 5–C 25 terpenoid compounds. *Natural product reports*, 16(1), 97-130.

Dharmagunawardena, B., Takwale, A., Sanders, K. J., Cannan, S., Rodger, A., Ilchyshyn, A. (2002). Gas chromatography: an investigative tool in multiple allergies to essential oils. *Contact Dermatitis*, 47(5), 288-292.

Dikme, T. G. (2023). Use of medicinal and aromatic plants in food. *The Eurasian Clinical and Analytical Medicine*, 11(1):6-10.

Dudareva, N., Pichersky, E., Gershenzon, J. (2004). Biochemistry of plants volatiles. *Plant physiology*, 135(4), 1893-1902.

El Asbahani, A., Miladi, K., Badri, W., Sala, M., Addi, E. A., Casabianca, H., El Mousadik, A., Hartmann, D., Jilale, A., Renaud, F. N. R., & Elaissari, A. (2015). Essential oils: From extraction to encapsulation. *International journal of pharmaceutics*, 483(1-2), 220-243.

Elegami, A. A., El-Nima, E. I., Tohami, M. E., & Muddathir, A. K. (2002). Antimicrobial activity of some species of the family Combretaceae. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 16(6), 555-561.

Escuder, O. (2007). *Plantes médicinales mode d'emploi*. Paris : Ulmer, 255p.

Fabrocini V. C. (2007). Comment se soigner avec l'aromathérapie et guérir : agitation, anxiété, allergie, asthme, déprime, insomnie, lombalgie, mal de dos, migraines, palpitations, etc. Ed. De Vecchi. pp, 4-17.

Fadel, H., Marx, F., El-Sawy, A., & El-Ghorab, A. (1999). Effect of extraction technique on the chemical composition and antioxidant activity of *Eucalyptus camaldulensis* var. *brevirostris* leaf oils. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A*, 208, 212-216.

Farah A., Fechtal M., Zrira S., Chaouch A. (1999). Les huiles essentielles des eucalyptus hybrides naturels au Maroc. Minbar Al Jamiaâ : Actes du Colloque International sur les Substances Naturelles, 25–26 avril 1997, Méknès, Maroc, p. 91–97.

Faucon, M. (2009). *Aromathérapie pratique et usuelle* Paris: Ed. Sang de la Terre ; 153.

Fernandez-Lopez, J., Zhi, N., Aleson-Carbonell, L., Pérez-Alvarez, J. A., Kuri, V. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat science*, 69(3), 371-380.

Fertout-Mouri, N., Latreche, A., Mehdadi, Z., & Bengherraz, Z. (2016). Activité antibactérienne de quatre extraits de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). Antibacterial activity of four extracts of *Teucrium polium* L. of Tessala mount (western Algeria). *Bulletin de la Société royale des Sciences de Liège*.

- Festy, D. (2013). Je ne sais pas utiliser les huiles essentielles spéciales enfants. Paris : Quotidien malin éditions.
- Franchomme, P., Jollois, R., Pénoël, D., Mars, J., & Mars, J. (1990). L'aromathérapie exactement: encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles: fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle. R. Jollois.
- Funatogawa, K., Hayashi, S., Shimomura, H., Yoshida, T., Hatano, T., Ito, H., & Hirai, Y. (2004). Antibacterial activity of hydrolyzable tannins derived from medicinal plants against *Helicobacter pylori*. *Microbiology and immunology*, 48(4), 251-261.
- Garnier, G., Bézanger-Beauquesne, L., Debraux, G. (1961). Ressources médicinales de la flore française (Vol. 1-2). Vigot frères éd.1512p.
- Ghagra, k(2019). Etude les propriétés physicochimique et biologique de clou du girofle (*Syzerium aromaticum* (L)).Mémoire de Master.
- Ghedira K., Goetz P and Le Jeune R. (2010). *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry (Myrtaceae) Giroflier. *Phytothérapie*. 8, 37-43.
- Gillij, Y. G., Gleiser, R. M., Zygadlo, J. A. (2008). Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina. *Bioresource technology*, 99 (7), 2507-2515.
- Goetz P et Ghedira K. (2012). Phytothérapie anti-infectieuse. Edition : Springer-Verlag France, Paris. Pp 4-194.
- Golmakani, M.T., Rezaei, K. (2008). Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food Chemistry*,109, 925-930.
- Goni, P., Lopez, P., Sanchez,C., Gomez-Lus, P., Becerril, R., Nerin, C. (2009). Antibacterial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils. *Food Chemistry*. 116, 982-989.
- Fontanay, S., Mougenot, M. E., Duval, R. E. (2015). Évaluation des activités antibactériennes des huiles essentielles et/ou de leurs composants majoritaires. *Hegel*, 5(2), 109-118.

