

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

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

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté dans le de l'arrêté ministériel 1275
en vue de l'obtention du diplôme de Master
et diplôme startup –diplôme brevet

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Mycologie et Biotechnologie Fongique

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Évaluation de l'activité antimicrobienne d'huile essentielle extraite de clou de girofle, et
élaboration d'une lotion pharmaceutique (Bain de bouche)

Présenté par : BENKHENOUF NOUR EL HOUDA DORIA

Le 09/07/2023

KAOUECHE RAOUNEK

Jury d'évaluation :

Encadreur : Dr. BOULAHROUF KHALED (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Président : Dr. BENKAHOUL MALIKA (MCA- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur : Dr. ABDELAZIZ WIDED (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Incubateur : Pr. BELIL INES (Professeur - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

CATI : Dr. BETTINA SOUMEYA (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

SECTEUR SOCIO-ECONOMIQUE : BENLATRECHE SALIM (Catalyse Lab).

Année universitaire
2022 - 2023

Remerciements

Nous tenons à remercier en premier notre encadreur Dr. BOULAHROUF Khaled maitre de conférences B, ainsi que les membres du jury, la présidente Dr. BENKAHOUL Malika maitre de conférences A, l'examinatrice Dr. ABDELAZIZ Wided maitre de conférences B, l'incubateur Pr. BELIL Ines professeur UPMC1, CATI Dr. BETTINA Soumeya maitre des conférences B, Secteur socio-économique Mr BENLATRECHE Salim (Catalyse Lab) devant lequel nous soutenons ce mémoire. Nous sommes conscientes de l'attention que vous portez à notre travail et si malgré toute notre application vous y décèlez des imperfections, nous prendrons acte des éventuelles critiques et recommandations qui nous seront adressées. C'est à ce prix que nous rehausserons notre niveau afin de pouvoir prétendre à l'accès au monde de la post-graduation.

Merci et respect à vous tous.

Doria et Raounek

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à Mayma SALIMA l'être le plus chère à mon cœur qui était toujours là dès mon premier cri, mon premier souffle, pour m'élever, me soutenir, elle est tout pour moi sa présence comble ma vie de joie et de bonheur,, à mes parents ma mère LAMIA, c'est ma vie, mon âme, ma raison de vivre, ma force, mon amie, ma confidente, mon bras droit, mon diamant rare, mon ange, mon bonheur, j'ai eu la chance d'avoir deux mamans qui combleront ma vie de joie, de bonheur, de douceur et d'amour, je veux vous dire aujourd'hui votre bébé gâtée a grandi et déclare son amour inconditionnel et éternel pour vous deux, à mon très cher papa AZIZ, tous les mots que je pourrais écrire ne pourront jamais exprimer tout l'amour et tout le respect que j'ai pour toi, tu seras tout le temps fière de moi, je t'aime énormément papa chéri, à mon seul et unique frère FAHD, malgré son jeune âge mais il est toujours là présent pour me soutenir et me remonter le moral, pour moi tu es un homme pas un petit garçon, tu es mur et grand je t'aime à l'infini mon frère , ainsi qu'à ma très chère tante Halouma, malgré la distance entre nous je ne t'ai jamais oublié et oublier nos heures passées aux téléphone en rigolant, je t'aime ma chérie, comme je te dis je t'aime ma poupée grande, à son mari Azzedine, à ma sœur de cœur Roubila, la plus douce et la plus gentille cousine et sa petite princesse Emma, mon adorable cousine Melek et ma tante soraya, tous mes oncles, spécialement mon oncle que je considère comme mon frère tedjedine ainsi que sa femme, sans oublier mes cousins. Ce travail n'aurait pas abouti sans la contribution de mon encadreur Mr Boulahrouf Khaled auquel j'exprime toute ma reconnaissance. Mes remerciements s'adressent également à Mme Abdelaziz, Mme Boukahoul, Mme Meghnous, Mme Bettina et Mme Bélil.

Ma gratitude est grande envers tous les enseignants qui ont jalonné mon parcours universitaire et particulièrement Mr Kandouli pour ses précieux conseils. Je tiens à remercier spécialement MR Bahri Laïd (responsable animalerie) et Mr merdaci sans oublier Mme Nadjet et Mme Soumia (Ingénieurs Labo) qui se sont montrés disponibles et grâce auxquels nous avons pu accéder au labo à des heures improbables. Mlle Kaouèche raouneq mon binôme et amie depuis les années de lycée, son soutien, son engagement et sa complémentarité ont été concluants. Je n'oublie pas le soutien de mes amies HannecheChiraz et Boukhanfouf Anfel tout au long de cette dernière et éprouvée année, ainsi que

Ikhllef Cheimasans oublier la femme ange que j'adore tata maya (Maya bouhabib).

Je garde l'espoir que ce palier de mon parcours universitaire me servira de tremplin pour hisser mes études vers le monde merveilleux de la recherche qui exige encore plus d'abnégation. Je prie Dieu tout puissant de faire en sorte que ce que j'ai d'idéal ne reste pas un vain mot pour les miens et pour l'Algérie.

Doria

Dédicaces

Louange à DIEU, le Tout Puissant, qui nous a permis de mener à bien ce modeste travail.

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce travail à ceux qui, quels que soient les termes, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

*A l'homme, mon précieux offre de dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect. Tu seras toujours mon père adoré, mon plus grand mentor, le premier homme de ma vie. Mon amour pour toi est sans fin. Je suis éternellement reconnaissante pour tout ce que nous avons partagé, pour tout cet amour que tu m'as donné. **Merci mon cher père Mohammed. !***

*A la femme qui souffre sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse, À la plus belle femme sur terre, à cette source d'amour de tendresse, de patience À ma mère **Nora !***

Une femme généreuse et vaillante. Merci Maman pour tout ce que tu fais pour moi, mon amour, ma tendresse et ma reconnaissance sont infinies.

*A mes chers frères **Ahmed Amine, Khaled, Chouaib, Louai** et mes belles sœurs **Ahlem et Amira** qui n'ont pas cessés de m'encourager et soutenir tout au long de mes études.*

*A mon adorable nièce **Nourcine** qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur et le petit prince **Raid**, à mes chères copines **Anfel, Chiraz, Hiba, Sirine, Chaïma, Chorouk et Imène.***

A mes oncles et mes tantes, que dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

A tous les cousins, les voisins et les amis qui j'ai connu jusqu'à maintenant

Merci pour leurs amours et leurs encouragements.

*Sans oublier mon encadreur **BOULAJROUF Khaled** et mon binôme **Doria** pour leur soutien, patience et compréhension tout au long de ce projet.*

Raounek

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des photos

Liste des tableaux

Résumés

Introduction 1

Revue bibliographique

Chapitre I : Généralités sur la plante de clou de girofle

1. Étude de la plante	3
1.1. Classification taxonomique de clou de girofle	3
1.2. Description botanique de clou de girofle	3
2. Distribution et habitat du clou de girofle	6
2.1. Distribution géographique du clou de girofle	6
2.2. Cultures des clous de girofle	8
2.2.1. Techniques de culture	8
2.2.2.1. Transplantation de drageons	8
2.2.2.2. Multiplication par semis	9
2.2.2.3. Récolte	9
2.2.2.4. Échaudage.....	10
2.2.2.5. Séchage.....	10
2.2.3. Entretien des plantations	11

Chapitre 2 : Les huiles essentielles

1. Définition des huiles essentielles	12
1.1. Définitions d'une huile essentielle selon la norme ISO 9235	12
1.2. Définition d'une huile essentielle selon la Pharmacopée européenne	12
1.3. Huile essentielle de clous de girofle	12
1.3.1. Historique sur l'utilisation traditionnelle de clous de girofle	12
1.3.2. Définition de l'huile essentielle de clous de girofle	13
2. Composition chimique des huiles essentielles	13
2.1. Composition chimique	13
2.2. Facteurs de variation de la composition chimique	14
2.2.1. Facteur intrinsèque	14
2.2.2. Facteur extrinsèque	15
3. Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles	15
4. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	16
4.1. Méthodes traditionnelles	16
4.1.1. Hydrodistillation	16
4.1.2. Entraînement à la vapeur d'eau (distillation à la vapeur saturée)	17
4.2. Méthodes modernes	18
4.2.1. L'hydrodistillation par micro-ondes, sous vide	18
4.2.2. L'extraction au CO ₂ supercritique	19
5. Les différentes activités biologiques des huiles essentielles	20
5.1. Activité antimicrobienne	20
5.2. Activité antioxydante	20
5.3. Activité anti-inflammatoire	20

5.4. Activité analgésique	21
5.5. Activité relaxante	21
6. Les différentes applications des huiles essentielles	21
6.1. Thérapie de relaxation	21
6.2. Amélioration du sommeil	22
6.3. Réduction de la douleur	22
6.4. Traitement de l'acné	22
6.5. Prévention des maladies infectieuses	22
7. Mécanisme d'action des huiles essentielles	22
7.1. Effets sur le système nerveux	22
7.2. Effets antimicrobiens	23
7.3. Effets anti-inflammatoires	24
7.4. Effet sur le système immunitaire	24
8. Utilisation des huiles essentielles dans la préparation des lotions de bain de bouche	24
9. Précautions d'emploi des huiles essentielles	25

Chapitre 3 : Les problèmes bucco-dentaires

1. Santé bucco-dentaire	26
2. Étude statistique des problèmes bucco-dentaire à Constantine	26
3. Flore bucco-dentaire et les facteurs de déséquilibre du microbiote buccal	28
3.1. La flore bucco-dentaire	28
4. Facteurs d'influence du microbiote buccal	29
5. Problèmes bucco-dentaires	32
5.1. Carie dentaire	32
5.2. Maladie parodontale	33

5.3. Gingivite	33
5.4. Candidose buccale	33
5.5. Leucoplasie buccale	33
6. Risques pathologiques en santé général	34
7. L'emplacement du bain de bouche dans le marché	35

Partie expérimentale

Chapitre 4 : Matériels et méthodes

1. Achat de la matière végétal.....	37
2. Extraction de l'huile essentielle de clou de girofle.....	38
3. Conservation de l'huile essentielle	40
4. Détermination du rendement en huile essentielle	40
5. Caractérisation des propriétés de l'huile essentielle de clou de girofle	41
5.1. Caractéristiques physico-chimiques	41
5.2. Caractéristiques organoleptiques	41
6. Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-MS)	42
7. Préparation des dilutions en série de l'huile essentielle.....	43
8. Étude et évaluation de l'activité antimicrobienne d'huile essentielle de clou de girofle.....	45
8.1. Mise en évidence de l'activité antibactérienne	46
8.2. Mise en évidence de l'activité antifongique	47
9. Étude statistique.....	50
10. Détermination de la concentration minimale inhibitrice et fongicide (CMI) (CMF).....	51
11. Évaluation de la toxicité de l'huile essentielle de clou de girofle par la détermination de sa	

dose létale (DL ₅₀)	51
12. Réalisation de la lotion pharmaceutique (bain de bouche) à base de l'huile essentielle de clou de girofle (Brevet)	52
13. Contrôle physico-chimiques et pharmacologique sur le bain de bouche.....	52

Chapitre 5 : Résultats et discussion

1. Rendement de l'extraction.....	54
2. Analyse physico-chimiques.....	55
2.1. Étude des propriétés organoleptiques.....	55
2.2. Les propriétés physiques.....	56
2.2.1. Densité.....	56
2.2.2. Indice de réfraction.....	57
2.3. Les propriétés chimiques.....	57
3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CG/MS.....	58
4. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle du clou de girofle.....	62
4.1. Lecture de la concentration de suspensions microbiennes préparées.....	62
4.2. Antibio-aromatogramme.....	63
4.2.1. Évaluation qualitative.....	63
4.2.1.1. Étude statistique.....	65
4.2.1.2. Étude de la sensibilité des souches microbiennes testées vis-à-vis notre huile essentielle de clou de girofle.....	68
4.2.2. Évaluation quantitative.....	72
4.2.2.1. Concentration minimale inhibitrice (CMI) pour les bactéries.....	72
4.2.2.2. Concentration minimale fongicide (CMF)	76
5. Évaluation de la toxicité de l'huile essentielle de clou de girofle par la détermination de sa dose létale (DL ₅₀)	79

6. Composition du bain de bouche (Brevet)	86
6.1. Résultats des contrôles physico-chimiques et pharmaco-techniques du bain de bouche pour chaque essai.....	86
6.2. Caractéristiques organoleptiques.....	86
6.3. Densité relative.....	86
6.4. pH.....	87
Conclusion et perspectives.....	88
Références bibliographiques.....	89

Annexes

Liste des abréviations

HE : huile essentielle.

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé.

ISO : organisation internationale de normalisation.

MAP : *microwave assisted process*.

LOST : Laboratoire d'Obtention des Substances Thérapeutique.

CG : clou de girofle.

CG/MS : chromatographie phase gazeuse - spectrométrie de masse.

CMI : concentration minimale inhibitrice.

CMB : concentration minimale bactéricide.

CMF : concentration minimale fongicide.

DL₅₀ : dose létale qui tue 50% de la population.

AFNOR : association française de normalisation.

ATCC : collection de culture type américain.

NCCLS: *national committee for clinical laboratory standards*.

PH : potentiel hydrogène.

R% : rendement en huile essentielle.

Mh : masse des huiles essentielles obtenues après l'extraction.

Ms : masse de la matière végétale sèche utilisée.

ADN : acide désoxyribonucléique.

E.coli : *Escherichia coli*.

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*.

S. aureus : *Streptococcus aureus*.

C. albicans : *Candida albicans*.

A. brasiliensis : *Aspergillus brasiliensis*.

B. subtilis: *Bacillus subtilis*.

Cm : centimètre.

Mm : millimètre.

µl : microlitre.

Mg : milligramme.

ml : millilitre.

g : gramme.

INSP : institut national du service public.

Liste des figures

Figure 1 : aspect d'un giroflier	4
Figure 2 : feuilles jeunes de couleur rose et feuilles matures de couleur verte du giroflier	5
Figure 3 : développement de clou de girofle.....	6
Figure 4 : boutons floraux et les fleurs de giroflier.....	6
Figure 5 : carte géographique des principaux pays producteurs de clous de girofle au monde.....	7
Figure 6 : répartition de clou de girofle à Madagascar.....	8
Figure 7 : clous roses récoltés avant l'épanouissement de la fleur.....	10
Figure 8 : séchage des clous sur des nattes à Madagascar.....	11
Figure 9 : procédé de l'entraînement à la vapeur d'eau (distillation à la vapeur saturée).....	18
Figure 10 : hydrodistillation par micro-onde, sous vide.....	19
Figure 11 : extraction au CO2 supercritique.....	20
Figure 12 : histogramme de pourcentage des maladies bucco-dentaires à Constantine.....	27
Figure 13 : schéma de Keyes.	32
Figure 14 : différentes concentrations des différentes dilutions.....	45
Figure 15 : étapes suivies lors de la technique de diffusion des disques sur gélose.....	50
Figure 16 : chromatogramme typique de l'analyse en phase gazeuse de l'huile essentielle de clou de girofle (<i>Syzygium aromaticum</i>).....	59
Figure 17 : composition chimique des composés de l'huile essentielle de <i>syzygium aromaticum</i> ..	61
Figure 18 : histogramme des diamètres des zones d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'huile essentielle de clou de girofle pour <i>E.coli</i>	73
Figure 19 : histogramme des diamètres des zones d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'huile essentielle de clou de girofle pour <i>P. aeruginosa</i>	73
Figure 20 : histogramme des diamètres d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'huile essentielle de clou de girofle pour <i>staphylococcus aureus</i> et <i>Staphylococcus aureus</i>	73
Figure 21 histogramme des diamètres d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'huile essentielle de clou de girofle pour <i>staphylococcus aureus</i> et <i>Bacillus subtilis</i>	73
Figure 22 : histogramme des diamètres des zones d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'huile essentielle de clou de girofle contre <i>Candida albicans</i>	77
Figure 23 : histogramme des diamètres des zones d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'huile essentielle de clou de girofle contre <i>Aspergillus brasiliensis</i>	78

Liste des photos

Photo 01 : clous de girofle.....	13
Photo 02 : extraction de l'huile essentielle de clou de girofle par hydrodistillation.....	17
Photo 03 : broyage des clous de girofle à l'aide d'un mortier.....	38
Photo 04 : texture des clous de girofle après broyage.....	38
Photo 05 : hydro distillation à l'aide de Clevenger.....	39
Photo 06 : deux phases obtenues du distillat.....	40
Photo 07 : réfractomètre utilisé pour la mesure de l'indice de réfraction.....	41
Photo 08 : série de dilution de l'huile essentielle de clou de girofle dans le Tween 80.....	44
Photo 09 : souches bactériennes et fongiques utilisées dans cette étude.....	46
Photo 10 : préparation du champignon avec Tween 80.....	48
Photo 11 : différentes dilutions de la souche.....	48
Photo 12 : cellules de Malassez des trois dilutions.....	49
Photo 13 : aspect de l'huile essentielle de clou de girofle.....	56
Photo 14 : <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739.....	64
Photo 15 : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027.....	64
Photo 16 : <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.....	64
Photo 17 : <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633.....	64
Photo 18 : <i>Candida albicans</i> ATCC 10 23.....	65
Photo 19 : <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404.....	65

Liste des tableaux

Tableau 1 : regroupement des souris dans les lots.....	51
Tableau 2 : controles physico-chimiques et pharmacologiques sur le bain de bouche	53
Tableau 3 : rendement de l'huile essentielle extraite des clous de girofle	54
Tableau 4 : comparaison entre le rendement d'huile essentielle obtenue et les normes AFNOR	54
Tableau 5 : caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de clou de girofle (<i>Syzygium aromaticum</i>)	55
Tableau 6 : resultats de la densité de l'huile essentielle de clou de girofle (<i>Syzygium aromaticum</i>)	56
Tableau 7 : résultats de l'indice de refraction de l'huile essentielle de clou de girofle	57
Tableau 8 : resultats du pH de l'huile essentielle de cou de girofle (<i>Syzygium aromaticum</i>) ..	57
Tableau 9 : composition de l'huile essentielle de clou de girofle (<i>Syzygium aromaticum</i>)	60
Tableau 10 : resultats de la densité optique et de la charge microbienne des souches microbiennes testées	63
Tableau 11 : resultats du test de sensibilité des souches microbiennes à l'huile essentielle de clou de girofle (<i>Syzygium aromaticum</i>) par la méthode de l'aromatogramme	69
Tableau 12 : comparaison des resultats des diamètres (mm) de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de clou de girofle (<i>Syzygium aromaticum</i>) avec d'autres études	71
Tableau 13 : concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle de clou de girofle (<i>Syzygium aromaticum</i>)	72
Tableau 14 : comparaison des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'huile essentielle de clou de girofle pour les bactéries, avec celles de quelques études	75
Tableau 15 : concentration minimale fongicide de l'huile essentielle de clou de girofle (<i>Syzygium aromaticum</i>)	77
Tableau 16 : comparaison des concentrations minimales fongicide (CMF) de l'huile essentielle de clou de girofle avec celles de quelques études	79
Tableau 17 : symptomes observés chez les souris pendant le suivi de 10 jours après le test de toxicité	80
Tableau 18 : caractériqtiques organoleptiques des différents essais.....	86
Tableau 19 : résultats de la densité relatives des trois essais	87
Tableau 20 : résultats du pH des différents essais	87

Résumé

Syzygium aromaticum, communément appelé clou de girofle, est une plante appartenant à l'ordre des Myrtales et à la famille des Myrtacées. Il est également répertorié parmi les plantes aromatiques médicinales (PAM) et est connu sous le nom de "*koronfol*" en Algérie. Les huiles essentielles (HE) sont des composés extraits des plantes aromatiques qui possèdent des propriétés thérapeutiques grâce à leurs activités biologiques. L'objectif de notre étude était de valoriser l'huile essentielle de clou de girofle. Pour ce faire, nous avons extrait l'huile essentielle à partir d'échantillons de clous de girofle achetés chez un herboriste à la rue de chevalier, wilaya de Constantine, en mars 2023. L'extraction a été réalisée par hydrodistillation (type Clevenger) et le rendement de l'huile essentielle a été estimé à 1,18% selon les normes de l'AFNOR. Nous avons également évalué la qualité de l'huile essentielle en suivant les normes de l'AFNOR. Une analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/MS) a permis d'identifier 14 composés dans l'huile essentielle, dont quatre se sont révélés être les principaux et dominants : l'eugénol (67,1022%), le trans-caryophyllène (23,0672%), l'acétyl-eugénol (3,5904%) et l' α -caryophyllène (2,9272%). Nous avons ensuite étudié les activités biologiques de l'huile essentielle, en particulier son activité antimicrobienne, en utilisant la méthode de diffusion des disques sur gélose contre six souches microbiennes : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* et *Aspergillus brasiliensis*. Les résultats ont démontré un large spectre d'action de l'huile essentielle contre toutes les souches testées, avec des diamètres d'inhibition variant de 8 à 20 mm pour les bactéries et de 20 à 30 mm pour les champignons. Différentes concentrations d'huile essentielle ont été testées (100%, 75%, 50% et 25%, 1/2, 1/4, 1/12) pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI). La CMI a été estimée à une valeur de 0,5 mg/ml. Nous avons également évalué la toxicité de l'huile essentielle de clou de girofle en réalisant un test de toxicité aiguë (DL₅₀) sur des souris albinos. Les résultats ont montré une légère toxicité, avec une DL₅₀ estimée à 200 mg/kg. En conclusion, notre étude met en évidence l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de clou de girofle, qui dépend des caractéristiques physico-chimiques et de la composition de l'huile, ainsi que des souches microbiennes testées. Dans le but d'une utilisation quotidienne pour les soins bucco-dentaires, notre objectif est de développer une lotion pharmaceutique (bain de bouche) à base de cette huile essentielle.

