



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences de la nature et de la vie et des
sciences de la terre et de l'univers
Département des sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques

Référence / 2025

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté et soutenu par :
BEN MOHAMED Maria / BETTIRA Nadia

Le : mercredi 18 juin 2025

Contribution à l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *syzygium aromaticum* et *rosmarinus officinalis*

Jury :

Dr. HEBAL Hakim	MCB Université de Biskra	Président
Dr. BENLAMEUR Zahia	MCA Université de Biskra	Rapporteur
Dr. BENMEDDOUR Tarek	MCA Université de Biskra	Examinateur

Année universitaire : 2024/2025

Remerciements

Quelle que soit la valeur des mots de remerciement, ils resteront toujours insuffisants face à la grandeur du soutien et de l'aide que j'ai reçus tout au long de cette aventure académique.

C'est avec une profonde reconnaissance et une sincère gratitude que je tiens à remercier toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

J'adresse mes remerciements les plus chaleureux à Mme BENLAMEUR Zahia, encadrante de ce travail, pour sa bienveillance, ses conseils judicieux, sa patience et son accompagnement constant. Sa confiance m'a portée et guidée jusqu'au bout.

Je remercie également M. BOUZIANI Mohamed Bouchkara pour ses remarques pertinentes et son accompagnement qui ont grandement enrichi ce travail.

Mes remerciements vont aussi à l'équipe du laboratoire Khalili, ainsi qu'au laboratoire de microbiologie de l'hôpital Hakim Saâdan, pour leur accueil généreux, leur soutien technique et leur précieuse collaboration.

Je n'oublie pas d'exprimer ma reconnaissance à tous les ingénieurs des laboratoires de la Faculté de Biologie, en particulier Walid et Alima, pour leur aide constante et leur disponibilité.

À toutes ces personnes, je dis : merci du fond du cœur.

Que chacun trouve ici l'expression de ma gratitude profonde et de mon respect sincère.

Dédicace

Avant tout, je rends grâce à Dieu, Lui qui m'a guidée dans mon savoir, soutenue dans mon travail, et donnée la force d'atteindre cette étape précieuse de ma vie.

Je dédie le résultat de mon travail à :

À moi-même, une personne ambitieuse qui a tenu bon, avancé, patienté et persévétré malgré toutes les difficultés

Je tiens ensuite à exprimer toute ma gratitude à mon père Lakhdar et à ma mère Boudah Hafiza, mes racines et mon refuge.

À mon soutien constant, à ceux qui m'ont donné de la force et ont été là pour moi, Et surtout, à ceux qui ont rendu mes journées plus belles : mes deux sœurs Sabrina et Hana et mon frère Charef Eddine (Habib), merci pour votre amour, votre patience et votre présence dans chaque étape.

À ma grand-mère KHENOUF Sekina, ma seconde maman, et à mon oncle BOUDAH Mohamed, qui a marché à mes côtés depuis mes tout premiers pas, et ne m'a jamais quittée, même pour un instant.

Je n'oublie pas mes beaux-frères Kaïs et Alaa Eddine, pour leur soutien constant, et à Saâd, le plus beau fils de sœur dans le monde, qui a su illuminer mes journées par sa présence dans ma vie .

À mes précieuses amies Manel, Malak ,Khaoula ,Manar et Nadia merci d'avoir été là dans les moments de doute comme dans ceux de joie.

Et à mes camarades d'étude BENSALAH Mohamed Oussama et BEN DJEDOU Ihab, merci pour votre soutien sincère tout au long de ce travail. Enfin, je remercie de tout cœur tous ceux qui ont partagé avec moi cette aventure académique,

toutes les personnes qui m'ont offert ne serait-ce qu'une lettre de savoir.

À ma promo 2025, et tout particulièrement à LEKBICHE Chaïma .

B . Maria

Je remercie d'abord Dieu, car sans Lui, nous ne serions pas arrivés là où nous sommes aujourd'hui.

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère. À l'amour de ma vie, mon précieux cadeau de Dieu, à qui je dois ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher père Ammar

À celle dont l'amour me donne de la force et me soutient malgré son absence, ma chère mère, ce succès est aussi le sien.

On dit qu'un frère est un soutien, alors que dire de quatre ?

Merci du fond du cœur, Nabil, Sadam, Miloud, Samir... Vous êtes une véritable bénédiction. Vous avez toujours été ma source de force et de réussite, mes chères sœurs Souria, Bouchra et Khira. Je vous aime énormément.

À mes chères amies Ikram, Manar et Khawla, je tiens à vous remercier sincèrement pour ces précieux moments partagés, pour la patience dont nous avons fait preuve ensemble, ainsi que pour le soutien et l'encouragement mutuel tout au long de notre parcours.

Sans oublier ma binôme Maria, que je remercie profondément pour son soutien moral, sa patience et sa force tout au long de ce travail.

B.Nadia

Table de matières

Remerciements	I
Dédicace.....	II
Liste des tableaux	VII
Liste des figures	VIII
Liste des abréviations.....	X
Introduction	1

Partie Bibliographique

Chapitre 01: Les huiles essentielles

1.2. Définition des huiles essentielles	3
1.3. Répartition de localisation et biosynthèse des huiles essentielles	4
1.4. Propriétés physiques des huiles essentielles	4
1.5. La composition chimique des huiles essentielles	4
1.6. Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	4
1.6.1. L'hydrodistillation.....	4
1.6.2. L'hydrodiffusion.....	5
1.6.3. L'extraction par entraînement à la vapeur	5
1.6.4. L'extraction par solvant organique	5
1.6.5. Extraction assistée par micro-ondes (SFME)	5
1.7. Activité biologique des huiles essentielles.....	6
1.7.1. L'activité antibactérienne	6
1.7.2. Activité antifongique	6
1.7.3. Activité antioxydant	6
1.7.4. Activité antivirale.....	6
1.8. Mécanisme d'action antibactérienne des huiles essentielles.....	6
1.9. Domaines d'application des huiles essentielles.....	7
1.9.1. Dans domaine pharmaceutiques	7
1.9.2. Dans domaine d'industrie chimique	7
1.9.3. Dans domaine de L'industrie de la parfumerie et des cosmétiques	7
1.10. La toxicité des huiles essentielles	7

Chapitre 02: Les plantes médicinales et les bactéries utilisées

2.1. Le giroflier	8
-------------------------	---

2.1.1. Origine et production du giroflier (<i>Syzygium aromaticum</i>)	8
2.1.2. Classification taxonomique de <i>Syzygium aromaticum</i> (<i>L.</i>).....	8
2.1.3. Composition chimiques	9
2.1.4. Les principaux constituants de l'huile essentielle de clou de girofle	9
2.2. Le romarin (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	9
2.2.1. Origine et description du romarin	10
2.2.2. Classification taxonomique du romarin (<i>Rosmarinus officinalis</i>).....	10
2.2.3. Composition chimique d' huile essentielle du romarin	11
2.3. Les souches bactériennes utilisées	11
2.3.1. Les bactéries Gram négative	11
2.3.2. Les bactérie à Gram positive	13

Partie expérimentale

Chapitre 03 : Matériel et méthodes

3.1. Materiel végétal	14
3.2. Extraction des huiles Essentielles	15
3.3. Calcul du rendement	16
3.4. Conservation des huiles essentielles	17
3.5. Tests phytochimiques.....	17
3.5. Conservation des huiles essentielles	17
3.6. Activité antibactérienne	18
3.6.1. Les souches bactériennes	18
3.6.2. Les milieux de culture.....	18
3.7. L'antibiotique	19
3.8. Les Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne.....	19
3.8.1. Méthode de diffusion sur disque (Aromatogramme).....	19
3.8.2. Détermination de CMI et CMB	24
3.8.2.1. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice en milieu liquide (CMI).....	24
3.8.2.2. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)	25

Chapitre 04 : Résultats et discussions

4.1. Résultats de l'extraction de l'huile essentielle.....	27
4.2.1. Rendement.....	27
4.2.2. Les tests phytochimiques	29
4.3. Etude de l'activité antibactérienne	30
4.3.1. Activité antibactérienne de huile essentielle de clou de girofle	30

4.3.2. Activité antibactérienne de l'huile essentielle du romarin	33
4.4. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB)	36
4.4.1. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)de clou de giroflier	36
4.4.2. Détermination de la Concentration Minimale bactéricide (CMB)	39
4.4.3. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide du romarin	41
4.4.4. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) du romarin	42
4.4.5. Détermination de la Concentration Minimale bactéricide (CMB) du romarin.....	45

Conclusion

Références bibliographiques

Résumé

Liste des tableaux

Tableau 01: Les sources de souches bactériennes	18
Tableau 02: Rendement des huiles essentielle de deux plantes.....	28
Tableau 03: Les résultats phytochimiques (Originale, 2025)	29
Tableau 04. : Diamètres des zones d'inhibition de l'HE de clou de girofle selon les dilutions contre 06 souches bactériennes	30
Tableau 05: Diamètres des zones d'inhibition de l'HE de romarin selon les dilutions contre 06 souches bactériennes	33
Tableau 6. Effet des différentes concentrations d'HE de clou de giroflier sur la croissance des bactéries.....	38
Tableau 07. Nature de l'activité d'HE de clou de giroflier, CMI et CMB d'huiles essentielles testées sur les six souches bactériennes étudiées exprimée en % (V/V).....	40
Tableau 08. Effet des différentes concentrations d'HE du romarin sur la croissance des bactéries.....	45
Tableau 9. Nature de l'activité d'HE du Romarin , CMI et CMB d'huiles essentielles testées sur les six souches bactériennes étudiées exprimée en % (V/V).....	47

Liste des figures

Figure 01 : Clous de girofle frais et sec (Danthu et al., 2014)	8
Figure 02: Rosmarinus Officinalis (Site 01).....	10
Figure 03: Clous de girofle (Originale ,2025).....	14
Figure 04: Romarin (Originale ,2025).	14
Figure 05: Etapes d'extraction de l' huile essentielle de clou de girofle (Originale, 2025)....	15
Figure 06: Etapes d'extraction de l'huile essentielle de Romarin (Originale ,2025).	16
Figure 09: Préparation des disques (Originale,2025).....	20
Figure 10: Préparation les dilutions (Originale,2025).....	20
Figure 11: Préparation de l'inoculum (Originale,2025)	21
Figure 12: Ensemencement des souches sur les boites de pétri (Originale, 2025).	22
Figure 13: Remplissage et répartition des disques sur le milieu de culture (Originale,2025)	23
Figure 14. Détermination CMI par méthode de microplaque (Originale , 2025).	25
Figure 15. Schéma récapitulatif de la démarche expérimentale.....	26
Figure 16: Huiles essentielle de clou de girofle et romarin (A: clou de giroflier , B: romarin) (Originale,2025).	27
Figure 17: Rendement d'extraction des huiles essentielles.....	28
Figure 18: Effet antibactérien de l'huile essentielle de clou de girofle sur les souches bactériennes testées par la méthode de diffusion sur disque (Originale ,2025).	31
Figure 19: Effet antibactérien de l'huile essentielle de romarin sur les souches bactériennes testées par la méthode de diffusion sur disque (Originale ,2025).	34
Figure 20: Détermination CMI pour la souche bactérienne S.aureus sur microplaque. (Originale,2025).	36
Figure 21: Détermination CMI pour la souche bactérienne K.pneumoniae sur microplaque . (Originale,2025)	37
Figure 22: Détermination CMI pour la souche bactérienne P .aeruginosa sur microplaque . (Originale,2025)	37
Figure 23: Détermination CMI pour la souche bactérienne E.coli sur microplaque. (Originale,2025)	37
Figure 24: Détermination CMI pour la souche bactérienne SARM sur microplaque. (Originale,2025)	38
Figure 25: Détermination CMI pour la souche bactérienne P. mirabilis sur microplaque. (Originale,2025).	38

Figure 26. Détermination de la CMB sur les souches bactériennes étudiées (Originale,2025).	39
Figure 27. Détermination CMI pour la souche bactérienne <i>S.aureus</i> sur microplaqué (Originale,2025).	42
Figure 28. Détermination CMI pour la souche bactérienne <i>K.pneumoniae</i> sur microplaqué (Originale,2025).	42
Figure 29. Détermination CMI pour la souche bactérienne <i>P.aeruginosa</i> sur microplaqué (Originale,2025).	43
Figure 30. Détermination CMI pour la souche bactérienne <i>E.coli</i> sur microplaqué (Originale,2025).	43
Figure 31. Détermination CMI pour la souche bactérienne SARM sur microplaqué (Originale,2025).	44
Figure 32. Détermination CMI pour la souche bactérienne <i>P.mirabilis</i> sur microplaqué (Originale,2025).	44
Figure 33. Détermination de la CMB sur les souches bactériennes étudiées (Originale,2025).	46

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation .

ATCC : American Type Culture Collection .

BMH : Bouillon Mueller Hinton.

CMB : Concentration Minimale Bactéricide .

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

Crph : Bêta-caryophyllène.

DMSO: Dimethyl sulfoxide.

E. coli: *Escherichia coli*.

EHEC: Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (*E. coli* entérohémorragique).

ESBL: Extended-Spectrum Beta-Lactamases (β -lactamases à spectre étendu).

ETEC : Enterotoxigenic *Escherichia coli* (*E. coli* entérotoxigène).

Eug: Eugénol.

EugAc : Acétate d'eugénol.

EVE : entraînement à la vapeur d'eau.

ExPEC : Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*.

GN: Gélose Nutritif.

MH: Mueller-Hinton agar .

BMH : Bouillon Mueller-Hinton.

HD : Hydro distillation.

HE(s) : Huiles essentielles.

HECG: Huile Essentielle de Clou de Girofle.

K. pneumoniae: *Klebsiella pneumoniae*.

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*.

P. mirabilis: *Proteus mirabilis*.

S. aureus: *Staphylococcus aureus*.

SARM: *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline.

SFME: Solvent-Free Microwave Extraction (Extraction assistée par micro-ondes).

T : Témoin .

UFC : Unité formant colonie.

Introduction

Introduction

Au cours des dernières années, le domaine médical a connu une augmentation préoccupante du phénomène de résistance bactérienne aux antibiotiques classiques, ce qui constitue une menace réelle pour la santé publique, tant au niveau national qu'international. Cette résistance entraîne l'échec des traitements traditionnels et augmente le risque d'infections difficiles à traiter, rendant ainsi impérative la recherche de nouvelles alternatives naturelles, efficaces et sûres, qui s'impose aujourd'hui comme une priorité majeure en santé publique (Mellal *et al.*, 2023).

Dans ce contexte, les huiles essentielles extraites de plantes médicinales suscitent un intérêt croissant en raison de leur richesse en composés organiques volatils complexes, dotés de multiples propriétés biologiques Khwaza et Aderibigbe. (2025), notamment une activité antibactérienne marquée. Ces huiles sont obtenues à partir de différentes parties des plantes, par des méthodes telles que la distillation ou l'extraction. De nombreuses études ont démontré leur capacité à inhiber la croissance d'un large spectre de bactéries, y compris les bactéries à Gram positif et à Gram négatif, ce qui en fait des candidates prometteuses pour le développement de traitements alternatifs ou complémentaires en médecine, ainsi que pour des applications industrielles telles que la conservation des aliments et la désinfection.

L'étude des huiles essentielles de girofle (*Syzygium aromaticum*) et de romarin (*Rosmarinus officinalis*) revêt un intérêt particulier en raison de leur richesse en composés actifs tels que l'eugénol et le cinéole, connus pour leurs propriétés antibactériennes. Leur utilisation traditionnelle en médecine populaire renforce leur valeur en tant que candidats thérapeutiques naturels potentiels (Abdullah *et al.*, 2015).

L'analyse approfondie des propriétés antibactériennes de ces huiles essentielles vis-à-vis de souches bactériennes résistantes constitue une étape essentielle pour évaluer leur potentiel thérapeutique. Ce domaine de recherche ouvre la voie à de nouvelles approches naturelles visant à réduire la dépendance aux antibiotiques classiques et à limiter la propagation de la résistance bactérienne, un défi majeur auquel sont confrontés les systèmes de santé dans le monde.

Face à ces constats, cette étude soulève une problématique centrale : dans quelle mesure les huiles essentielles de girofle et de romarin sont-elles efficaces contre les souches bactériennes, en particulier celles résistantes aux antibiotiques conventionnels ? Comment leur composition chimique influence-t-elle leur activité antibactérienne ? Et pourraient-elles

représenter des alternatives naturelles, sûres et efficaces, aux antibiotiques actuellement utilisés?

Dans ce cadre, notre étude vise à mettre en valeur deux plantes aromatiques, à savoir le giroflier (*Syzygium aromaticum L.*) et le romarin (*Rosmarinus officinalis L.*), en évaluant l'activité antibactérienne de leurs huiles essentielles. Ainsi, ce manuscrit est structuré en deux parties :

Une synthèse bibliographique, articulée autour de deux chapitres :

- Le premier chapitre offre une vue d'ensemble sur les huiles essentielles, en abordant leur définition, leurs méthodes d'extraction, leur composition chimique, ainsi que leurs principales propriétés biologiques.
- Le deuxième chapitre est consacré à l'étude spécifique des huiles essentielles de clou de girofle et de romarin, ainsi qu'à la présentation des bactéries ciblées dans le cadre de cette recherche.

La partie expérimentale consiste en l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles à l'aide de deux méthodes principales : le test de diffusion sur disque et la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) ainsi que des concentrations minimales bactéricides (CMB).

Une fois les résultats obtenus, nous les avons analysés et confrontés aux données de la littérature existante. Enfin, ce travail se conclut par une synthèse générale des résultats.

Partie

Bibliographique

Chapitre 01

Les huiles essentielles

1.1.Généralités sur les huiles essentielles

Les huiles essentielles ont été utilisées depuis l'antiquité pour leurs parfums et leurs propriétés conservatrices, avec l'huile de térébenthine étant la seule mentionnée dans les sources grecques et romaines. La technique de distillation est née en Égypte, en Inde et en Chine il y a plus de 2000 ans, puis a été perfectionnée par les arabes aux IXe siècles. Aux XIIIe siècles, elles ont commencé à être utilisées dans les pharmacies européennes, mais leur commerce ne s'est développé qu'aux XVIe siècles. Aux XVIIe siècles, les pharmacies proposaient entre 15 et 20 types d'huiles essentielles. Bien qu'elles aient eu un usage médical, leur rôle thérapeutique a décliné au XIXe et XXe siècles, laissant place à une utilisation majoritaire dans les parfums et les arômes, tout en conservant certaine application thérapeutique (Burt, 2004).

Les huiles essentielles contiennent des composants tels que les monoterpènes et sesquiterpènes, ainsi que des alcools, éthers, aldéhydes et cétones, qui leur confèrent leurs propriétés aromatiques et biologiques. En plus de leurs effets pharmacologiques, notamment anti-inflammatoire, antioxydants et anticancéreux, certaines huiles essentielles possèdent une activité biocide, agissant contre une large gamme d'organismes, y compris les bactéries, les champignons, les virus, les protozoaires et les insectes (Kalemba et Kunicka, 2003).

1.2. Définition des huiles essentielles

D'après la définition proposée par Bakkali *et al.* (2008) les HEs se définissent comme des composés naturels volatiles, caractérisés par un profil chimique complexe et arôme distinctifs, produits par les plantes aromatiques en tant que métabolites secondaires. Leur extraction repose principalement sur la distillation à la vapeur ou l'hydrodistillation, des procédés permettant de préserver leurs propriétés bioactives. Reconnues pour leurs multiples activités biologiques, notamment antimicrobiennes et anti-inflammatoires, elles trouvent des applications variées dans le domaine médical, cosmétique et industriel.

Leurs principaux constituants sont issus de trois voies biosynthétiques : mévalonate, méthylérythritol et acide shikimique. Ces voies produisent respectivement des sesquiterpènes, des mono-diterpènes et des phénylpropanoïdes. La composition des huiles varie fortement en raison de la grande diversité des substances formées. (Başer et Buchbauer, 2010).

1.3. Répartition de localisation et biosynthèse des huiles essentielles

Les huiles essentielles se trouvent dans de nombreuses plantes aromatiques appartenant à des familles comme les Myrtacées, Lamiacées, Rutacées ou Zingibéracées. Elles peuvent être extraites de différents organes (fleurs, écorces, racines, fruits, etc.) et parfois de plusieurs parties d'une même plante, avec une composition qui peut varier selon l'organe.

Les huiles essentielles sont synthétisées dans le cytoplasme des cellules sécrétrices, puis stockées dans des structures spécialisées comme les cellules à essence, les poils glandulaires, les poches ou canaux sécréteurs. Ces cellules sont souvent situées en surface de la plante et protégées par une cuticule (Bouras, 2019).