- Guinoiseau, E. (2010). Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action (Doctoral dissertation, Université de Corse).
- Hamad, A., Mahardika, M. G. P., Yuliani, I. D. A. E., Hartanti, D. (2017). Chemical constituents and antimicrobial activities of essential oils of *Syzygium polyanthum* and *Syzygium aromaticum*. *RASĀYAN Journal of Chemistry*, 10(2), 564-569
- Hatano, T., Kusuda, M., Inada, K., Ogawa, T. O., Shiota, S., Tsuchiya, T., & Yoshida, T. (2005). Effects of tannins and related polyphenols on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*, 66(17), 2047-2055.
- Heinrich, M., Kufer, J. Leonti, M., Pardo de Santayana, M. (2006). Ethnobotany and ethnopharmacology - Interdisciplinary links with the historical sciences. *Journal of ethnopharmacology*, 107, 157-60.
- Hermal, C. (1993). *Activité bactériostatique de sept émulsions d'huiles essentielles et de deux associations d'émulsions d'huiles essentielles* (Doctoral dissertation).
- Herman, A. W., Cochrane, N. A., Sameoto, D. D. (1993). Detection and abundance estimation of euphausiids using an optical plankton counter. *Marine Ecology Progress Series*, 165-173.
- Hernandez Ochoa, L. R. (2005). *Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combiné « solvant/actif » d'origine végétale* (Doctoral dissertation).
- Heywood V. H. and Brice Françoise. (1996). *Les Plantes À Fleurs : 306 Familles De La Flore Mondiale*. Paris: Nathan.p. 11 ; 13-15.
- Ibañez, E., Kubátová, A., Señoráns, F. J., Caverro, S., Reglero, G., Hawthorne, S. B. (2003). Subcritical water extraction of antioxidant compounds from rosemary plants. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(2), 375-382.
- Kacemi Ben Soultane F. (2017). Activité antioxydante des huiles essentielles du gingembre (*Zingiber officinale*) et du clou de girofle (*Syzygium aromaticum*). Mémoire de Master, Université Djilali Bounaama Khemis Miliana
- Kalembe D. et Kunicka A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10, 813-829.