Mots clés : *Syzygium aromaticum*, Huile essentielle, Activité antimicrobienne, CG/MS, Bain de Bouche.

Abstract

Syzygium aromaticum, commonly known as clove, is a plant belonging to the order Myrtales and the family Myrtaceae. It is also categorized as a medicinal aromatic plant (MAP) and is known as "koronfol" in Algeria. Essential oils (EOs) are secondary metabolites obtained from aromatic plants that possess therapeutic properties due to their biological activities. The aim of our study was to valorise clove essential oil. In our work, we extracted the essential oil from clove samples purchased from an herbalist on Chevalier Street, Constantine Province, in March 2023. The extraction was performed using hydrodistillation (Clevenger-type), and the yield of our essential oil was estimated to be 1.18% according to AFNOR standards. We also assessed the quality of the essential oil following AFNOR norms. Gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) analysis was conducted to detect the chemical compounds in our essential oil. This analysis allowed us to identify 14 compounds with varying percentages, including four major and dominant ones: eugenol (67.1022%), trans-caryophyllene (23.0672%), acetyleneugenol (3.5904%), and α -caryophyllene (2.9272%). Furthermore, we investigated the in vitro biological activities, particularly the antimicrobial activity, of the essential oil based on its physicochemical characteristics and chemical composition. We used the agar disk diffusion method against six microbial strains: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, and *Aspergillus brasiliensis*. The results demonstrated a broad-spectrum action of the essential oil against all tested strains, with inhibition zone diameters ranging from 8 to 20 mm for bacterial strains and 20 to 30 mm for fungal strains, using different concentrations of the essential oil (100%, 75%, 50%, and 25%, 1/2, 1/4, 1/12). We performed a three-factor analysis of variance (ANOVA) considering "strains," "concentrations," and "strain-concentration interactions" to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) against the six tested microbial strains. The MIC was estimated to be 0.5 mg/ml. Additionally, we evaluated the toxicity of clove essential oil by conducting an acute toxicity test (LD₅₀) on albino mice. The results showed slight toxicity, with an estimated LD₅₀ of 200 mg/kg. In conclusion, this study highlights the antimicrobial activity of clove essential oil, which depends on its physicochemical characteristics, composition, and tested microbial strains. Our objective is to develop a pharmaceutical lotion (mouthwash) based on this essential oil for daily oral care.

Key words : *Syzygium aromaticum*, Essential oil, Antimicrobial activity, GC/MS, Mouthwash.

ملخص

سيزيجيوم أروماتيكوم، المعروف شائعًا بالقرنفل، هو نبات ينتمي إلى رتبة العطريات وعائلة الفاكهيات. يصنف أيضًا كنبات عطري طبي (MAP) ومعروف بـ "قرنفل" في الجزائر. الزيوت العطرية (EOs) هي مركبات ثانوية مستخلصة من النباتات العطرية تمتلك خواص علاجية بفضل أنشطتها البيولوجية. كان هدف دراستنا هو تسليط الضوء على زيت القرنفل العطري. في عملنا، قمنا باستخراج زيت القرنفل من عينات قرنفل تم شراؤها من صيدلي على شارع شيفالبيه، ولاية قسنطينة، في مارس 2023. تم إجراء الاستخراج باستخدام التقطير بالماء (نوع Clevenger) وتم تقدير نسبة الزيت العطري لدينا بنسبة 1.18% وفقًا لمعايير AFNOR. قمنا أيضًا بتقييم جودة الزيت العطري وفقًا لمعايير AFNOR. تم إجراء تحليل الكروماتوغرافيا الغازية - الطيف الكتلي (GC/MS) للكشف عن المركبات الكيميائية في زيتنا العطري. أتاح لنا هذا التحليل تحديد 14 مركبًا بنسب متفاوتة، بما في ذلك أربعة مركبات رئيسية وسائدة: اليوجينول (67.1022%)، الفينيل الصنوبري (23.0672%)، الأسيتيليوجينول (3.5904%) وألفا-يوجين (2.9272%). علاوة على ذلك، قمنا بدراسة الأنشطة البيولوجية في الـ vitro، ولا سيما النشاط المضاد للميكروبات، للزيت العطري استنادًا إلى خصائصه الفيزيوكيميائية وتركيبه الكيميائي. استخدمنا طريقة انتشار الأقراص في وسط الزجاجية ضد ست سلالات ميكروبية: العنقوديات الذهبية، العسوية العنقودية، الزحارية الزعرية، الكولي القولونية، الكانديد الألبيكانس، والأسبرجيلوس البرازيلي. أظهرت النتائج تأثيرًا طيفيًا واسعًا للزيت العطري ضد جميع السلالات المختبرة، مع أقطار الحجب تتراوح من 8 إلى 20 مم للبكتيريا ومن 20 إلى 30 مم للفطريات، باستخدام تراكيز مختلفة من الزيت العطري (100%، 75%، 50%، و 25%، 2/1، 4/1، 12/1). قمنا بإجراء تحليل الانحدار ثلاثي العوامل (ANOVA) باعتبار "السلالات" و "التراكيز" و "تفاعلات السلالة - التركيز" لتحديد التركيز المثبط الدني (MIC) ضد السلالات المجربة الستة. تم تقدير MIC بقيمة 0.5 ملغ/مل. بالإضافة إلى ذلك، قمنا بتقييم سمية زيت القرنفل العطري عن طريق إجراء اختبار سمية حادة (LD₅₀) على فئران بيضاء اللون. أظهرت النتائج سمية طفيفة، مع LD₅₀ المقدرة بقيمة 200 مجم/كغ. في الختام، تسلط هذه الدراسة الضوء على النشاط المضاد للميكروبات لزيت القرنفل العطري، والذي يعتمد على خصائصه الفيزيوكيميائية وتركيبه والسلالات الميكروبية المجربة. هدفنا هو تطوير غسول صيدلاني (غسول الفم) يستند إلى هذا الزيت العطري للعناية اليومية بالفم.

الكلمات المفتاحية: سيزيجيوم أروماتيكوم، الزيت العطري، النشاط المضاد للميكروبات، GC/MS، غسول الفم.

Introduction

Le clou de girofle, connu scientifiquement sous le nom de *Syzygium aromaticum*, est une plante aromatique largement utilisée dans le domaine de la santé et des soins traditionnels. Cette plante, appartenant à l'ordre des Myrtales et à la famille des Myrtacées, possède des propriétés médicinales précieuses, notamment dans le domaine des soins bucco-dentaires. L'huile essentielle extraite des boutons floraux du clou de girofle est particulièrement prisée pour ses nombreux bienfaits thérapeutiques.

Face à l'essor de la médecine naturelle et à la recherche constante de solutions alternatives et naturelles pour les soins de santé, l'huile essentielle de clou de girofle représente un domaine d'étude prometteur. Son utilisation traditionnelle dans les soins bucco-dentaires et son potentiel thérapeutique en font un sujet d'intérêt pour la recherche scientifique.¹

Des études antérieures ont démontré l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de clou de girofle. L'eugénol, l'un des principaux composés présents dans cette huile essentielle, a montré des propriétés antibactériennes contre certaines souches bactériennes, notamment *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*.² Cette activité antimicrobienne peut être bénéfique dans le contexte des soins bucco-dentaires pour combattre les infections et promouvoir une santé buccale optimale.

Dans ce mémoire, nous visons à valoriser l'huile essentielle de clou de girofle en développant une lotion pharmaceutique spécifiquement dédiée aux soins bucco-dentaires. Pour atteindre cet objectif, nous prévoyons de réaliser plusieurs techniques.

Tout d'abord, nous procéderons à une extraction rigoureuse de l'huile essentielle de clou de girofle à partir d'échantillons de haute qualité. Cette étape d'extraction nous permettra d'obtenir une huile essentielle pure et de qualité. Ensuite, nous évaluerons les caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle selon les normes de référence pour garantir sa qualité et son potentiel thérapeutique. En parallèle, nous réaliserons une analyse approfondie de la composition chimique de l'huile essentielle en utilisant la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/MS). Cette analyse nous permettra d'identifier et de quantifier les principaux composés actifs présents dans l'huile de clou de girofle, y compris l'eugénol, le trans-caryophyllène, l'acétyl-eugénol et l' α -caryophyllène.³

De plus, nous évaluerons l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de clou de girofle en utilisant des méthodes appropriées, telles que la méthode de diffusion des disques sur gélose, pour déterminer son efficacité contre différentes souches microbiennes.² Nous mesurerons également la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour évaluer la puissance

antimicrobienne de l'huile essentielle. Enfin, nous réaliserons un test de toxicité aiguë pour déterminer la dose létale médiane (DL_{50}) de l'huile essentielle de clou de girofle. Cela nous permettra d'évaluer la sécurité de l'utilisation de cette huile essentielle dans la lotion pharmaceutique (bain de bouche) pour les soins bucco-dentaires.⁴

En conclusion, ce mémoire vise à valoriser l'huile essentielle de clou de girofle en développant une lotion pharmaceutique (bain de bouche) spécifique pour les soins bucco-dentaires. En réalisant une extraction rigoureuse de l'huile essentielle, en évaluant sa composition chimique, son activité antimicrobienne et sa toxicité, nous cherchons à fournir une solution naturelle, efficace et sûre pour l'hygiène buccale quotidienne.^{1,2,3,4}

Revue bibliographique

Chapitre I :
Généralités sur la plante de clou de
girofle

1. Étude de la plante

1.1. Classification taxonomique de clou de girofle

Syzygium comprend 2000 espèces dans le monde.⁵ Dont le clou de girofle, ou *Syzygium aromaticum*, est le fruit d'un arbre originaire de régions tropicales. Il est considéré comme une épice aromatique et se distingue par le développement initial de deux cotylédons non soudés, qui sont les feuilles embryonnaires de la plante contenant des substances nutritives pour permettre son développement. Une autre caractéristique distinctive de ce genre est l'inflorescence en cyme terminale.⁶

Le clou de girofle appartient à l'ordre des Myrtales, qui est un ordre très important regroupant la famille des Myrtaceae.⁵ Cette famille compte plus de 3000 espèces et se caractérise par la présence de poches glandulaires à essence. La classification taxonomique du clou de girofle est la suivante⁷

:

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Embranchement : Magnoliophyta (= phané)

Sous-embranchement : Magnoliophytina (= angiospermes)

Classe : Magnoliopsida (= dicotylédones)

Sous classe : Rosidae

Ordre : Myrtales

Famille : Myrtaceae- Myrtacées

Sous-famille : Myrtoideae.

Genre : *Syzygium*

Espèce: *aromaticum*

1.2. Description botanique de clou de girofle

La première description de l'arbre producteur de clous de girofle aurait été faite par Antonio Pigafetta, membre de l'expédition de Magellan. L'arbre a été introduit à Madagascar il y a environ un siècle. Contrairement à la plupart des plantes à épices, le girofle fournit deux produits d'intérêt économique majeur : les clous, qui sont en réalité les boutons floraux, et l'essence principalement produite par la distillation des feuilles.⁸

Le girofler est un arbre de taille petite à moyenne, qui peut atteindre entre 6 et 12 mètres de hauteur et vivre jusqu'à 150 ans. Il est sempervirent et a une forme pyramidale ou conique, avec un tronc principal oblique. De nos jours, il ressemble souvent à un arbuste car il est régulièrement taillé pour faciliter la cueillette^{7,9} (**Figure 01**).



Figure 01 : aspect d'un girofler.¹⁰

Le système racinaire du clou de girofle peut atteindre une profondeur de 2 à 3 mètres, mais la plupart des racines sont peu développées et restent superficielles, à environ 60 cm du sol. Ce faible ancrage dans le sol rend l'arbre vulnérable aux cyclones à Madagascar, bien qu'il soit cultivé sur place. Originnaire des îles Moluques, cette zone géographique ne présente pas de risque cyclonique. Les racines superficielles forment un chevelu qui absorbe facilement les nutriments minéraux du sol.¹¹

Le tronc du clou de girofle est d'apparence oblique, divisé en deux parties à la base, ce qui lui donne sa forme caractéristique de pyramide. Il est recouvert, ainsi que tous les rameaux, d'une écorce lisse et de couleur gris clair. Le bois des branches est dur mais fragile. Lorsque les branches sont coupées ou cassées, elles bifurquent, ce qui donne un aspect buissonnant à l'arbre. Chaque rameau porte à son extrémité un bouquet de 4 à 10 feuilles avec un bourgeon terminal.¹¹

Les feuilles du clou de girofle sont persistantes et coriacées. Elles sont opposées sur le rameau, avec un limbe simple mesurant environ 10 cm de long pour 3 cm de large, ce qui leur confère une forme ovale voire lancéolée. Le pétiole portant le limbe mesure entre 0,5 et 1 cm de long. Les nervures sont nombreuses mais peu visibles et la marge de la feuille est lisse. À l'état adulte, les feuilles sont d'un vert foncé luisant, mais lorsqu'elles se développent, elles sont de couleur rose et comme saupoudrées d'or (**Figure 02**). De fines ponctuations peuvent être distinguées sur les feuilles, correspondant à des glandes schizogènes, dans lesquelles se concentre l'essence¹¹ (**Figure 02**).



Figure 02 : feuilles jeunes de couleur rose et feuilles matures de couleur verte du giroflier.¹²

En ce qui concerne l'inflorescence, les fleurs sont disposées en cyme de 3 à 20 fleurs blanches hautement aromatiques. La corolle est constituée de 4 pétales caducs cohérents, qui alternent avec les sépales. Les pétales tombent à l'ouverture de la fleur. Les sépales forment un calice gamosépale à quatre divisions triangulaires, d'abord vert puis rougeâtre, que l'on qualifie d'hyathe.¹¹

Le réceptacle floral est presque cylindrique, voire un peu angulaire. Il porte un ovaire infère biloculaire, chaque loge contenant une vingtaine d'ovules. Au-dessus, le style est bref et se termine en stigmate bilobé. En ce qui concerne l'androcée, les étamines sont nombreuses et regroupées en 4 faisceaux. Ce qui est communément appelé « clou de girofle » correspond à la fleur à l'état de bouton non épanoui, comprenant le calice et la corolle.¹¹

Les griffes de girofle, moins estimées, sont en fait les pédicelles floraux. Ils sont nommés griffes car ces pédicelles se terminent par une série de petites bractées en forme de griffe¹¹ (**Figure 03 et Figure 04**).



Figure 03 : développement de clous de girofle.¹³



Figure 04 : boutons floraux et les fleurs de girofler.¹⁰

2. Distribution et habitat du clou de girofle

2.1. Distribution géographique du clou de girofle

Le clou de girofle est originaire d'Indonésie et se trouve principalement dans le nord et le centre des Moluques et de la province de Papua Barat (Irian Jaya). Il est largement cultivé au Brésil, en Haïti, au Kenya, en Malaisie, à Maurice, au Mexique et aux Seychelles.¹⁴ Il est cultivé

commerciallement en Asie du Sud-Est, connu sous le nom de pomme de cire, pomme java, pomme rose ou pomme rose samarang.¹⁵ Il est également présent à Zanzibar, à Madagascar, aux Philippines, en Inde, au Sri Lanka et en Tanzanie (**Figure 05**).

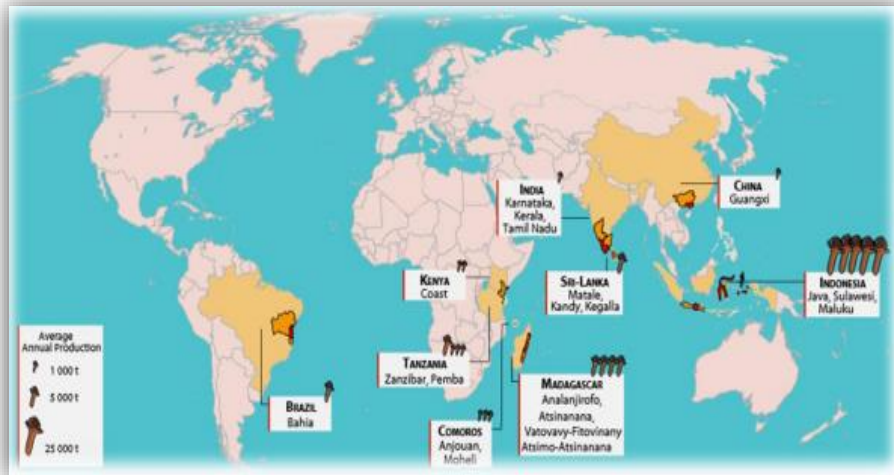


Figure 05 : carte géographique des principaux pays producteurs de CG au monde¹⁶

L'arbre est cultivé à basse altitude dans de nombreux pays tropicaux, où il est maintenu à l'état arbustif pour faciliter la récolte. Les clous de girofle que nous consommons proviennent de Madagascar (**figure 06**), d'Indonésie, de Malaisie, des îles d'Afrique de l'Est (Zanzibar, Pemba), de Ceylan et d'Amérique du Sud.^{11,17}

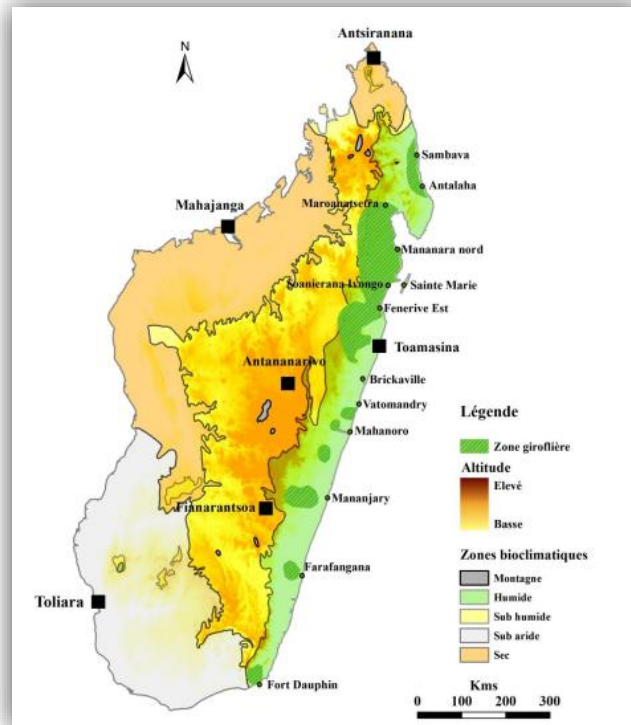


Figure 06 : répartition de clous de girofle à Madagascar.¹⁷

2.2. Culture des clous de girofle

Comme beaucoup d'autres plantes de la famille des Myrtacées, le CG est habitué au climat tropical. Cet arbre a besoin de beaucoup de soleil car sans lui, il ne poussera pas de clous. Il nécessite également de l'humidité, de la chaleur et une basse altitude ne dépassant pas 300 mètres. Le climat marin semble favoriser son développement.

Bien qu'il ait besoin de 80% d'humidité atmosphérique, l'eau stagnante est nocive pour les racines. Il aime les sols bien drainés et les collines à faible pente. En revanche, les sols argileux et sablonneux ne lui conviennent pas. Idéalement, les clous de girofle ont besoin d'un sol volcanique (ou sédimentaire), près de la mer (surtout en altitude), avec de bonnes précipitations toute l'année et du plein soleil en été.^{11, 18, 19}

2.2.2. Techniques de culture

2.2.2.1. Transplantation de drageons

C'est une méthode ancienne pour la culture de girofliers, qui consiste à repiquer les jeunes drageons trouvés sous les arbres de la plantation afin de leur donner plus d'espace pour pousser. Cependant, cette méthode a entraîné un taux de mortalité élevé chez les drageons et une croissance lente. La technique de culture la plus courante de nos jours est le semis.¹⁹

2.2.2.2. Multiplication par semis

La multiplication par semis est une technique de culture qui consiste à semer des graines. Cependant, les graines de clou de girofle ont une capacité de germination courte, ce qui rend cette technique difficile. En effet, les graines doivent être semées très fraîches, dans les deux semaines suivant la récolte. Seules les anthophiles de couleur rouge violacé sont propices à la germination dans des conditions optimales de température et d'humidité.^{11,18}

Une fois les graines semées, il faut attendre deux à trois semaines pour que la germination commence. Lorsque les jeunes plantes atteignent une hauteur d'un mètre, elles peuvent être transplantées, c'est-à-dire environ 10 à 14 mois après avoir été en pépinière. L'ombre est essentielle dans les premiers stades de croissance, mais une fois plantées en permanence, les plants de clou de girofle bénéficient d'une exposition au plein soleil.^{7,18}

2.2.2.3. Récolte

Le meilleur moment pour récolter dépend de la couleur rose des clous de girofle (**figure 07**). Si vous les cueillez trop tôt, il n'y aura pas assez d'essence dans les clous, si vous les cueillez trop tard, les fleurs vont s'ouvrir (pas de pétales). Comme les clous ne mûrissent pas en même temps (les clous inférieurs mûrissent plus tôt que les supérieurs), il est nécessaire d'effectuer plusieurs passages sur le même arbre.⁷



Figure 07 : clous roses récoltés avant l'épanouissement de la fleur.²⁰

Les girofliers commencent à produire des clous à partir de la 5^{ème} année. Ils peuvent être récoltés vers la 8^{ème} année, et le rendement moyen des arbres de 10-12 ans est de 3 kg de clous. Par contre, un arbre de trente ou quarante ans et de 15 mètres de haut peut donner 30 kg de clous par sujet. Un travailleur (homme ou femme) récolte 20 à 25 kg d'inflorescences en une journée de travail. Cependant, le rendement de l'arbre n'est pas régulier chaque année. La récolte est cyclique : il y a un pic de production tous les 5 ans. La période de récolte varie selon les régions. À Madagascar, les clous sont récoltés d'octobre à janvier, lorsqu'ils sont roses et contiennent le plus d'essence. À Zanzibar, il y a deux récoltes par an : juillet-septembre et décembre-janvier, car les girofliers y fleurissent deux fois par an. Le moment de la récolte est très important, car une cueillette trop tôt ne permettra pas à tous les composants de l'ongle de se synthétiser, et une cueillette trop tardive fera perdre les pétales.⁷

Il y a trois étapes qui succèdent à la récolte :

2.2.2.4. Échaudage

Les clous récoltés sont plongés dans l'eau bouillante pendant quelques minutes pour arrêter la fermentation.⁷

2.2.2.5. Séchage

Les clous sont ensuite étalés sur des claies ou des bâches en plein soleil pendant une semaine. Ils doivent être retournés fréquemment pour sécher de manière uniforme ²¹ (**figure 08**).