1.4. Propriétés physiques des huiles essentielles

Selon Kaloustian et Hadji-Minaglou (2012), les huiles essentielles se distinguent par leur volatilité, influencée par leur composition chimique, notamment la présence de monoterpènes. Contrairement aux huiles végétales, elles ne laissent pas de trace permanente sur les supports absorbants. Leur couleur fonce avec l'oxydation, leur densité est généralement inférieure à 1, sauf pour certaines comme la cannelle et le clou de girofle. Elles ont un indice de réfraction élevé, dévient la lumière polarisée, sont solubles dans les solvants organiques et les corps gras, mais très peu dans l'eau.

1.5. La composition chimique des huiles essentielles

Les HE(s) sont constituées d'un mélange complexe de composés dont les fonctions varient ; certains jouent un rôle majeur dans l'arôme, d'autres contribuent à l'harmonie olfactive, tandis que certains restent inodores. ces constituants appartiennent principalement à deux catégories : les terpènoïdes , qui sont les plus abondants et les composés aromatiques dérivés du phénylpropanes , présents en moindre proportion(Bruneton ,1999).

1.6. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Il existe différentes méthodes d'extraction , utilisées selon la plante sélectionnée

1.6.1. L'hydrodistillation

Repose sur l'immersion du matériel végétal dans de l'eau en ébullition. Les vapeurs générées sont condensées sur une surface froide, permettant la séparation de l'huile essentielle par différence de densité (Bruneton , 1999).Cette technique est principalement recommandée pour les huiles essentielles aux constituants thermorésistants. Toutefois, son principal

inconvénient réside dans l'absence de contrôle précise de la température du mélange (eau + matériel végétal), ce qui peut altérer la couleur, l'odeur et la composition de l'huile essentielle au cours de la distillation (Chalchat *et al.*, 1997).

1.6.2. L'hydrodiffusion

L'hydrodiffusion est une forme de distillation à la vapeur où la vapeur pénètre par le haut de l'alambic au lieu du bas. La condensation se fait sous la grille contenant la matière végétale. Cette méthode offre plusieurs avantages : une huile essentielle de très haute qualité, une consommation réduite de vapeur, un temps de traitement plus court et un meilleur rendement. (Toninolli et Meglioli , 2013).

1.6.3. L'extraction par entraînement à la vapeur

C'est une technique couramment utilisée pour obtenir des huiles essentielles. Elle consiste à faire passer de la vapeur à travers la matière végétale, sans contact direct avec l'eau, afin de préserver la qualité des composés volatils. Après condensation, l'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse. Environ 95 % des molécules volatiles sont extraites en 30 minutes, mais un temps d'extraction plus long peut être nécessaire en aromathérapie pour capturer l'ensemble des composés actifs (Boukhatem *et al.*, 2019).

1.6.4. L'extraction par solvant organique

C'est une méthode couramment utilisée pour la purification et la séparation des composés chimiques. Elle permet d'extraire les HE_s des plantes, qui sont facilement solubles dans les solvants organiques. Un solvant tel que le méthanol, l'éthanol ou l'acétate d'éthyle est utilisé à sa température d'ébullition, et les HE_s sont extraites à l'aide d'un appareil de Soxhlet pendant 5 à 6 heures. Le rendement maximal est généralement obtenu après concentration de l'extrait à l'aide d'un évaporateur rotatif sous pression réduite (Zhou *et al.*, 2023).

1.6.5. Extraction assistée par micro-ondes (SFME)

SFME est une méthode écologique et rapide d'extraction des huiles essentielles sans solvant. Les micro-ondes chauffent l'eau intracellulaire, provoquant l'éclatement des cellules et la libération des huiles avec la vapeur. Elle est 9 fois plus rapide que l'hydro distillation, consomme moins d'énergie et préserve mieux les composés sensibles, assurant une huile de meilleure qualité (Boukhatem *et al.*, 2019).

1.7. Activité biologique des huiles essentielles

1.7.1. L'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne a fait l'objet de nombreuses études, révélant deux principaux effets sur les micro-organismes : Effet bactéricide (bactéricidie) : provoque la destruction des bactéries. et effet bactériostatique (bactériostase) : inhibe leur croissance et leur multiplication. Cependant, les mécanismes d'action de ces huiles sur les cellules bactériennes ne sont pas encore entièrement élucidés (Lakhdar, 2012).

1.7.2. Activité antifongique

Les infections fongiques se propagent en raison de l'usage excessif des antibiotiques. Certaines huiles essentielles possèdent des propriétés antifongiques grâce à la présence de composés chimiques comme les aldéhydes et les phénols. Les aldéhydes altèrent la membrane cellulaire des champignons, entraînant leur destruction, tandis que les phénols sont plus efficaces pour les éliminer (Kurita *et al.*, 1981).

1.7.3. Activité antioxydant

Les antioxydants protègent l'organisme du stress oxydatif et se divisent en trois types : enzymatiques, enzymes de réparation et non enzymatiques, dont les huiles essentielles. Leur action peut être préventive, en retardant l'oxydation, ou directe, en donnant des électrons aux radicaux libres pour prévenir les dommages cellulaires. Certaines études montrent que certaines huiles essentielles peuvent être plus efficaces que les antioxydants synthétiques (Bencheikh ,2017).

1.7.4. Activité antivirale

Les huiles essentielles possèdent des propriétés antivirales qui leur permettent de limiter la réPLICATION DES VIRUS OU D'EMPÊCHER LEUR PROPAGATION ENTRE LES CELLULES. Des études ont montré qu'elles peuvent agir efficacement contre différents types de virus en réduisant leur multiplication, avec une efficacité variable selon la concentration utilisée (Başer et Buchbauer ,2010).

1.8. Mécanisme d'action antibactérienne des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges de métabolites secondaires volatils aux propriétés antimicrobiennes. Leur activité repose sur des composés bioactifs comme les monoterpènes, sesquiterpènes, alcools et phénols. Elles agissent en perturbant la membrane

cellulaire, en augmentant sa perméabilité et en altérant le métabolisme des micro-organismes. Certaines inhibent des enzymes essentielles et induisent un stress oxydatif. Bien que leur mécanisme d'action ne soit pas totalement élucidé, elles montrent une efficacité contre les bactéries résistantes. Leur potentiel en tant qu'alternative aux antibiotiques suscite un intérêt croissant. Elles sont aussi appréciées pour leur caractère écologique (Sebaaly, 2016).

1.9. Domaines d'application des huiles essentielles

Les huiles essentielles (HE) sont utilisées dans plusieurs domaines :

1.9.1. Dans domaine pharmaceutiques

Dans le domaine pharmaceutique, les HE_s sont largement utilisées comme antiseptiques à usage externe en raison de leurs propriétés antibactériennes et antifongiques. Par exemple, l'(HE) de théâtre est souvent appliquée pour favoriser la cicatrisation des plaies mineures et atténuer les inflammations, tandis que celle de menthe poivrée est couramment utilisée pour soulager les troubles digestifs ainsi que les maux de tête(Socasau, 2017).

1.9.2. Dans domaine d'industrie chimique

Les huiles essentielles sont utilisées comme matières premières dans la synthèse de principes actifs pharmaceutiques, de vitamines et d'arômes. Elles servent aussi de biopesticides grâce à leur action contre divers insectes et pathogènes. Par exemple, l'huile essentielle de clou de girofle combat Glomerella cingulata, et celle d'orange est utilisée en France comme insecticide et acaricide (Nebie ,2023).

1.9.3. Dans domaine de L'industrie de la parfumerie et des cosmétiques

Est le principal utilisateur d'HE. Elles sont intégrées dans la composition des parfums, shampoings, gels douche, crèmes, laits corporels et déodorants, ainsi que dans divers produits d'entretien comme les savons, détergents, lessives et assouplissants textiles (Nebie ,2023).

1.10. La toxicité des huiles essentielles

La toxicité des HE_s par ingestion d'huiles essentielles est globalement bien connue chez l'animal, que ce soit la toxicité des composés des huiles ou de l'huile dans sa globalité. Cependant, les données de toxicité disponibles chez l'Homme ont été obtenues le plus souvent suite à une ingestion accidentelle. Il est à noter que les nombreux cas de toxicité rapportés due à l'ingestion sont dans leur quasi-totalité accidentels, à très fortes doses et concernent principalement des enfants (Degryse et al.,2008).

Chapitre 02

Les plantes médicinales et les bactéries utilisées

2.1. Le giroflier

2.1.1. Origine et production du giroflier (*Syzygium aromaticum*)

Le giroflier (*Syzygium aromaticum*), un arbre natif des îles Moluques en Indonésie, génère les « clous de girofle » après une période de culture de six à huit ans. On cueille les boutons floraux avant leur ouverture, on les fait sécher au soleil et ils deviennent durs et de couleur brun-rouge. Même si Madagascar est le principal exportateur de girofliers, l'Indonésie se classe en tête en termes de production, avec 80 % de cette production servant à la fabrication des cigarettes «kretek», qui sont composées de tabac et de clous de girofle.(Lobstein *et al.*, 2017).



Figure 01 : Clous de girofle frais et sec (Danthu *et al.*, 2014).

2.1.2. Classification taxonomique de *Syzygium aromaticum* (L.)

La classification taxonomique de *Syzygium aromaticum* a été établie, du règne jusqu'à l'espèce, par (Kaur et Kaushal ;2019)selon les critères botaniques :

Règne : Plantae (Plantes).

Sous-règne : Tracheobionta (Plantes vasculaires).

Super-division : Spermatophyta (Plantes à graines).

Division : Magnoliophyta (Plantes à fleurs).

Classe : Magnoliopsida (Dicotylédones).

Sous-classe : Rosidae.

Ordre : Myrtales.

Famille : Myrtaceae.

Genre : *Syzygium*.

Espèce : *aromaticum* (*L*).

Il est également connu sous d'autres noms : *Caryophyllus aromaticus L.*, *Eugenia aromatica* (*L*) Baill., *Eugenia caryophyllata* Thunb., *Eugenia caryophyllus* (Spreng)(Ranoarisoan *et al.*, 2012).

2.1.3. Composition chimiques

Le girofle, une plante aux propriétés médicinales, est riche en composés phénoliques, avec l'eugénol comme principal agent actif. L'huile essentielle qu'elle produit, représentant potentiellement jusqu'à 18% des bourgeons floraux, contient également de l'acéate d'eugénol et du β-caryophyllène. On y retrouve des acides phénoliques tels que l'acide gallique, de même que des tanins qui se laissent hydrolyser. La quercétine et le kaempférol, qui sont des flavonoïdes, se trouvent en quantités moindres. Ces composés confèrent au clou de girofle de significatives propriétés biologiques et thérapeutiques (Cortés-Rojas *et al.*, 2014).

2.1.4. Les principaux constituants de l'huile essentielle de clou de girofle

L'huile essentielle de clou de girofle (HECG) se compose principalement d'eugénol (Eug), d'acéate d'eugénol (EugAc) et de bêta-caryophyllène (Crph). On trouve aussi dans l'HECG de petites quantités d'autres substances comme l'alpha-humulène (ou alpha-caryophyllène), le cadinène, le 1,8-cinéole, le copaène, l'alcool benzylique, la vanilline, le 3-allyl-6-méthoxyphénol et l'oxyde de caryophyllène (Sebaaly, 2016).

2.2. Le romarin (*Rosmarinus officinalis*)

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*) est une plante aromatique et médicinale originaire de la région méditerranéenne. Il est connu depuis l'Antiquité pour ses usages thérapeutiques et aromatiques. Il a occupé une place importante dans la médecine ancienne (Fery-Hue, 1997).

Le romarin pousse sous la forme d'un petit arbuste aux feuilles étroites et coriaces, adaptées pour résister à la sécheresse. Ses feuilles possèdent une cuticule épaisse et des poils glanduleux qui réduisent la perte d'eau par évaporation, ce qui le rend bien adapté aux milieux secs et rocheux. Ses fleurs sont d'un bleu pâle avec une corolle bilabiée, et son fruit est constitué de quatre graines ovales. La tige est robuste, recouverte d'une cuticule épaisse, avec des tissus

de soutien en collenchyme et sclerenchyme qui lui confèrent solidité et résistance aux agressions extérieures (Ismaili, 2021).

2.2.1. Origine et description du romarin



Figure 02: *Rosmarinus Officinalis* (Site 01)

2.2.2. Classification taxonomique du romarin (*Rosmarinus officinalis*)

La classification d'ail selon (Kompelly *et al.*, 2019).

Règne : Plantae (Plantes).

Sous-règne : Viridiplantae (Plantes vertes).

In.fra-règne : Streptophyta.

Super-division : Embryophyta (Plantes terrestres).

Division : Tracheophyta (Plantes vasculaires).

Sous-division : Spermatophytina (Plantes à graines).

Classe : Magnoliopsida (Dicotylédones vraies).

Sous-classe : Asteridae.

Super-ordre : Asteranae.

Ordre : Lamiales.

Famille : Lamiaceae (Famille de la menthe).

Genre : *Rosmarinus*.

Espèce : *Rosmarinus officinalis*.

2.2.3. Composition chimique d' huile essentielle du romarin

L'huile essentielle de romarin est composée d'un large éventail de composés chimiques. Le principal constituant est le 1,8-cinéole, présent en forte proportion, suivi par le camphre, le bornéol et le terpinène-4-ol. On y retrouve également d'autres composés tels que l' α -pinène, le camphène, le β -sabinène et le linalol, présents en quantités variables. Des composés moins abondants mais tout de même présents incluent l' α -terpinol, la verbénone, l'acétate de bornyle, l' α -copaène et le tétradécène. Cette richesse et diversité en constituants confèrent à l'huile essentielle de romarin ses propriétés biologiques intéressantes, notamment antimicrobiennes et anti-inflammatoires (Boutabia *et al.*, 2016).

2.3. Les souches bactériennes utilisées

2.3.1. Les bactéries Gram négative

2.3.1.1. *Escherichia coli*

❖ Caractéristiques principales d'*Escherichia coli*

Escherichia coli est une bactérie Gram-négative, capable de vivre avec ou sans oxygène, qui colonise naturellement l'intestin des humains et d'autres mammifères. Elle présente une grande diversité génétique, avec plusieurs groupes phylogénétiques. Certaines souches peuvent devenir pathogènes, causant des infections intestinales et extra-intestinales. Elle est également un vecteur majeur de résistance aux antibiotiques, notamment par la transmission de gènes codant pour des β -lactamases (Massot ;2016).

❖ Pouvoir pathogène et diversité des infections causées par *Escherichia coli*

Escherichia coli peut causer des infections intestinales et extra-intestinales grâce à ses facteurs de virulence. Certaines souches comme ETEC et EHEC affectent le système digestif, tandis que les ExPEC touchent d'autres parties du corps (da Silva et Mendonça, 2012).

2.3.1.2. *Pseudomonas aeruginosa*

❖ Caractères principaux

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie Gram-négative, bâtonnet, asporogène et monoflagellée. Elle présente une apparence perleuse et dégage une odeur caractéristique semblable à celle des raisins ou des tortillas. *P. aeruginosa* est un microorganisme ubiquitaire, capable de survivre dans divers environnements.(Wu *et al.*, 2015).

❖ Le pouvoir pathogène

Le pouvoir pathogène de *Pseudomonas aeruginosa* repose sur la production de nombreux facteurs de virulence, membranaires et extracellulaires, intervenant aux différentes étapes de l'infection. Ces facteurs lui permettent de coloniser l'hôte et de survivre dans divers environnements (Giraud *et al.*, 2010).

2.3.1.3. *Klebsiella pneumoniae*

❖ Caractères principaux

Klebsiella pneumoniae est une bactérie encapsulée, non mobile et à Gram négatif qui fait partie de la famille des Enterobacteriales. Elle se trouve dans l'environnement ainsi que sur les muqueuses. Sa notable capacité à développer une résistance aux antibiotiques constitue un risque sanitaire considérable. Elle a la possibilité d'infecter divers hôtes, y compris des mammifères marins et terrestres (Chang *et al.*, 2022).

❖ Le pouvoir pathogène

Klebsiella pneumoniae est une bactérie responsable d'infections nosocomiales telles que la pneumonie et les infections de l'appareil urinaire. Elle génère des bêta-lactamases à large spectre (ESBL), ce qui complique le traitement, en particulier avec les céphalosporines. On la trouve dans le système digestif humain ainsi que dans l'environnement. L'augmentation de sa résistance aux antibiotiques constitue un sérieux enjeu dans les établissements hospitaliers (Shayanfar *et al.*, 2010).

2.3.1.4. *Proteus mirabilis*

❖ Caractères principaux

Les bactéries du genre *Proteus* sont des bacilles Gram négatif, aérobies et mobiles, appartenant à la famille des entérobactéries. Ce sont des bactéries uréase positives capables de produire un phénomène d'essaimage sur milieu solide. Elles font naturellement partie de la flore intestinale humaine (Coker *et al.*, 2000).

❖ Le pouvoir pathogène

Les bactéries du genre *Proteus*, notamment *P. mirabilis*, sont souvent responsables d'infections urinaires compliquées touchant les voies supérieures. Elles peuvent entraîner des urolithiases, cystites, pyélonéphrites aiguës, et plus rarement, une bactériémie, septicémie ou infection de plaie. Leur production d'uréase augmente le pH urinaire, favorisant la formation de calculs rénaux ou vésicaux (Ronald, 2003)(Kim *et al.*, 2003).

2.3.2. Les bactérie à Gram positive

2.3.2.1. *Staphylococcus aureus*

❖ Caractères principaux

Staphylococcus représente un genre de bactéries Gram-positives, caractérisées par leur forme en coques qui se rassemblent en amas. Ces organismes sont facultativement anaérobies, immobiles, et résistent à la chaleur ainsi qu'au sel. On classe les espèces comme *S. aureus* comme étant à coagulase positive, tandis que celles comme *S. epidermidis* sont à coagulase négative. *S. aureus* génère un pigment de couleur or (staphyloxanthine) qui lui offre une protection contre le système immunitaire (Oriol , 2022).

❖ Le pouvoir pathogène

Staphylococcus aureus possède un pouvoir pathogène élevé, capable de provoquer des infections variées. Il est responsable d'intoxications alimentaires dues à ses entérotoxines, ainsi que d'infections cutanées comme les furoncles et abcès. Certaines souches produisent des toxines graves pouvant entraîner des maladies sévères telles que le syndrome de choc toxique, l'érythrodermie bulleuse ou la fasciite nécrosante (Murray *et al.*, 2003; Le Loir *et al.*, 2003).

2.3.2.1. *Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline* (SARM)

❖ Le pouvoir pathogènes

Le *Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline* (SARM) possède de nombreux facteurs de virulence, notamment des protéines de surface (MSCRAMMs) qui facilitent son adhésion aux tissus humains. Ces protéines jouent un rôle clé dans les infections des os, des articulations, des vaisseaux sanguins et des dispositifs médicaux. Certaines souches de SARM ont une virulence accrue grâce à des caractéristiques génétiques particulières, leur permettant de provoquer des infections sévères, y compris en milieu communautaire (Gordon et Lowy, 2008).

Partie

Expérimentale

Chapitre 03

Matériel et méthodes

3.1. Matériel végétal

Dans cette étude, deux plantes médicinales ont été utilisées comme matériel végétal : le girofle (*Syzygium aromaticum*) et le romarin (*Rosmarinus officinalis*).

Le girofle, formé de bourgeons floraux déshydratés provenant du giroflier, est une plante médicinale disponible toute l'année sur les marchés locaux(figure 02), ce qui permet de le procurer facilement à tout moment. Les échantillons ont été achetés sous forme séchée dans les herboristeries situées dans le marché à Biskra, puis conservés dans des conditions appropriées, à l'abri de la lumière, de l'humidité et de la chaleur jusqu'à leur utilisation.

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*) a été récolté à la fin du mois de mars dans la commune de Tkout, située dans la wilaya de Batna (figure 03). Il a subi un séchage à température ambiante , où il a été placé sur une surface propre, dans un endroit ombragé et bien aéré, à l'abri de la lumière directe du soleil, afin de préserver ses composants actifs. Après le séchage, les échantillons ont été conservés dans des conditions appropriées jusqu'à leur utilisation dans les étapes de préparation et d'extraction.



Figure 03: Clou de girofle (Originale ,2025).



Figure 04: Romarin (Originale ,2025).

3.2. Extraction des huiles Essentielles

- ✓ Extraction huiles de clou de giroflier

En se basant sur l'étude publiée dans (Chilev et Peshev, 2025) huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) a été extraite par distillation à la vapeur.