- Kellouche, A., Soltani, N. (2004). Activité biologique des poudres de cinq plantes et de l'huile essentielle d'une d'entre elles sur *Callosobruchus maculatus* (F.). *International Journal of Tropical Insect Science*, 24(2), 184-191.
- Kempf M, Eveillard M, Kowalczyk F, Rossines E, Panhelleux G et Joly-Guillou M.L.(2011). Etude de la sensibilité de 224 bactéries isolées d'infections hospitalières vis-à-vis des composés JCA 250 et JCA 251 à base d'huiles essentielles issus de la recherche. *Aroma Technologies Pathologie Biologie*. 59, 39-43.
- Kim, H. P., Son, K. H., Chang, H. W., Kang, S. S. (2004). Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *Journal of pharmacological sciences*, 96 (3), 229-245.
- Korkina, L. G. (2007). Phenylpropanoids as naturally occurring antioxydants: from plant defense to human health. *Cellular and molecular biology*, 53(1), 15-25.
- Korkina, L., Kostyuk, V., De Luca, C., Pastore, S. (2011). Plant phenylpropanoids as emerging anti-inflammatory agents. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 11(10), 823-835.
- Kunle O., Okogum J., Egamana E., Emojevwe E., Shok M. (2003). Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippia miltiflora* leaf extract. *Phytomedicine*, 10 (1), 59- 61.
- Kurita, N., Miyaji, M., Kurane, R., Takahara, Y., Ichimura, K. (1979). Antifungal activity and molecular orbital energies of aldehyde compounds from oils of higher plants. *Agricultural and Biological Chemistry*, 43(11), 2365-2371.
- Laib, I., (2010). Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs séchées de *Lavandula Officinalis* sur les moisissures des légumes secs. Mémoire de Magister. Option : Technologie alimentaire. Université Mentouri Constantine.
- Lairungruang, K., Itharat, A., Panthong, S. (2014). Antimicrobial activity of extracts from a Thai traditional remedy called Kabpi for oral and throat infection and its plant components. *Journal of the Medical Association of Thailand= Chotmaihet Thangphaet*, 97, S108-15.

Lakhdar, L. (2015). Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans*: étude in vitro (Doctoral dissertation).

Lakhdar, L., Hmamouchi, M., Rida, S., Ennibi, O. (2012). Antibacterial activity of essential oils against periodontal pathogens : a qualitative systematic review. *Odontostomatol Trop*, 35 (140), 38-46.

Lindeman, Z., Waggoner, M., Batdorff, A., Humphreys, T. L. (2014). Assessing the antibiotic potential of essential oils against *Haemophilus ducreyi*. *BMC complementary and alternative medicine*, 14(1), 1-4.

Lucchesi, M. E. (2005). Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles (Doctoral dissertation, Université de la Réunion).

Lucchesi, M. E., Chemat, F., & Smadja, J. (2004). An original solvent free microwave extraction of essential oils from spices. *Flavour and Fragrance Journal*, 19(2), 134-138.

Mahaboobali, S., Akhan, A., Ahmed, I. (2005). Antimicrobial activities of eugenol and cinnamaldehyde against the humans gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 4 :20.

Mahakittikun, V., Soonthornchareonnon, N., Foongladda, S., Boitano, J. J., Wangapai, T., & Ninsanit, P. (2014). A preliminary study of the acaricidal activity of clove oil, *Eugenia caryophyllus*. *Asian pacific journal of allergy and immunology*, 32(1), 46.

Mandal, V., Mohan, Y., Hemalatha, S. J. P. R. (2007). Microwave assisted extraction—an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacognosy reviews*, 1(1), 7-18.

Maver, T., Maver, U., Stana Kleinschek, K., Smrke, D. M., Kreft, S. (2015). A review of herbal medicines in wound healing. *International journal of dermatology*, 54(7), 740-751.

Max, W., Robert, A. (2003). Plantes thérapeutiques (2^o Éd.), Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, Tec et Doc - Lavoisier, Editions médicales internationales - Lavoisier (EM Inter)

Mazari K, Bendimerad N, Bekhechi C et Fernandez X. (2010). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L. and *Cupressus sempervirens* L. *Journal of Medicinal Plants Research*. 4(10), 959-964, 18.

Messabhia, A., Soualmia, A., & Guerdi, A. (2022). Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* (Doctoral dissertation, Université de Larbi Tebessi–Tebessa).

Meyer-Warnod B. (1984). Natural essential oils : extraction processes and application to some major oils. *Perfumer & Flavorist*, 9, 93-104.

Miguel, M. G. (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. *Molecules*, 15(12), 9252-9287.

Mouas, Y., Benrebiha, F. Z., & Chaouia, C. (2017). ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTERIENNE DE L'HUILE ESSENTIELLE ET DE L'EXTRAIT MÉTHANOLIQUE DU ROMARIN *ROSMARINUS OFFICINALIS* L. *Revue Agrobiologia*, 7(1), 363-370.