Figure 08 : séchage des clous sur des nattes à Madagascar.²²

2.2.2.6. Triage et conditionnement

Après le séchage, les clous sont triés selon leur taille et leur qualité, puis conditionnés dans des sacs en toile ou en jute pour le transport et la vente.¹⁹

2.2.3. Entretien des plantations

Dans une plantation de girofliers, la base de l'arbre est dégagée pour faciliter l'accès lors de la récolte et le matériel végétal est laissé intact pour former un couvre-sol. Les girofliers sont taillés de manière régulière : l'arbre est étêté pour réguler sa hauteur, ce qui facilite la récolte et le rend moins vulnérable en cas d'ouragan. Les arbres utilisés pour la production d'huile de feuilles sont également taillés au niveau des branches périphériques. Cependant, cette pratique ne doit pas être effectuée trop fréquemment (jusqu'à 4 fois par an), car les arbres trop coupés risquent de s'affaiblir.⁷

Chapitre II :

Les huiles essentielles

1. Définition des huiles essentielles

1.1. Définition d'une huile essentielle selon la norme ISO 9235 :

Une huile essentielle est un produit obtenu à partir de matières premières naturelles d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage, après séparation de l'éventuelle phase aqueuse par des procédés physiques.²³

1.2. Définition d'une huile essentielle selon la Pharmacopée européenne :

Produits aromatiques, souvent de compositions complexes, obtenus à partir de matières premières végétales botaniquement définies par distillation à la vapeur, distillation sèche ou procédés mécaniques appropriés sans chauffage. Les huiles essentielles sont généralement séparées de la phase aqueuse par des procédés physiques qui n'entraînent pas de modifications significatives de leur composition. Cette définition est celle retenue dans les Recommandations ANSM pour les Normes de Qualité des Huiles Essentielles.²⁴

1.3. Huile essentielle de clous de girofle

1.3.1. Historique sur l'utilisation traditionnelle de clous de girofle

Depuis l'Antiquité, les épices sont utilisées pour conserver les aliments en raison de leurs propriétés antiseptiques et désinfectantes. Le CG est une épice prestigieuse, a été enregistré pour la première fois en Chine sous la dynastie Han (220 avant JC) et est utilisé depuis longtemps par les guérisseurs ayurvédiques traditionnels en Inde pour traiter les affections respiratoires et digestives. Il est également considéré comme une riche source de composés antimicrobiens bio actifs. Actuellement, des chercheurs de divers domaines étudient les effets des épices sur la santé humaine en utilisant leurs huiles essentielles. Le nom "clou de girofle" est dérivé du mot français "clou" et de l'espagnol "clavo", qui signifie «ongle», en raison de sa forme ressemblant à un ongle. Les clous de girofle sont largement utilisés en dentisterie en raison de leurs propriétés anesthésiques locales. Aujourd'hui, l'eugénol, un composé présent dans l'huile essentielle de clou de girofle, est mélangé à de l'oxyde de zinc pour fabriquer un ciment utilisé comme matériau de restauration temporaire qui offre une excellente étanchéité et anesthésie de la pulpe. L'eugénol est également utilisé pour soulager la douleur associée à l'ajustement des prothèses dentaires.^{25,26}

1.3.2. Définition de l'huile essentielle de clou de girofle

Le nom du genre *Eugenia* du giroflier signifie étymologiquement “bien né” ou “bonne naissance”. Cela est en relation avec l'usage ancien consistant à provoquer des contractions à des fins abortives ou pour déclencher le travail en cas de retard sur le terme, en consommant de fortes concentrations de CG sous forme d'infusions ou d'huile essentielle (HE). Le clou de girofle est une épice très appréciée pour ses qualités culinaires. Il en est extrait une huile essentielle (HE) surtout connue en médecine dentaire. Il s'agit d'une HE contenant principalement de l'eugénol, un phénol considéré comme doux mais également comme un puissant anti-infectieux à large spectre. Bien que l'odeur du CG soit surtout associée aux soins dentaires, l'HE de CG s'avère utile à l'officine pour des conseils ciblés et souvent en mélange, afin de bénéficier de belles synergies²⁷ (**photo 01**).



Photo 01 : clous de girofle.

2. Composition chimique des huiles essentielles

2.1. Composition chimique

Les huiles essentielles ont une composition chimique complexe qui leur confère des propriétés thérapeutiques variées. L'eugénol est le composé principal de l'huile essentielle de CG, représentant généralement entre 70% et 90% de sa composition. L'eugénol est responsable de nombreuses propriétés bénéfiques de l'huile de CG, notamment ses effets antimicrobiens, anti-inflammatoires et analgésiques. Eugénol méthyl éther est un autre composé dérivé de l'eugénol qui contribue aux propriétés de l'huile essentielle de CG.²⁸

Acétate d'eugénol est un ester dérivé de l'eugénol qui contribue aux propriétés aromatiques de l'huile essentielle de clou de girofle. Il possède également des propriétés antimicrobiennes.²⁹

Les terpènes sont les composants les plus courants dans les huiles essentielles, représentant environ 90 % de leur composition. Les terpènes sont des hydrocarbures aromatiques volatils qui sont responsables de l'odeur et du goût des huiles essentielles. Les phénols sont une autre classe importante de composés trouvés dans les huiles essentielles. Ils ont des propriétés antiseptiques, antibactériennes, antivirales et antifongiques, ce qui les rend utiles dans le traitement de diverses affections.³⁰

Les cétones sont une autre classe de composés présents dans les huiles essentielles, qui ont des propriétés antispasmodiques, analgésiques et expectorantes. Les esters sont également fréquents dans les huiles essentielles, avec des propriétés calmantes, antiseptiques et anti-inflammatoires. Les alcools sont également couramment trouvés dans les huiles essentielles, avec des propriétés antiseptiques, antibactériennes et antifongiques. La composition chimique des huiles essentielles peut varier considérablement en fonction de facteurs, tels que la différence de rendement qui peut être influencée aussi par la saison de récolte et l'origine géographique.³¹ La technique d'extraction. Cependant, incrimine aussi la granulométrie des clous de girofle broyés sur le rendement (Le rendement d'extraction augmente en diminuant la granulométrie des clous de girofle broyés), les parties végétales spécifiques utilisées dans les échantillons, ainsi que les conditions de récolte, de séchage et d'extraction. D'autres facteurs tels que l'environnement, le génotype de la plante et son origine géographique peuvent également influencer la composition chimique des huiles essentielles. C'est pourquoi il est important de choisir des huiles essentielles de qualité, provenant de sources fiables et réputées.³²

2.2. Facteurs de variation de la composition chimique

2.2.1. Facteur intrinsèque

La composition chimique des huiles essentielles peut varier en fonction de plusieurs facteurs intrinsèques, qui sont liés à la matière végétale dont elles sont composées. Ainsi, les effets du niveau trophique, des organes de la plante, de l'hybridation, de la mutagenèse, de la polyploidie et des polymorphismes chimiques (également appelés "chénotypes" ou "morphologie physiologique") sont les facteurs intrinsèques les plus importants qui affectent la composition et les performances des huiles essentielles. Ces facteurs sont également liés à l'espèce, au type de clone, à l'organe concerné, à l'interaction avec l'environnement (comme la période de récolte, le

type de sol ou le climat), ainsi qu'au degré de maturité de la plante au moment de la récolte, voire même au moment de la journée où elle est récoltée.

Il est donc important de prendre en compte ces facteurs intrinsèques lors de la sélection et de l'utilisation des huiles essentielles, car ils peuvent influencer la qualité, la pureté et l'efficacité thérapeutique de ces produits naturels. Des études scientifiques ont démontré que les huiles essentielles de la même espèce végétale peuvent avoir des compositions chimiques différentes en fonction de ces facteurs intrinsèques. Par conséquent, il est crucial de choisir des huiles essentielles de qualité supérieure, provenant de sources fiables et réputées, pour garantir leur efficacité thérapeutique optimale.³³

2.2.2. Facteur extrinsèque

La composition de l'huile essentielle est également influencée par les conditions environnementales. Des facteurs tels que la température, l'humidité relative de l'air, la durée d'insolation, l'altitude, l'intensité lumineuse, les précipitations et les conditions du sol peuvent tous contribuer à la variation de la composition chimique des plantes aromatiques, en particulier chez les espèces dont les structures sécrétrices sont superficielles, comme les poils sécréteurs des lamiacées. Les conditions de culture, telles que la nature du sol et l'apport en engrais, ainsi que le procédé d'extraction, le temps d'extraction et les traitements préliminaires, comme les conditions de transport, la durée de séchage et de stockage du matériel végétal, peuvent également entraîner une grande variabilité de la composition d'une huile essentielle due à des dégradations enzymatiques. De nombreux travaux ont mis en évidence l'impact de l'origine des matières premières sur la composition des huiles essentielles, ainsi que les facteurs cultureux tels que la date de semis, la date de récolte, le traitement phytosanitaire, l'utilisation d'engrais et les techniques d'extraction qui affectent également la composition et l'extraction.³³

3. Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses propriétés pharmacologiques intéressantes. Certaines huiles essentielles ont des propriétés antiseptiques, antifongiques et antibactériennes, ce qui les rend utiles dans le traitement des infections. Par exemple, l'huile essentielle de tea tree (*Melaleuca alternifolia*) est connue pour ses propriétés antiseptiques et antifongiques, et est utilisée dans le traitement de diverses infections cutanées et des voies respiratoires.³⁴

D'autres huiles essentielles ont des propriétés anti-inflammatoires et analgésiques, ce qui les rend utiles pour soulager les douleurs musculaires et articulaires. Par exemple, l'huile essentielle de menthe poivrée (*Mentha x piperita*) est connue pour ses propriétés analgésiques et anti-inflammatoires, et est souvent utilisée pour soulager les douleurs musculaires et les maux de tête.³⁵

Certaines huiles essentielles ont également des propriétés sédatives et anxiolytiques, ce qui les rend utiles pour soulager l'anxiété et favoriser le sommeil. Par exemple, l'huile essentielle de lavande (*Lavandula angustifolia*) est connue pour ses propriétés sédatives et anxiolytiques, et est souvent utilisée pour soulager l'anxiété et favoriser le sommeil.³⁶

Enfin, certaines huiles essentielles ont des propriétés antioxydantes, ce qui les rend utiles pour lutter contre les radicaux libres responsables du vieillissement prématuré des cellules. Par exemple, l'huile essentielle d'encens (*Boswellia carterii*) est connue pour ses propriétés antioxydantes, et est souvent utilisée dans les soins de la peau pour lutter contre les signes du vieillissement.²

4. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Différentes plantes aromatiques sont caractérisées par la biosynthèse de molécules odorantes, telles que le CG, qui produisent ce qu'on appelle les huiles essentielles. Ces huiles sont connues depuis longtemps pour leurs propriétés antiseptiques et thérapeutiques. Le processus d'extraction des huiles essentielles est basé sur les différences de solubilité des composés dans un solvant. Le mélange peut être solide ou liquide, le solvant peut être liquide ou liquide supercritique, et varie selon différents facteurs tels que l'endroit de la culture, le climat, l'altitude, le sol, et les méthodes de récolte. Il existe deux grandes catégories de techniques d'extraction des huiles essentielles : les méthodes traditionnelles et les méthodes modernes.³⁷⁻³⁹ (**figures 10, 11, 12 et 13**).³⁷⁻³⁹

4.1. Méthodes traditionnelles

4.1.1. Hydrodistillation

La méthode d'hydrodistillation consiste à chauffer de l'eau et de la matière végétale, comme des CG, dans un premier ballon. La vapeur et les extraits de plantes sont ensuite condensés dans des refroidisseurs d'eau et récupérés dans un décanteur. Cependant, laisser l'eau et les plantes entrer en contact pendant la chauffe peut favoriser l'altération des composés aromatiques, en particulier des esters. Bien que cette méthode ait un rendement élevé et produise une essence en bon état, la qualité de l'huile extraite peut être altérée en raison du contact direct entre la matière végétale et

l'eau. De plus, cette méthode peut être violente, et une partie de l'essence peut être perdue par vaporisation et oxydation. La séparation des huiles essentielles se fait par différence de densité.³⁷⁻³⁹ (Voir figure 10).



Photo 02 : extraction de l'huile essentielle de clou de girofle par hydrodistillation.

Entraînement à la vapeur d'eau (distillation à la vapeur saturée)

La méthode d'entraînement à la vapeur d'eau, également connue sous le nom de distillation à la vapeur saturée, est efficace pour l'extraction des huiles essentielles. Contrairement à l'hydrodistillation, la matière végétale n'entre pas en contact direct avec l'eau. Au lieu de cela, la vapeur d'eau est forcée à travers la masse végétale, qui est étalée sur des plaques perforées. Ce processus permet de libérer les particules d'huile des cellules végétales, qui sont ensuite évaporées et condensées dans un serpentín réfrigéré. La récupération de l'huile essentielle se fait selon la même procédure que dans l'hydrodistillation. Cette méthode a été développée pour gagner du temps, car la distillation peut commencer directement après le chargement de la matière végétale. Elle permet également d'éviter l'hydrolyse des composants chimiques nécessaires à l'huile essentielle, ainsi que certains composants qui pourraient altérer la qualité de l'extraction. Cette méthode convient à la plupart des plantes, à l'exception du jasmin. Cependant, elle dépend toujours

d'une source de vapeur externe, comme une chaudière, un brûleur à bois, une source de vapeur à gazole, gaz ou électrique (**Voir figure 09**).³⁷⁻³⁹

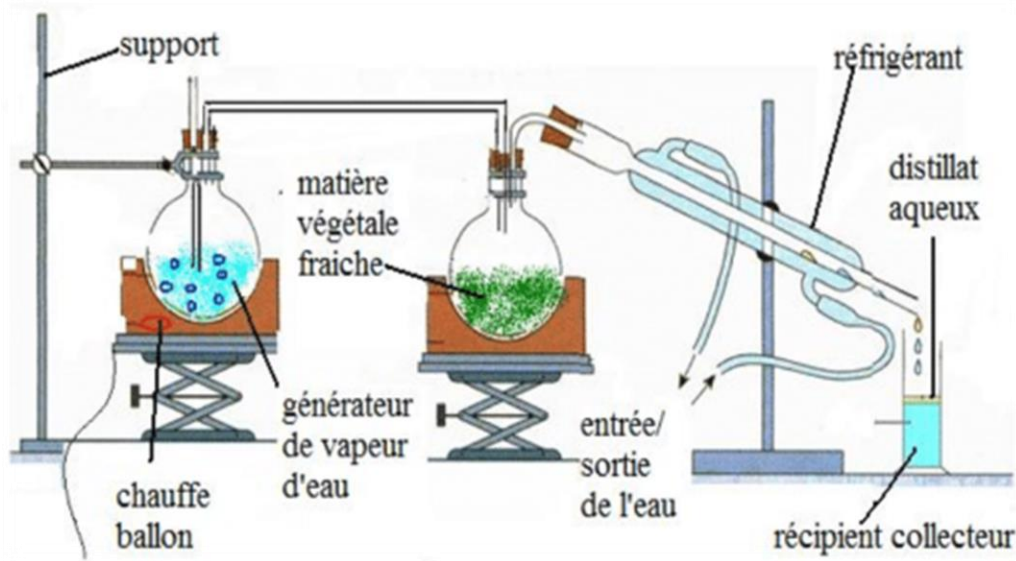


Figure 09 : procédé de l'entraînement à la vapeur d'eau (distillation à la vapeur saturée).

4.2. Méthodes modernes

4.2.1. Hydrodistillation par micro-ondes, sous vide

L'hydrodistillation par micro-ondes sous vide est une nouvelle technique récemment développée, qui combine l'utilisation de micro-ondes et d'une enceinte à pression réduite pour chauffer sélectivement les plantes. Cette méthode permet d'obtenir une qualité de produit supérieure à celle de la distillation traditionnelle à l'eau. Le processus de *Microwave Assisted Process* (MAP) utilise des micro-ondes pour exciter les molécules d'eau présentes dans les tissus végétaux, ce qui provoque la rupture des cellules et la libération des huiles essentielles piégées.

Cette méthode est très rapide et consomme peu d'énergie et d'eau. Elle permet également d'extraire les huiles essentielles avec un rendement élevé en peu de temps, comparativement à la distillation traditionnelle à l'eau. Cependant, les coûts d'investissement sont plus élevés que pour les méthodes de distillation traditionnelles, et il y a un risque accru de dégradation des matières thermosensibles. (**Figure 10**).³⁷⁻³⁹

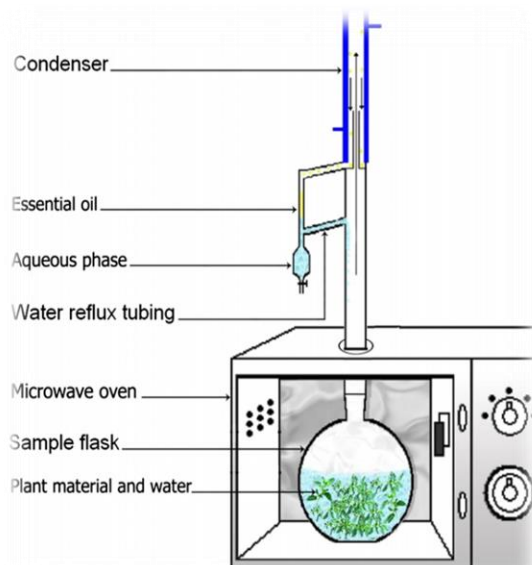


Figure 10 : hydrodistillation par micro-onde, sous vide

4.2.2. Extraction au CO₂ supercritique

Cette technique est motivée par la solubilité du CO₂ qui peut être ajustée en fonction des conditions de pression et de température auxquelles il est exposé en état supercritique (plus de 75 bar et 31°C). Le mécanisme d'extraction au CO₂ supercritique fonctionne en utilisant du CO₂ sous forme liquide et en le faisant passer à travers la matière végétale. Le CO₂ se transforme en un état supercritique, où il se comporte à la fois comme un gaz et un liquide, et est capable de dissoudre les composés aromatiques de la matière végétale. La pression est ensuite relâchée, et les composés aromatiques sont récupérés. Cette méthode est écologique, sans pollution ni eau usée, et utilise du CO₂ qui est un produit naturel abondant dans la nature et facilement disponible (pas cher et facile à trouver), ainsi qu'il est non toxique, incolore, inerte, inodore et insipide. Néanmoins, le coût de l'équipement est très élevé. (Voir figure 11).³⁷⁻³⁹

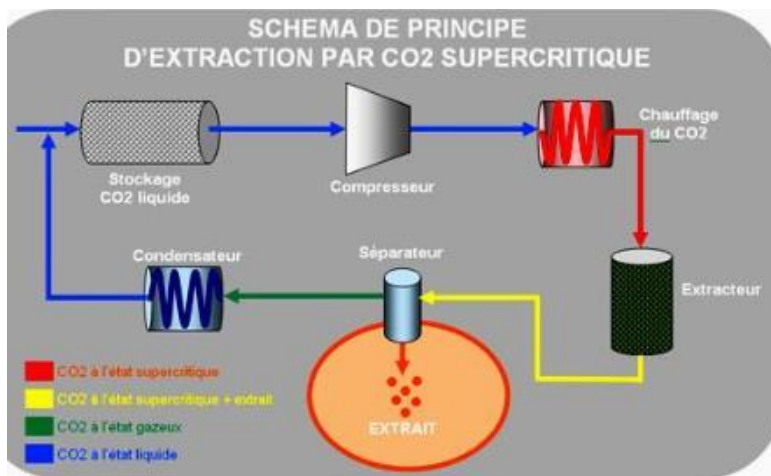


Figure 11 : extraction au CO2 supercritique.