L'huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) a été extraite par entraînement à la vapeur à l'aide de deux appareils de type Clevenger . À chaque opération, 1,5L d'eau distillée a été ajouté dans le ballon de distillation, tandis que 500 g de clou de girofle broyée ont été placés dans chaque unité de distillation. La température a été progressivement élevée jusqu'au début de la distillation, marqué par l'apparition des premières gouttes de condensat dans le tube de condensation. L'huile essentielle formée a ensuite été récupérée à partir des deux dispositifs à l'aide d'une seringue stérile les étapes présenter dans (figure 05).

Pour vérifier l'absence de traces d'eau dans l'huile, du sulfate de sodium anhydre a été utilisé comme agent desséchant ; une petite quantité a été ajoutée à l'huile afin d'absorber l'humidité résiduelle. Le mélange a été laissé au repos pendant un court moment, puis filtré à l'aide d'un papier filtre pour éliminer le sulfate de sodium. Le processus de distillation a duré environ 3h:30min.

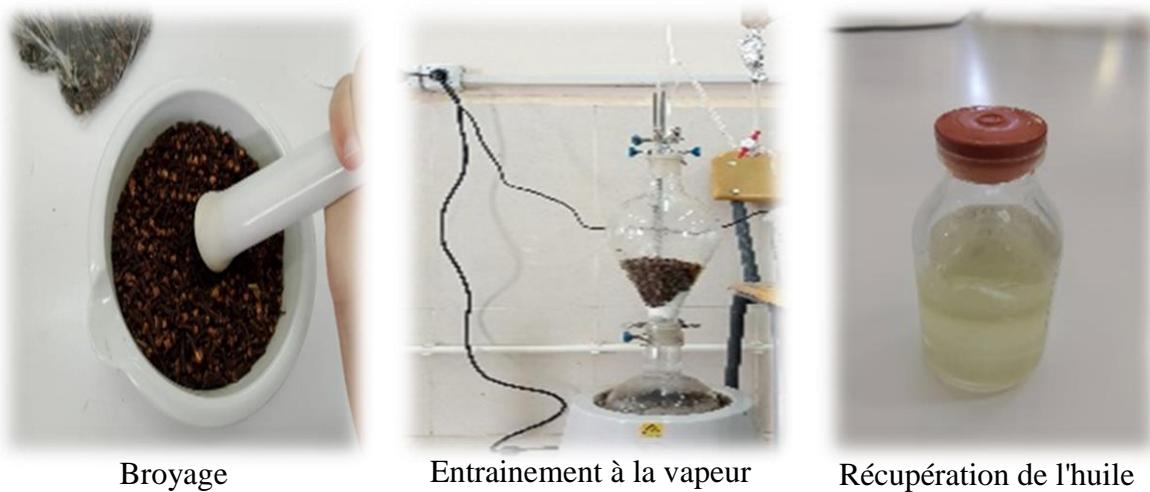


Figure 05: Etapes d'extraction de l' huile essentielle de clou de girofle (Originale, 2025).

- ✓ Extraction huiles essentielles du romarin

L'huile essentielle du romarin (*Rosmarinus officinalis*) a été extraite au laboratoire à partir de feuilles séchées, en utilisant la technique (hydrodistillation) montré dans (figure 06).

Selon (El Kamli *et al.*, 2017) Dans un premier temps, 200 grammes de feuilles séchées ont été pesées et placées dans l'appareil de distillation, puis 1,5 litre d'eau distillée a été ajouté dans la partie inférieure de l'appareil. Après avoir porté l'eau à ébullition, la vapeur est montée à travers le matériel végétal, entraînant avec elle les composés volatils (huile essentielle). Ce mélange a ensuite été condensé à l'aide d'un dispositif de refroidissement et collecté dans un récipient approprié.

À la fin de la distillation, l'huile essentielle flottant à la surface de l'eau a été récupérée soigneusement à l'aide d'une seringue, afin de minimiser les pertes. Pour éliminer les fines gouttelettes d'eau résiduelles dans l'huile, une petite quantité de solution de sulfate de sodium a été ajoutée pour éliminer l'eau. L'ensemble du processus d'extraction a duré environ 3h. Enfin, le volume d'huile obtenu a été mesuré avec précision .



Figure 06: Etapes d'extraction de l'huile essentielle de Romarin (Originale ,2025).

3.3. Calcul du rendement

Selon (AFNOR, 1986) , le rendement en huile essentielle (R_{HE}) se définit comme le rapport entre la masse d'huile essentielle extraite (M') et la masse de matière végétale utilisée (M). Ce rendement, exprimé en pourcentage, est calculé selon la formule suivante :

$$R_{HE} = M' / M \times 100$$

R_{HE} = Rendement de l'huile en %.

M' = Masse d'huile essentielle en g.

M = Masse de la matière végétale sèche utilisée en g.

3.4. Conservation des huiles essentielles

Les deux huiles essentielles extraites ont été conservées séparément dans des flacons en verre hermétiquement fermés, enveloppés de papier aluminium afin de les protéger de la lumière. Les flacons ont ensuite été placés au réfrigérateur à une température de 4 °C jusqu'à leur utilisation.

3.5. Tests phytochimiques

Pour détecter la présence de certaines familles de composés chimiques végétaux comme (Alcaloïde , Flavonoïde , Tanins ..) .On a fait les tests préliminaires pour les huiles essentielles clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) et du romarin (*Rosmarinus officinalis*).

D'abord elles ont été soumises à une étape de dilution de (HE)_s dans le diméthyl sulfoxyde (DMSO), afin de faciliter leur manipulation et de permettre leur utilisation dans les différents tests de criblage phytochimique .

Trois principaux groupes de composés phytochimiques ont été recherchés dans les extraits d'huiles essentielles, à savoir les alcaloïdes, les tanins et les flavonoïdes, selon la méthode décrite par (Tiwari *et al*, 2011)

Détection des alcaloïdes : une portion de l'extrait a été dissoute dans de l'acide chlorhydrique dilué (HCl), puis filtrée. Le filtrat obtenu a ensuite été soumis au test de Dragendorff . L'apparition d'un précipité rouge-orange indique la présence d'alcaloïdes.

Détection des tanins : une solution de gélatine à 1 % contenant du chlorure de sodium (NaCl) a été ajoutée à l'extrait. La formation d'un précipité blanc a été interprétée comme un résultat positif, révélant la présence de tanins.

Détection des flavonoïdes :Test au réactif alcalin : l'ajout d'hydroxyde de sodium (NaOH) provoque une coloration jaune, qui disparaît après l'addition d'acide chlorhydrique, ce qui indique la présence de flavonoïdes.

3.5. Conservation des huiles essentielles

Les deux huiles essentielles extraites ont été conservées séparément dans des flacons en verre hermétiquement fermés, enveloppés de papier aluminium afin de les protéger de la lumière. Les flacons ont ensuite été placés au réfrigérateur à une température de 4 °C jusqu'à leur utilisation.

3.6. Activité antibactérienne

Les tests de l'activité antibactérienne ont été réalisés au sein de la faculté des sciences de la nature et de la vie – site El Hadjeb, Université de Biskra.

3.6.1. Les souches bactériennes

Dans cette étude, six souches bactériennes provenant de différentes sources ont été utilisées Présenter dans (tableaux 01). Quatre de ces souches sont des souches de référence : (*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*). Les souches référencées ont été obtenues du laboratoire de microbiologie de département de SNV de l'université de khanchela , tandis que la souche *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (*SARM*) a été fournie par l'hôpital "Hakeem Saadane" à Biskra, et *Proteus mirabilis* a été obtenue du Laboratoire d'Analyses Médicales Khalili à Biskra.

Nous avons effectué un travail de repicage pour les souches bactériennes que nous avons obtenues, puis elles ont été ensemencées sur gélose nutritive dans des tubes à essai inclinés. Elles ont été conservées à 4°C jusqu'à leur utilisation.

Tableau 01:Les sources de souches bactériennes

Bactérie	Gram	Référence	Source
<i>S.aureus</i>	Positive	ATCC 29213	Laboratoire de microbiologie du département de SNV de l'université de khanchela
<i>K.pneumoniae</i>	Négative	ATCC 700603	
<i>P . aeruginosa</i>	Négative	ATCC 27853	
<i>Escherichia coli</i>	Négative	ATCC 25922	
(<i>SARM</i>)	Positive	-	Hôpital Hakim Saâdan – Biskra-
<i>Proteus mirabilis</i>	Négative	-	Laboratoire Khelili – Biskra-

3.6.2. Les milieux de culture

Nous avons utilisé les milieux de culture suivant :

- ✓ Gélose nutritif « GN » (voir annexes n 01) pour l'obtention des souches jeunes et pures.
- ✓ Milieu Mueller Hinton « MH » (voir annexes n0 1) pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents extraits de plantes .
- ✓ Bouillon Muller Hinton «BMH »: utilisé pour détermination le CMI.

3.7. L'antibiotique

Nous avons utilisé des disques antibiotiques de gentamicine, obtenus auprès de l'hôpital Hakim Saâdane de Biskra, dans le cadre de ce test.

3.8. Les Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne

3.8.1. Méthode de diffusion sur disque (Aromatogramme)

La méthode des aromatogrammes est la technique choisie pour déterminer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle à tester. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des huiles essentielles sur un milieu solide à l'intérieur d'une boîte de Pétri(voir annexes n 02). Cette méthode nous permet de mettre en évidence l'effet antibactérien de l'huile essentielle sur les bactéries, ainsi que la détermination de la résistance ou la sensibilité de ces bactéries vis-à-vis de cette huile essentielle (De Billerbeck , 2007).

➤ Le repiquage

les souches bactériennes étudiées ont été ensemencées par la méthode d'étalement en surface sur des milieux solides à base de gélose nutritive , dans des boîtes de Pétri stériles. Les boîtes ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 heures afin d'obtenir des colonies isolées, utilisées pour les tests de sensibilité. Les suspensions bactériennes ont été préparées dans de l'eau distillée stérile et ajustées à une concentration de 10^8 UFC/ml pour assurer l'uniformité des conditions de culture.

➤ Préparation des disques

Les disques ont été confectionnés à partir de papier filtre Whatman n°3, découpés à l'aide d'une perforatrice afin d'obtenir un diamètre constant de 6 mm . Pour garantir des contours réguliers et une diffusion uniforme de l'huile essentielle, il est essentiel que l'outil de découpe soit bien affûté. Les disques ainsi obtenus ont été placés dans un tube à essai hermétiquement fermé, puis stérilisés à 120 °C pendant 15 minutes à l'autoclave. Après stérilisation, ils ont été conservés à température ambiante dans des conditions aseptiques jusqu'à leur utilisation.



Figure 07: Préparation des disques (Originale,2025).

➤ **Préparation les dilutions**

Cinq tubes stériles de type Eppendorf ont été préparés pour la réalisation de dilutions successives : 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 et 1/32. Le premier tube (1/2) a été rempli avec 100 µl de l'extrait d'huile essentielle et 100 µl de diluant (DMSO), puis agité vigoureusement pendant quelques secondes. Ensuite, 100 µl de ce mélange ont été transférés dans le deuxième tube (1/4), auquel ont été ajoutés 100 µl de DMSO. La même procédure a été répétée pour les tubes suivants, en transférant à chaque fois 100 µl du tube précédent dans un nouveau tube contenant 100 µl de DMSO, jusqu'à obtenir la dernière dilution (1/32).



Figure 8: Préparation les dilutions (Originale,2025).

➤ Préparation de l'inoculum

À partir d'une culture pure âgée de 18 à 24 heures, cultivée sur un milieu d'isolement solide, quelques colonies bien isolées et morphologiquement similaires ont été prélevées à l'aide d'une pipette Pasteur en verre, puis transférées dans 10 ml d'eau physiologique stérile. La suspension bactérienne ainsi obtenue a été homogénéisée par agitation manuelle jusqu'à atteindre une turbidité équivalente au standard 0,5 de McFarland, correspondant à une concentration estimée à $1,5 \times 10^8$ UFC/ml. Afin de confirmer cette correspondance, l'absorbance de la suspension a été mesurée à une longueur d'onde de 625 nm, conformément aux indications selon (site 02) Les valeurs acceptables d'absorbance se situent entre 0,08 et 0,13.

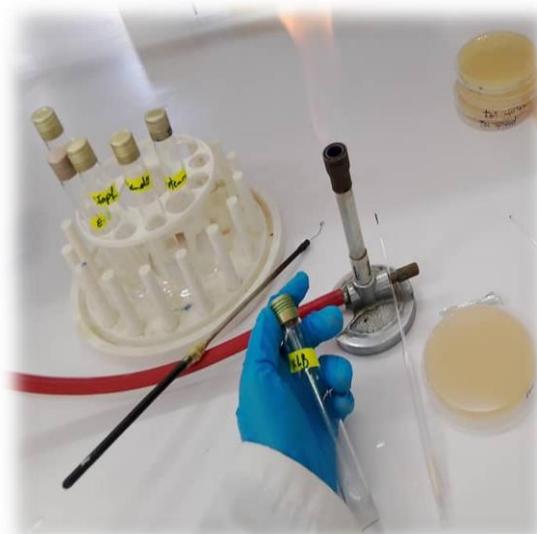


Figure 9: Préparation de l'inoculum (Originale,2025).

➤ Ensemencement

Après la préparation de la suspension bactérienne et l'ajustement de sa densité optique conformément au standard de McFarland 0,5 (avec une absorbance comprise entre 0,08 et 0,13), le milieu Müller-Hinton, recommandé pour les tests de sensibilité aux antibiotiques, a été ensemencé. Un écouvillon stérile imbibé de la suspension bactérienne a été utilisé pour ensemencer uniformément toute la surface de la boîte de Pétri, par un mouvement régulier de haut en bas, sans laisser de zones non couvertes, afin d'assurer une distribution homogène des bactéries. Toutes les étapes ont été réalisées dans des conditions d'asepsie rigoureuses afin d'éviter toute contamination susceptible de compromettre la fiabilité des résultats.

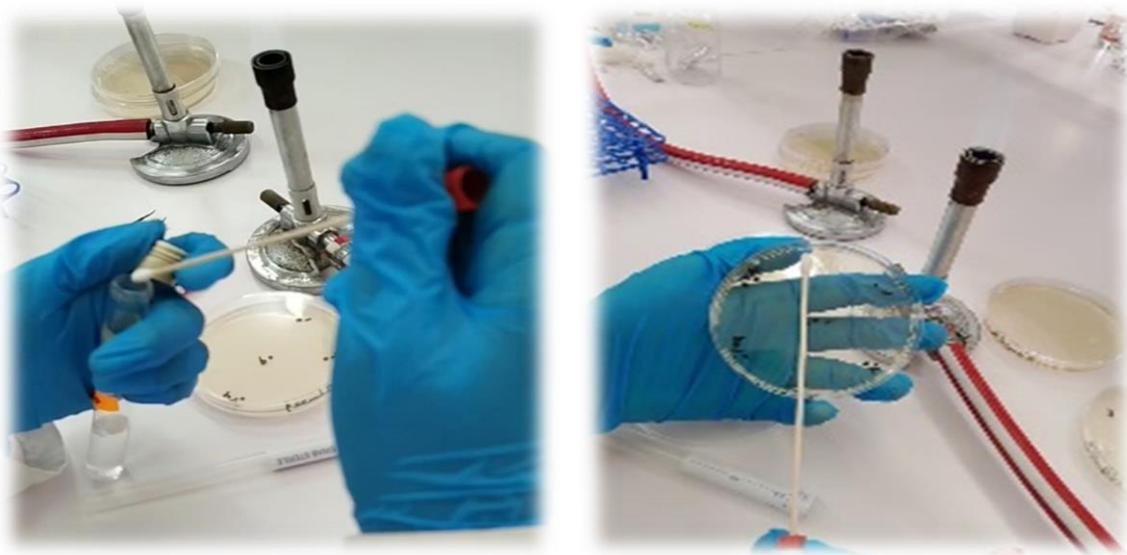


Figure 10: Ensemencement des souches sur les boîtes de pétri (Originale, 2025).

➤ Application des disques

Pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne, les disques de sensibilité ont été imprégnés manuellement avec 10 µL d'huile essentielle, à l'état pur ainsi qu'à cinq dilutions successives (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32), et DMSO comme témoin négative. Après l'imprégnation, les disques ont été laissés à température ambiante pendant environ 5 minutes afin de permettre une absorption complète des solutions.

Les disques ainsi préparés ont ensuite été déposés délicatement à la surface des milieux ensemencés, en respectant une distance suffisante entre eux pour éviter le chevauchement des zones d'inhibition. Un disque de gentamicine a été utilisé comme témoin positif pour valider l'efficacité de la méthode. L'ensemble du test a été réalisé en double pour garantir la reproductibilité des résultats.

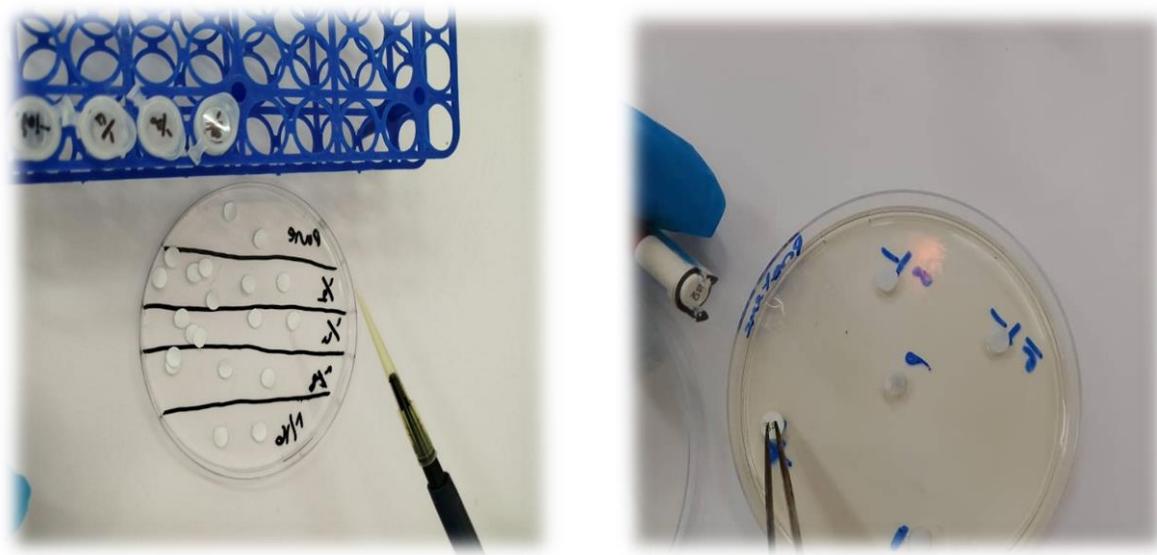


Figure 11: Remplissage et répartition des disques sur le milieu de culture (Originale,2025)

➤ Conservation

Enfin, les boîtes de Pétri ont été emballées dans du papier cellophane et aluminium pour maintenir les conditions d'asepsie, puis incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

➤ Lecteur des résultats

Après incubation des boîtes de Pétri, une zone d'inhibition circulaire se forme autour de chaque disque imprégné, traduisant l'absence de croissance bactérienne. Plus cette zone est large, plus la souche bactérienne est sensible à l'agent testé. Le diamètre de chaque zone d'inhibition a été mesuré à l'aide d'une règle graduée, et les résultats exprimés en centimètres (cm).

Selon (Ponce *et al.*, 2003), les diamètres des zones d'inhibitions de l'activité antibactérienne sont rangés en 4 classes à savoir :

Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8 mm

sensible (+) : diamètre compris entre 8 à 14 mm

très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm

Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20mm.

3.8.2. Détermination de CMI et CMB

3.8.2.1. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice en milieu liquide (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme la plus faible concentration d'un antibiotique capable d'inhiber toute croissance visible d'un inoculum bactérien standardisé, dans un milieu de culture spécifique et sous des conditions expérimentales normalisées. Ces conditions incluent une incubation de 18 à 24 heures, à une température de 35 à 37 °C (Muylaert A ,2012).

Déposer de manière stérile 8 µl de l'huile essentielle (*Syzygium aromaticum*), 2 µl de DMSO à 1 %, ainsi que 190 µl de bouillon Mueller-Hinton (BMH) stérile dans le puits n°1. Ensuite, ajouter 100 µl de BMH stérile dans chacun des puits de 2 à 10.

Une série de dilutions successive de facteur 2 (des dilutions au facteur ½) a été réalisée immédiatement dans le bouillon Mueller-Hinton, à partir de la solution mère contenue dans le puits 1, en transférant 100 µl de puits en puits jusqu'au puits 10. Le volume de 100 µl prélevé du dernier puits est à éliminer. Il est important de bien homogénéiser le contenu de chaque puits après chaque transfert.