Muler, J. (2022). Significance of Aromatic Plants In the Field Of Medicine. *Botanical Sciences*, 11(5): 9-10.

Musthafa, K. S., Voravuthikunchai, S. P. (2015). Anti-virulence potential of eugenyl acetate against pathogenic bacteria of medical importance. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 107, 703-710.

Naili, N., Kesraoui., 2013. Activité antibactérienne du *Cumin velu Ammodaucus*. Mémoire d'études médicales Spécialisées (DEMS) en Botanique médicale et Cryptogamie.

Nassu, R. T., Gonçalves, L. A. G., da Silva, M. A. A. P., Beserra, F. J. (2003). Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. *Meat science*, 63(1), 43-49.

Neffati, M., Sghaier, M. (2014). Développement et valorisation des plantes aromatiques et médicinales (PAM) au niveau des zones désertiques de la région Mena (Algérie, Egypte, Jordanie, Maroc et Tunisie). Thèse de Doctorat.

- Okamura, N., Haraguchi, H., Hashimoto, K., Yagi, A. (1994). Flavonoids in *Rosmarinus officinalis* leaves. *Phytochemistry*, 37(5), 1463-1466.
- Ouaar, D., Megherbi-Benali, A., Lotte, S., Gérard, J., & Toumi-Benali, F. (2018). Activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite de la sciure de bois de *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus*. CNRS.
- Özer B. C., Özyörük H., Çelebi S. S., Yıldız A. (2007) - Amperometric enzyme electrode for free cholesterol determination prepared with cholesterol oxidase immobilized in poly (vinylferrocenium) film. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(2), 262-265.
- Pasay, C., Mounsey, K., Stevenson, G., Davis, R., Arlian, L., Morgan, M., ... & McCarthy, J. (2010). Acaricidal activity of eugenol-based compounds against scabies mites. *PloS one*, 5(8).
- Pattnaik, S., Subramanyam, V. R., Kole, C. (1996). Antibacterial and antifungal activity of ten essential oils in vitro. *Microbios*, 86(349), 237-246.
- Peñuelas, J., Munné-Bosch, S. (2005). Isoprenoids: an evolutionary pool for photoprotection. *Trends in plant science*, 10(4), 166-169.
- Philippon A. (2008). Résistance bactérienne: définition, mécanisme, évolution. EMC. (Elsevier Masson SAS, Paris), Maladie infectieuse. 8-006-N-10.
- Pinto, E., Vale-Silva, L., Cavaleiro, C., & Salgueiro, L. (2009). Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Journal of medical microbiology*, 58(11), 1454-1462.
- Pourmortazavi, S. M., Hajimirsadeghi, S. S. (2007). Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. *Journal of chromatography A*, 1163(1-2), 2-24.
- Prajapati, V., Tripathi, A. K., Aggarwal, K. K., Khanuja, S. P. S. (2005). Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Bioresource technology*, 96(16), 1749-1757.
- Queze, L. P., Santa S (1963). Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, CNRS, Paris: pp 600.