5. Différentes activités biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont connues pour leur large gamme d'activités biologiques, notamment :

5.1. Activité antimicrobienne

Les huiles essentielles ont montré une activité antimicrobienne contre un large éventail de bactéries, virus et champignons pathogènes. Par exemple, l'huile essentielle de tea tree (*Melaleuca alternifolia*) est connue pour ses propriétés antimicrobiennes et antifongiques. Une étude in vitro a montré que l'huile essentielle de tea tree a une activité inhibitrice significative contre *Candida albicans*, un champignon responsable d'infections fongiques courantes.⁴⁰

5.2. Activité antioxydante

Les huiles essentielles ont également montré des propriétés antioxydantes, ce qui signifie qu'elles peuvent aider à protéger les cellules du corps contre les dommages causés par les radicaux libres. Par exemple, l'huile essentielle de citron (*Citrus limon*) est connue pour ses propriétés antioxydantes. Une étude a montré que l'huile essentielle de citron a une activité antioxydante significative contre les radicaux libres, ce qui peut aider à prévenir les dommages oxydatifs dans le corps.⁴¹

5.3. Activité anti-inflammatoire

Les huiles essentielles ont également montré des propriétés anti-inflammatoires, ce qui signifie qu'elles peuvent aider à réduire l'inflammation dans le corps. Par exemple, l'huile essentielle de lavande (*Lavandula angustifolia*) est connue pour ses propriétés anti-inflammatoires. Une étude a montré que l'huile essentielle de lavande a une activité anti-inflammatoire significative in vivo et in vitro, ce qui peut aider à réduire l'inflammation associée à des affections telles que l'arthrite et les maladies cardiovasculaires.⁴²

5.4. Activité analgésique

Les huiles essentielles ont également montré des propriétés analgésiques, ce qui signifie qu'elles peuvent aider à soulager la douleur. En général, la phytothérapie est largement utilisée dans le traitement des maladies et le soulagement des douleurs, et constitue l'une des stratégies importantes en médecine.⁴³ Par exemple, l'huile essentielle de menthe poivrée (*Mentha x piperita*) est connue pour ses propriétés analgésiques. Une étude a montré que l'huile essentielle de menthe poivrée a une activité analgésique significative in vivo, ce qui peut aider à soulager la douleur associée à des affections telles que les maux de tête et les douleurs musculaires.⁴⁴

5.5. Activité relaxante

De multiples ouvrages ont été publiés sur les effets de l'odorat sur le cerveau humain et les émotions. Plusieurs études ont testé les effets des huiles essentielles sur l'humeur, la vigilance et le stress mental chez des participants en bonne santé. Les partisans de l'aromathérapie affirment que les huiles aromatiques, ou les huiles essentielles, sont utilisées depuis des milliers d'années comme stimulants ou sédatifs du système nerveux et pour traiter une variété d'autres maux. Donc les huiles essentielles ont montré des propriétés relaxantes, ce qui signifie qu'elles peuvent aider à réduire le stress et l'anxiété. Par exemple, l'huile essentielle de camomille (*Matricaria chamomilla*) est connue pour ses propriétés relaxantes. Une revue de la littérature a montré que l'huile essentielle de camomille a une activité relaxante significative in vivo et in vitro.⁴⁵

6. Différentes applications des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont une grande variété d'applications, allant de la thérapie de relaxation à la prévention et au traitement des maladies. Voici quelques exemples d'applications :

6.1. Thérapie de relaxation

Certaines huiles essentielles, comme la lavande, la bergamote et la camomille, sont utilisées pour leurs propriétés relaxantes et apaisantes. Des études ont montré que l'aromathérapie à base d'huiles essentielles peut aider à réduire le stress et l'anxiété.^{41,46}

6.2. Amélioration du sommeil

L'huile essentielle de lavande est particulièrement utile pour améliorer le sommeil. Une étude a révélé que l'application topique de cette huile essentielle avait des effets bénéfiques sur la qualité du sommeil des participants.⁴²

6.3. Réduction de la douleur

Certaines huiles essentielles, comme l'huile de menthe poivrée et l'huile d'eucalyptus, ont des propriétés analgésiques. Des études ont montré que l'application topique de ces huiles essentielles pouvait réduire la douleur associée à des affections telles que la fibromyalgie et l'arthrite.^{44,47}

6.4. Traitement de l'acné

Certaines huiles essentielles, telles que l'huile de tea tree et l'huile de lavande, sont utilisées pour traiter l'acné. Des études ont montré que l'application topique de ces huiles essentielles pouvait réduire l'inflammation et l'apparence de l'acné.⁴⁸

6.5. Prévention des maladies infectieuses

Les huiles essentielles sont connues pour leurs propriétés antimicrobiennes et antivirales. Certaines huiles essentielles, comme l'huile de thym, l'huile d'origan et l'huile de cannelle, ont été utilisées pour prévenir et traiter les infections respiratoires⁴³

7. Mécanisme d'action des huiles essentielles

Les huiles essentielles contiennent des composés bioactifs, tels que l'eugénol, des terpènes, des phénols, des cétones, des alcools et des esters, qui leur confèrent leurs propriétés thérapeutiques. Le mécanisme d'action des huiles essentielles peuvent varier en fonction des composés actifs et des types d'applications. Voici quelques exemples :

7.1. Effets sur le système nerveux

Certaines huiles essentielles, telles que la lavande, le citron, la bergamote et la menthe poivrée, ont des effets relaxants et apaisants sur le système nerveux. Ces huiles peuvent aider à réduire le stress, l'anxiété, la dépression et l'insomnie. L'huile essentielle de lavande est connue

pour avoir des effets calmants et anxiolytiques, ce qui peut être dû à une interaction avec les récepteurs GABA dans le cerveau.⁴⁹

7.2. Effets antimicrobiens

L'huile essentielle de clou de girofle est connue pour ses propriétés antibactériennes, antifongiques et antivirales. Elles peuvent aider à éliminer les bactéries, selon le mécanisme suivant⁵⁰ :

- Perturbation de la membrane cellulaire : l'huile essentielle de clou de girofle peut altérer la structure et la fonction de la membrane cellulaire des bactéries, en perturbant leur intégrité. Cela peut provoquer des fuites de substances essentielles, perturber les processus métaboliques et entraîner la mort des cellules bactériennes.
- Inhibition de la croissance bactérienne : l'eugénol présent dans l'huile de clou de girofle a été montré pour inhiber la croissance des bactéries en interférant avec leur métabolisme. Il peut perturber les voies enzymatiques essentielles, entraînant ainsi un arrêt de la croissance bactérienne.
- Action antibiofilm : les bactéries peuvent former des biofilms, des communautés structurées attachées à des surfaces, ce qui les rend plus résistantes aux antibiotiques conventionnels. L'huile essentielle de clou de girofle a été étudiée pour sa capacité à prévenir la formation de biofilms bactériens et à détruire les biofilms existants, ce qui contribue à son activité antibactérienne.

L'huile essentielle de clou de girofle a été identifiée comme ayant des propriétés antifongiques, selon le mécanisme suivant⁵¹ :

- Activité antifongique : l'huile essentielle de clou de girofle a démontré une activité antifongique contre les levures, notamment *Candida albicans*. Ses composés actifs, tels que l'eugénol, ont montré des effets inhibiteurs sur la croissance des levures, en perturbant leur métabolisme et leur cycle de vie.
- Inhibition de la formation de biofilms : les levures, y compris *Candida albicans*, peuvent former des biofilms, des communautés structurées attachées à des surfaces, ce qui les rend plus résistantes aux traitements antifongiques. L'huile essentielle de clou de girofle a montré une capacité à prévenir la formation de biofilms et à détruire les biofilms existants chez les levures, contribuant ainsi à son activité antifongique.

- Altération de la membrane cellulaire : l'huile essentielle de clou de girofle peut altérer la structure et la fonction de la membrane cellulaire des levures, perturbant ainsi leur intégrité et provoquant des fuites de substances essentielles. Cela peut entraîner une inhibition de la croissance des levures et une sensibilité accrue aux traitements antifongiques

7.3. Effets anti-inflammatoires

Certaines huiles essentielles, telles que l'encens, la camomille et le thym, ont des propriétés anti-inflammatoires. Ces huiles peuvent aider à réduire l'inflammation, à soulager la douleur et à améliorer la cicatrisation des tissus.

L'huile essentielle de menthe poivrée peut inhiber l'activité de la cyclooxygénase-2 (COX-2), une enzyme impliquée dans l'inflammation.⁵⁰

7.4. Effets sur le système immunitaire

Les huiles essentielles ont des effets stimulants sur le système immunitaire. Elles peuvent aider à renforcer la réponse immunitaire en stimulant la production de globules blancs, tels que les lymphocytes T et les macrophages, qui sont responsables de la défense contre les agents pathogènes.

L'huile essentielle de cannelle peut inhiber la croissance de certaines cellules cancéreuses in vitro, ce qui pourrait être dû à une modulation de la signalisation cellulaire⁵²

8. Utilisation des huiles essentielles dans la préparation des lotions de bain de bouche

Les huiles essentielles peuvent être utilisées dans les lotions de bain de bouche pour leurs propriétés antimicrobiennes et antifongiques. Une étude publiée en 2015 a évalué l'efficacité d'une lotion de bain de bouche à base d'huile essentielle de tea tree, de thym et de romarin sur la plaque dentaire et l'inflammation des gencives. Les résultats ont montré une réduction significative de la plaque dentaire et de l'inflammation des gencives chez les participants qui ont utilisé la lotion de bain de bouche contenant les huiles essentielles, par rapport au groupe témoin qui a utilisé une lotion de bain de bouche sans huiles essentielles.⁵³

Une autre étude publiée en 2019 a évalué l'efficacité d'une lotion de bain de bouche à base d'huile essentielle de clou de girofle sur la plaque dentaire, la gingivite et la mauvaise haleine chez des participants atteints de maladie parodontale. Les résultats ont montré une réduction significative de la plaque dentaire, de la gingivite et de la mauvaise haleine chez les participants

qui ont utilisé la lotion de bain de bouche contenant l'huile essentielle de clou de girofle, par rapport au groupe témoin qui a utilisé une lotion de bain de bouche sans huile essentielle de clou de girofle.⁵⁴

9. Précautions d'emploi des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des produits naturels très puissants et peuvent être dangereuses si elles sont utilisées de manière incorrecte. Il est donc important de prendre certaines précautions lors de leur utilisation.⁵³⁻⁵⁵ :

- Ne jamais utiliser d'huile essentielle pure sur la peau, mais toujours les diluer dans une huile végétale ou dans une crème hydratante. Certaines huiles essentielles peuvent être irritantes ou causer des brûlures si elles sont appliquées directement sur la peau non diluée.
- Évitez l'utilisation d'huiles essentielles pendant la grossesse ou l'allaitement, sauf sous la supervision d'un professionnel de la santé. Certaines huiles essentielles peuvent être abortives ou toxiques pour le bébé.
- Évitez l'utilisation d'huiles essentielles chez les enfants de moins de 3 ans. Les enfants sont plus sensibles aux effets des huiles essentielles et peuvent présenter des réactions allergiques ou des effets toxiques.
- Évitez l'utilisation d'huiles essentielles chez les personnes ayant des problèmes de santé, tels que l'épilepsie, l'hypertension artérielle ou des antécédents de réactions allergiques. Certaines huiles essentielles peuvent aggraver ces conditions.
- Évitez l'utilisation d'huiles essentielles avant l'exposition au soleil ou aux rayons UV, car certaines huiles peuvent augmenter la sensibilité de la peau au soleil et causer des brûlures.
- Il est important de consulter un professionnel de la santé avant d'utiliser des huiles essentielles, surtout si vous avez des problèmes de santé ou si vous prenez des médicaments. Les huiles essentielles peuvent interagir avec certains médicaments et peuvent causer des effets indésirables.

Chapitre III :

Problèmes Bucco-Dentaires

1. Santé bucco-dentaire

Selon le rapport de l'OMS sur la santé bucco-dentaire dans le monde (2022), près de 3,5 milliards de personnes dans le monde souffrent de problèmes bucco-dentaires. Parmi les enfants scolarisés, de 60 à 90% présentent des signes de gingivite, et la totalité des adultes sont touchés par les caries dentaires. Les caries non traitées des dents définitives sont l'affection bucco-dentaire la plus courante, comme le souligne le rapport sur la charge mondiale de morbidité en 2019.⁵⁶ Ces problèmes bucco-dentaires sont principalement causés par de mauvaises pratiques d'hygiène bucco-dentaire, ainsi que par des facteurs sociaux et commerciaux sous-jacents.

En Algérie, selon l'enquête INSP de décembre 2018, 36,3% des enfants de moins de 15 ans présentent une mauvaise hygiène bucco-dentaire. En général, la prévention des problèmes de santé buccale se fait à différents niveaux : individuel, communautaire et professionnel. Pour maintenir une bonne hygiène bucco-dentaire, il est essentiel de se brosser les dents régulièrement et d'utiliser un bain de bouche pour neutraliser les germes susceptibles de causer des infections bucco-dentaires. Il est recommandé d'utiliser des produits bio et efficaces.

La santé bucco-dentaire, selon l'OMS, se caractérise par l'absence de douleurs chroniques buccales ou faciales, de cancers buccaux ou pharyngés, de lésions buccales, de malformations congénitales telles que le bec-de-lièvre, de maladies parodontales (affectant les gencives), de caries, de déchaussement des dents, ainsi que d'autres pathologies et troubles buccaux. Elle revêt une importance primordiale pour des fonctions telles que la mastication, la digestion, la respiration, la phonation, l'expression faciale et la réception sensorielle. Certaines maladies générales peuvent contribuer au développement, à l'aggravation ou à la progression des problèmes bucco-dentaires. De même, certaines maladies bucco-dentaires peuvent avoir des répercussions à distance et favoriser l'apparition, l'aggravation ou la progression de certaines maladies générales.

2. Étude statistique des problèmes bucco-dentaire à Constantine

En juin 2023, des études statistiques ont été menées auprès des habitants de Constantine afin d'évaluer leur hygiène bucco-dentaire et les problèmes dont ils souffrent. Les résultats ont révélé que 98 % des enfants présentaient des caries, 90 % des femmes et 95 % des hommes souffraient fréquemment d'abcès. De plus, 97 % des personnes âgées de 18 à 65 ans, hommes et femmes confondus, étaient affectées par des problèmes bucco-dentaires tels que la mauvaise

haleine, la plaque dentaire, la gingivite et les caries. Enfin, 100 % des hommes et des femmes ressentaient des douleurs dentaires. Vous pouvez consulter les résultats détaillés de l'étude statistique dans l'**annexe 1**. Les pourcentages obtenus sont représentés graphiquement dans l'histogramme (**figure 12**).

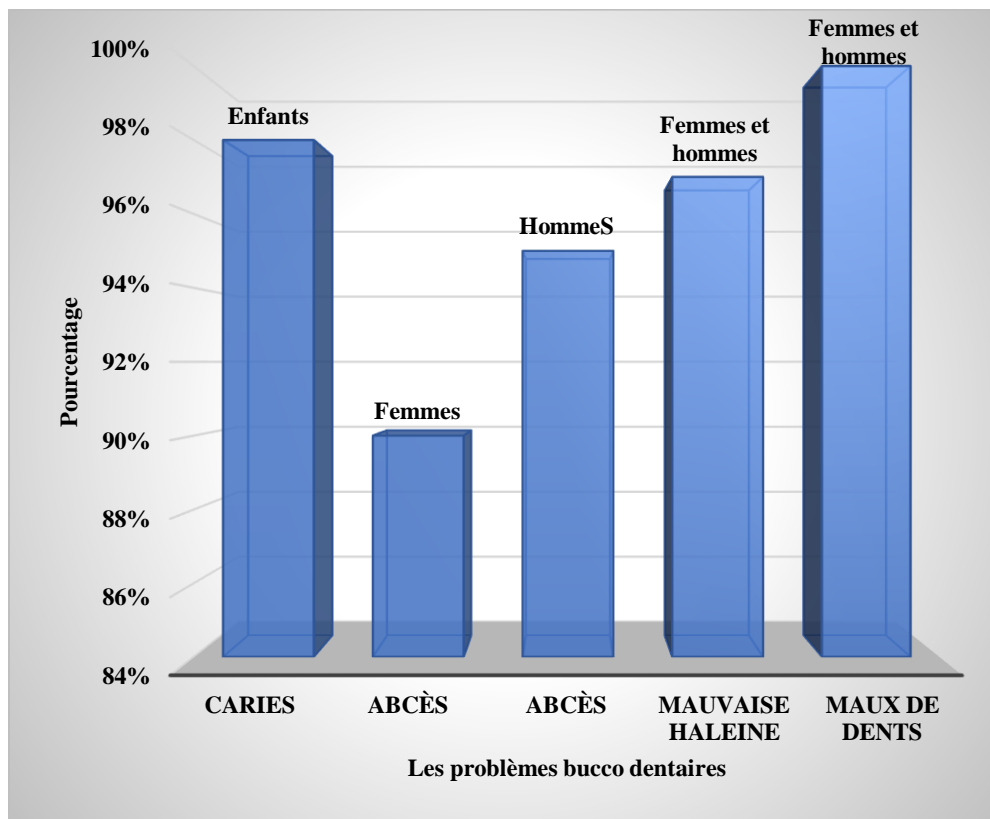


Figure 12 : histogramme des pourcentages de certaines maladies bucco-dentaires à Constantine.

Pour traiter certaines infections telles que les abcès et les maux de dents, certaines personnes préfèrent recourir à des remèdes traditionnels tels que l'huile d'olive et les clous de girofle secs. D'autres optent plutôt pour une consultation chez un dentiste et préfèrent prévenir ces infections en adoptant de bonnes pratiques d'hygiène bucco-dentaire, telles que le brossage régulier des dents et l'utilisation d'un bain de bouche.

Les remèdes de grand-mère peuvent offrir un soulagement temporaire, mais ils ne constituent pas une solution permanente. Consulter un dentiste est souvent recommandé pour un traitement approprié et durable des problèmes bucco-dentaires.

3. Flore bucco-dentaire et les facteurs de déséquilibre du microbiote buccal

3.1. Flore bucco-dentaire

L'étude de la microbiologie ancienne est réalisée dans le domaine de la paléomicrobiologie, une branche de la paléontologie. Le tartre dentaire est de plus en plus utilisé par les archéologues comme échantillon pour étudier la flore buccale ancienne, car il conserve l'ADN de la microflore buccale pendant de nombreuses années. Dans le tartre dentaire ancien, on a découvert un phylum archéen ainsi que neuf phylums bactériens dominants. Parmi eux, les Firmicutes (les plus abondants), les Actinobactéries, les Protéobactéries, les Bacteroidetes, les Synergistetes, les Chloroflexi, les Fusobactéries, les Spirochètes et les Euryarchaeota ont été identifiés, qui sont également dominants dans le microbiome oral humain actuel. D'autres taxons oraux tels que *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Streptococcus mutans* et *Streptococcus mitis* ont également été identifiés.⁵⁷

La flore buccale est composée de nombreux types de bactéries, de champignons et de virus, qui forment collectivement le microbiote buccal. Voici quelques-uns des principaux groupes de microorganismes présents dans la flore buccale :

Streptococcus : Ce sont les bactéries les plus courantes dans la bouche. Des espèces telles que *Streptococcus mutans* sont associées à la carie dentaire.

Actinomyces : Ces bactéries sont souvent présentes sur les dents et la langue, et peuvent parfois causer des infections.

Veillonella : Ce genre de bactéries est abondant dans la bouche et joue un rôle important dans la dégradation de certains composés organiques présents dans la salive.

Fusobacterium : Ces bactéries sont généralement présentes dans la plaque dentaire et peuvent être impliquées dans le développement de maladies parodontales.

Prevotella : Ces bactéries sont impliquées dans la production de composés soufrés qui peuvent causer une mauvaise haleine.

Neisseria : Ce genre de bactéries est souvent trouvé à la surface de la langue et des muqueuses buccales.

Candida : Il s'agit d'un genre de champignons, dont certaines espèces peuvent causer des infections buccales telles que la candidose.^{58,59}

Il convient de noter que la composition exacte du microbiote buccal peut varier d'une personne à l'autre en fonction de divers facteurs tels que l'hygiène buccale, l'alimentation et l'état de santé général. Des études ont montré que ces facteurs peuvent avoir un impact sur le microbiote buccal, comme l'ont démontré des recherches sur le recours aux soins bucco-dentaires après un dépistage en classes de CM2 et en classes spécialisées. De plus, des études ont également montré l'association entre l'alimentation et la topographie dentaire chez les primates mangeurs de graines.⁵⁹

4. Facteurs d'influence du microbiote buccal

Trois facteurs étiologiques principaux ont été identifiés par Keyes (**voir figure 17**) : l'hôte, les facteurs microbiens et alimentaires. En 1978, Newbrun a ajouté le facteur temps à cette.⁶⁰ En plus de ces facteurs, il existe également plusieurs facteurs prédisposants tels que les caractéristiques démographiques, l'hygiène bucco-dentaire et l'âge.

Il existe de nombreux facteurs qui influencent le microbiote, notamment⁶¹ :

Alimentation : le type et la quantité d'aliments que nous consommons peuvent modifier la composition du microbiote. Les régimes riches en fibres sont favorables à la diversité bactérienne, tandis que les régimes riches en graisses et en sucres peuvent contribuer à un déséquilibre de la population bactérienne.

Environnement : notre environnement joue un rôle dans la composition du microbiote. Par exemple, le contact avec des animaux domestiques ou avec la nature peut augmenter la diversité bactérienne.

Mode de vie : des facteurs tels que l'activité physique, le stress, le manque de sommeil et la consommation excessive d'alcool peuvent influencer le microbiote.

Antibiotiques : la prise d'antibiotiques peut avoir un impact sur la composition du microbiote en éliminant certaines bactéries bénéfiques.

Âge : la composition du microbiote évolue tout au long de la vie. Par exemple, les nouveau-nés ont un microbiote différent de celui des adultes.