Étant donné la non-miscibilité des huiles essentielles avec l'eau, et donc avec le milieu de culture, une émulsion dans le DMSO a été réalisée afin de favoriser le contact entre le germe et l'huile essentielle. Le choix du DMSO (diméthylsulfoxyde) comme solvant a été retenu cité par Bouguerra (2012), le DMSO ne possède pas de pouvoir antibactérien significatif.

Enfin, déposer 100 µl d'un inoculum, préalablement dilué au 1/100 (environ 10^6 UFC/ml), dans chaque puits, afin d'obtenir une concentration finale de 5×10^5 UFC/ml.

La 11^e colonne de la plaque, contenant uniquement 200 µl de BMH, sert de témoin négatif.

La 12^e colonne, qui contient 192 µl de l'inoculum et 8 µl de DMSO, fait office de témoin positif. Les différents échantillons bactériens ont été espacés par des lignes de puits vides, afin d'éviter toute contamination croisée.

La microplaqué est recouverte puis incubée à 37 °C pendant 24H (Mann et Markham, 1998). La lecture des résultats s'effectue à l'œil nu, et la concentration minimale inhibitrice (CMI) correspond à la plus faible concentration d'huile essentielle à laquelle aucune turbidité n'est observée (Eloff , 1998).



Figure 12. Détermination CMI par méthode de microplaques (Originale , 2025).

3.8.2.2. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

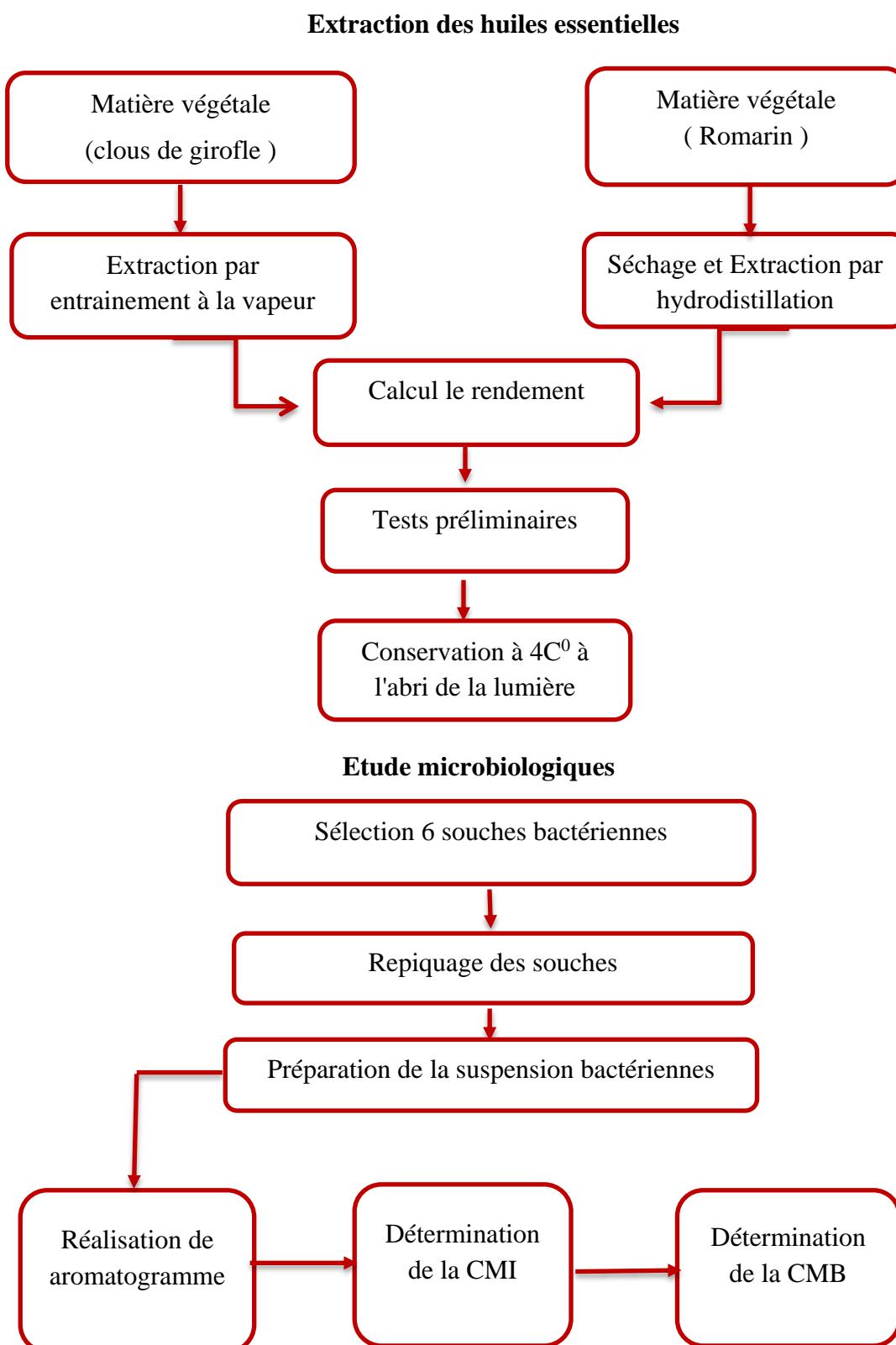
La concentration minimale bactéricide (CMB) est définie comme la plus faible concentration d'huile essentielle capable de détruire 99,9 % de la population bactérienne finale.

Après la détermination de (CMI), les puits contenant des concentrations d'huile essentielle strictement supérieures à la CMI ont été utilisés pour la détermination de la CMB.

Pour ce faire, un volume de 10 µL prélevé de chaque puits ne présentant pas de croissance a été transféré sur des boîtes de Pétri contenant 15 ml d'agar Mueller-Hinton .

Ces boîtes ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 heures. Cette méthode permet de vérifier la viabilité et la cultivabilité des bactéries (Rhayour, 2002).

Le rapport CMB/CMI est calculé afin d'évaluer le pouvoir antibiotique de l'huile essentielle. Lorsque ce rapport est inférieur ou égal à 4, l'extrait est considéré comme bactéricide. En revanche, lorsque le rapport est supérieur à 4, l'extrait est qualifié de bactériostatique (Eberlin, 1994).

**Figure 13.** Schéma récapitulatif de la démarche expérimentale

Chapitre 04

Résultats et discussions

Les résultats obtenus dans le cadre de ce modeste travail sont présentés en deux volets : le premier concerne l'opération d'extraction des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* (Romarin) et de *Syzygium aromaticum* (Clou de girofle), et le second porte sur l'évaluation de leur activité antibactérienne.

4.1. Résultats de l'extraction de l'huile essentielle

Huile de Clou de girofle est un Huile jaune à brun clair avec une odeur épicee intense grâce à l'eugénol. Connue pour ses propriétés antibactériennes et antifongiques.

Huile de Romarin obtenue est un jaune pâle à incolore, avec une odeur fraîche et camphrée. Appréciée pour ses effets stimulants et antiseptiques.



Figure 14: Huiles essentielles de clou de giroflier (A) et romarin (B) (Originale, 2025).

4.2.1. Rendement

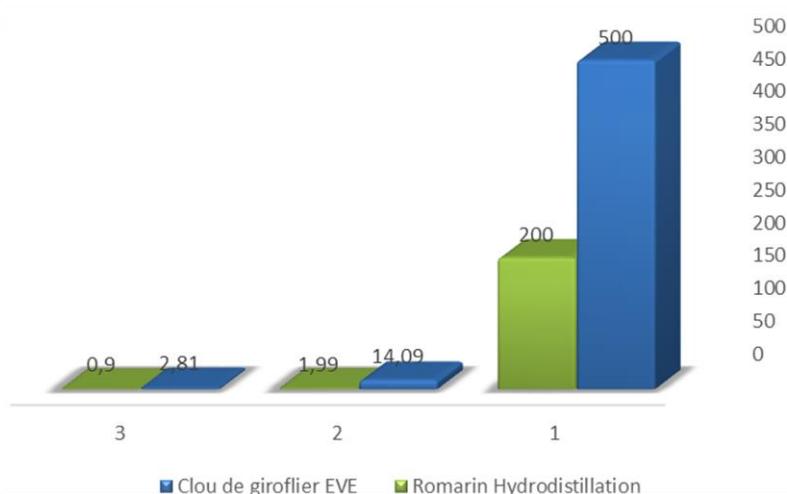
Calcul du rendement

Le rendement de l'huile essentielle a été déterminé selon une approche gravimétrique, en appliquant la formule suivante : $RHE = (M' / M) \times 100$.

Les résultats d'extraction des huiles essentielles, avec une quantité de 14,09 g pour le clou de giroflier (2,81 %) et 1,99 g pour le romarin (0,9 %), sont mieux présentés dans le tableau 2 et dans (figure 16).

Tableau 02: Rendement des huiles essentielles de deux plantes

La plante	Méthode d'extraction	Masse de plante sèche (g)	Masse de HE (g)	Rendement (%)
Clou de giroflier	Entrainement à la vapeur d'eau (EVE)	500	14.09	2.818
Romarin	Hydrodistillation (HD)	200	1.99	0.995

**Figure 15:** Rendement d'extraction des huiles essentielles

Le rendement obtenu pour l'huile essentielle de clou de girofle par distillation à la vapeur est de 2,818%. Ce rendement est inférieur à celui rapporté dans la littérature (4,986%) pour la même méthode, probablement à cause des conditions expérimentales différentes. Selon Chilev et Peshev (2025) l'hydro-distillation donne un rendement plus élevé, environ 9,7%. Cela montre que la distillation à la vapeur est moins efficace pour extraire l'huile de clou de girofle. Il serait donc utile d'optimiser les conditions ou d'utiliser l'hydro-distillation pour améliorer le rendement.

Le rendement de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. obtenu par hydrodistillation était de 0,995 %. Ce résultat se situe dans l'intervalle rapporté par Amin *et al.*(2017), où les rendements varient entre 0,88 % et 1,2 %. Cette concordance suggère que la méthode utilisée est efficace et comparable aux procédés décrits dans d'autres travaux. Il est

important de noter que le rendement en huile essentielle dépend de plusieurs facteurs, notamment l'origine géographique de la plante, les conditions de culture, de récolte, et de distillation .

4.2.2. Les tests phytochimiques

Tableau 03: Les résultats phytochimiques (Originale, 2025)

Les tests	Remarque	Résultats
 Alcaloïde	Précipité rouge indique la présence de alcaloïde	+
 flavonoïde	Précipité jaune indique la présence de flavonoïde	+
 Tanins	Précipité blanc indique la présence de tanins	+

Les tests qualitatifs réalisés sur l'HE de clou de girofle ont révélé la présence de flavonoïdes, de tanins et d'alcaloïdes ,Ces résultats sont en accord avec l'étude phytochimique de *Syzygium aromaticum* selon Lone et Jain (2022) , qui confirme la présence de ces composés bioactifs. Ces substances sont reconnues pour leurs propriétés antioxydantes ,antimicrobiennes.

Les résultats phytochimiques ayant révélé la présence de flavonoïdes, de tanins et d'alcaloïdes dans l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* sont en parfaite concordance avec

Kalinda et Rioba (2020) dans l'étude, qui souligne que ces métabolites secondaires sont bien présents dans les extraits de cette plante. Les flavonoïdes, les tanins et les alcaloïdes sont des composés actifs reconnus pour conférer au romarin ses propriétés antioxydantes et antimicrobiennes.

4.3. Etude de l'activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de clou de girofle et de romarin a été réalisée sur 06 souches bactériennes en utilisant la méthode de diffusion en milieu solide (aromatogramme), basée sur l'application de disques de papier imprégnés d'huile essentielle. Cette approche qualitative repose sur la mesure des diamètres des zones d'inhibition (en mm) après une incubation de 24 heures à 37°C. Elle a permis de mettre en évidence le potentiel inhibiteur des huiles testées vis-à-vis des bactéries ciblées .Les résultats obtenus sont illustrés dans les figures correspondantes

4.3.1. Activité antibactérienne de huile essentielle de clou de girofle

Afin d'évaluer l'efficacité antibactérienne de l'huile essentielle de clou de girofle, des tests ont été réalisés dont les résultats sont détaillés ci-après (tableau 04 et figure 17).

Tableau 04. : Diamètres des zones d'inhibition de l'HE de clou de girofle selon les dilutions contre 06 souches bactériennes

Les souches	Témoin+ (gentamycine)	Témoin- (DMSO)	Huile pure	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
<i>S.aureus</i>	19 (++)	-	25 (+++)	20 (++)	17 (++)	11 (+)	10 (+)	9 (+)
<i>K.pneumoniae</i>	18(++)	-	25 (+++)	20 (++)	18 (++)	15 (++)	11 (+)	-
<i>P.aeruginosa</i>	12(+)	-	20 (++)	19 (++)	15 (++)	13 (+)	9 (+)	-
<i>E.coli</i>	14(+)	-	27 (+++)	24 (+++)	21 (+++)	15 (++)	10 (+)	9 (+)
(SARM)	19(++)	-	28 (+++)	25 (+++)	20 (++)	15 (++)	13 (+)	-
<i>P.mirabilis</i>	10(+)	-	17 (++)	15 (++)	13 (+)	11 (+)	9 (+)	5 (-)

Non sensible (-) ,sensible (+) ,très sensible (++) ,Extrêmement sensible (+++)

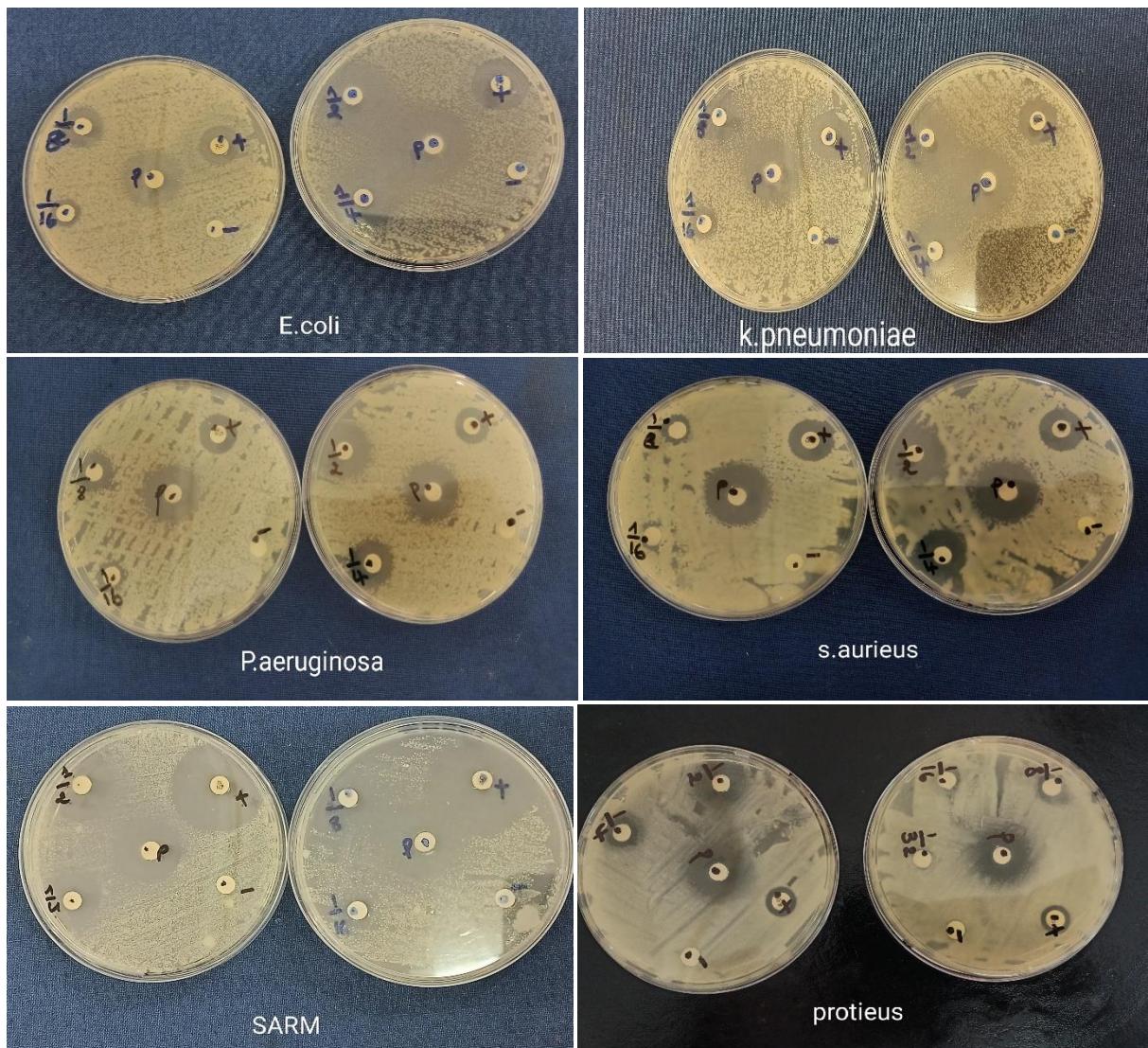


Figure 16: Effet antibactérien de l'huile essentielle de clou de girofle sur les souches bactériennes testées par la méthode de diffusion sur disque (Originale ,2025).

Les résultats ont révélé une forte activité antibactérienne de l'huile essentielle de clou de girofle contre *staphylococcus aureus*, avec un diamètre d'inhibition de 25 mm pour l'huile pure, dépassant celui de la gentamicine (19 mm). Une inhibition encore plus importante a été observée contre *s.aureus résistant à la méthicilline (MRSA)*, atteignant 28 mm . Ces observations concordent avec résultats de Teles *et al.*(2021), qui a montré que cette huile était particulièrement efficace contre les bactéries à Gram positif, en raison de leur paroi cellulaire plus fine permettant une meilleure pénétration des composés actifs tels que l'eugénol. De plus, l'étude de Obuotor *et al.*(2023) a enregistré une zone d'inhibition de 23 mm contre *S. aureus*, la plus élevée parmi les souches testées.

Contre *Klebsiella pneumoniae*, un diamètre d'inhibition de 25 mm a été enregistré avec l'huile essentielle de clou de girofle, contre 18 mm pour la gentamicine. L'étude Ginting *et al.* (2021) rapporte également une bonne activité de cette huile contre *K. pneumoniae*, avec des diamètres allant jusqu'à 24 mm . Ces résultats sont prometteurs, car cette bactérie Gram négatif est connue pour sa résistance aux antibiotiques en raison de sa double membrane externe.

L'huile essentielle pure a généré une zone d'inhibition de 20 mm contre *Pseudomonas aeruginosa*, ce qui est significativement plus élevé que celle produite par la gentamicine (12 mm).

Résultats de Obuotor *et al.*(2023) a rapporté un diamètre d'inhibition plus faible (11,5 mm), montrant que l'activité peut varier selon la souche et la concentration. L'étude Maggini *et al.*(2024) suggère aussi que certains facteurs environnementaux peuvent améliorer la pénétration des composés actifs. Nos résultats indiquent que, malgré ses mécanismes de résistance, *P. aeruginosa* reste sensible à l'huile essentielle de clou de girofle à concentration élevée .

Une inhibition remarquable a été enregistrée contre *Escherichia coli*, avec un diamètre d'inhibition atteignant 27 mm pour l'huile essentielle pure, contre 14 mm pour la gentamicine. Cette forte activité est conforme aux études Teles *et al.* (2021), Bai *et al.*(2023)et Maggini *et al.* (2024), qui soulignent que l'eugénol peut désorganiser les membranes externes des bactéries Gram négatif comme *E. coli* .

Contre *Proteus mirabilis*, un diamètre d'inhibition de 17 mm a été observé avec l'huile pure, alors que celui du témoin antibiotique (gentamicine) n'était que de 10 mm . L'étude Al-Janabi et Asaad (2021) mentionne également une activité modérée de l'huile de clou de girofle contre des souches de *Proteus* , avec des zones allant de 11 à 15 mm . Cette bactérie est connue pour sa capacité de mobilité élevée et sa production d'enzymes inactivant plusieurs antibiotiques.

D'après Bouguerra (2012), l'efficacité antibactérienne des huiles essentielles dépend en grande partie de la nature chimique et de la structure moléculaire de leurs constituants actifs. Les études *in vitro* ont notamment révélé que les terpènes oxygénés présentent une activité antibactérienne plus marquée que celle des terpènes hydrocarburés.

Le DMSO, utilisé comme témoin négatif, n'a montré aucun effet inhibiteur sur les 06 souches bactériennes testées, ce qui confirme que l'activité antibactérienne observée est exclusivement attribuable à l'huile essentielle étudiée.