- Rafi A., Tasneem U. S., Achfaq A., Muchtaq A., (1994). Medicinal importance of essential oils. *Hamdard Medicus*, (3),101-105.
- Ramarijaona Rabary, B. C. (1985). Le giroflier de Madagascar : conditions de production et différentes utilisations. Thèse de chirurgie dentaire. Université de Nancy I ; 1985, 110 f.
- Rasooli, I., Fakoor, M. H., Yadegarinia, D., Gachkar, L., Allameh, A., Rezaei, M. B. (2008). Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils. *International journal of food microbiology*, 122 (1-2), 135-139.
- Rhayour, K. (2002). Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, 1-3.
- Rosato A, Piarulli M, Corbo F, Muraglia M, Carone A, Vitali M E et Vitali C.(2010). In Vitro
- Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., Bruni, R. (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food chemistry*, 91(4), 621-632.
- Sacchettini, J. C., Poulter, C. D. (1997). Creating isoprenoid diversity. *Science*, 277(5333), 1788-1789.
- Safaei-Ghomi, J., Ahd, A. A. (2010). Antimicrobial and antifungal properties of the essential oil and methanol extracts of *Eucalyptus largiflorens* and *Eucalyptus intertexta*. *Pharmacognosy magazine*, 6(23), 172.
- Santhakumar, A. B., Bulmer, A. C., Singh, I. (2014). A review of the mechanisms and effectiveness of dietary polyphenols in reducing oxidative stress and thrombotic risk. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 27(1), 1-21.
- Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30(12), 3875-3883.
- Schneider A. (2002). Arbres et arbustes thérapeutiques : les connaître, les protéger, les utiliser. Montréal : Ed. de l'Homme, 384p.
- Schwab, A., Hanley, P., Fabian, A., Stock, C. (2008). Potassium channels keep mobile cells on the go. *Physiology*, 23(4), 212-220.

Sebranek, J. G., Sewalt, V. J. H., Robbins, K., Houser, T. A. (2005). Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. *Meat science*, 69(2), 289-296.

Seladji, M., Bekhechi, C., & Bendimerad, N. (2014). Antioxidant and antimicrobial activity of aqueous and methanolic extracts of *Mentha rotundifolia* L. from Algeria. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*, 26(1), 40.

Su, C. H., Wang, J. T., Hsiung, C. A., Chien, L. J., Chi, C. L., Yu, H. T., & Chang, S. C., 2012. Increase of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infection in acute care hospitals in Taiwan: association with hospital antimicrobial usage. *PloS one*, 7(5): 77-88.

Surveswaran, S., Cai, Y. Z., Corke, H., & Sun, M. (2007). Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food chemistry*, 102(3), 938-953.

Synergistic Action of Certain Combinations of Gentamicin and Essential Oils. *Current Medicinal Chemistry*. 17, 3289-3295.

Tamboli, D. P., & Lee, D. S. (2013). Mechanistic antimicrobial approach of extracellularly synthesized silver nanoparticles against gram positive and gram negative bacteria. *Journal of hazardous materials*, 260, 878-884.

Tassou C. C., Nychas G. J. E. (1995). Antimicrobial activity of the essential oil of mastic gum (*Pistacia ensticus* var. *chia*) on Gram-positive and Gram-negative bacteria in broth and in model food system. *Biodeterioration and Biodegradation*, 36, 411-420.

Teisseire, P.J., Teisseire, A ; Bertrand, M ; Garnéro, J (1991) ; *Chimie des substances odorantes*. Paris : Technique et documentation Lavoisier, Print.

Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Neng, N. R., Nogueira, J. M., Saraiva, J. A., Nunes, M. L. (2013). Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Industrial crops and products*, 43, 587-595.

Tiwari, B. K., Valdramidis, V. P., O'Donnell, C. P., Muthukumarappan, K., Bourke, P., Cullen, P. J. (2009). Application of natural antimicrobials for food preservation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(14), 5987-6000.

Touhami, A (2017) .Etude chimique et microbiologique des composants des huiles essentielles de différents genres *Thymus* récoltées dans les régions de l'Est Algérien pendant les deux périodes de développement. Mémoire de Doctorat.

Tragoolpua, Y., Jatisatienr, A. (2007). Anti-herpes simplex virus activities of *Eugenia caryophyllus* (Spreng.) Bullock & SG Harrison and essential oil, eugenol. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 21(12), 1153-1158.

Tsai, P. J., Tsai, T. H., Ho, S. C. (2007). In vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of *Streptococcus sobrinus*. *Food chemistry*, 105(1), 311-316.

Uju, D. E., Obioma, N. P. (2011). Anticariogenic potentials of clove, tobacco and bitter kola. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 4(10), 814-818.