Génétique : il existe des variations génétiques qui peuvent influencer la composition de notre microbiote.

Médicaments : certains médicaments, tels que les antiacides ou les traitements contre le cancer, peuvent perturber le microbiote.

Il est important de noter que le microbiote est un domaine de recherche en constante évolution et que de nouveaux facteurs peuvent être découverts à l'avenir.⁵⁸

Le tabagisme est un problème majeur de santé publique dans de nombreux pays. Fumer des cigarettes, des cigares ou de la pipe peut entraîner de nombreux problèmes de santé, notamment des maladies cardiaques, des cancers, des maladies pulmonaires et des troubles respiratoires. Le tabagisme est également associé à une augmentation du risque de carie dentaire, de maladies parodontales (parodontite) et de mauvaise haleine. La nicotine présente dans les produits du tabac est un stimulant qui peut également contribuer au bruxisme (grincement des dents) et à l'usure prématurée de l'émail dentaire.⁵⁸

La consommation excessive de sucre peut également avoir un impact néfaste sur la santé bucco-dentaire. Les bactéries présentes dans la bouche se nourrissent de sucre, produisant ainsi des acides qui attaquent l'émail des dents et conduisent au développement de caries. Les boissons sucrées, les bonbons, les desserts et d'autres aliments riches en sucre sont particulièrement

préoccupants, car ils apportent une quantité élevée de sucre directement sur les dents. Une consommation excessive de sucre peut également contribuer à l'obésité et à d'autres problèmes de santé graves tels que le diabète de type 2.⁵⁸

Le stress est un facteur qui peut également avoir un impact négatif sur la santé bucco-dentaire. Le stress excessif peut conduire à des habitudes comme le grincement des dents (bruxisme) et la mastication d'objets, ce qui peut entraîner l'usure de l'émail dentaire et des problèmes de mâchoire. De plus, le stress peut affaiblir le système immunitaire, rendant les individus plus vulnérables aux infections bucco-dentaires.⁵⁸

Enfin, l'insuffisance de l'hygiène bucco-dentaire est un facteur majeur contribuant à de nombreux problèmes de santé bucco-dentaire. Ne pas se brosser les dents régulièrement, ne pas utiliser du fil dentaire et ne pas faire des visites régulières chez le dentiste peuvent entraîner une accumulation de plaque dentaire, des inflammations des gencives (gingivite) et des maladies parodontales plus graves (parodontite). Ces conditions peuvent causer la perte de dents, des infections, des douleurs et des problèmes de mastication.⁵⁸

En conclusion, le tabagisme, la consommation excessive de sucre, le stress et l'insuffisance de l'hygiène bucco-dentaire peuvent tous avoir un impact significatif sur la santé bucco-dentaire. Il est important de prendre des mesures préventives telles que l'arrêt du tabac, la réduction de la consommation de sucre, la gestion du stress et le maintien d'une bonne hygiène buccale pour prévenir les problèmes dentaires et optimiser la santé globale.^{58,61} (**figure 13**).

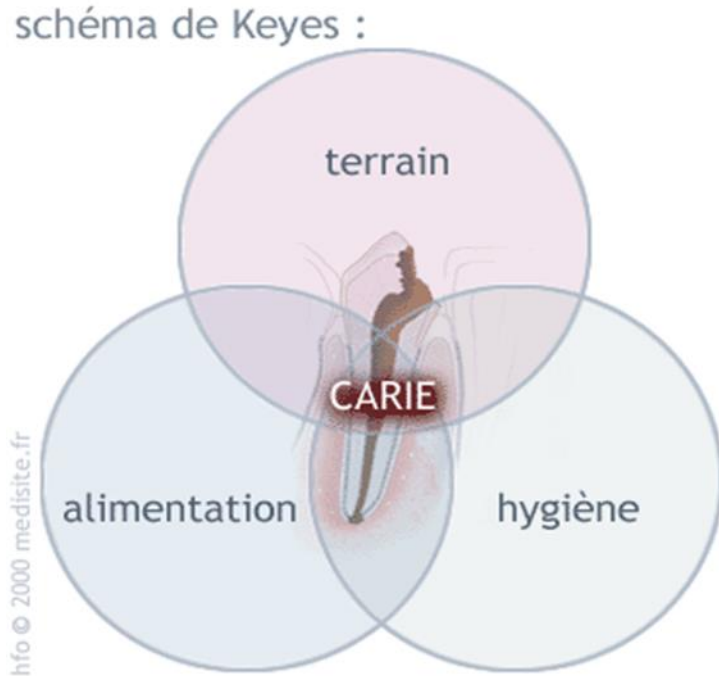


Figure 13 : schéma de Keyes.⁶²

5. Problèmes bucco-dentaires

L'environnement buccal d'aujourd'hui est dominé par des bactéries potentiellement cariogènes. Les maladies bucco-dentaires sont des problèmes de santé courants qui affectent la bouche, les dents, les gencives et les structures avoisinantes. Elles peuvent avoir des conséquences graves sur la santé générale d'une personne si elles ne sont pas traitées rapidement et efficacement. Les maladies bucco-dentaires comprennent la carie dentaire, la maladie des gencives, les infections dentaires, les abcès, les lésions de la bouche, les problèmes d'occlusion et bien d'autres encore.⁶³

Dans cette introduction, nous explorerons les différentes maladies bucco-dentaires, leurs causes, leurs symptômes et les meilleures pratiques pour les prévenir et les traiter. Voici quelques maladies très répandues, notamment en Algérie :

5.1. Carie dentaire

La carie dentaire est l'une des maladies bucco-dentaires les plus répandues dans le monde. Cette affection n'a aucune tendance à la guérison spontanée et peut être à l'origine d'infections localisées, voire généralisées. Chez l'enfant, elle peut entraîner des troubles de l'alimentation, du sommeil et du comportement.⁶⁴

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), près de 60 à 90 % des enfants d'âge scolaire et la grande majorité des adultes sont touchés par la carie dentaire dans le monde. La prévalence de la carie dentaire varie considérablement selon les pays, les groupes d'âge et d'autres facteurs.⁶⁴

5.2. Maladie parodontale

La maladie parodontale, qui comprend la gingivite et la parodontite, affecte les gencives et les tissus de soutien des dents. Selon l'OMS, la maladie parodontale touche environ 10 à 15 % de la population adulte mondiale. La prévalence de la maladie parodontale augmente avec l'âge et peut varier en fonction des habitudes d'hygiène bucco-dentaire et des facteurs génétiques.^{65,66}

5.3. Gingivite

La gingivite est une inflammation des gencives qui est généralement réversible si elle est traitée à un stade précoce. Selon certaines estimations, jusqu'à 50% de la population mondiale présente des signes de gingivite à un moment donné de sa vie.^{65,66}

5.4. Candidose buccale

La candidose buccale, également connue sous le nom de muguet, est une infection fongique qui se manifeste dans la bouche. Les taux de candidose buccale varient selon les populations étudiées, mais elle est plus fréquente chez les nourrissons, les personnes âgées et les individus ayant un système immunitaire affaibli.^{65,66}

5.5. Leucoplasie buccale

La leucoplasie buccale est une affection caractérisée par des taches blanches sur la muqueuse de la bouche. Sa prévalence varie selon les régions, mais elle est plus fréquente chez les fumeurs et les consommateurs de tabac à mâcher.^{65,66}

6. Risques pathologiques en santé général

Les pneumopathies peuvent être influencées par l'état de santé bucco-dentaire, notamment par une mauvaise hygiène ou une maladie parodontale, qui favorisent la colonisation de pathogènes respiratoires dans la région oropharyngée.⁵⁸

Des études ont établi des liens entre la maladie parodontale et l'athérosclérose, ainsi que des accidents cardiaques et cérébrovasculaires. Des bactéries orales ont été retrouvées dans la plaque d'athérome carotidienne, pouvant entraîner une réaction inflammatoire et favoriser la formation d'athérome. Cependant, bien que des modèles animaux aient montré une relation étiologique entre les bactéries orales et l'athérosclérose, les études épidémiologiques et cliniques ne permettent pas de conclure à un lien causal clair.⁵⁸

Le traitement des maladies parodontales, associé à un débridement mécanique du parodonte et à un traitement antibiotique systémique, semble avoir une incidence sur le contrôle du diabète en réduisant le taux d'hémoglobine glyquée. Cela s'expliquerait par la production de cytokines pro-inflammatoires et de facteurs de nécrose tumorale dans les maladies parodontales, qui pourraient provoquer une résistance à l'insuline. De plus, les maladies parodontales peuvent favoriser les complications du diabète.⁵⁸

Une corrélation a été trouvée entre la maladie parodontale et la naissance de bébés prématurés et de petit poids. Des bactéries parodontales circulant dans le sang pourraient agir sur l'unité fœto-placentaire et induire des complications. Des perturbations des rapports dentaires occlusaux peuvent avoir des conséquences sur l'articulation temporo-mandibulaire et l'équilibre des jeux musculaires, pouvant se propager à d'autres parties du corps, notamment la région cervicale.⁵⁸

La perte de dents et la diminution des capacités masticatoires peuvent affecter l'équilibre nutritionnel et entraîner des troubles digestifs, notamment une surcharge au niveau stomacal et des irritations œsophagiennes. Un défaut de capacité masticatoire peut modifier les choix alimentaires

vers une alimentation moins variée et moins riche en nutriments, ce qui peut entraîner un déséquilibre nutritionnel et une mauvaise absorption des nutriments.⁵⁸

La santé bucco-dentaire peut avoir un impact psychologique, notamment en termes de plaisir de manger, d'estime de soi et de relations sociales. Des dents altérées peuvent créer une image corporelle dégradée, diminuer l'estime de soi et modifier l'attitude vis-à-vis des autres.⁶⁷ Les préjugés et les représentations liés à l'apparence bucco-dentaire peuvent avoir des conséquences sur les relations sociales et professionnelles. La présence de dents altérées peut entraîner des préjugés défavorables lors d'un entretien d'embauche, notamment pour des postes en relation avec le public. La santé bucco-dentaire peut également avoir un impact sur la qualité de vie.⁵⁸

7. Emplacement du bain de bouche dans le marché

Selon une étude de marché, le secteur des bains de bouche connaît une croissance dans l'industrie des produits de santé bucco-dentaire. Les bains de bouche, également appelés rince-bouche ou solutions antiseptiques buccales, sont des produits utilisés pour rincer la bouche, réduire la plaque dentaire, prévenir les maladies des gencives, rafraîchir l'haleine et favoriser une bonne hygiène buccale.

Le marché des bains de bouche est stimulé par plusieurs facteurs. Tout d'abord, la prise de conscience croissante de l'importance de l'hygiène bucco-dentaire et de la prévention des maladies dentaires a conduit à une demande accrue de produits de santé bucco-dentaire. Les consommateurs sont de plus en plus conscients des bienfaits d'une bonne hygiène buccale et recherchent des solutions complémentaires à l'utilisation régulière de la brosse à dents et du fil dentaire.

De plus, les avancées technologiques et les innovations dans le domaine des produits de santé bucco-dentaire ont conduit au développement de bains de bouche plus efficaces, offrant des fonctionnalités telles que l'élimination des bactéries, la réduction de la plaque dentaire et la lutte contre la mauvaise haleine.

Le marché des bains de bouche est également influencé par les campagnes de sensibilisation menées par les professionnels de la santé bucco-dentaire, les dentistes et les organisations de santé. Ces campagnes mettent en avant l'importance de l'hygiène buccale et recommandent l'utilisation régulière de produits complémentaires tels que les bains de bouche.

En termes de concurrence, le marché des bains de bouche est dominé par de grandes marques internationales, mais il existe également des fabricants locaux et des marques de niche qui proposent une variété de produits. Les bains de bouche sont disponibles dans une gamme de saveurs, de formules et de concentrations pour répondre aux besoins et aux préférences des consommateurs.

L'utilisation des bains de bouche ne remplace pas une bonne hygiène bucco-dentaire quotidienne comprenant le brossage régulier des dents, l'utilisation du fil dentaire et les visites régulières chez le dentiste. Les bains de bouche sont plutôt un complément à ces pratiques pour maintenir une bouche saine.

En résumé, le marché des bains de bouche est en expansion grâce à la demande croissante pour des solutions de santé bucco-dentaire complètes. Les consommateurs sont de plus en plus soucieux de leur hygiène buccale, ce qui stimule la demande de produits tels que les bains de bouche. La concurrence est présente avec de grandes marques internationales et des fabricants locaux offrant une variété de produits sur le marché.

Partie expérimentale

Chapitre IV :

Matériel et méthodes

Les travaux expérimentaux relatifs à ce mémoire de Master ont été effectués au sein de trois laboratoires de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et la Faculté des Sciences Exactes de l'Université Frères Mentouri Constantine 1. Ces laboratoires comprennent : le Laboratoire de Biologie Moléculaire (numéro 16), le Laboratoire de Microbiologie (numéro 08) et le Laboratoire d'Obtention des Substances Thérapeutiques (LOST).

L'objectif de cette étude est de mener une investigation approfondie sur l'huile essentielle extraite de clou de girofle en tant que principe actif associé à d'autres excipients, en vue de développer un bain de bouche naturel et biologique. Afin de confirmer la qualité et l'efficacité de ce produit, les étapes suivantes ont été entreprises :

- Achat de la matière végétale.
- Extraction de de l'huile essentielle de clou de girofle.
- Conservation de l'huile essentielle de clou de girofle.
- Détermination du rendement en huile essentielle de clou de girofle.
- Caractérisation des propriétés de l'huile essentielle de clou de girofle.
- Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-MS)
- Préparation des dilutions en série de l'huile essentielle de clou de girofle.
- Étude et évaluation de l'activité antimicrobienne d'huile essentielle de clou de girofle.
- Étude statistique
- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).
- Évaluation de la toxicité de l'huile essentielle de clou de girofle par la détermination de sa dose létale (DL₅₀).
- Réalisation de la lotion pharmaceutique (bain de bouche) à base d'huile essentielle de clou de girofle.
- Contrôle physico-chimiques et pharmacologique sur le bain de bouche.

1. Achat de la matière végétal

Achat de la matière végétale a été réalisé en mars 2023 auprès d'un herboriste situé à la rue de chevalier, ancien quartier de Constantine. Un total de 500 g de clous de girofle a été acheté. Ces

clous de girofle sont d'origine indonésienne et se présentent sous forme rigide, avec une couleur marron, une odeur forte et un goût piquant.

2. Extraction de l'huile essentielle de clou de girofle

La matière végétale, à savoir les clous de girofle, a été préalablement identifiée et contrôlée conformément aux normes de la pharmacopée. À l'aide d'une balance analytique de marque «Snidjers », le poids de 500 g a été confirmé. Ensuite, les clous de girofle ont été broyés à l'aide d'un mortier en porcelaine afin d'obtenir une texture spécifique (**photo 03 et 04**) qui facilite l'extraction de l'huile essentielle par la méthode d'hydro distillation.



Photo 03 : broyage des clous de girofle à l'aide d'un mortier.



Photo 04 : texture des clous de girofle après broyage.

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée sur l'échantillon de la matière végétal (clou de girofle), par hydro distillation (entraînement à la vapeur d'eau) dans un appareil de type clevenger,⁶⁸ pendant 4 heures.

Dans un ballon de 5000 ml, relié à un réfrigérant, 500 g de clous de girofle ont été placés, auxquels 3000 ml d'eau distillée ont été ajoutés. Le mélange a été porté à ébullition en utilisant une source de chaleur, ce qui a provoqué l'explosion des cellules végétales et la libération des composés odorants (**voir photo 05**). Ensuite, les vapeurs ont été condensées dans le réfrigérant.⁶⁹ Il convient de noter qu'il est important de ne pas dépasser les limites de cet appareil lors de la méthode d'hydrodistillation, car un chauffage prolongé et intense peut entraîner la dégradation de certaines molécules aromatiques.⁷⁰ Le distillat a été collecté dans un erlenmeyer et le chauffage a été arrêté. Après avoir atteint l'équilibre thermique, le dispositif a été laissé à refroidir afin de stabiliser le mélange d'hydrolat et d'huile essentielle. La vapeur condensée obtenue se sépare en deux phases : une phase organique qui correspond à l'huile essentielle, et une phase aqueuse qui correspond à l'eau aromatique. (**Photo 06**). Ensuite, nous avons séparé l'huile de l'eau en laissant le distillat décanté, ce qui a entraîné la séparation de l'huile essentielle de clous de girofle en raison de la différence de densités. L'huile essentielle a été récupérée en utilisant une micro-pipette. Pour assurer un séchage complet, nous avons ajouté une cuillère de desséchant Na_2SO_4 ,⁷¹ puis nous avons poursuivi le processus jusqu'à obtenir une huile essentielle pure.



Photo 05 : hydro distillation à l'aide de Clevenger.

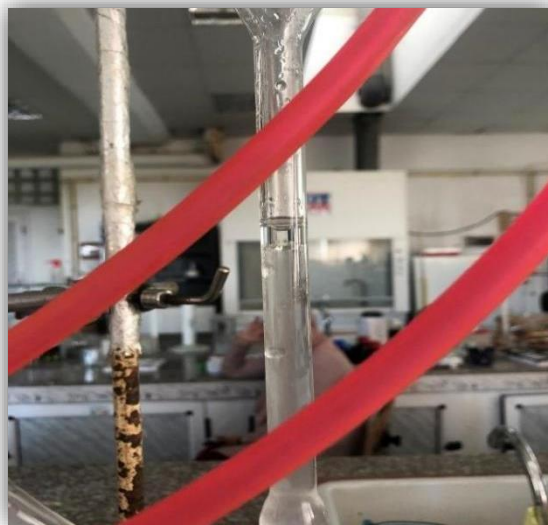


Photo 06 : deux phases obtenues du distillat.

3. Conservation de l'huile essentielle

La conservation des huiles essentielles requiert certaines précautions. Il est essentiel de les stocker dans des flacons ambrés hermétiquement fermés pour éviter tout contact avec la lumière et l'air. Après chaque utilisation, il est recommandé de bien refermer les flacons, car les arômes des huiles essentielles sont volatils. Il est préférable de les conserver en position verticale plutôt qu'horizontale.

La température de conservation idéale pour les huiles essentielles est généralement comprise entre 4°C et 5°C.⁷¹ Dans ces conditions, les huiles essentielles peuvent être conservées pendant plusieurs années.

Il est important de noter qu'il est primordial de tenir les huiles essentielles hors de portée des enfants.

4. Détermination du rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle (R%) a été calculé en utilisant la formule suivante, conformément à la norme AFNOR (1986) :

$$R\% = (Mh / Ms) * 100$$

Où **Mh** représente la masse des huiles essentielles obtenues après l'extraction et **Ms** représente la masse de la matière végétale sèche utilisée.

5. Caractérisation des propriétés de l'huile essentielle de clou de girofle

5.1. Caractéristiques physico-chimiques

Pour caractériser notre huile essentielle de clous de girofle, nous avons mesuré le pH (potentiel d'hydrogène) à l'aide d'un pH-mètre de la marque « HAANNA », pour évaluer son niveau d'acidité ou d'alcalinité, ensuite la densité a été déterminée en pesant un tube eppendorf vide, puis en le remplissant avec l'huile essentielle. La différence entre la pesée du tube vide et celle du tube rempli a été utilisée pour calculer la densité de l'huile essentielle. La densité de l'huile essentielle doit normalement être inférieure à 1, et elle a été comparée à la densité de l'eau (égale à 1), puis nous avons évalué l'indice de réfraction à l'aide d'un réfractomètre de la marque "EUROMEX HOLLAND" (**photo 07**) selon la méthode de réfractométrie. Cela permet d'évaluer la manière dont la lumière se déplace à travers l'huile essentielle et fournit des informations sur sa composition chimique.



Photo 07 : réfractomètre utilisé pour la mesure de l'indice de réfraction.

5.2. Caractéristiques organoleptiques

L'huile essentielle de clou de girofle a été caractérisée par ses propriétés organoleptiques, notamment sa couleur, son goût, son aspect et son odeur.

6. Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-MS)

L'analyse a été réalisée sur un chromatographe "Hewlett Packard Agilent 6890" plus équipé d'un spectromètre de masse Hewlett Packard Agilent 5973. Les conditions opératoires suivantes ont été utilisées :

➤ **Injecteur :**

Température : 250°C

Mode d'injection : Split 1 ; 80

Volume injecté : 0.2 µl

➤ **Colonne :**

Type : HP-5MS

Dimensions : longueur de 30 m, diamètre interne de 0.25 mm, épaisseur de film de 0.25 µm

Phase stationnaire : 5% phényle, 95% diméthylpolysiloxane

➤ **Température du four :**

60°C pendant 8 min

Augmentation de 2°C/min jusqu'à 250°C

Isotherme à 250°C pendant 10 min

Durée totale de l'analyse : 113 min

➤ **Gaz vecteur :**

Hélium pur 6.0

Débit : 0.6 ml/min

➤ **Détecteur de masse :**

Mode d'analyse : SIM (Single Ion Monitoring)

Délai du solvant : 3.5 min

Température de l'interface : 270°C

Type d'ionisation : Impact électronique

Intensité du filament : 70 eV

Type de l'analyseur de masse : Quadripôles

Température de la source : 230°C

Ces conditions opératoires ont été spécifiées pour l'analyse chromatographique, visant à séparer et détecter les composés chimiques présents dans l'huile essentielle de clou de girofle. Le choix de la colonne, la température du four et les paramètres de détection ont été optimisés pour assurer une séparation adéquate des composés d'intérêt et une détection précise. Le mode SIM a été sélectionné pour une détection sélective des ions cibles, améliorant ainsi la sensibilité de la méthode.