4.3.2. Activité antibactérienne de l'huile essentielle du romarin

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle du romarin a été évaluée à l'aide du test de diffusion en milieu gélosé. Les résultats obtenus sont présentés dans le (Tableau 5) et illustrés par la (Figure 18).

Tableau 05: Diamètres des zones d'inhibition de l'HE de romarin selon les dilutions contre 06 souches bactériennes

Les souches	Témoin+ (gentamycine)	Témoin- (DMSO)	Huile pure	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
<i>S.aureus</i>	19 (++)	-	20 (++)	11 (+)	10 (+)	9 (+)	8 (+)	0 (-)
<i>K.pneumoniae</i>	18 (++)	-	17 (++)	11 (+)	10 (+)	9 (+)	7 (-)	0 (-)
<i>P.aeruginosa</i>	12 (+)	-	16 (++)	13 (+)	12 (+)	9 (+)	7 (-)	6 (-)
<i>E.coli</i>	14 (+)	-	19 (++)	15 (++)	13 (+)	10 (+)	9 (+)	6 (-)
(SARM)	19 (++)	-	18 (++)	11 (+)	10 (+)	9 (+)	8 (+)	0 (-)
<i>P.mirabilis</i>	10 (+)	-	16 (++)	13 (+)	12 (+)	11 (+)	9 (+)	7 (-)

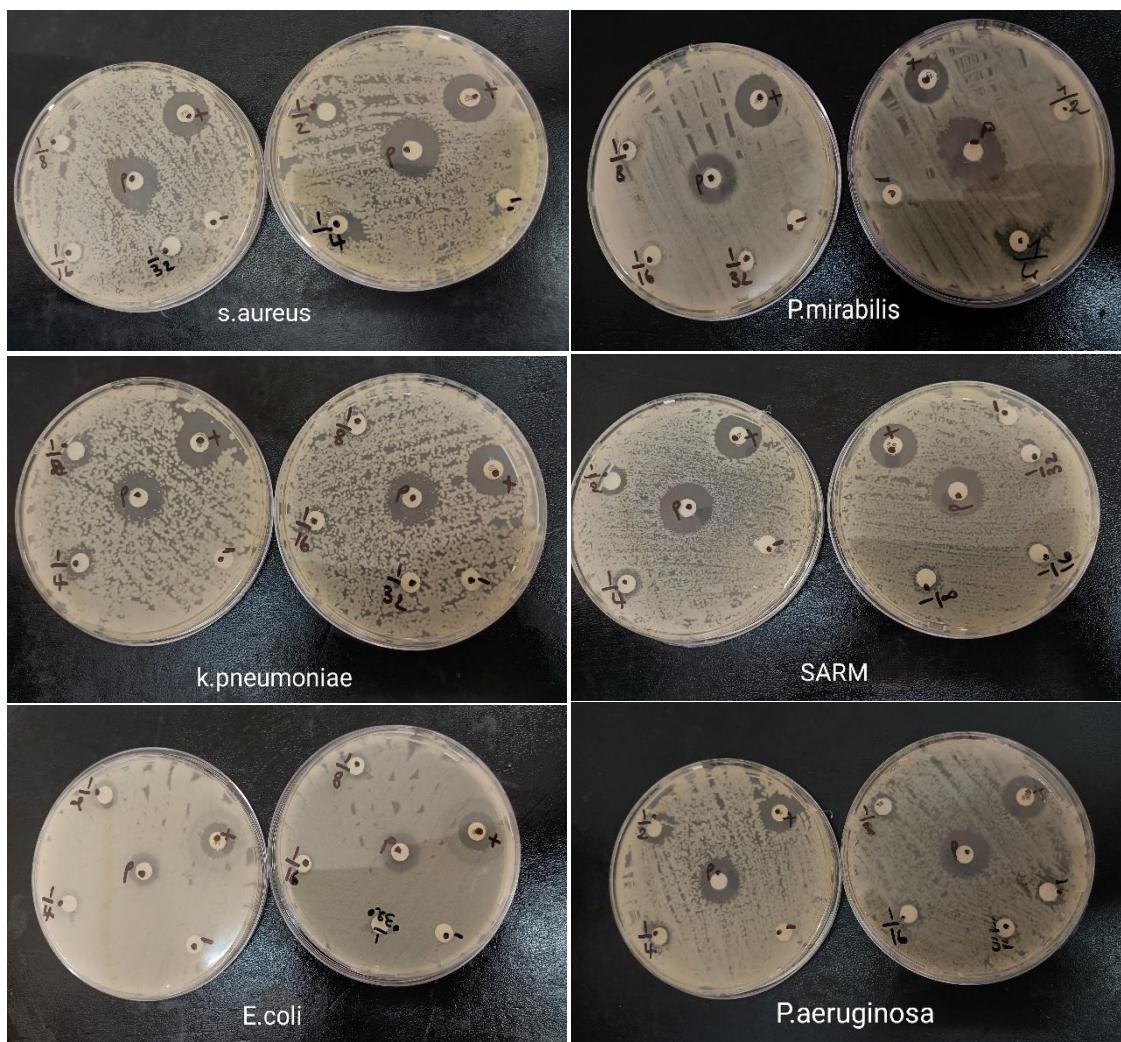


Figure 17: Effet antibactérien de l'huile essentielle de romarin sur les souches bactériennes testées par la méthode de diffusion sur disque (Originale ,2025).

Les résultats obtenus dans le cadre de notre étude ont montré que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* présente une activité antibactérienne significative contre la bactérie à Gram positif *Staphylococcus aureus*, avec un diamètre de zone d'inhibition de 20 mm . Cette activité corrobore le potentiel antimicrobien de l'huile essentielle et s'aligne avec les résultats rapportés par Mouas *et al.* (2017), qui ont observé des zones d'inhibition de 23,75 mm pour l'écotype de Blida et de 16,75 mm pour celui de Djelfa.

Les variations observées entre les échantillons peuvent être attribuées à des différences dans la composition chimique des huiles essentielles. Le diamètre d'inhibition de 20 mm obtenu dans notre étude est considéré comme élevé, témoignant d'une bonne efficacité de l'huile essentielle contre *S. aureus* et soulignant son potentiel en tant qu'agent antimicrobien naturel.

En comparaison, les extraits méthanoliques analysés dans la même étude ont présenté une activité antibactérienne moindre, avec des diamètres allant de 13,25 mm à 15,5 mm, ce qui met

en évidence le rôle prépondérant des composés volatils présents dans les huiles essentielles dans l'effet antibactérien.

Ensuite, nous avons montré que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* à 100 % a induit une zone d'inhibition de 17 mm contre *Klebsiella pneumoniae*, tandis que les concentrations à 50 % et 25 % ont généré des zones d'inhibition respectives de 11 mm et 10 mm . Ces observations concordent avec celles rapportées par Mourabiti *et al.* (2024), qui ont mis en évidence une activité antibactérienne similaire, confirmant ainsi une corrélation positive entre la concentration de l'huile essentielle et son efficacité antimicrobienne. Selon ces auteurs, cet effet pourrait être attribué à la présence de composés bioactifs tels que le cinéole, le camphre et l'alpha-pinène, connus pour leurs propriétés antimicrobiennes. Ces molécules agissent en perturbant la membrane cellulaire des bactéries, ce qui entraîne une inhibition de leur croissance et leur prolifération.

Notre étude a confirmé que l'huile essentielle de romarin possède une activité antibactérienne significative contre *Pseudomonas aeruginosa*, avec un diamètre de zone d'inhibition de 16 mm . Ce résultat dépasse celui rapporté par Mattazi *et al.* (2015), qui ont observé un diamètre d'environ 10,5 mm pour la même souche. Cette différence peut s'expliquer par des facteurs tels que la méthode d'extraction et la composition chimique de l'huile essentielle, influencée par l'origine géographique et les conditions de culture de la plante.

Par ailleurs, l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* a montré une zone d'inhibition de 19 mm contre *Escherichia coli* dans notre étude, avec une diminution progressive de l'activité antibactérienne à mesure que les concentrations étaient diluées. Ce résultat est supérieur à celui rapporté par Mouas *et al.* (2017), qui ont enregistré des diamètres de 9,25 mm (Blida) et 9,5 mm (Djelfa). Les variations observées peuvent également être liées à la composition chimique des huiles, modulée par les conditions pédoclimatiques et les techniques d'extraction utilisées.

Cependant, une inhibition de la croissance de *Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline (SARM)* a été observée grâce à l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*, avec une zone d'inhibition mesurée à 18 mm . Ce résultat met en évidence son activité antibactérienne notable. En comparaison, Alzoubi *et al.* (2014) ont rapporté des zones d'inhibition plus larges, comprises entre 27 et 30 mm, ce qui suggère une efficacité plus marquée dans leurs conditions expérimentales.

Notre étude a également révélé une activité antimicrobienne contre *Proteus mirabilis*, avec une zone d'inhibition de 16 mm . À l'inverse, l'étude menée par Khaled *et al.* (2024) n'a pas mis en évidence d'effet inhibiteur significatif de la même huile essentielle sur cette bactérie. Cette divergence pourrait s'expliquer par des variations dans les concentrations utilisées, les méthodes d'application ou les souches bactériennes testées. Ainsi, nos résultats soulignent le potentiel de *Rosmarinus officinalis L.* comme agent antimicrobien naturel, tout en mettant en lumière l'influence des conditions expérimentales sur son efficacité.

4.4. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB)

Les résultats des tests de la concentration minimale inhibitrice (CIM) et de la concentration minimale bactéricide (CMB) de l'huile de clou de girofle ont montré une efficacité variable contre les six souches bactériennes testées. La sensibilité des bactéries dépend principalement de la structure de leur paroi cellulaire et de leurs caractéristiques biochimiques. Une discussion détaillée pour chaque souche, en comparant avec les études scientifiques pertinentes, est présentée ci-dessous.

Selon Pankey et Sabath (2004) , un antibiotique est considéré comme bactéricides s'il provoques une réduction de $\geq 99.99\%$ de la densité bactérienne en 18-24h , ou si le rapport CMB/CMI ≤ 4 ; il est bactériostatique lorsque CMB/CMI > 4 .

4.4.1. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)de clou de giroflier

Les résultats relatifs à la (CMI) de l'(HE)s de clou de giroflier sont illustrés dans les(figures 19 à 24) , ainsi que synthétisés dans le (tableau 6). Ces données permettent d'évaluer l'efficacité antibactérienne de l'huile essentielle étudiée sur les 06 souches bactériennes testées.

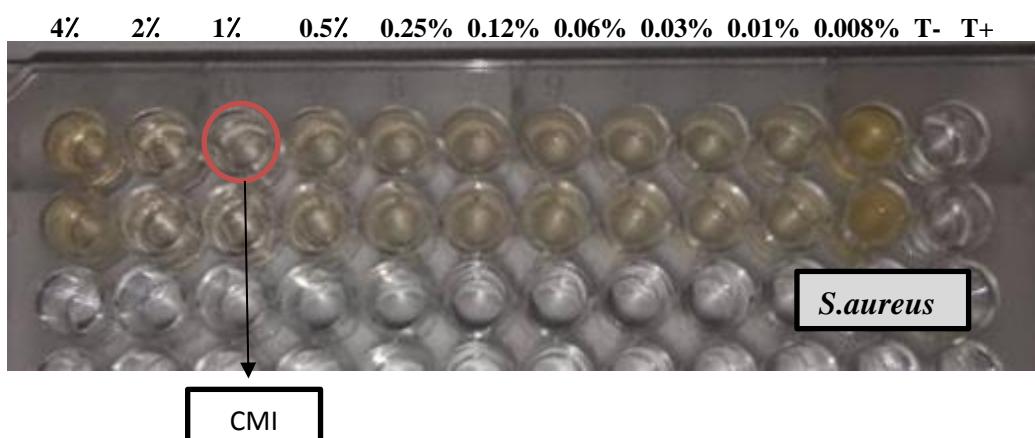


Figure 18: Détermination CMI pour la souche bactérienne *S.aureus* sur microplaqué. (Originale,2025).



Figure 19: Détermination CMI pour la souche bactérienne *K.pneumoniae* sur microplaqué .
(Originale,2025)

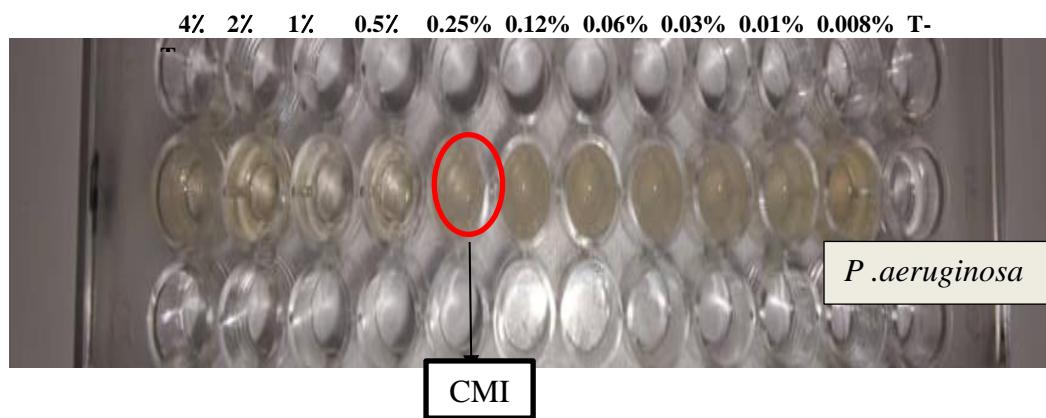


Figure 20: Détermination CMI pour la souche bactérienne *P.aeruginosa* sur microplaqué .
(Originale,2025)

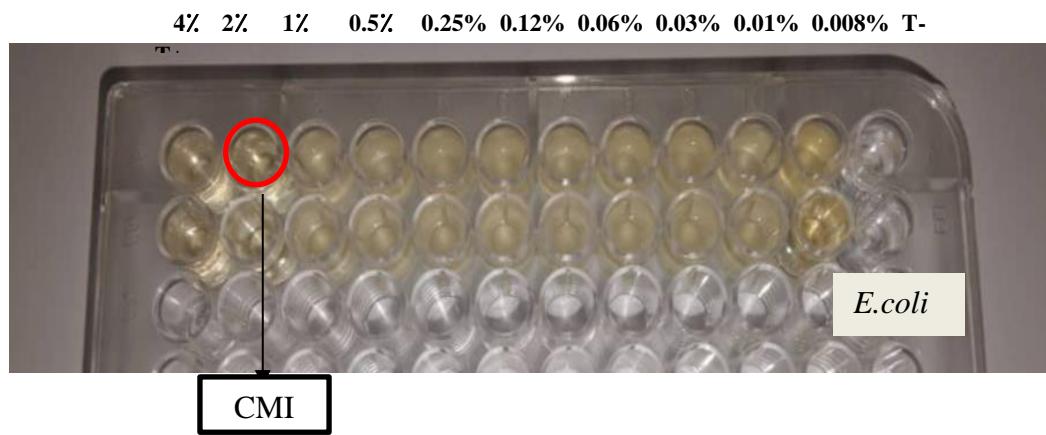


Figure 21: Détermination CMI pour la souche bactérienne *E.coli* sur microplaqué.
(Originale,2025)

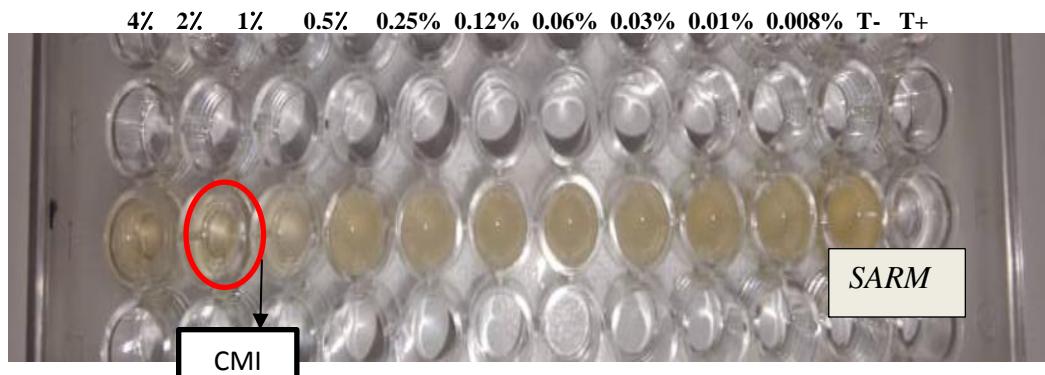


Figure 22: Détermination CMI pour la souche bactérienne *SARM* sur microplaqué.
(Originale,2025)

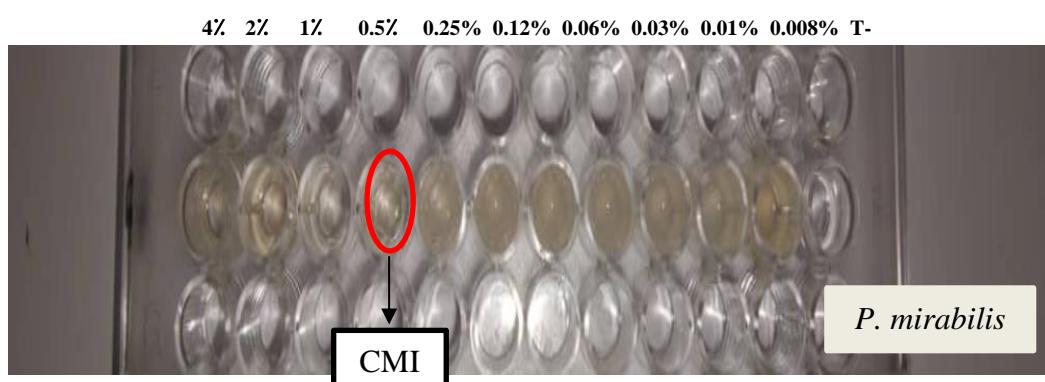


Figure 23: Détermination CMI pour la souche bactérienne *P. mirabilis* sur microplaqué.
(Originale,2025).

Tableau 6. Effet des différentes concentrations d'HE de clou de giroflier sur la croissance des bactéries.

Puits \ Souches	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	T-	T+
<i>S.aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>K.pneumoniae</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>P .aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+
<i>E .coli</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
(SARM)	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>P. mirabilis</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+

- : Absence de dépôt

+ : Présence de dépôt

Selon nos résultats expérimentaux, les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* obtenues par la méthode de dilution en milieu liquide ont démontré une activité antibactérienne notable, bien que variable, selon les souches bactériennes testées.

Les valeurs enregistrées sont de 1 % pour *Staphylococcus aureus*, 2 % pour *Klebsiella pneumoniae*, 0,25 % pour *Pseudomonas aeruginosa*, 2 % pour *Escherichia coli*, 2 % pour *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), et 0,5 % pour *Proteus mirabilis*.

4.4.2. Détermination de la Concentration Minimale bactéricide (CMB)

Après la détermination des (CMI), l'étape suivante consiste à évaluer les (CMB). Pour cela, un ensemencement est réalisé à partir des puits dans lesquels aucune croissance bactérienne n'a été observée, afin de vérifier l'absence totale de viabilité cellulaire , Les résultats sont présentés en (Figure 25) et dans le (Tableau 07).