Uter, W., Schmidt, E., Geier, J., Lessmann, H., Schnuch, A., Frosch, P. (2010). Contact allergy to essential oils: current patch test results (2000–2008) from the Information Network of Departments of Dermatology (IVDK). *Contact dermatitis*, 63(5), 277-283.

Valero, M., & Giner, M. J. (2006). Effects of antimicrobial components of essential oils on growth of *Bacillus cereus* INRA L2104 in and the sensory qualities of carrot broth. *International journal of food microbiology*, 106(1), 90-94.

Van Vuuren, S. F., Suliman, S., & Viljoen, A. M. (2009). The antimicrobial activity of four commercial essential oils in combination with conventional antimicrobials. *Letters in applied microbiology*, 48(4), 440-446.

Wang, W., Wu, N., Zu, Y. G., Fu, Y. J. (2008). Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food chemistry*, 108(3), 1019-1022.

Weckesser, S., Engel, K., Simon-Haarhaus, B., Wittmer, A., Pelz, K., Schempp, C. Á. (2007). Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeasts with dermatological relevance. *Phytomedicine*, 14 (7-8), 508-516.

- Wichtl, M., Anton, R., Lassechere-Bernard, M. (2003). Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 2e éd. française (4e éd. allemande). Paris : Tec [et] Doc, 692p.
- Withers, S. T., Keasling, J. D. (2007). Biosynthesis and engineering of isoprenoid small molecules. *Applied microbiology and biotechnology*, 73, 980-990.
- Yadav, M. K., Chae, S. W., Im, G. J., Chung, J. W., & Song, J. J. (2015). Eugenol: a phyto-compound effective against methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* clinical strain biofilms. *PLoS One*, 10(3).
- Yala, J. F., Ntsameso-Mve-Mba, V., Issembe, Y. A., Lepengue, N. A., & Souza, A. (2016). Évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d'*Eryngium foetidum* récolté dans la ville de Franceville. *Journal of Applied Biosciences*, 103, 9886-9893.
- Yang, R. Y., Lin, S., & Kuo, G. (2008). Content and distribution of flavonoids among 91 edible plant species. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, 17.
- Yano, Y., Satomi, M., & Oikawa, H. (2006). Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*. *International Journal of Food Microbiology*, 111(1), 6–11. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.04.031>
- Zabka, M., Pavela, R. (2018). Review Chapter: *Fusarium* genus and essential oils. *Natural Antimicrobial Agents*, 95-120.
- Zaika L. L., (1988). Spices and Herbs - Their antimicrobial activity and its determination. *Journal of Food Safety*, 9(2), 97-118.
- Zuzarte, M., Gonçalves, M. J., Cavaleiro, C., Cruz, M. T., Benzarti, A., Marongiu, B., ... Salgueiro, L. (2013). Antifungal and anti-inflammatory potential of *Lavandula stoechas* and *Thymus herba-barona* essential oils. *Industrial Crops and Products*, 44, 97-103.

Annexes

Annexes

Annexe I

Questionnaire utilisée dans l'enquête botanique

Date :

Commune :

Région : Rural ☐ Urbain ☐Sexe : Féminin ☐ Masculin ☐Age : 0-17 ☐ 18-34 ☐ 35-49 ☐ 50-64 ☐ 65 et plus ☐Niveau intellectuel : Analphabète ☐ Primaire ☐ Moyen ☐Secondaire ☐ Universitaire ☐Profession : Etudiant ☐ Fonctionnaire ☐ Profession médicale /paramédicale ☐Artisan/commerçant ☐ Ouvrier ☐ Agriculteur ☐ Cadre ☐Retraité ☐ Sans emploi ☐ Autre :

Achetez-vous des plantes ou des produits à base de plantes aromatiques ?

Oui ☐ Non ☐

Quels produits à base de plantes achetez-vous ?