7. Préparation des dilutions en série de l'huile essentielle

La préparation des dilutions en série de l'huile essentielle de clou de girofle a été réalisée de la manière suivante :

1. Dans un premier tube à essai stérile, 1 ml d'huile essentielle de clou de girofle pure a été prélevé à l'aide d'une micropipette, c'est la première dilution de 100 %.
2. Pour obtenir une dilution de 75%, 750 µl de l'huile essentielle de clou de girofle pure ont été dilués dans 250 µl de Tween 80. Cette solution a été soigneusement mélangée à l'aide d'un vortex de marque « *Fisher Scientific* » pour assurer une homogénéité complète.

3. À partir de la solution diluée à 75%, 500 µl ont été prélevés à l'aide d'une micropipette et transférés dans un deuxième tube à essai stérile contenant 500 µl de Tween 80. Cela a donné une dilution de 50%. Encore une fois, la solution a été bien mélangée pour assurer une homogénéité complète.
4. Cette procédure a été répétée pour obtenir les différentes dilutions suivantes : 25%, 1/2, 1/4, 1/8 et 1/12. À chaque étape, la quantité appropriée de solution précédente a été prélevée et diluée avec la quantité appropriée de Tween 80 et soigneusement mélangée pour garantir une homogénéité accomplie. (**photo 08**).

Il est important de noter que le mélange des solutions a été effectué avec soin afin d'obtenir une homogénéité entière.



Photo 08 : série de dilution de l'huile essentielle de clou de girofle dans le Tween 80.

Ces dilutions en série de l'huile essentielle de clou de girofle (**figure 14**) ont été préparées dans le but de réaliser une étude sur l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle. Les différentes dilutions permettent d'évaluer l'efficacité de l'huile essentielle à différentes concentrations contre les bactéries, les levures, les champignons cibles. Cette méthode de dilution en série est couramment utilisée dans les études microbiologiques pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) par **Remmal et al., (1993)** et **Satrani et al., (2001)**, ou la concentration minimale bactéricide (CMB) et fongicide (CMF) d'une substance. Ainsi, en utilisant ces dilutions, il sera possible d'évaluer l'effet de l'huile essentielle de clou de girofle sur la croissance et la survie des bactéries testées.⁷⁴

D1	C100%	1 ml de l'HE
D2	C75%	750 µl d'HE + 250 µl de tween 80.
D3	C50%	500 µl d'HE + 500 µl de tween 80.
D4	C25%	
D5	C1/2	
D6	C1/4	
D7	C1/8	
D8	C1/12	

Les dilutions sont réalisées à l'aide de Tween 80.

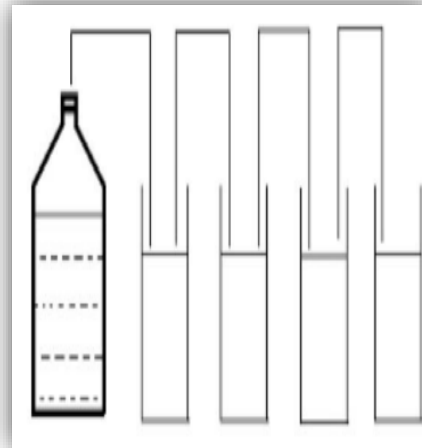


Figure 14 : différentes concentrations des différentes dilutions.

8. Étude et évaluation de l'activité antimicrobienne d'huile essentielle de clou de girofle

Six souches proposées et choisies (**photo 09**) de référence selon le référentiel international, l'American Type Culture Collection (ATCC), le choix des souches microbiennes au cours de cette étude a été basé sur une recherche bibliographique de leur fréquence élevée à provoquer des problèmes bucco-dentaires chez l'Homme. Elles sont entretenues par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance. Elles ont été récupérées du site de production de SAIDAL. Elles sont couramment utilisées pour tester la fertilité des milieux de culture préparés, afin de démontrer l'efficacité des milieux de culture utilisés pour le contrôle microbiologique des produits pharmaceutiques fabriqués et confirmer leur conformité ou non-conformité.



Photo 09 : souches bactériennes et fongiques utilisées dans cette étude.

L'activité antimicrobienne a été évaluée selon la technique de diffusion des disques sur gélose et réalisée selon la méthode décrite par Murray et al. (1999),⁷⁵ qui a été choisie pour sa simplicité et fiabilité à fin d'observer le pouvoir inhibiteur de notre échantillon d'huile essentielle de clou de girofle à différentes concentrations sur les bactéries, la levure et le champignon à tester. La réponse des souches face à l'exposition à l'huile essentielle de clous de girofle constitue un indicateur de l'activité sur tout le groupe d'appartenance de la souche, c'est la raison pour laquelle nous avons testé plusieurs souches représentatives de manière nous permettant d'obtenir des indications sur tous les groupes d'appartenance de ces souches.

8.1. Mise en évidence de l'activité antibactérienne

Pour chaque bactérie test, un inoculum est réalisé à partir d'une culture de 24 heures, mis en suspension dans de l'eau physiologique stérile de manière à obtenir une densité optique comprise entre 0.1 et 0.2, pour une longueur d'onde de 620 nm pour les bactéries et 600 nm pour les souches, ce qui correspond approximativement à une concentration de 10^6 CFU/ml.

Les échantillons d'huile essentielle de clou de girofle sont filtrés dans des conditions aseptiques à travers une membrane de 0.22 μ m.

Des disques de papier filtre stériles de 6 mm de diamètre (Whatman N°3, Royaume-Uni) sont imprégnés avec 20 μ l de l'huile essentielle de clou de girofle à différentes concentrations (**100%, 75%, 50 %, 25%...**), tandis que les disques témoins reçoivent juste 20 μ l de tween 80 pure. Après séchage à l'air chaud, les disques sont déposés sur les boîtes de Pétri contenant du milieu Mueller-

Hinton et Sabouraud,²⁸ préalablement ensemencé avec les souches tests à l'aide d'un écouvillon qui sera chargé à nouveau après chaque ensemencement de la même souche. Avant l'incubation à la température optimale de croissance de chaque souche test, les boîtes sont laissées 2 heures à 4°C. Les résultats sont lus après 24 heures d'incubation. Toute zone d'inhibition de croissance autour des disques, même de faible diamètre, est considéré comme un résultat positif et mesuré à l'aide d'un pied à coulisse.⁶⁹

8.2. Mise en évidence de l'activité antifongique

Pour le cas du champignon *Aspergillus brasiliensis*, nous avons utilisé les cellules de Malassez pour la détermination de la charge microbienne.

Tout d'abord, nous avons ajouté du Tween 80 à la culture de champignon. Ensuite, nous avons délicatement gratté les colonies à l'aide d'un écouvillon stérile devant un bec Bunsen, afin d'obtenir une suspension (Tween 80 + champignon). Cette suspension a été prélevée à l'aide d'une seringue stérile et déposée dans un tube stérile. Cette solution est considérée comme la solution mère. Nous avons ensuite homogénéisé le mélange pendant 30 minutes à l'aide d'un vortex (**voir photo 10**). Ensuite, nous avons prélevé 1 ml de la solution mère et l'avons ajouté à 9 ml d'eau physiologique pour obtenir une dilution de 10^{-1} . Ensuite, nous avons prélevé 1 ml de la dilution précédente et l'avons ajouté à 9 ml d'eau physiologique pour obtenir une deuxième dilution de 10^{-2} . Enfin, nous avons prélevé 1 ml du tube précédent et l'avons ajouté à 9 ml d'eau physiologique pour obtenir une troisième dilution de 10^{-3} (**photo 11**). Après chaque dépôt, il était important de bien homogénéiser la solution.⁷⁶ Par la suite, nous avons pris trois cellules de Malassez, correspondant à chaque dilution, à l'aide d'une pipette Pasteur et prélevé de l'eau physiologique stérile. Nous avons déposé quelques gouttes de cette solution sur une lame, puis avons déposé délicatement la lamelle en évitant les bulles d'air. Nous avons effectué des mouvements aléatoires pour permettre la diffusion de la suspension par capillarité (**photo 12**). Ensuite, nous avons observé les cellules de Malassez sous un microscope (grossissement $\times 40$) pour compter les spores présentes dans chaque carré. Une fois le comptage des spores effectué, les données ont été utilisées pour évaluer l'activité antifongique de l'huile essentielle de clou de girofle à différentes concentrations. Les résultats ont été analysés en fonction de la réduction du nombre de spores par rapport au témoin (disque contenant du tampon sans huile essentielle).

Les disques sont imbibés avec la dilution choisie, ensuite déposés dans des boîtes de pétri contenant la gélose Sabouraud, puis incubés pendant 48-72 heures à 30 °C. Dans ce cas aussi toute zone d'inhibition de croissance autour des disques, même de faible diamètre, est considéré comme un résultat positif et sera mesurés à l'aide d'un pied à coulisse.



Photo 10 : préparation du champignon avec Tween 80.



Photo 11 : différentes dilutions de la souche.

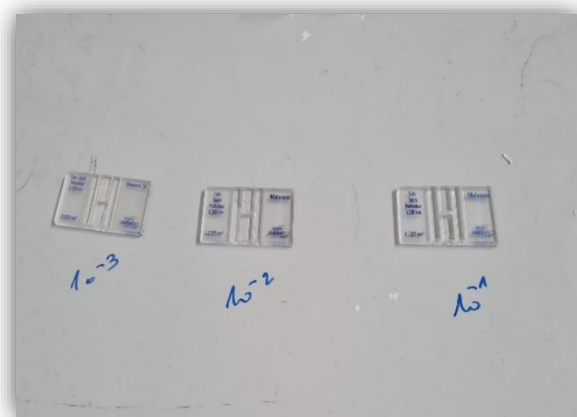


Photo 12 : cellules de Malassez des trois dilutions.

Ci-dessous un schéma récapitulatif représentant les étapes suivies lors de la technique de diffusion sur gélose (**figure 15**) :

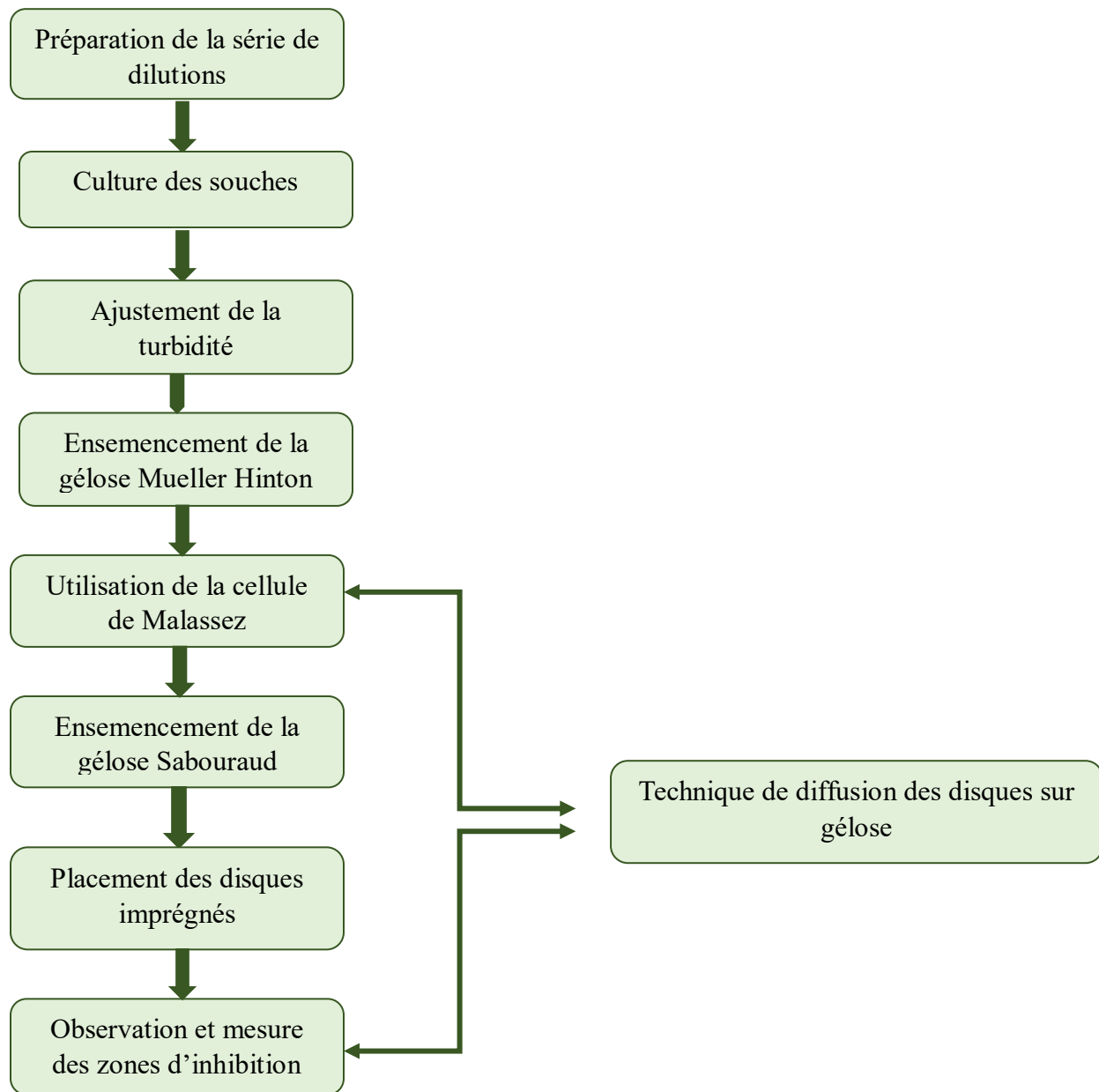


Figure 15 : étapes suivies lors de la technique de diffusion des disques sur gélose.

9. Étude statistique

Une analyse de variance (ANOVA) est effectuée par le logiciel R., cette analyse a été réalisée en utilisant le modèle linéaire général (lm). Pour la variable réponse "zones", nous avons effectuées une ANOVA à trois facteurs : "concentrations", "souches" et leur interaction "concentrations :

souches". L'objectif est d'évaluer si ces facteurs ont un effet significatif sur la variable réponse Zone (test de Tukey et test de Student- Newman-Keuls SNK à $P < 0,05$).⁷⁷

Les histogrammes ont été réalisés à l'aide de Microsoft Excel 2016 représentant les diamètres des zones d'inhibitions en fonction des concentrations de l'huile essentielle de clou de girofle.

10. Détermination de la concentration minimale inhibitrice et fongicide (CMI) (CMF)

Cette technique consiste à inoculer, par un inoculum standardisé, une collection de concentration décroissante en huile essentielle de clou de girofle. Après incubation, l'observation de l'échantillonnage permet d'accéder à la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus faible concentration en huile essentielle de clou de girofle capable d'inhiber la croissance bactérienne.⁷⁸

11. Évaluation de la toxicité de l'huile essentielle de clou de girofle par la détermination de sa dose létale (DL₅₀)

Pour évaluer la toxicité de l'huile essentielle de clou de girofle, une étude a été menée sur douze souris sélectionnées au hasard, pesant entre 28 et 30g, âgées de 3 semaines, nullipares, non gravides et en bonne santé. Chaque souris a été marquée pour permettre une identification individuelle.

L'étude a été réalisée avec trois groupes de souris, chacun composé de quatre individus, logés dans des cages distinctes **le tableau 01** ci-dessous récapitule le regroupement des souris :

Tableau 01 : regroupement des souris dans les lots.

Lot 01	Lot 02	Lot 03
Groupe témoin	Groupe cobaye A (1000 mg/kg)	Groupe cobaye B (2000 mg/kg)

Les trois groupes de souris ont été maintenus dans leurs cages pendant 5 jours pour s'acclimater aux conditions du laboratoire. La température était maintenue à 22°C ($\pm 3^\circ\text{C}$) avec une humidité relative moyenne ne dépassant pas 50%. Un cycle d'éclairage artificiel de 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité a été suivi.

Les souris ont été nourries avec l'alimentation classique du laboratoire et avaient accès à l'eau potable en quantité suffisante. Après les 5 jours d'acclimatation, avant l'administration des différentes doses d'huile essentielle de clou de girofle, les procédures suivantes ont été suivies :

Les trois groupes de souris ont été maintenus à jeun pendant 3 à 4 heures avant administration, avec seulement de l'eau disponible, et leur poids a été mesuré avant et après le jeun. Dans la cage 01, les souris témoins ont reçu un gavage avec de l'eau physiologique à l'aide d'une sonde de gavage. Dans les cages 02 et 03, les souris ont reçu par gavage, à l'aide d'une sonde de gavage, une dose d'huile essentielle de clou de girofle spécifique à leur poids. Ensuite, elles ont été privées d'alimentation pendant 1 à 2 heures juste après administration. Les doses précises administrées étaient de 1000 mg/kg et 2000 mg/kg en fonction du poids des souris d'essais.

Les souris ont été suivies pendant 10 jours pour observer leurs comportements et les symptômes éventuels conformément au protocole de l'OCDE.⁷⁹

12. Réalisation de la lotion pharmaceutique (bain de bouche) à base d'huile essentielle de clou de girofle (Brevet)

La méthodologie adoptée pour élaboration du bain de bouche est basée essentiellement sur une méthodologie expérimentale, faisant varier les marges tolérées de la concentration de l'huile essentielle extraite de clou de girofle pour atteindre un produit fini conforme aux normes de la pharmacopée se rapprochant le mieux des caractéristiques générales : pH, aspect et densité de la spécialité de référence. Pour cela, nous avons réalisé plusieurs essais tout en contrôlant l'évolution des paramètres pharmacotechniques (aspect, densité et pH) en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle de clou de girofle qui constituent le principal objectif expérimental.

Des essais à l'échelle laboratoire (essais de 50 ml et 100 ml) ont été effectués pour valider la formule proposée.

Ce procédé de fabrication a été proposé d'après les études établies sur la base des propriétés de l'huile essentielle de clou de girofle (Aspect, couleur, odeur, pH, et densité).

13. Contrôle physico-chimiques et pharmacologique sur le bain de bouche

Les contrôles physico-chimiques et pharmacologiques réalisés sont mentionnés dans le **tableau 02** suivant :

Tableau 02 : contrôles effectués sur le bain de bouche et ses méthodes.

Test	Méthode
Densité	Densimétrie
pH	pH mètres

Chapitre V : **Résultats et discussion**

1. Rendement de l'extraction

Le **tableau 03** ci-dessous présente le rendement de l'huile essentielle extraite par hydrodistillation à partir des grains de clous de girofle, calculé selon la formule fournie par l'AFNOR dans la partie "Matériel et Méthodes" :

Tableau 03 : rendement de l'huile essentielle extraite des clous de girofle.


Clou de girofle (<i>Syzygium aromaticum</i>) 		
Poids de la plante sèche	Masse d'HE récupérée en (g)	Rendement en HE %
500g	5.9 g	1.18%

Tableau 04 : comparaison entre le rendement d'huile essentielle obtenu et les normes AFNOR.

	Huile essentielle étudiée	Norme AFNOR	
		Minimum	maximum
Rendement (%)	1.18	5	8

Ce faible rendement qui est de 1,18 est vraisemblablement dû à une perte d'huile dans la phase aqueuse du distillat et pour la simplicité de notre dispositif d'hydro distillation, en termes de quantité, malgré que ce pourcentage semble inférieur par rapport aux normes AFNOR (**tableau 04**), ce rendement reste dans la pratique satisfaisant pour mener bien à une telle étude.

Plusieurs facteurs peuvent influencer le rendement de l'extraction, notamment la méthode d'extraction utilisée, les parties végétales utilisées, les produits et réactifs employés pendant l'extraction, l'environnement, stockage de la matière végétale, le génotype de la plante, son origine géographique, le degré et les conditions de séchage, ainsi que la présence de parasites, de virus et de mauvaises herbes, la période de récolte, les facteurs climatiques,⁸⁰ la maturité des stades de la floraison. En générale dans les conditions normales, les jeunes arbres ont de petites vacuoles

densément, tandis que les arbres matures ont une grande vacuole avec une teneur en eau plus élevée, la quantité élevée d'eau dans les vacuoles des arbres matures permet de diminuer le rendement de l'huile essentielle de clou de girofle.⁸¹

D'après **Lagunez Rivera., (2006),⁸²** les gouttelettes d'huile essentielle qui restent dans l'hydrolysate peuvent avoir plusieurs origines, une fraction de l'huile distillée est dissoute dans l'eau et une autre est émulsionnée dans l'eau. La séparation de l'huile essentielle après condensation est en fait l'étape déterminante pour recueillir le maximum d'huile essentielle.

2. Analyses physico-chimiques

2.1. Étude des propriétés organoleptiques

Pour évaluer les propriétés organoleptiques de notre huile essentielle de clou de girofle, nous avons utilisé deux des cinq sens : la vue pour observer l'aspect et la couleur, et l'odorat pour détecter son parfum épicé. (**Voir photo 13**). Les résultats de cette évaluation, comparant les caractéristiques de notre huile essentielle extraite des boutons de *Syzygium aromaticum* aux normes établies par l'AFNOR, sont présentés dans **le tableau 05** ci-dessous :

Tableau 05 : Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*).

	Aspect	Couleur	Odeur
Norme AFNOR	Liquide mobile Limpide parfois Légèrement visqueux	Jaune très claire	Épicée (Caractéristique de L'eugénol)
Huile essentielle étudiée	Liquide et mobile Limpide Légèrement visqueux	Jaune très claire	Épicée



Photo 13 : aspect de l'huile essentielle de clou de girofle.