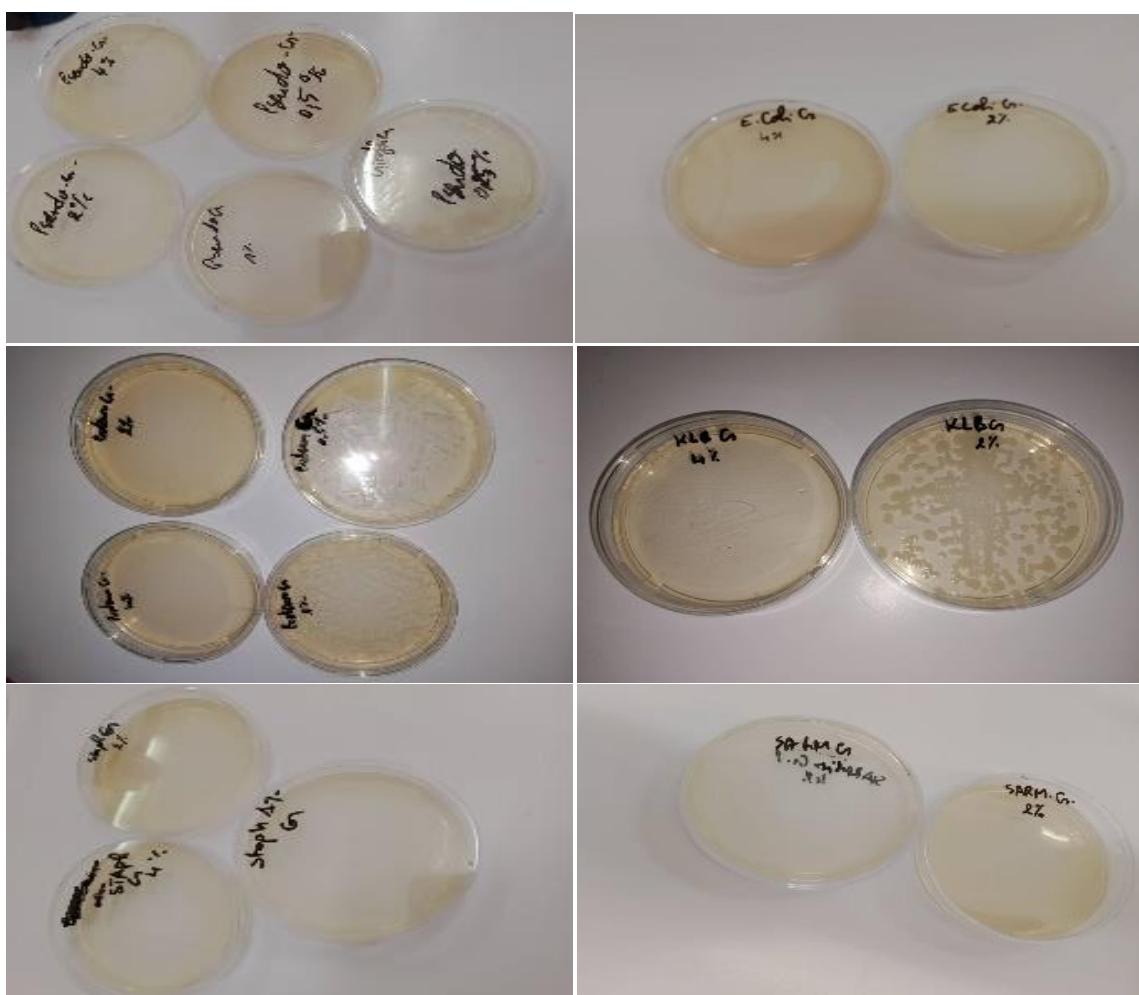


Figure 24. Détermination de la CMB sur les souches bactériennes étudiées (Originale,2025).

Tableau 07. Nature de l'activité d'HE de clou de giroflier, CMI et CMB d'huiles essentielles testées sur les six souches bactériennes étudiées exprimée en % (V/V).

Les souches	CMI (%)	CMB (%)	CMB/CMI (%)	Nature de l'activité
<i>S.aureus</i>	1	1	1	Bactéricide
<i>K.pneumoniae</i>	2	4	2	Bactéricide
<i>P.aeruginosa</i>	0.25	0.5	2	Bactéricide
<i>E.coli</i>	2	2	1	Bactéricide
(SARM)	2	2	1	Bactéricide
<i>P.mirabilis</i>	0.5	2	4	Bactéricide

Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude ont mis en évidence le puissant potentiel antibactérien de l'huile essentielle de clou de girofle, notamment vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*. La parfaite concordance entre la CIM et la CMB, toutes deux évaluées à 1 %, témoigne d'un effet bactéricide net, sans ambiguïté. Ce résultat corrobore les observations de Nait Irahal *et al.*(2020), qui ont démontré l'action décisive de l'eugénol - principal composé actif - sur la membrane cellulaire bactérienne, provoquant la dénaturation des protéines vitales et, par conséquent, la mort cellulaire. L'étude de Bai *et al* .(2023) renforce cette hypothèse, en soulignant que les phénols présents dans l'huile entravent les voies enzymatiques métaboliques, amplifiant l'activité bactéricide. Cette efficacité est également à mettre en relation avec la structure relativement perméable de la paroi des bactéries à Gram positif (voir annexes n 03), qui autorise une interaction directe de l'eugénol avec les composants intracellulaires.

À l'opposé, *Klebsiella pneumoniae* a manifesté une sensibilité moindre, avec une CIM de 2 % et une CMB doublée à 4 %, traduisant une activité essentiellement inhibitrice (rapport CMB/CIM = 2). Cette atténuation de l'efficacité peut être imputée, comme le suggèrent S. Oulkheir et *al.*(2017), à la présence d'une barrière externe lipopolysaccharidique particulièrement imperméable (voir annexes n 03), qui constitue un obstacle redoutable à la diffusion des composés lipophiles comme l'eugénol.

De manière inattendue, *Pseudomonas aeruginosa*, pourtant célèbre pour son arsenal de résistance, s'est révélée très sensible à l'huile, avec une CIM de 0,25 % et une CMB de 0,5 %. Cette sensibilité remarquable pourrait s'expliquer, d'après Nait Irahal *et al.* (2020), par l'inhibition des pompes à efflux – un des mécanismes de défense majeurs chez cette souche –

par les constituants phénoliques. Par ailleurs, les métabolites secondaires de l'huile, décrits par Bai *et al.* (2023), viendraient perturber davantage l'intégrité membranaire.

Concernant *Escherichia coli*, les résultats révèlent une activité modérée, avec une CIM et une CMB équivalentes à 2 %. Cette réponse intermédiaire pourrait être attribuée à la membrane externe riche en lipides, qui agit comme une barrière de diffusion. Toutefois, l'eugénol, en interagissant avec les protéines membranaires Bai *et al.* (2023), parvient à compromettre cette défense et à exercer son effet.

La souche multi résistante *SARM* a également réagi favorablement au traitement, avec une CIM et une CMB égales à 2 %, signalant un potentiel thérapeutique réel. Nait Irahal *et al.* (2020) ont suggéré que l'eugénol interagit non seulement avec la paroi cellulaire mais interfère aussi avec les mécanismes métaboliques internes, offrant une alternative prometteuse face à la résistance aux antibiotiques conventionnels.

Enfin, *Proteus mirabilis* a présenté une sensibilité plus limitée, bien que la CIM soit relativement basse (0,5 %), la CMB atteignant 2 %, soit un rapport CMB/CIM de 4. Cette différence significative indique une action principalement inhibitrice. Ce phénomène serait lié, selon S. Oulkheir *et al.* (2017), à la production d'enzymes spécifiques capables de dégrader certains composés actifs. Toutefois, il est intéressant de noter que, malgré cela, l'eugénol conserve une certaine efficacité, probablement en raison de sa capacité à inhiber partiellement ces enzymes (Nait Irahal *et al.*, 2020).

4.4.3. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide du romarin

Les résultats obtenus ont démontré que l'huile essentielle du romarin présente une activité antimicrobienne notable, comme en témoignent les valeurs observées des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et des concentrations minimales bactéricides (CMB). Cette efficacité témoigne de la présence de composés bioactifs capables d'inhiber la croissance bactérienne et d'exercer un effet létal.

Nous discuterons l'effet observé sur chaque souche bactérienne dans ce qui suit.

4.4.4. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) du romarin

La détermination de la (CMI) de l'huile essentielle de romarin a été réalisée afin d'évaluer son efficacité antimicrobienne. Les résultats expérimentaux sont présentés dans le (Tableau 8) et illustrés par les (Figures 26, 27, 28, 29, 30 et 31).

4% 2% 1% 0.5% 0.25% 0.12% 0.06% 0.03% 0.01% 0.008% T- T+

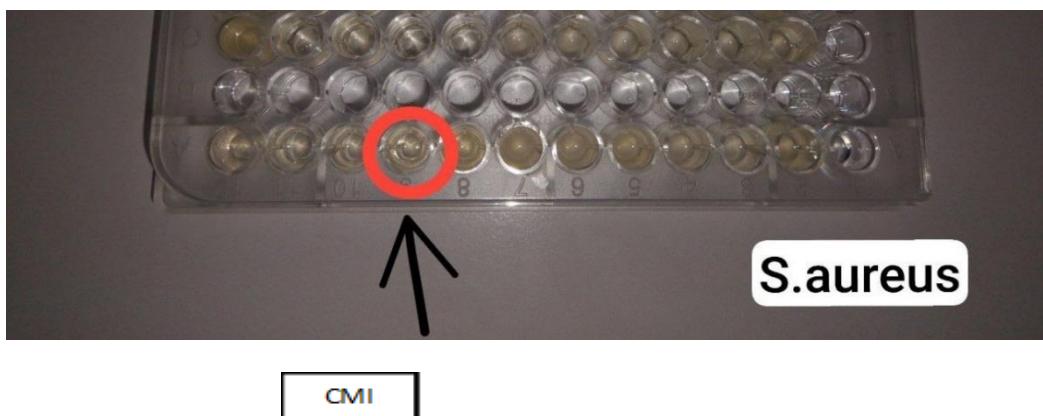


Figure 25. Détermination CMI pour la souche bactérienne *S.aureus* sur microplaqué (Originale,2025).

4% 2% 1% 0.5% 0.25% 0.12% 0.06% 0.03% 0.01% 0.008% T- T+

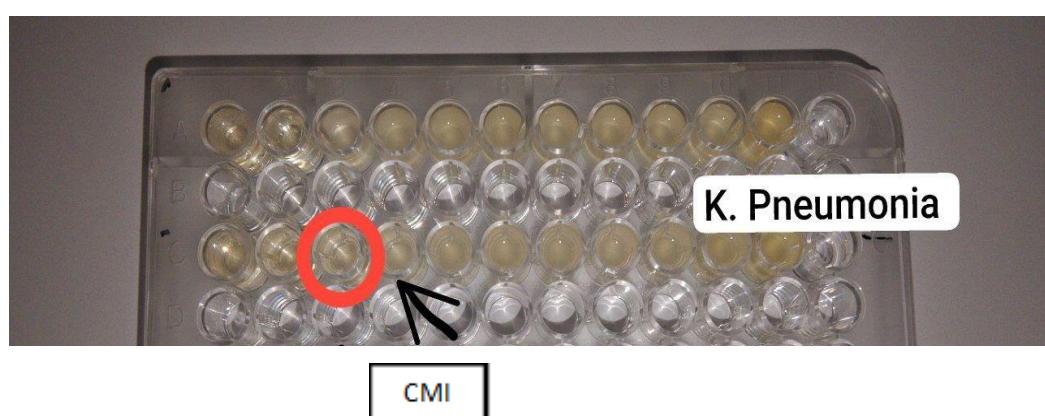


Figure 26. Détermination CMI pour la souche bactérienne *K.pneumoniae* sur microplaqué (Originale,2025).

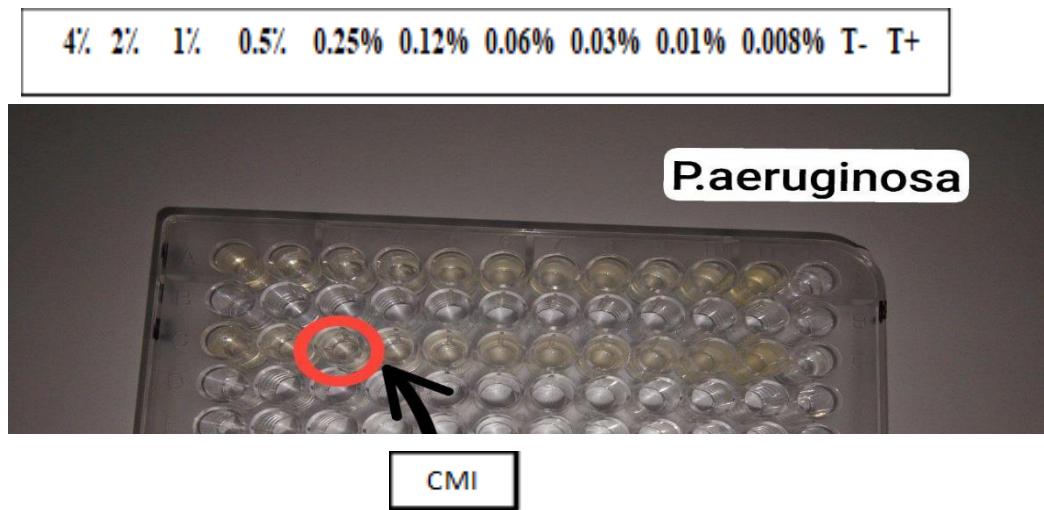


Figure 27. Détermination CMI pour la souche bactérienne *P.aeruginosa* sur microplaqué (Originale,2025).

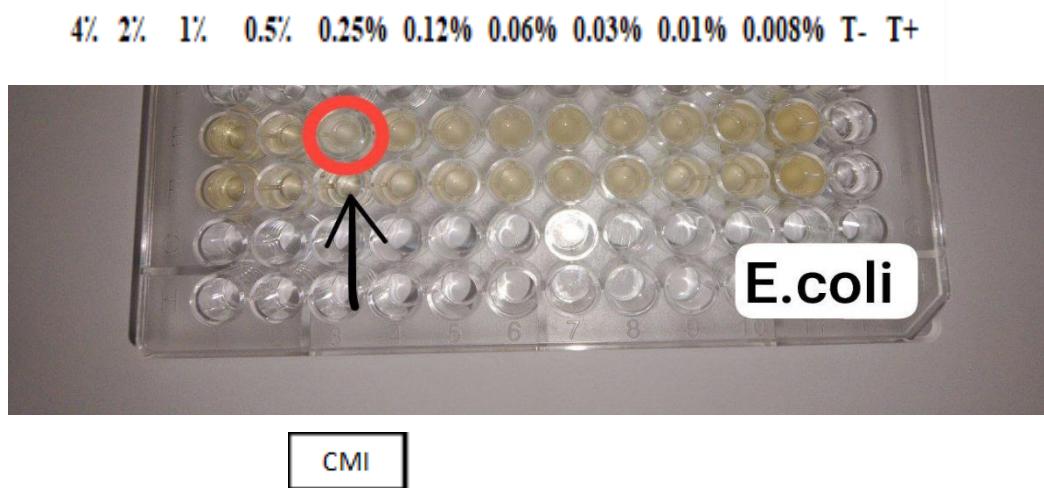


Figure 28. Détermination CMI pour la souche bactérienne *E.coli* sur microplaqué (Originale,2025).

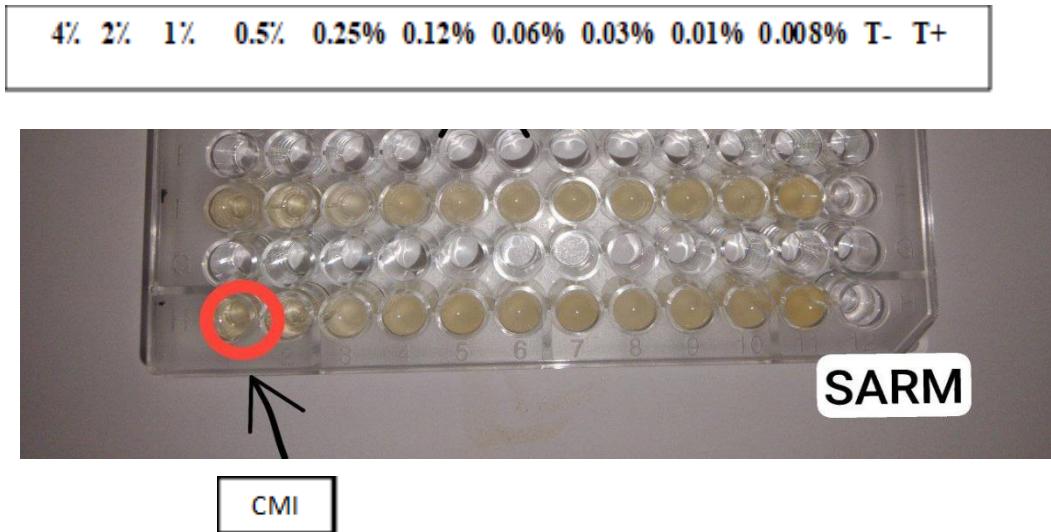


Figure 29. Détermination CMI pour la souche bactérienne *SARM* sur microplaqué (Originale,2025).

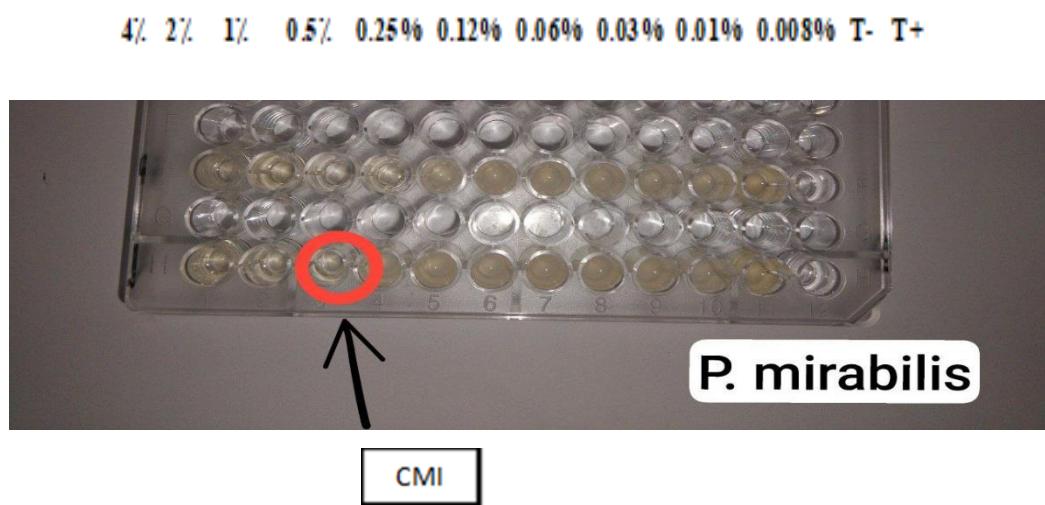


Figure 30. Détermination CMI pour la souche bactérienne *P. mirabilis* sur microplaqué (Originale,2025).

Tableau 08. Effet des différentes concentrations d'HE du romarin sur la croissance des bactéries.

Puits Souches \	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	T-	T+
<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>K.pneumoniae</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>E. coli</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
(SARM)	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>P. mirabilis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+

- : Absence de dépôt

+ : Présence de dépôt

D'après nos résultats expérimentaux, les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'huile essentielle de romarin déterminées ont révélé une activité antibactérienne significative, dont l'intensité varie selon les souches bactériennes étudiées.

Les valeurs enregistrées sont de 0.5 % pour *Staphylococcus aureus*, 1 % pour *Klebsiella pneumoniae*, 1 % pour *Pseudomonas aeruginosa*, 1% pour *Escherichia coli*, 4 % pour *Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline (SARM)*, et 1 % pour *Proteus mirabilis*.

4.4.5. Détermination de la Concentration Minimale bactéricide (CMB) du romarin

Après la détermination des CMI, l'étape suivante consiste à évaluer les CMB. Pour cela, un ensemencement est effectué à partir des puits ne présentant aucune croissance bactérienne

La concentration minimale bactéricide (CMB) de l'huile essentielle du romarin a été déterminée afin de vérifier sa capacité à éliminer complètement les cellules bactériennes. Les résultats de ce test sont présentés dans le (tableau 09) et illustrés par la (figure 32).