Plantes aromatiques fraîches ☐Plantes aromatiques séchées ☐Tisanes pretes à l'emploi ☐Cosmétiques (crèmes, etc...) ☐Compléments alimentaires (gélules, etc....) ☐Hydrolats (eaux florales, etc....) ☐

Autres :

Avez-vous déjà utilisé des huiles essentielles ? Oui ☐ Non ☐

Où achetez-vous les huiles essentielles

Sur internet ☐ Pharmacie ☐ Herboristes ☐ Epicerie et supermarchés ☐

Autre :

Comment conservez- vous les huiles essentielles ?

Dans un endroit sec ☐ Dans le réfrigérateur ☐ Dans des flacons fermés ☐
 Conservées à l'abri de la lumière ☐ Stockées sans aucune précaution ☐

A partir de quel âge donneriez-vous ou avez-vous donné une huile essentielle à un enfant par voie orale ?

Dès la naissance ☐ A partir de 3 ans ☐ A partir de 7 ans ☐
 A partir de 15 ans ☐ Pas d'huile essentielle chez un enfant ☐

Comment utilisez-vous les huiles essentielles ?

Par voie orale ☐ Par voie cutanée ☐ En inhalation ☐

Autre :

Le girofle

Avez-vous utilisé le girofle ? Oui ☐ Non ☐

Usage de la plante : Alimentaire ☐ Cosmétique ☐ Thérapeutique ☐

Autres :

Elément utilisé : Plante entière ☐ Poudre ☐ Huile ☐ extrait aqueux ☐

Autres :

Avez-vous déjà utilisé l'huile essentielle de girofle ? Oui ☐ Non ☐

Si oui, pour quelle(s) raison(s) l'avez-vous déjà utilisée?.....

.....

Degré de satisfaction : Très satisfaisant ☐ Satisfaisant ☐ Peu satisfaisant ☐ Déçu ☐

Avez-vous déjà connu des effets secondaires suite à l'utilisation de l'huile essentielle du girofle? Oui ☐ Non ☐

Si oui, quel(s) symptômes avez-vous constaté ?.....

.....

Le romarin

Avez-vous utilisé le romarin ? Oui ☐ Non ☐

Usage de la plante : Alimentaire ☐ Cosmétique ☐ Thérapeutique ☐

Autres :

Elément utilisé : Plante entière ☐ Poudre ☐ Huile ☐ extrait aqueux ☐

Autres :

Avez-vous déjà utilisé l'huile essentielle du romarin ? Oui ☐ Non ☐

Si oui, pour quelle(s) raison(s) l'avez-vous déjà utilisée?.....

.....

Degré de satisfaction : Très satisfaisant ☐ Satisfaisant ☐ Peu satisfaisant ☐ Déçu ☐

Avez-vous déjà connu des effets secondaires suite à l'utilisation de l'huile essentielle du romarin ? Oui ☐ Non ☐

Si oui, quel(s) symptômes avez-vous constaté ?.....

.....

Annexe II

Matériel et réactifs utilisés

Matériel et équipement

- Agitateur magnétique
- Autoclave
- Barreau magnétique
- Bain-marie
- Balance
- Béchers
- Bec benzen
- Boites de Petri
- Entonnoir
- Eppendorf
- Eprouvette
- Erlenmeyer
- Etuve
- Flacons
- Micro pipette
- Papier d'aluminium
- Papier film
- Papier filtre
- Papier Whatmann
- Pied à coulisse électronique de précision.
- Pince
- Pipettes
- Pipettes Pasteur
- Spatule
- Spectrophotomètre UV-visible
- Support
- Tube à essai
- Tubes à visse

- Tubes secs à bouchons
- Verres à montre
- Vortex

Produits et réactifs

- Ethanol
- Eau distillée
- DMSO
- Eau physiologie
- Milieu gélosé Muller-Hinton
- Milieu liquide Muller-Hinton
- Gélose Nutritive