Selon les résultats obtenus, il est remarqué que l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* obtenue par hydrodistillation présente plusieurs caractéristiques, à savoir l'aspect, la couleur et l'odeur, qui sont identiques à celles décrites par les normes de l'AFNOR.

2.2. Propriétés physiques

2.2.1. Densité

La densité de l'huile essentielle de clou de girofle obtenue est de 0.98 (**Tableau 04**). Cette valeur peut être justifiée par deux arguments distincts :

Premièrement, la faible solubilité de l'huile essentielle de clou de girofle dans l'eau, ce qui entraîne la présence de phases distinctes.

Deuxièmement, les densités de l'eau et de l'huile essentielle sont très proches, étant toutes deux proches de 1. Par conséquent, il n'y a pas de phase distincte qui se forme et ne surnage.

Tableau 06 : Résultats de la densité de l'huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*).

	Huile essentielle étudiée	Norme AFNOR	
		Minimum	Maximum
La densité	0.98	1.42	1.054

2.2.2. Indice de réfraction

Le résultat de l'indice de réfraction, considéré comme un critère de pureté des huiles essentielles et de divers composés liquides, est présenté dans le **Tableau 07**. Les valeurs obtenues sont conformes aux normes généralement utilisées pour l'identification selon l'AFNOR.

Tableau 07 : résultats de l'indice de réfraction de l'huile essentielle de clou de girofle.

	Huile essentielle étudiée	Norme AFNOR	
		Minimum	Maximum
Indice de réfraction	1.4000	1.5280	1.5346

2.3. Propriétés chimiques

➤ Potentiel hydrogène (pH)

Les résultats consignés dans le **tableau 08** indiquent que notre pH est de 6.4, ce qui correspond à un pH légèrement acide. Cette acidité est attribuable à la composition chimique des huiles essentielles de *Syzygium aromaticum*, qui sont connues pour être des donneurs de H⁺.

Tableau 08 : résultats du pH de l'huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*).

	Huile essentielle étudiée	Norme AFNOR	
		Minimum	Maximum
pH	6.4	5.5	7

Le potentiel d'hydrogène (pH) a un rôle capital lors des réactions. Lorsque les propriétés biochimiques stabilisantes de l'huile essentielle sont affectées, l'activité antibactérienne et antifongique est automatiquement affectée à son tour.

3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CG/MS

La composition de l'huile essentielle de clou de girofle révélée par la CG-MS est présentée dans le **tableau 09**, incluant le temps de rétention, le pourcentage de composition et l'identification dans la bibliothèque de chaque composant. Un total de 14 constituants ont été identifiés à partir de l'analyse GC-MS. Voici les composants identifiés et leurs caractéristiques :

- **Eugénol (67,1022 %)** avec un temps de rétention de 33,3860 minutes. Il s'agit d'un composé bioactif et le principal constituant responsable des propriétés pharmacologiques de l'huile essentielle de clou de girofle. L'eugénol possède des effets antibactériens, antifongiques, antioxydants et analgésiques. Son identification dans la bibliothèque est 64452.
- **Trans-Caryophyllène (23,0672 %)** avec un temps de rétention de 34,9120 minutes. Également connu sous le nom de l-Caryophyllène, il est considéré comme un composant clé du clou de girofle. Son identification dans la bibliothèque est 121314.
- **Acetyeugenol (3,5904 %)** avec un temps de rétention de 42,2107 minutes. C'est un dérivé de l'eugénol présent dans le clou de girofle. Son identification dans la bibliothèque est 123678.
- **α -Caryophyllène (2,9272 %)** avec un temps de rétention de 36,6438 minutes. C'est un autre isomère du caryophyllène présent dans le clou de girofle. Son identification dans la bibliothèque est 121259.
- **E, E- α -Farnesene (0,6218 %)** avec un temps de rétention de 40,4903 minutes. Son identification dans la bibliothèque est 121802.
- **α -Cubebene (0,5962 %)** avec un temps de rétention de 31,6428 minutes. Également connu sous le nom de 1H-Cyclopenta[1,3]cyclopropa[1,2]benzene, 3a,3b,4,5,6,7-hexahydro-3,7-diméthyl-4-(1-méthyléthyl)-, c'est un autre composé présent dans le clou de girofle. Son identification dans la bibliothèque est 121692.
- **Naphthalène, 1,2,3,5,6,8 a-hexahydro-4,7-diméthyl (0,4792 %)** avec un temps de rétention de 40,9476 minutes. Son identification dans la bibliothèque est 121461.
- **Benzoic acid, 2-hydroxy-, methyl ester (0,4539 %)** avec un temps de rétention de 20,2290 minutes. C'est un composé couramment connu sous le nom de Methyl salicylate, utilisé dans divers produits. Son identification dans la bibliothèque est 48592.

- **Germacrene D (0,3952 %)** avec un temps de rétention de 38,2727 minutes. Également connu sous le nom de (-)-Germacrene D, c'est un composé qui contribue à l'arôme caractéristique du clou de girofle. Son identification dans la bibliothèque est 121721.
- **Hexadecenoic acid methyl ester (0,2461 %)** avec un temps de rétention de 70,5765 minutes. Son identification dans la bibliothèque est 211115.
- **α -Copaene (0,1778 %)** avec un temps de rétention de 30,0768 minutes. Également appelé Copaene, il appartient à la famille des tricyclo[4.4.0.0(2,7)]dec-3-ene. Son identification dans la bibliothèque est 121674.
- **Caryophyllene oxide (0,1739 %)** avec un temps de rétention de 44,0739 minutes. Son identification dans la bibliothèque est 145059.
- **Di-Limonene (0,1030 %)** avec un temps de rétention de 9,1067 minutes. Cette substance est également connue sous d'autres noms tels que Cyclohexene, 1-méthyl-4-(1-méthyléthényl)- et 1-P-MENTHA-1,8-DIENE. Son identification dans la bibliothèque est 31986.
- **2-Heptanone (0,0659 %)** avec un temps de rétention de 3,8313 minutes. L'identification est basée sur une correspondance avec la bibliothèque et l'identification associée est 15235.

La **figure 16** montre le chromatogramme typique de l'analyse GC-MS des composés de l'huile essentielle de clou de girofle. Il a été observé que les 14 pics dans l'huile de girofle ont été clairement séparés et mesurés par GC-MS et sont présentés sous formes camembert pour plus d'organisation (**figure 2**).

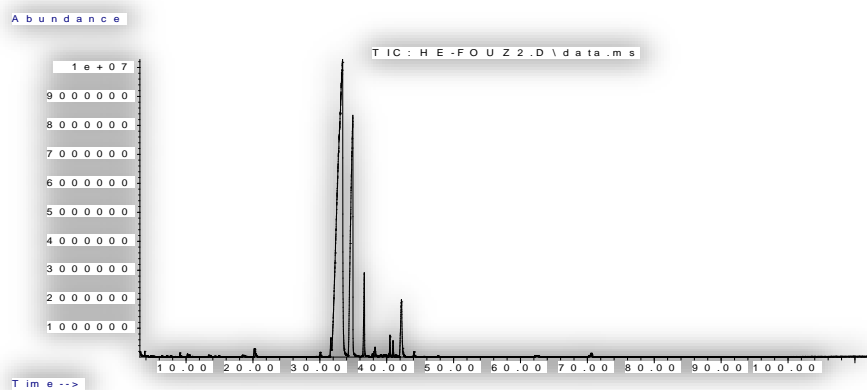


Figure 16 : chromatogramme typique de l'analyse en phase gazeuse de l'huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*).

Tableau 09 : composition de l'huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*).

N°	Constituants	RT^a (min)	Pourcentage (%)	ID dans bibliothèque
1	2-Heptanone	3.8313	0.0659	15235
2	dl-Limonene	9.1067	0.1030	31986
3	Methyl salicylate	20.2290	0.4539	48592
4	α -Copaene	30.0768	0.1778	121674
5	α -Cubebene	31.6428	0.5962	121692
6	Eugénol	33.3860	67.1022	64452
7	Trans-Caryophyllene	34.9120	23.0672	121314
8	α -Caryophyllene	36.6438	2.9272	121259
9	Germacrene D	38.2727	0.3952	121721
10	E,E- α -Farnesene	40.4903	0.6218	121802
	Naphthalene, 1,2,3,5,6,8			
11	a-hexahydro- 4,7-dimethyl- 1-(1-methylethyl)-, (1S-cis)-	40.9476	0.4792	121461
12	Acetylugenol	42.2107	3.5904	123678
13	Caryophyllene oxide	44.0739	0.1739	145059
14	Hexadecenoic acide methyl ester	70.5765	0.2461	211115

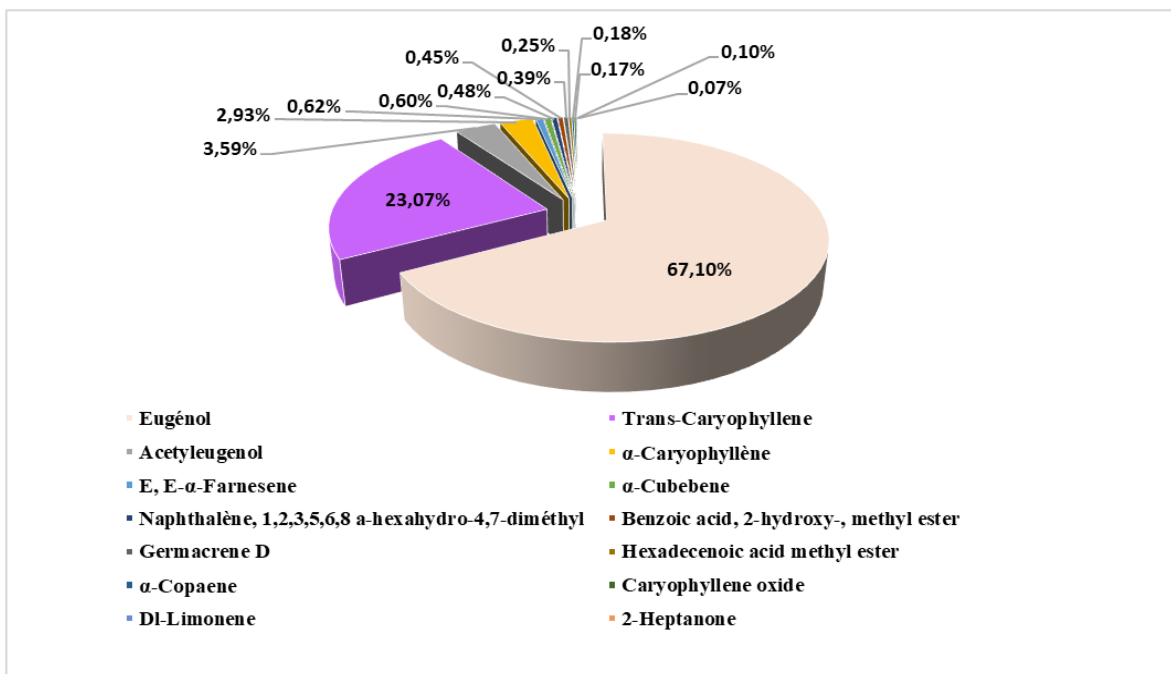


Figure 17 : composition en pourcentage des composés de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*.

L'analyse GC-MS de notre huile essentielle de clou de girofle a révélé la présence de 14 composants au total, dont 4 sont dits majeurs : l'eugénol (67,10 %), le trans-caryophyllène (23,0672 %), l'acetyluégenol (3,5904 %) et l' α -caryophyllène (2,9272 %). En comparant nos résultats avec ceux d'Abdulaziz Khaleef Alanazi (2022), qui a détecté 16 composés au total, dont les principaux étaient l'eugénol (72,54 %), le caryophyllène (5,16 %) et l' α -caryophyllène (1,55 %), nous constatons une grande similitude entre nos résultats.

Selon **Amelia et al., (2017)**, qui ont détecté 44 composants au total, il est clair que la composition des huiles essentielles peut varier en fonction de l'origine des clous de girofle.

De même, **Faisal Nur Alfikri et al., (2020)** ont identifié 15 composants au total, ce qui est presque similaire à notre nombre de composants détectés par GC-MS.

En ce qui concerne les pourcentages des principes actifs, notre huile essentielle présente un pourcentage d'eugénol de 67,1022 %. Ce pourcentage est inférieur à celui des clous de girofle de Java (55,606 %) et de Manado (74,647 %) selon les résultats rapportés par B. Amelia et al. (2017). Cependant, Faisal Nur Alfikri et al. (2020) indiquent que la concentration d'eugénol est de 77,61 %, ce qui est supérieur à notre résultat. Il est donc évident que les

pourcentages des composants actifs peuvent varier en fonction de l'origine géographique des clous de girofle.

Concernant le pourcentage de caryophyllène, notre huile essentielle de clou de girofle présente un pourcentage de 23,06 % selon la GC-MS. Ce chiffre diffère des pourcentages de 14,846 % (Java) et 12,799 % (Manado) rapportés par **Amelia et al., (2017)**. **Faisal Nur Alfikri et al., (2020)** rapportent un pourcentage de caryophyllène de 3,21 %. Ces variations de pourcentages démontrent les différences significatives entre les huiles essentielles provenant de différentes origines.

De même, **Barakat (2014)** a rapporté que les principaux composés de l'huile essentielle de clou de girofle étaient l'eugénol (80,19 %), l'acétate d'eugényle (7,91 %) et le caryophyllène (3,79 %).

En résumé, nos résultats diffèrent de ceux des autres articles en termes de nombre total de composants, de composition de l'huile essentielle et de pourcentages. Ces différences peuvent être attribuées à divers facteurs tels que les appareils GC-MS utilisés, la saison de récolte, l'origine géographique des clous de girofle, la technique d'extraction, la granulométrie des clous de girofle broyés, les parties végétales spécifiques utilisées dans les échantillons, ainsi que les conditions de récolte, de séchage et d'extraction. D'autres facteurs tels que l'environnement, le génotype de la plante et son origine géographique peuvent également influencer la composition chimique des huiles essentielles.

4. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle du clou de girofle

4.1. Lecture de la concentration de suspensions microbiennes préparées

Les résultats obtenus après la lecture de la densité optique de la suspension microbienne de chaque souche testée par spectrophotométrie sont représentés dans le **Tableau 10**. Les charges microbiennes de toutes les suspensions sont conformes aux normes du NCCLS (*anciennement Clinical and Laboratory Institutes*) pour les souches bactériennes et la levure *Candida albicans*.

La charge microbienne d'*Aspergillus brasiliensis*, a été évaluée après le dénombrement de l'inoculum à l'aide des cellules de Malassez et le calcul de la moyenne, est de $3,9 \times 10^6$ UFC/ml. Cette estimation correspond à la suspension diluée 10^{-1} , ce qui est relativement supérieur à la norme du NCCLS qui est estimée entre 4 et 5×10^4 UFC/ml.

Tableau 10 : résultats de la densité optique et de la charge microbienne des souches microbiennes testées.

Les souches microbiennes	Longueur d'onde utilisée (nm)	Densité optique (DO)	Concentration des suspensions microbiennes
<i>Escherichia coli</i>	620	0,167	10⁷ UFC/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>		0,132	
<i>Bacillus subtilis</i>		0,153	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		0,106	
<i>Candida albicans</i>	600	0,11	10⁸ UFC/ml

4.2. Antibio-aromatogramme

4.2.1. Évaluation qualitative

L'activité antimicrobienne est examinée par la méthode de diffusion des disques sur gélose solide Muller Hinton et sabouraud, qui permet l'évaluation et la mesure d'efficacité de l'huile essentielle de clou de girofle à inhiber la croissance microbienne in vitro. Après l'incubation des boîtes de Petri pendant 24 h à 72h selon la souche microbienne cible, nous avons obtenus les résultats ci-dessous (**photos de 14 à 19**)

Bactéries Gram -

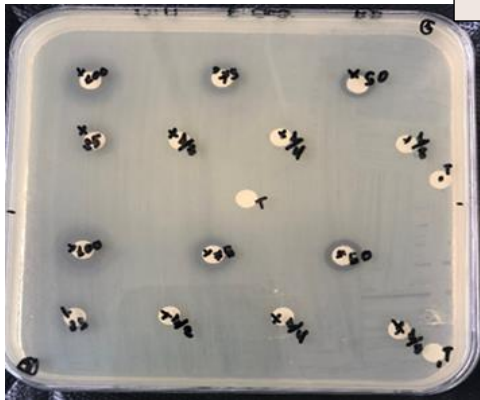


Photo 14 : *Escherichia coli* ATCC 8739.

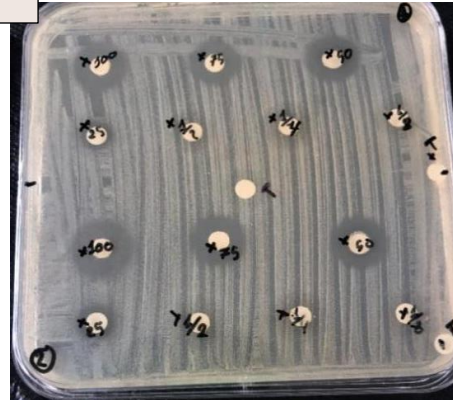


Photo 15 : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

Bactéries Gram +

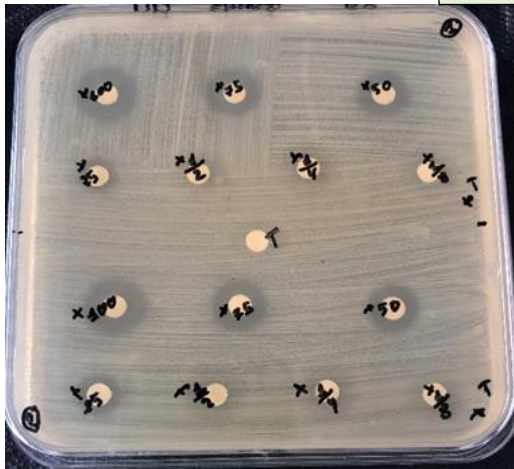


Photo 16 : *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

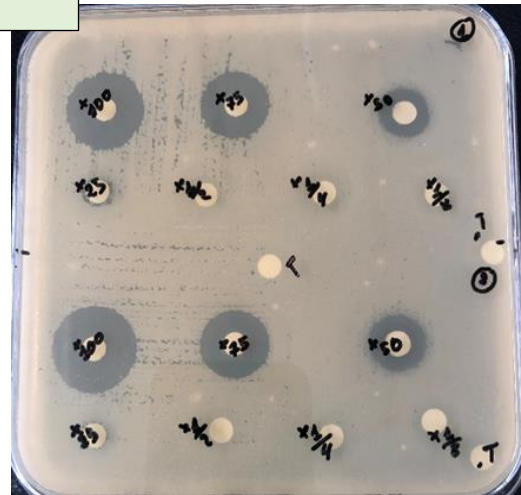


Photo 17 : *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

Souches fongiques



Photo 18 : *Candida albicans* ATCC 10 23.

Photo 19 : *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404.

4.2.1.1. Étude statistique

Nous avons réalisé une ANOVA à fin d'estimer les moyennes des zones d'inhibitions et les écarts types pour pouvoir évaluer la sensibilité des souches testées, et la CMI de notre huile vis à vis chaque souche testée, puis les résultats obtenus aussi nous a permis de traduire en histogrammes.

L'analyse de variance (ANOVA) que nous avons réalisée en utilisant le modèle linéaire général (lm) indique les résultats suivants :

Pour la variable réponse "zones", nous avons effectué une ANOVA à trois facteurs : "concentrations", "souches" et leur interaction "concentrations : souches". L'objectif est d'évaluer si ces facteurs ont un effet significatif sur la variable réponse zone.

L'ANOVA fournit une table de résultats (Type II tests) qui résume les sources de variation, les sommes des carrés (Sum Sq), les degrés de liberté (Df), les valeurs F (F value) et les valeurs de p (Pr (>F)) associées à chaque facteur.

Dans les résultats, vous pouvez observer ce qui suit :

- a. **"concentrations"** : Ce facteur présente une somme des carrés de 7982.7, avec 7 degrés de liberté. L'analyse de variance indique un F-value de 3933.292 et une valeur de p

extrêmement faible inférieure à $2.2e-16$ donc **P<0,05**, ce qui suggère que le facteur "concentrations" a un effet significatif sur la variable réponse "zones".

- b. "**souches**" : Ce facteur présente une somme des carrés de 1653.7, avec 5 degrés de liberté. L'analyse de variance indique un F-value de 1140.780 et une valeur de p extrêmement faible inférieure à $2.2e-16$ donc **P<0,05**, ce qui suggère que le facteur "souches" a un effet significatif sur la variable réponse "zones".
- c. "**concentrations**" : "**souches**" (interaction) : Cette interaction entre les facteurs "concentrations" et "souches" présente une somme des carrés de 535.8, avec 35 degrés de liberté. L'analyse de variance indique un F-value de 52.804 et une valeur de p extrêmement faible inférieure à $2.2e-16$ donc **P<0,05**, ce qui suggère que l'interaction entre les facteurs a un effet significatif sur la variable réponse "zones"

Les valeurs de l'écart type qui est un indicateur de dispersion qui nous informe de la manière dont les zones sont réparties autour de la moyenne. 4 différentes valeurs (0.57 ; 1.00 ; 1.15 ; 1.57) pour différentes moyennes sont résultantes.