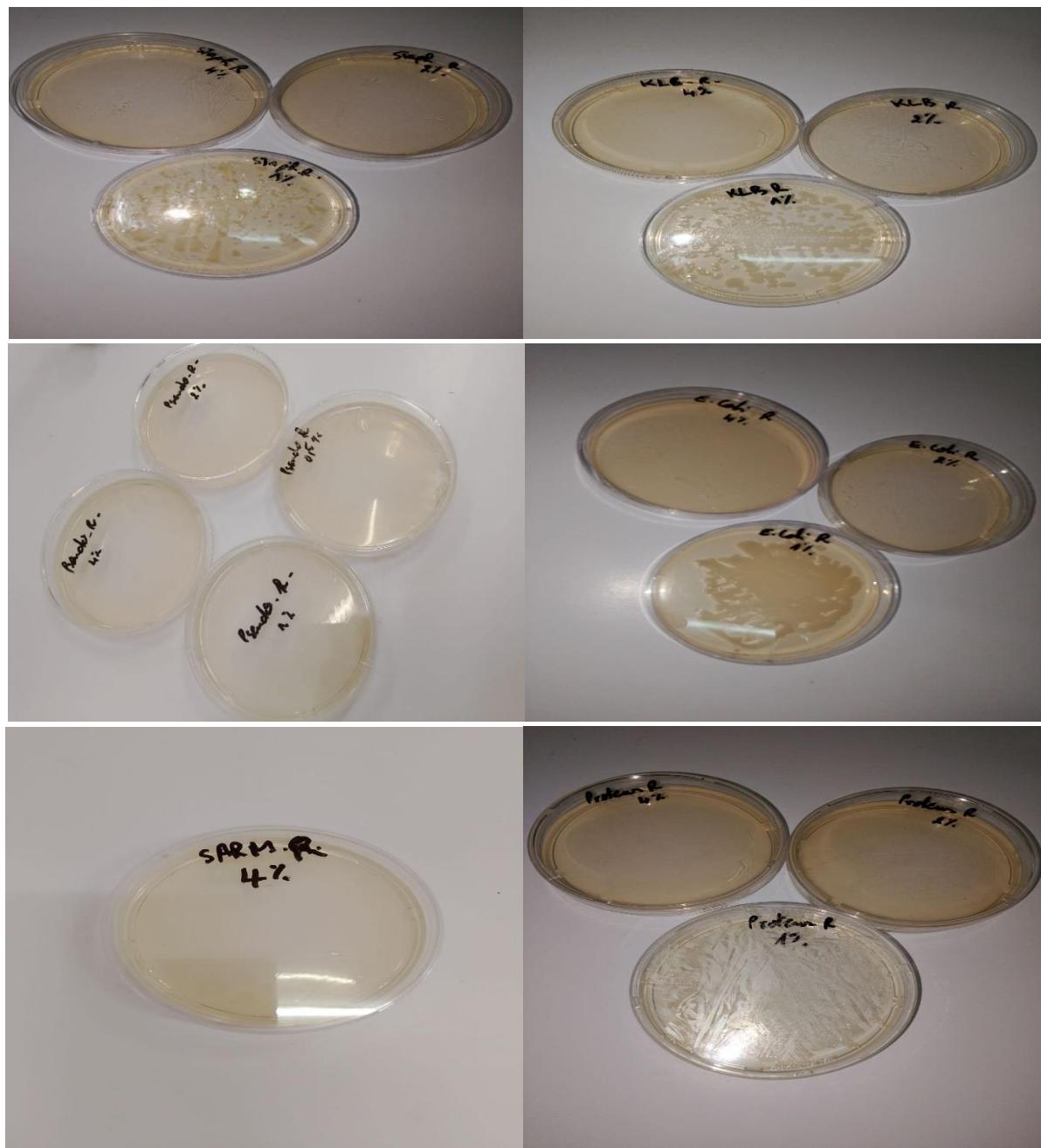


Figure 31. Détermination de la CMB sur les souches bactériennes étudiées (Originale,2025).

Tableau 9. Nature de l'activité d'HE du Romarin , CMI et CMB d'huiles essentielles testées sur les six souches bactériennes étudiées exprimée en % (V/V).

Les souches	CMI (%)	CMB (%)	CMB/CMI (%)	Nature de l'activité
<i>S.aureus</i>	0.5	0.5	1	Bactéricide
<i>K.pneumoniae</i>	1	2	2	Bactéricide
<i>P.aeruginosa</i>	1	2	2	Bactéricide
<i>E. coli</i>	1	2	1	Bactéricide
(SARM)	4	4	2	Bactéricide
<i>P. mirabilis</i>	1	1	1	Bactéricide

Les résultats de notre étude ont montré que *staphylococcus aureus* s'est révélée être la souche la plus sensible à l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*, avec une CMI de 0,5 % et une CMB également de 0,5 %, indiquant une capacité notable de l'huile à inhiber et à éliminer cette bactérie au même seuil de concentration. En comparaison, les résultats obtenus par Sales et Pashazadeh . (2020) ont montré une CMI de 0,625 % et une CMB de 1,25 %, ce qui suggère que l'huile utilisée dans notre étude présente une activité antibactérienne plus marquée. Cette différence pourrait être attribuée à plusieurs facteurs, notamment l'origine botanique de la plante, les conditions de culture, la méthode d'extraction ou encore la concentration en composés actifs tels que le 1,8-cinéole et l' α -pinène. Malgré ces variations, les deux études confirment le potentiel antimicrobien prometteur de l'huile essentielle de romarin contre *Staphylococcus aureus*.

Dans l'étude de Kabotso *et al.* (2024), la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle de romarin contre *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* variait entre 3,13 et 6,25 mg/ml , et la concentration minimale bactéricide (CMB) entre 3,12 et 12,5 mg/ml. En revanche, dans notre étude, la CMI était de 10 mg/ml et la CMB de 20 mg/ml, ce qui indique une efficacité plus faible de l'huile dans les conditions expérimentales utilisées.

Nous pouvons indiquer que *Escherichia coli* a présenté, dans cette étude, une CMI de 10 mg/ml et une CMB de 20 mg/ml vis-à-vis de l'huile essentielle de romarin. En comparaison, Djamila *et al.* (2012) ont rapporté une CMI de 0,75 mg/ml et une CMB supérieure à 3 mg/ml,

indiquant une activité antibactérienne plus importante. Cette différence pourrait être due à une méthode d'extraction plus efficace dans leur étude, permettant une meilleure concentration en composés actifs. De plus, leur analyse chromatographique a révélé une forte teneur en 1,8-cinéole et α -pinène, deux molécules reconnues pour leur pouvoir antibactérien.

Concernant les résultats obtenus dans cette étude, l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* a montré une activité antimicrobienne relativement faible vis-à-vis des souches de *Staphylococcus aureus résistantes à la méthicilline (SARM)*, avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) et une concentration minimale bactéricide (CMB) toutes deux égales à 40 mg/ml.

Ces valeurs indiquent une efficacité limitée, surtout lorsqu'on les compare à celles rapportées dans la littérature. Par exemple, Alzoubi *et al.* (2014) ont observé, avec un extrait éthanolique de *R. officinalis*, une CMI variant entre 0,125 et 0,25 mg/ml et une CMB entre 0,25 et 0,5 mg/ml. Cette différence marquée suggère que l'extrait éthanolique est significativement plus actif que l'huile essentielle testée dans notre travail. Cette disparité peut s'expliquer principalement par la nature chimique différente des extraits : l'extrait éthanolique contient une gamme plus large de composés hydrosolubles, tels que les polyphénols et les flavonoïdes, connus pour leurs puissantes propriétés antimicrobiennes. Cependant, il est important de noter que l'huile essentielle a également montré un effet antimicrobien, bien que moins prononcé que celui de l'extrait éthanolique.

Cette étude a mis en évidence une activité antibactérienne plus marquée de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* contre *Proteus mirabilis*, avec des valeurs de CIM et CMB de 10 mg/ml, comparées à celles rapportées par Bogavac *et al.* (2017), qui étaient de 25 mg/ml. Ces résultats suggèrent que l'huile testée possède un potentiel antimicrobien supérieur dans les conditions expérimentales appliquées, renforçant son intérêt en tant qu'agent naturel prometteur dans la lutte contre les infections bactériennes.

Conclusion

Conclusion

Cette étude, à travers une approche analytique et expérimentale rigoureuse, a mis en évidence l'activité biologique remarquable des huiles essentielles extraites de *Syzygium aromaticum* (clou de girofle) et de *Rosmarinus officinalis* (romarin) contre plusieurs souches bactériennes, y compris celles connues pour leur résistance aux antibiotiques.

Ces résultats constituent un indicateur fort du potentiel prometteur que recèlent les composés naturels dans la lutte contre les défis microbiologiques contemporains, notamment face au déclin progressif de l'efficacité des traitements médicamenteux conventionnels et à l'émergence de nouveaux profils de résistance bactérienne. Ces observations soulignent l'importance de réexplorer les ressources naturelles, non pas à travers une vision purement traditionnelle, mais dans le cadre d'une démarche scientifique fondée sur des bases expérimentales solides.

En effet, les huiles essentielles, riches en composés organiques actifs tels que l'eugénol et le cinéole, ont démontré une capacité significative à inhiber ou à éliminer diverses souches bactériennes, leur conférant ainsi un rôle potentiel dans les approches thérapeutiques alternatives. Elles s'inscrivent également dans la dynamique mondiale du recours à une médecine complémentaire, intégrative et durable, qui valorise l'équilibre entre avancée scientifique et préservation des ressources écologiques. De ce fait, cette recherche ne constitue pas une fin en soi, mais bien un point de départ vers un champ d'investigation scientifique prometteur. Il devient alors nécessaire d'approfondir les études futures afin de mieux comprendre les mécanismes d'action de ces huiles à l'échelle cellulaire et moléculaire, d'évaluer leur toxicité potentielle, leurs interactions avec les médicaments conventionnels, ainsi que leur stabilité dans diverses conditions environnementales. À plus long terme, l'élargissement des expérimentations à des modèles biologiques *in vivo* pourrait permettre d'évaluer l'efficacité réelle de ces composés dans des contextes physiologiques complexes, en vue de développer de nouveaux produits pharmaceutiques ou sanitaires fondés sur ces extraits naturels.

Par ailleurs, les résultats obtenus ouvrent également des perspectives d'application au-delà du domaine médical, notamment dans les industries agroalimentaires, cosmétiques, désinfectantes ou encore agricoles, où les propriétés antibactériennes de ces huiles peuvent être exploitées pour améliorer la qualité et la sécurité des produits sans recourir à des substances chimiques de synthèse.

En somme, cette étude constitue une contribution scientifique modeste mais significative dans le cadre des efforts de recherche visant à renforcer la sécurité sanitaire mondiale et à proposer des solutions thérapeutiques alternatives, efficaces, sûres et naturelles. Elle représente également un appel à la communauté scientifique, aux laboratoires et aux institutions de recherche à poursuivre l'exploration de cette voie prometteuse, dans une perspective à la fois humaine, écologique et innovante.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

A

- Abdullah, B. H., Hatem, S. F., & Jumaa, W. (2015). A comparative study of the antibacterial activity of clove and rosemary essential oils on multidrug resistant bacteria. Department of Clinical and Laboratory Sciences, Pharmacy College, Al Mustansiriyah University.

- AFNOR .(1986). Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles ». AFNOR, Paris, p. 57.

-Alzoubi, H. M., Ibrahim, A. I., Alsbou, M. S., & Aqel, A. A. (2014). Inhibitory effect of Mediterranean sage and rosemary on clinical and community isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 7(3), 161–164.

- Al-Janabi, M., & Asaad, J. I. (2021). Antibacterial activity of cloves seeds (*Syzygium aromaticum*) and cinnamon bark essential oils. *Natural Volatiles & Essential Oils*, 8(2), 131–141.

- Amin, T., Naik, H. R., & Hussain, S. Z. (2017). Chemotyping the essential oil in different rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) plants grown in Kashmir Valley. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 14(3), 1025–1031. <https://doi.org/10.13005/bbra/2537>.

B

- Bai, J., Li, J., Chen, Z., Bai, X., Yang, Z., Wang, Z., & Yang, Y. (2023). Antibacterial activity and mechanism of clove essential oil against foodborne pathogens. *LWT - Food Science and Technology*, 173, 114249. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114249> .

-Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446- 475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>.

- Bašer, K. H. C., & Buchbauer, G. (Eds.). (2010). *Handbook of essential oils: Science, technology, and applications* (pp. 39–40). CRC Press/Taylor & Francis.

- Bencheikh, S. E. (2017). Étude de l’activité des huiles essentielles de la plante *Teucrium polium* ssp *Aurasianum Labiateae* [Thèse de doctorat, Université Kasdi Merbah - Ouargla]. Faculté des Sciences Appliquées, Département de Génie des Procédés.

- Bogavac, M. A., Karaman, M. A., Suđi, J. J., Radovanović, B. B., Janjušević, L. N., Ćetković, N. B., & Tešanović, K. D. (2017). Antimicrobial potential of *Rosmarinus officinalis* commercial essential oil in the treatment of vaginal infections in pregnant women. *Natural Product Communications*, 12(1), 127–130.

- BOUGUERRA A (2012). Etude des activités biologiques de l’huile essentielle extraite des graines de Foeniculum vulgare Mill. En vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. Thèse de Magister, Université Mentouri Constantine ,77p.
- Boukhatem, M. N., Ferhat, A., & Kameli, A. (2019). Méthodes d’extraction et de distillation des huiles essentielles : Revue de littérature. *Revue Agrobiologia*, 9(2), 1653–1659.
<https://www.agrobiologia.net/article/RA09021653>
- Bouras, M. (2019). Évaluation de l’activité antibactérienne des extraits de certaines plantes de l’est algérien sur des souches résistantes aux antibiotiques [Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba].
- Boutabia, L., Telailia, S., Bouguetof, I., Guenadil, F., & Chefroor, A. (2016). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de Rosmarinus officinalis L. de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 85, 174–189.
- Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales (3^e éd.). Éditions médicales internationales / Éditions Tec & Doc.
- Burt, S. (2004). Essential oils : Their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223- 253.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>.
- C*
- Chalchat, J.-C., Garry, R.-P., Menut, C., Lamaty, G., Malhuret, R., & Chopineau, J. (1997). Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, 9(1), 67–75.
<https://doi.org/10.1080/10412905.1997.9700717>
- Chang, R. K., Miller, M., Shahin, K., Batac, F., Field, C. L., Duignan, P., Struve, C., Byrne, B. A., Murray, M. J., Greenwald, K., Smith, W. A., Ziccardi, M., & Soto, E. (2022). Genetics and pathology associated with *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella* spp. isolates from North American Pacific coastal marine mammals. *Veterinary Microbiology*, 265, 109307.
<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2021.109307>
- Chilev, C., & Peshev, D. (2025). Hydro-distillation versus steam distillation for clove oil production. *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*, 60(2), 311–318.
<https://doi.org/10.59957/jctm.v60.i2.2025.13>.
- Coker, C., Poore, C. A., Li, X., & Mobley, H. L. T. (2000). Pathogenesis of *Proteus mirabilis* urinary tract infection. *Microbes and Infection*, 2(12), 1497–1505.
[https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(00\)01318-2](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(00)01318-2)

- Cortés-Rojas, D. F., Fernandes de Souza, C. R., & Oliveira, W. P. (2014). Clove (*Syzygium aromaticum*): A precious spice. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(2), 90–96. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(14\)60215-X](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(14)60215-X)

D

- da Silva, G. J., & Mendonça, N. (2012). Association between antimicrobial resistance and virulence in *Escherichia coli*. *Virulence*, 3(1), 18–28. <https://doi.org/10.4161/viru.3.1.18382>.

- Danthu, P., Penot, E., Ranoarison, K. M., Rakotondravelo, J. C., Michel-Dounias, I., Michels, T., Normand, F., Razafimamponjiso, G., Fawbush, F., & Jahiel, M. (2014). Le giroflier à Madagascar : une « success story »... à l'avenir incertain. *Bois & Forêts des Tropiques*, (319), 3–13. <https://www.researchgate.net/publication/269113997>

- De Billerbeck, V.-G. (2007). Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*, 5(4), 249–253. <https://doi.org/10.1007/s10298-007-0265-z>.

- Degryse, A.-C., Delpla, I., & Voinier, M.-A. (2008). Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles [Rapport d'atelier, École des Hautes Études en Santé Publique].

- Djamila, H., Benseghir, H., Benamrouche, S., Zaidi, S., Zineddine, R., Bessas, A., & Msela, A. (2021). Chemical composition and antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* essential oil from Algeria. *Agricultura*, 3–4(119–120), 24–30.

E

- Eberlin T. 1994. Les antibiotiques Classification, mode d'action, utilisation thérapeutique. Nathan, Paris, 88 p.

- El Kamli, T., Errachidi, F., Eloutassi, N., Majid, H., Chabir, R., & Bour, A. (2017). Comparaison quantitative et qualitative des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* obtenues par différentes méthodes. *European Scientific Journal*, 13(21), 172–187. <https://doi.org/10.19044/esj.2017.v13n21p172>.

- Eloff, J. N. (1998). A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Medica*, 64(8), 711–713. <https://doi.org/10.1055/s-2006-957563> -

F

- Fery-Hue, F. (1997). Le romarin et ses propriétés. Un traité anonyme faussement attribué à Aldebrandin de Sienne. *Romania*, (457-458), 138–192.

G

- Ginting, E. V., Retnaningrum, E., & Widiasih, D. A. (2021). Antibacterial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) and cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) essential oil against

extended-spectrum β -lactamase-producing bacteria. Veterinary World, 14(8), 2206–2211. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.2206-2211>.

- Giraud, C., Bernard, C., Ruer, S., & de Bentzmann, S. (2010). Biological ‘glue’ and ‘Velcro’: Molecular tools for adhesion and biofilm formation in the hairy and gluey bug *Pseudomonas aeruginosa*. Environmental Microbiology Reports, 2(3), 343–358. <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2009.00070.x>

- Gordon, R. J., & Lowy, F. D. (2008). Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. Clinical Infectious Diseases, 46(Suppl 5), S350–S359. <https://doi.org/10.1086/533591>.

I

- Ismaili, M. R. (2021). Gestion durable des matorrals de romarin, *Rosmarinus officinalis* L., de la région de l’Oriental et valorisation de leurs huiles essentielles (Thèse de doctorat, Université Mohammed V, Rabat, Maroc). Centre de Biotechnologies Végétale et Microbienne, Biodiversité et Environnement.

K

-Kabotso, D. E. K., Neglo, D., Gaba, S. E., Danyo, E. K., Dayie, A. D., Asantewaa, A. A., Kotey, F. C. N., & Dayie, N. T. K. D. (2024). In vitro evaluation of rosemary essential oil: GC-MS profiling, antibacterial synergy, and biofilm inhibition. Pharmaceuticals, 17(12), 1653.

-Kalemba, D., & Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Medicinal Chemistry, 10(10), 813–829.

- Kalinda, R. S., & Rioba, N. B. (2020). Phytochemical analysis and efficacy of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and mint (*Mentha spicata*) extracts against fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) on baby corn (*Zea mays*). Acta Chemica Malaysia, 4(2), 66–72. <https://doi.org/10.2478/acmy-2020-0011>.

- Kaloustian, J., & Hadji-Minaglou, F. (2012). La connaissance des huiles essentielles : Qualitologie et aromathérapie. Springer Paris. <https://doi.org/10.1007/978-2-8178-0309-8>

- Kaur, K., & Kaushal, S. (2019). Phytochemistry and pharmacological aspects of *Syzygium aromaticum*: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(1), 398–406. <https://www.researchgate.net/publication/330215481>

- Khaled, S. A. (2024). Comparison the effect of plant extracts and antibiotics on gram negative bacteria isolated from patients with urinary tract infection in Tikrit city. GSC Biological and Pharmaceutical Sciences, 27(02), pp. 060–067.

- Khwaza 'V. et Aderibigbe 'B. A.(2025). Antibacterial activity of selected essential oil components and their derivatives: A review. Department of Chemistry 'Faculty of Science and Agriculture 'University of Fort Hare 'Alice Campus 'Alice 5700 'South Africa.
- Kim, B. N., Kim, N. J., Kim, M. N., Kim, Y. S., Woo, J. H., & Ryu, J. (2003). Bacteraemia due to tribe Proteeae: A review of 132 cases during a decade (1991–2000). Scandinavian Journal of Infectious Diseases, 35(2), 98–103.
- Kompelly, A., Kompelly, S., Bakshi, V., & Boggula, N. (2019). Rosmarinus officinalis L.: An update review of its phytochemistry and biological activity. Journal of Drug Delivery & Therapeutics, 9(1), 323–330. <http://jddtonline.info>
- Kurita, N., Miyaji, M., Kurane, R., & Takahara, Y. (1981). Antifungal activity of components of essential oils. Agricultural and Biological Chemistry, 45(4), 945–952.

L

- Lakhdar, L., Hmamouchi, M., Rida, S., & Ennibi, O. (2012). Antibacterial activity of essential oils against periodontal pathogens: A qualitative systematic review. Odonto-Stomatologie Tropicale, 35(140), 5–12.
- Le Loir, Y., Baron, F., & Gautier, M. (2003). *Staphylococcus aureus* and food poisoning. Genetics and Molecular Research: GMR, 2(1), 63–76.
- Lobstein, A., Couic-Marinier, F., & Barbelet, S. (2017). Huile essentielle de clou de girofle. Actualités pharmaceutiques, 56(569), 40–42.
- Lone, Z. A., & Jain, N. K. (2022). Phytochemical analysis of clove (*Syzygium aromaticum*) dried flower buds extract and its therapeutic importance. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 12(4-S), 87–92. <https://doi.org/10.22270/jddt.v12i4-s.5628> .

M

- Maggini, V., Semenzato, G., Gallo, E., Nunziata, A., Fani, R., & Firenzuoli, F. (2024). Antimicrobial activity of *Syzygium aromaticum* essential oil in human health treatment. Molecules, 29(5), 999. <https://doi.org/10.3390/molecules29050999> .
- Massot, M., Picard, B., & Denamur, E. (2016, novembre). Diversité des populations d'*Escherichia coli* et leurs variations au cours du temps au sein du microbiote intestinal. Revue Francophone des Laboratoires, (486), 35–43.
- Mattazi, N., Farah, A., Fadil, M., Chraibi, M., & Benbrahim, K. F. (2015). Essential oils analysis and antibacterial activity of the leaves of *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* and *Mentha piperita* cultivated in Agadir (Morocco). International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 7(9), 73–79 .

- Mellal, H., Aroua, K., Naili, O., Hanoun, S., Ouane, M., Mayouf, N., Aiche, M. A., Abdessemed, N., Bensizerara, D., & Benzaim, S. (2023). Study of the antimicrobial potential of essential oils of two medicinal plants Rosmarinus officinalis and Artemisia herba alba from Algeria and the effect of their associations with antibiotics. *African Journal of Biological Sciences*.

-Mouas, Y., Benrebiha, F. Z., & Chaouia, C. (2017). Évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin Rosmarinus officinalis L. *Revue Agrobiologia*, 7(1), pp. xx–xx. Reçu le 21/05/2017, Révisé le 21/06/2017, Accepté et mis en ligne le 30/06/2017. ISSN: 2170-1652, e-ISSN: 2507-7627.

- Mourabiti, F., Derdak, R., El Amrani, A., Zouheir, Y., et al. (2024). The antimicrobial effectiveness of Rosmarinus officinalis, Lavandula angustifolia, and Salvia officinalis essential oils against Klebsiella pneumoniae and Pseudomonas aeruginosa in vitro and in silico. *South African Journal of Botany*, 168(1), Article 103831.

- Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L., Pfaller, M. A., & Yolken, R. H. (Eds.). (2003). *Manual of clinical microbiology* (8th ed.). American Society for Microbiology.

- Muylaert, A., & Mainil, J. G. (2012). Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». *Annales de Médecine Vétérinaire*, 156, 109–123.

N

- Nait Irahali, I., Hmimid, F., Lahlou, F. A., Errami, A., Guenaou, I., Diawara, I., Kettani-Halabi, M., Fahde, S., Ouafik, L., & Bourhim, N. (2020). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of some essential oils against multidrug resistant bacteria. *European Journal of Integrative Medicine*, 35, 101074. <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2020.101074> .

- Nebie, B. (2023). Composition chimique et activités biologiques d'huiles essentielles obtenues par co-distillation de quelques plantes aromatiques du Burkina Faso [Thèse de doctorat, Université Nazi Boni].

O

- Obuotor, T. M., Adeyanju, F. O., Kolawole, A. O., Idowu, G. P., Oluwamuyiwa, F. A., & Afolabi, F. O. (2023). In vitro and in silico antibacterial activities of Syzygium aromaticum essential oil against bacteria associated with otitis media in children. *African Journal of Infectious Diseases*, 17(1), 27–44. <https://doi.org/10.21010/ajid.v17i1.3> .

- Oriol, C. (2022). The SarA regulon in *Staphylococcus aureus*: Combinatory approach using RNA-Seq, ChIP-Seq and bioinformatic analyses. Focus on a subset of sRNA targets [Doctoral dissertation, Université de Paris]. HAL.

- Oulkheir, S., Aghrouch, M., El Mourabit, F., Dalha, F., Graich, H., Amouch, F., Ouzaid, K., Moukale, A., & Chadli, S. (2017). Antibacterial activity of essential oils extracts from cinnamon, thyme, clove and geranium against a Gram negative and Gram positive pathogenic bacteria. *Journal of Diseases and Medicinal Plants*, 3(2-1);1–5. <https://doi.org/10.11648/j.jdmp.s.2017030201.11>.

P

- Pankey, G. A., & Sabath, L. D. (2004). Clinical relevance of bacteriostatic versus bactericidal mechanisms of action in the treatment of Gram-positive bacterial infections. *Clinical Infectious Diseases*, 38(6), 864–870. <https://doi.org/10.1086/381972>.

- Ponce, A. G., Fritz, R., del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT - Food Science and Technology*, 36(7), 679–684. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00088-4](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00088-4).

R

- Ranoarisoan, K. M., Penot, E., Danthu, P., & Rakotondravelo, J. C. (2012). Évolution historique et état des lieux de la filière girofle à Madagascar (Doc n°1, Document de travail de synthèse). ESSA – UMR Innovation et UMR Forêts et Biodiversité

- Rhayour, K. (2002). Étude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur Escherichia coli, Bacillus subtilis et sur Mycobacterium phlei et Mycobacterium fortuitum [Thèse de doctorat, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Faculté des Sciences Dhar Mehraz – Fès, Maroc].

- Ronald, A. (2003). The etiology of urinary tract infection: Traditional and emerging pathogens. *Disease-a-Month*, 49(2), 71–82.

S

- Sales, A. J., & Pashazadeh, M. (2020). Study of chemical composition and antimicrobial properties of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in vitro. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 3(1), 62–69.

- Shayanfar, N., Rezaei, M., Ahmadi, M., & Ehsanipour, F. (2010). Evaluation of extended spectrum betalactamase (ESBL) positive strains of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in bacterial cultures. *Iranian Journal of Pathology*, 5(1), 34–39.

- Sebaaly, C. (2016). Préparation à petite et grande échelle des liposomes encapsulant l'huile essentielle de clou de girofle libre et sous forme de complexe d'inclusion dans l'hydroxypropyl- β -cyclodextrine : caractérisation des nanostructures et évaluation de leur effet

antioxydant [Thèse de doctorat, Université Claude Bernard Lyon 1 & Université Libanaise].TEL Archives ouvertes. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01359588>.

- Socasau, F. C. (2017). Les huiles essentielles référencées à l'Agence Européenne du Médicament [Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Bordeaux].

T

- Teles , A. M., Silva-Silva, J. V., Fernandes, J. M. P., Abreu-Silva, A. L., Calabrese, K. da S., Mendes Filho, N. E., Mouchrek, A. N., & Almeida-Souza, F. (2021). GC-MS characterization of antibacterial, antioxidant, and antitrypanosomal activity of Syzygium aromaticum essential oil and eugenol. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2021, Article ID 6663255, 12 pages. <https://doi.org/10.1155/2021/6663255> .

- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and extraction: A review. Internationale Pharmaceutica Sciencia, 1(1), 103–104. <http://www.ipharmaisciencia.com>.

- Toninolli, F., & Meglioli, V. (2013). Huiles essentielles : L'encyclopédie (342 pages). Judena. ISBN 978-2-36917-009-9 / 2369170093.

W

- Wu, W., Jin, Y., Bai, F., & Jin, S. (2015). *Pseudomonas aeruginosa*. In Y.-W. Tang, M. Sussman, D. Liu, & I. Poxton (Eds.), Molecular Medical Microbiology (2nd ed., Vol. 2, pp. 753–767). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00041-X>

Z

- Zhou, W., Li, J., Wang, X., Liu, L., Li, Y., Song, R., Zhang, M., & Li, X. (2023). Research progress on extraction, separation, and purification methods of plant essential oils. Separations, 10(12), 596.

Les sites utiliser

(Site 01) <https://www.daleysfruit.com.au/Rosemary.htm>

(Site02)<https://api.labpedia.com.br/api/uploads/1596568083BulaEscalaMacFarland2018.pdf>

Annexes

Annexe 01: Préparation de milieu de culture

1-Muller Hinton (MH)

Dissoudre 38 g de la gélose Muller-Hinton dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation (barreau magnétique) jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°C et finalement couler le milieu dans les boites de Pétri.

2-Gélose Nutritive (GN)

Dissoudre 10.1g de la gélose nutritive dans un 360 ml litre d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation (barreau magnétique) jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°C et finalement couler le milieu dans les boites de Pétri.

Annexe 02 : La méthode d'aromatogramme

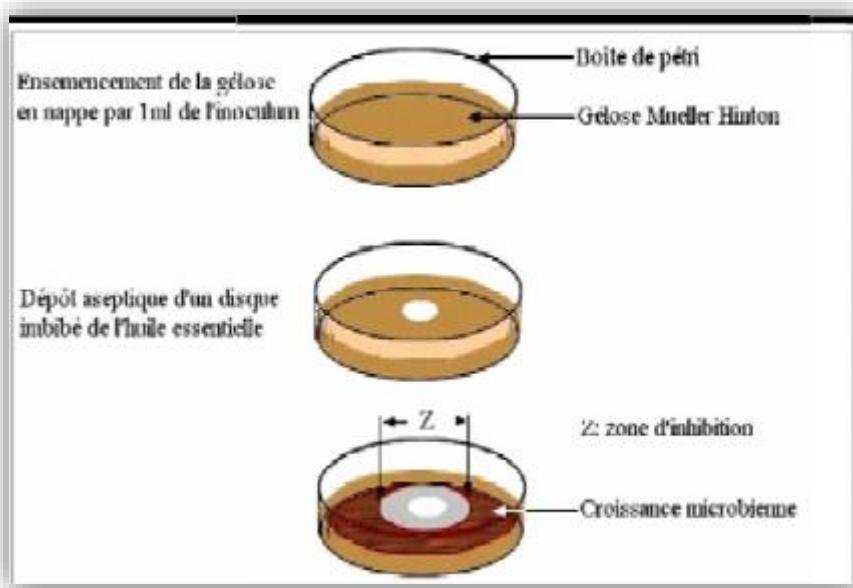
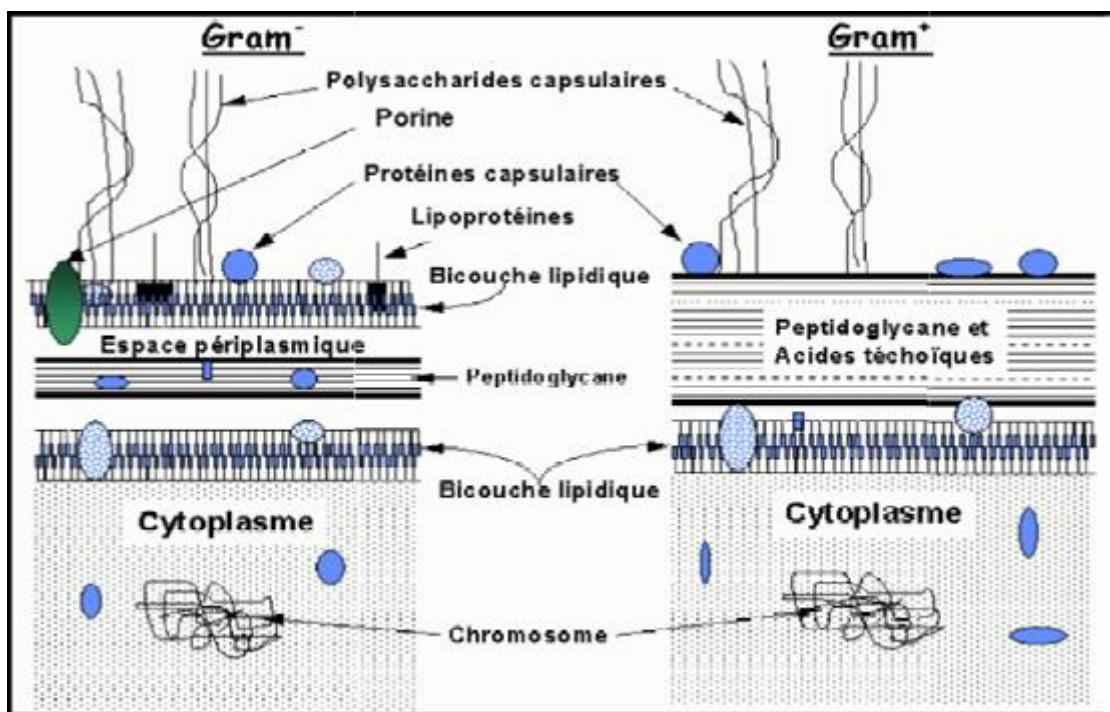


Figure 01 : Schéma illustrant la méthode d'aromatogramme (Boubrit et Boussad, 2007).

Annexe 03 : La structure de paroi de bactérie Gram positif et Gram négatif.**Figure 02 :** Structure de la paroi bactérienne (Khebri, 2011).

Annexe 3 : Matériel et produits de laboratoire

Matériels et appareillage	milieux de culture	solvant utilisés
Clevenger	Gélose Mueller Hinton (MH)	Eau distillée
Autoclave	Gélose nutritive (GN)	Eau physiologique
Etuve	BMH	DMSO
Boîtes de pétri		
Pipettes pasteur		
Ecouvillon		
Micropipettes		
Disque		
Réfrigérateur		
Agitateur plaque-chauffante		
Tubes à essai		
Eppendorf		
Spectrophotometer		

Résumé

Cette étude vise à évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles extraites de deux plantes aromatiques : le giroflier (*Syzygium aromaticum*) et le romarin (*Rosmarinus officinalis*), sur six souches bactériennes pathogènes. L'huile essentielle de clou de girofle a été extraite par entraînement à la vapeur d'eau, avec un rendement de 2,81 %, tandis que celle de romarin a été obtenue par hydro distillation, affichant un rendement de 0,99 %. Des tests phytochimiques ont ensuite été réalisés, révélant la présence de composés bioactifs dans les deux huiles, notamment des flavonoïdes, des tanins et des alcaloïdes. L'évaluation de l'efficacité antibactérienne a été effectuée à l'aide de la méthode de diffusion sur disque (aromatogramme) et des tests de concentration minimale inhibitrice (CMI) et de concentration minimale bactéricide (CMB). Les essais ont porté sur les souches suivantes : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus* et une souche de *S. aureus* résistance à la méthicilline (SARM).

les résultats ont montré que l'huile essentielle de clou de girofle possède une activité bactéricide puissante, avec un diamètre de zone d'inhibition atteignant 28 mm contre SARM et 27 mm contre *E. coli*, ainsi que des valeurs de CMI aussi faibles que 0,78 %, traduisant une forte efficacité même à faibles concentrations.

L'huile de romarin a également montré une activité bactéricide, mais à des concentrations plus élevées, avec des valeurs de CMI comprises entre 1,56 % et 6,25 %, et un diamètre maximal de 20 mm. cette étude met en évidence que les deux huiles essentielles présentent un effet bactéricide contre les souches testées, cependant, l'huile essentielle de clou de girofle se distingue par la puissance et la rapidité de son action, ce qui en fait une alternative naturelle prometteuse face aux bactéries résistantes, méritant ainsi une attention particulière pour son efficacité remarquable.

Mots-clés: Huiles essentielles, *Syzygium aromaticum*, *Rosmarinus officinalis*, Activité antibactérienne, Concentration minimale inhibitrice (CMI), Concentration minimale bactéricide (CMB), Souches bactériennes pathogènes, Résistance aux antibiotiques, Test de diffusion en disque (aromatogramme), Composés phytochimiques.

Abstract

This study aims to evaluate the antibacterial activity of essential oils extracted from two aromatic plants: clove (*Syzygium aromaticum*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*), against six pathogenic bacterial strains. Clove essential oil was extracted using steam distillation, yielding 2.81%, while rosemary oil was obtained through hydrodistillation, with a yield of 0.99%. Phytochemical screening was conducted and revealed the presence of biologically active compounds in both oils, including flavonoids, tannins, and alkaloids. The antibacterial efficacy was assessed using the disk diffusion method (aromatogram) as well as minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) tests. The strains tested included: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, and *methicillin-resistant S. aureus* (MRSA).

The results showed that clove essential oil exhibited strong bactericidal activity, with inhibition zone diameters reaching 28 mm against MRSA and 27 mm against *E. coli*, and low MIC values down to 0.78%, indicating high potency even at low concentrations .Rosemary oil also demonstrated bactericidal effects, though at higher concentrations, with MIC values ranging from 1.56% to 6.25%, and a maximum inhibition zone of 20 mm. This study highlights that both essential oils possess bactericidal effects against the tested bacterial strains. However, clove oil stands out for its stronger and faster action, making it a promising natural alternative in the fight against resistant bacteria, and deserving of recognition for its superior efficacy across all tests.

Keywords: Essential oils, *Syzygium aromaticum*, *Rosmarinus officinalis*, Antibacterial activity, Minimum inhibitory concentration (MIC), Minimum bactericidal concentration (MBC), Pathogenic bacterial strains, Antibiotic resistance, Disk diffusion test (aromatogram), Phytochemical compounds..

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للزيوت الأساسية المستخلصة من نباتي القرنفل (*Syzygium aromaticum*) وإكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis*) على سلالات بكتيرية مرضية. وقد تم استخراج زيت القرنفل بطريقة التقطر بالبخار، حيث بلغ مردوده 2.81 %، بينما استخرج زيت إكليل الجبل بالقطير بالماء، بمقدار قدره 0.99 %. تم إجراء اختبارات فيتوشيميانة كشف عن وجود مركبات نشطة بيولوجياً في كلا الزيتين، من بينها الفلافونويدات، التانينات، والقلويدات. تم تقييم الفعالية المضادة للبكتيريا باستخدام تقنية الأقراص (aromatogramme) واختبار CMI/CMB، حيث ثبتت التجارب على السلالات التالية، *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*، و *SARM*.

وقد أظهرت النتائج أن زيت القرنفل يمتلك فعالية قاتلة (bactericide) قوية، مع قطر هالة بلغ 28 مم ضد SARM و 27 مم ضد *E. coli*، وقيم CMI منخفضة وصلت إلى 0.78 %، مما يدل على قدرته العالية حتى بتركيزات ضعيفة. أما زيت إكليل الجبل، فقد أظهر تأثيراً قاتلاً أيضاً، لكن عند تراكيز أعلى، حيث تراوحت قيم CMI بين 1.56 % و 6.25 %، وبلغ أقصى قطر للهالة 20 مم. تشير الدراسة إلى أن كلا الزيتين يتمتعان بتأثير قاتل ضد البكتيريا المدرورة، إلا أن زيت القرنفل يتميز بقوّة فعاليته وسرعة تأثيره، مما يجعله خياراً طبيعياً واعداً في مواجهة البكتيريا المقاومة، ويستحق أن يُشار به نظراً لتفوّقه في جميع الاختبارات.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية، القرنفل (*Syzygium aromaticum*)، إكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis*)، النشاط المضاد للبكتيريا، التركيز المثبط الأدنى (CMI)، التركيز القاتل الأدنى (CMB)، السلالات البكتيرية المرضية، مقاومة البكتيريا، اختبار الأقراص (aromatogramme)، المركبات الفيتوشيميانة.



Déclaration de correction de mémoire de master

2025

Référence du mémoire N°: / 2025

PV de soutenance N°: / 2025

Nom et prénom(en majuscule) de l'étudiant (e) :

Bennour Lamia, fettima Zahia

لقب و إسم الطالب(ة) :

الطالبة زهيا بنت فطمة بن عمر

La mention التقدير

Note./20 العلامة

16

عنوان المذكرة

L'intitulé de mémoire

contribution à l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Syzygium aromaticum* et *Rosmarinus officinalis*

Declaration et décision de l'enseignant promoteur :

Déclaration :

Je soussigné (e), Ben Lamia Zahia, (grade) MCA à l'université de Biskra, avoir examiné intégralement ce mémoire après les modifications apportées par l'étudiant.

J'atteste que :

le document a été corrigé et il est conforme au modèle de forme du département SNV toutes les corrections ont été faites strictement aux commandements du jury. d'autres anomalies ont été corrigées

تصريح:

أنا الممضي (ة) أسفله، بن عمر زهيا، مصطفى مختار، بجامعة محمد خير بسكرة،

أصرح بأنني راجعت محتوى هذه المذكرة كلياً مراجعة دقيقة وهذا بعد التصحيحات التي أجرتها الطالب بعد المناقشة، وأعليه أشهد بـ:

* المذكرة تتوافق بشكلها الحالي مع النموذج المعتمد لقسم علوم الطبيعة والحياة.

* المذكرة صحيحة وفقاً لكل توصيات لجنة المناقشة

* تم تدارك الكثير من الإختلالات المكتشفة بعد المناقشة

Décision :

Sur la base du contenu scientifique, de degré de conformité de pourcentage des fautes linguistiques, Je décide que ce mémoire doit être classé sous la catégorie

قرار:

اعتماداً على درجة مطابقتها للنموذج، على نسبة الأخطاء اللغوية وعلى المحتوى العلمي أقرر أن تصنف هذه المذكرة في الدرجة :

مقبول acceptable	E	D	C	B	A	A+
عادي ordinary	bien	حسن	très bien	جيد جداً	ممتاز	متين
						exceptionnel



الأستاذ المشرف

Ben Lamia Zahia

التاريخ

2025 / 06 / 29