➤ *Aspergillus brasiliensis*

- Pour les concentrations suivantes : 100% ; 1/2 avec les moyennes ordonnées consécutivement : 29 ; 12 ont un écart type de 1.00 qui est relativement faible.
- Pour les concentrations de : 75% ; 50% ; 1/4 ; 1/8 avec les moyennes ordonnées consécutivement : 25.666 ; 22.666 ; 10.333 ; 9.333 ont un écart type de valeur de 0.577, ce qui suggère qu'il est relativement faible.
- Pour les concentrations de : 25% ; 1/4 ; 1/8 avec les moyennes ordonnées consécutivement : 15.000 ; 0.000 ont un écart type de 0.000 ce qui évoque qu'il est relativement faible.

➤ *Bacillus subtilis*

- Pour les concentrations suivantes : 100% ; 50% avec les moyennes ordonnées consécutivement : 20.666 ; 13.666 ont un écart type de 0.577 qui est relativement faible.
- Pour les concentrations suivantes : 75% ; 25% ; 1/2 ; 1/4 ; 1/8 ; 1/12 avec les moyennes ordonnées consécutivement : 18.000 ; 8.000 ; 0.000 ; 0.000 ; 0.000 ; 0.000 ont un écart type de 0.000 qui est relativement faible.

➤ *Candida albicans*

- Pour la concentration suivante : 100% avec une moyenne de 22.000 a un écart type de 1.00 qui est relativement faible.
- Pour la concentration suivante : 50% avec une moyenne de : 17.666 ont un écart type de 1.527 qui est relativement faible.
- Pour la concentration suivante : 25% avec une moyenne de : 10.333 a un écart type de 0.577 qui est relativement faible.
- Pour les concentrations suivantes : 75% ; 1/2; 1/4 ; 1/8; 1/12 avec les moyennes ordonnées consécutivement : 20.000 ; 0.000 ; 0.000 ; 0.000 ; 0.000 ont un écart type de 0.000 qui est relativement faible.

➤ *Escherichia coli*

- Pour les concentrations suivantes : 100% ; 75% ; 50% ; 25% avec les moyennes ordonnées consécutivement : 13.666 ; 11.333 ; 10.333 ; 8.333 ont un écart type de 0.577 qui est relativement faible.
- Pour les concentrations suivantes : 1/2 ; 1/4 ; 1/8 ; 1/12 avec les moyennes ordonnées consécutivement : 0.000 ; 0.000 ; 0.000 ; 0.000 ont un écart type de 0.000 qui est relativement faible.

➤ *Pseudomonas aeruginosa*

- Pour la concentration suivante : 100% avec une moyenne: 17.000 a un écart type de 1.000 qui est relativement faible.
- Pour la concentration suivante : 75% avec une moyenne de : 13.666 a un écart type de 1.154 qui est relativement faible.
- Pour les concentrations suivantes : 50% ; 25% avec les moyennes ordonnées consécutivement : 11.333 ; 9.666 ont un écart type de 0.577 qui est relativement faible.
- Pour les concentrations suivantes : 1/2 ; 1/4 ; 1/8 ; 1/12 avec les moyennes ordonnées consécutivement : 0.000 ; 0.000 ; 0.000 ; 0.000 ont un écart type de 0.000 qui est relativement faible.

➤ *Staphylococcus aureus*

- Pour la concentration suivante : 100% avec une moyenne de : 15.666 a un écart type de 0.577 qui est relativement faible.

- Pour la concentration suivante : 25% avec une moyenne de : 9.000 a un écart type de 1.000 qui est relativement faible.

- Pour les concentrations suivantes : 75% ; 50% ; 1/2 ; 1/4 ; 1/8 ; 1/12 avec les moyennes ordonnées consécutivement : 13.000 ; 12.000 ; 0.000 ; 0.000 ; 0.000 ; 0.000 ont un écart type de 0.000 qui est relativement faible.

Tous les écarts types sont relativement faibles, ce qui recommande que les zones d'inhibitions soient autour de la moyenne et identiques. Chaque zone est représentée par trois répétitions pour deux variables (concentrations et souches). (**Voir annexe 3**)

4.2.1.2. Étude de la sensibilité des souches microbiennes testées vis-à-vis notre huile essentielle de clou de girofle

Après incubation des boîtes de Petri pendant 24 à 72 heures en fonction de la souche microbienne cible, les diamètres des zones d'inhibition (\emptyset mm) sont mesurés. Ces zones se manifestent par un halo translucide autour de chaque disque. La présence ou l'absence de halo indique la sensibilité ou la résistance des micro-organismes à l'huile essentielle de clou de girofle. Une échelle de notation symbolique allant de "-" à "+++" est utilisée pour interpréter les résultats, selon la méthode décrite par **Poncea et al., (2003)** :

- Diamètre inférieur à 8 mm : sensibilité nulle du micro-organisme (-)
- Diamètre compris entre 9 et 14 mm : sensibilité limitée du micro-organisme (+)
- Diamètre compris entre 14 et 20 mm : micro-organisme très sensible (++)
- Diamètre supérieur ou égal à 20 mm : micro-organisme extrêmement sensible (+++)

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* sur les souches microbiennes étudiées sont présentés dans **le tableau 11**.

Tableau 11 : résultats du test de sensibilité des souches microbiennes à l'huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) par la méthode de l'aromatogramme.

	Ø mm	Norme	Grade	Sensibilité
<i>E.coli</i>	13,6 ± 0,57	[9-14]	+	Sensible
<i>Staphylococcus aureus</i>	15,6±0,57	[14-20]	++	Très sensible
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17 ± 1	[14-20]	++	Très sensible
<i>Bacillus subtilis</i>	20,6±0,57	≥ 20	+++	Extrêmement sensible
<i>Candida albicans</i>	22 ± 1	≥ 20	+++	Extrêmement sensible
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	29 ± 1	≥ 20	+++	Extrêmement sensible

Selon les résultats de l'aromatogramme (**Tableau 11**), nous remarquons ce qui suit :

La méthode de diffusion des disques sur gélose nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle de clou de girofle vis-à-vis des souches microbiennes cibles testées. Selon la classification de **Ponce et al., (2003)**, toutes les souches sont sensibles à l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*. Les zones d'inhibition mesuraient 13,6 mm, 15,6 mm, 17 mm, 20 mm, 22 mm et 29 mm pour *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* et *Aspergillus brasiliensis*, respectivement. Ces résultats nous permettent de classer la sensibilité de ces souches comme suit : sensible, très sensible, très sensible, extrêmement sensible, extrêmement sensible, extrêmement sensible, respectivement.

En comparant les résultats des disques, il est clair que la plupart des bactéries à Gram positif présentent des zones d'inhibition plus grandes que celles des bactéries à Gram négatif pour l'huile essentielle de clou de girofle.

La présence de la zone d'inhibition formée par l'huile essentielle de clou de girofle contre les bactéries étudiées est probablement due à sa caractéristique lipophile, qui permet une interaction entre l'huile et les bactéries, ainsi qu'une interaction entre l'huile et les lipides de la membrane cellulaire de la bactérie, modifiant ainsi sa perméabilité.⁸⁷ Ainsi, l'huile essentielle de clou de girofle présente un effet synergique.

En ce qui concerne les comparaisons avec d'autres études, nous constatons ce qui suit :

Pour *Escherichia coli*, le diamètre de la zone d'inhibition est identique par rapport aux résultats soutenus par **Chaieb et al., (2007)**, supérieur à ceux de **Nathaniel Hiwandika et al., (2021)**, et inférieur à ceux de **Amit Pandey et al., (2011)**, et **Radünz et al., (2019)**.

Pour *Staphylococcus aureus*, le diamètre de la zone d'inhibition est presque identique aux résultats rapportés par **Hiwandika et al., (2021)** et **Miroslava Kačániová et al., (2021)**, et inférieur à ceux de **Pandey et al., (2011)**, **Mostaqim et al., (2019)**, **Chaieb et al., (2007)** et **Radünz et al., (2019)**.

Pour *Pseudomonas aeruginosa*, le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur aux résultats rapportés par **Hiwandika et al., (2021)** et **Chaieb et al., (2007)**, et inférieur à ceux de **Pandey et al., (2011)** et **Mostaqim. S et al., (2019)**.

Pour *Bacillus subtilis*, le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur aux résultats rapportés par **Hiwandika et al., (2021)** et **Miroslava Kačániová et al., (2021)**.

En ce qui concerne les souches fongiques, nous constatons les comparaisons suivantes :

Pour *Candida albicans*, le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur aux résultats rapportés par **Mansourian et al., (2014)**, supérieur à ceux de **Mostafa et al., (2023)** et **Miroslava Kačániová et al., (2021)**.

Pour *Aspergillus brasiliensis*, le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur aux résultats soutenus par **Mansourian et al., (2014)** et inférieur à ceux de **Inder Rana et al., (2011)**.

Les différences entre les résultats obtenus et les résultats rapportés peuvent être attribuées à divers facteurs, tels que les différents volumes d'huile essentielle de clou de girofle utilisés dans les disques de diffusion et les variations de la teneur en composés chimiques, principalement l'eugénol. Il peut y avoir des variations en raison des différents composants principaux présents dans chaque espèce. Cependant, ces résultats soutiennent l'application médicale de ces huiles essentielles pour la prévention et/ou le traitement de certaines infections et maladies, telles que les infections bucco-dentaires.

Pour d'autres souches fongiques spécifiques des maladies et des infections bucco-dentaires que nous n'avons pas testées, **Lining Cai et Christine (1996)** ont examiné l'activité des composés

extraits de *Syzygium aromaticum* contre *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus*, *Prphyromonas gingivalis* et *Prevotella intermedia*, et ont observé une inhibition de tous ces isolats microbiens par les composés de *Syzygium aromaticum* avec une concentration minimale inhibitrice de 2,5 mg/ml, 2,5 mg/ml, 0,62 mg/ml et 0,62 mg/ml respectivement.

La méthode de diffusion des disques sur gélose nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle de clou de girofle vis-à-vis des souches microbiennes

Tableau 12 : comparaison des résultats des diamètres (mm) de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) avec d'autres études.

	Notre huile essentielle de clou de girofle	A. Mansourian et al., juillet (2014)	Nathani el Hiwandi ka et al., (2021)	Amit Pandey et al., (2011)	Radünz et al., (2019)
<i>E.coli</i>	13,6 mm		11,9 mm	18 mm	19,7 mm
<i>S. aureus</i>	15,6 mm		15,8 mm	16 mm	28,3 mm
<i>P. aeruginosa</i>	17 mm		13,4 mm	20 mm	
<i>B. subtilis</i>	20,6 mm		14,6 mm		
<i>C.albicans</i>	22 mm	29 mm			
<i>A. brasiliensis</i>	29 mm	20 mm			
Ashraf Abdel-Fattah Mostafa et al., (2023)	Mostaqim. S et al., (2019)	Chaieb et al., (2007)		Inder Singh Rana et al., (2011)	
		13,66 mm			
	30,5 mm	14,6 mm			

	38mm	9 mm	
19,8mm			
			31 mm

4.2.2. Évaluation quantitative

4.2.2.1. Concentration minimale inhibitrice (CMI) pour les bactéries

Les résultats de la détermination de la concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle de clou de girofle contre les quatre bactéries testées à partir des différentes dilutions utilisées sont présentés dans le **tableau 13** et les **histogrammes** présentés dans les **figures de 18 à 21**.

Tableau 13 : concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*).

Bactérie \ Dilution	Dilution								
	100%	75%	50%	25%	1/2	1/4	1/8	1/12	Témoin (tween 80)
<i>E.coli</i>	-	-	-	- CMI	+	+	+	+	+
<i>S.aureus</i>	-	-	-	- CMI	+	+	+	+	+
<i>P. Aeruginosa</i>	-	-	-	- CMI	+	+	+	+	+
<i>B. subtilis</i>	-	-	-	- CMI	+	+	+	+	+

+ : présence de croissance microbienne

- : absence de croissance microbienne

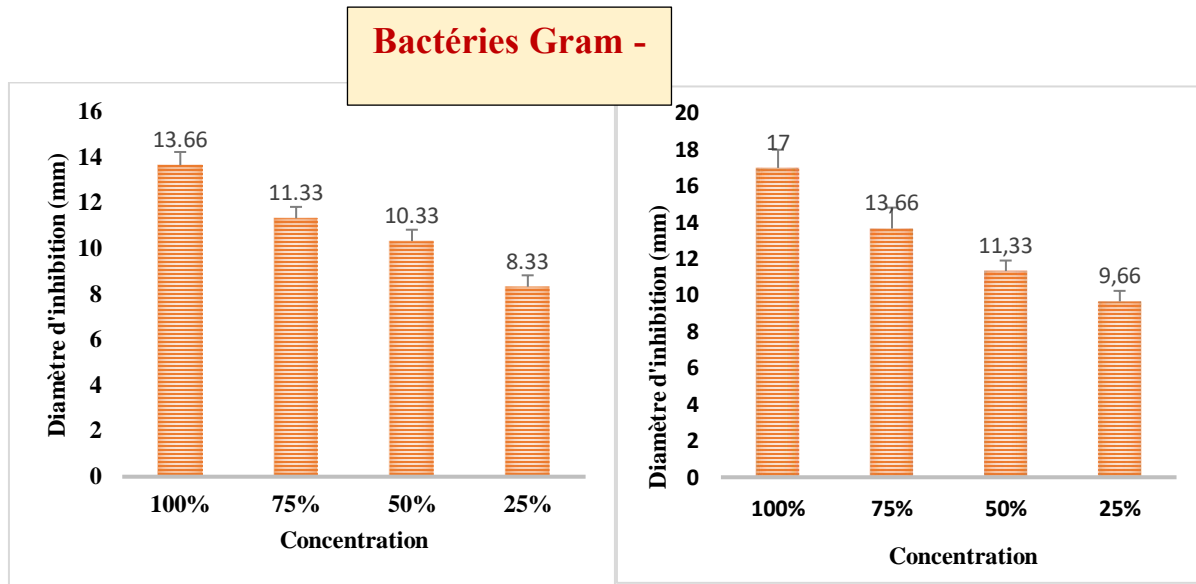


Figure 18 : histogramme des diamètres des zones d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'huile essentielle de clou de girofle pour *E. coli*.

Figure 19 : histogramme des diamètres des zones d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'huile essentielle de clou de girofle pour *Pseudomonas aeruginosa*.

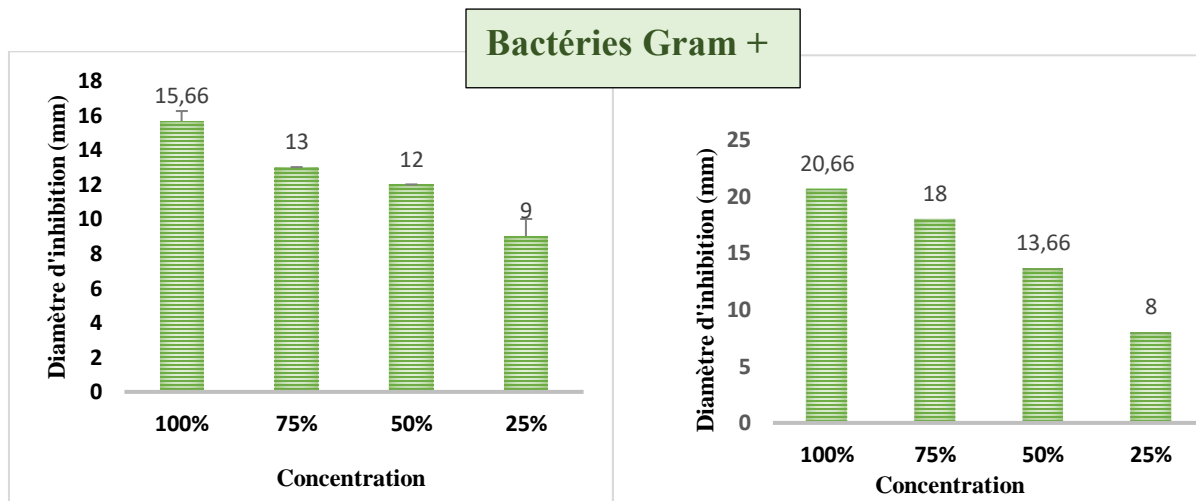


Figure 20 : histogramme des diamètres des zones d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'huile essentielle de clou de girofle pour *Staphylococcus aureus*.

Figure 21 : histogramme des diamètres des zones d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'huile essentielle de clou de girofle pour *Bacillus subtilis*.

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) pour les bactéries ont été estimées à 0,5 mg/ml après avoir réalisé l'activité antibactérienne. Ce résultat est soutenu par une étude antérieure de **Radünz et al., (2019)**, qui a estimé une CMI de 0,3 mg/ml. L'étude est confirmée que l'huile essentielle extraite du clou de girofle présente une activité antibactérienne contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives.

Les résultats obtenus indiquent que l'activité antibactérienne est traduite par le mécanisme suivant : l'action de l'agent antimicrobien sur les micro-organismes dépend, d'une part, de la structure membranaire de la cellule cible. Les bactéries Gram-positives sont beaucoup plus sensibles à l'huile essentielle que les bactéries Gram-négatives en raison de leur structure de paroi cellulaire.⁹⁷ D'autre part, la composition de l'huile essentielle elle-même confère un pH acide (pH = 6,40).⁹⁸ L'eugénol, l'un des principaux composants de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*, appartient à la classe des phénols et est très actif contre les micro-organismes testés. Les phénols sont connus pour être des agents bactéricides ou bactériostatiques, selon la concentration utilisée.

Initialement, les molécules de l'huile essentielle attaquent la membrane de la bactérie, composée de glycérophospholipides, qui est constituée d'une double couche hydrophobe et hydrophile. L'eugénol provoque une perte de perméabilité de cette membrane, ce qui entraîne une fuite des constituants cellulaires de la bactérie. Ensuite, l'huile essentielle acidifie l'intérieur de la bactérie pour bloquer sa production d'énergie et de composants structurels. Enfin, si la bactérie survit, l'huile essentielle attaque directement son matériel génétique.

Les résultats des disques imprégnés de Tween 80 n'ont montré aucun effet antibactérien ou antifongique sur les six souches testées, ce qui indique une absence de zones d'inhibition.

La comparaison est résumée dans le **tableau 14**.

Tableau 14 : comparaison des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'huile essentielle de clou de girofle pour les bactéries, avec celles de quelques études.

CMI Bactérie	Notre CMI d'huile essentielle de clou de girofle (mg/ml)	Amit Pandey <i>et al.</i> , 2011	Ayola <i>et al.</i> , 2008	Prabuseenivasan <i>et al.</i> 2020	Alitonou <i>et al.</i> , 2012	Miroslava Kařcániov á <i>et al.</i> , 2021	Seongwei LEE <i>et al.</i> , 2009
<i>E.coli</i>	0,5	2	0,23	1,6	0,2		3,25
<i>Staphylococcus aureus</i>		0,3				0,8	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>							3,25
<i>Bacillus subtilis</i>						1,2	

Selon les comparaisons effectuées dans le tableau ci-dessous, **Pandey *et al.*, (2011)** ont examiné une activité similaire de l'huile essentielle de clou de girofle contre *E. coli*, avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 2 mg/ml, et contre *S. aureus* à 0,3 mg/ml. Ces résultats concordent avec les nôtres, montrant un effet similaire sur les souches cibles testées, bien qu'il existe une petite différence.

Ayola *et al.*, (2007), **Prabuseenivasan *et al.*, (2020)** respectivement, **Alitonou *et al.*, (2012)** et **Seongwei LEE *et al.*, (2009)** ont également noté une activité évidente contre *E. coli*, en estimant une CMI de 0,23 mg/ml, 1,6 mg/ml, 0,2 mg/ml et 3,25 mg/ml. Ces résultats sont presque en accord avec les nôtres, à l'exception de l'étude de **Seongwei LEE *et al.*, (2009)** qui a évalué une CMI plus élevée que la nôtre, qui est de 0,5 mg/ml.

Seongwei LEE *et al.*, (2009) ont estimé une activité contre *Pseudomonas aeruginosa* avec une CMI de 3,25 mg/ml, qui diffère de notre CMI de 0,5 mg/ml et est plus élevée.

Miroslava Kačániová *et al.*, (2021) ont noté une activité de l'huile essentielle de clou de girofle contre *Bacillus subtilis*, en évaluant une CMI de 1,2 mg/ml, qui est supérieure à notre CMI de 0,5 mg/ml.

Remarque : Il est difficile de comparer les résultats d'études différentes sur les effets antimicrobiens de ces substances naturelles, car les procédures de préparation des inoculums, les concentrations et les facteurs environnementaux utilisés peuvent être différents. Les résultats sont ensuite comparés en fonction de l'analyse de la croissance, des conditions d'incubation et de la détermination des points finaux. Il est donc important de faire preuve de discernement, même lorsque plusieurs études vont dans le même sens.

4.2.2.2. Concentration minimale fongicide (CMF)

Les résultats de la détermination de la concentration minimale fongicide (CMF) de l'huile essentielle de clou de girofle contre les souches fongiques testées sont présentés dans le **Tableau 15**, tandis que les histogrammes correspondants sont présentés dans les **Figures 22 et 23**.

Tableau 15 : concentration minimale fongicide de l'huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*).

Souche fongiques	Dilution								
	100%	75%	50%	25%	1/2	1/4	1/8	1/12	Témoin (twin 80)
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	- CMF	+	+	+	+	+
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	-	-	-	-	-	-	- CMF	+	+

+ : arésence de croissance microbienne

- : absence de croissance microbienne

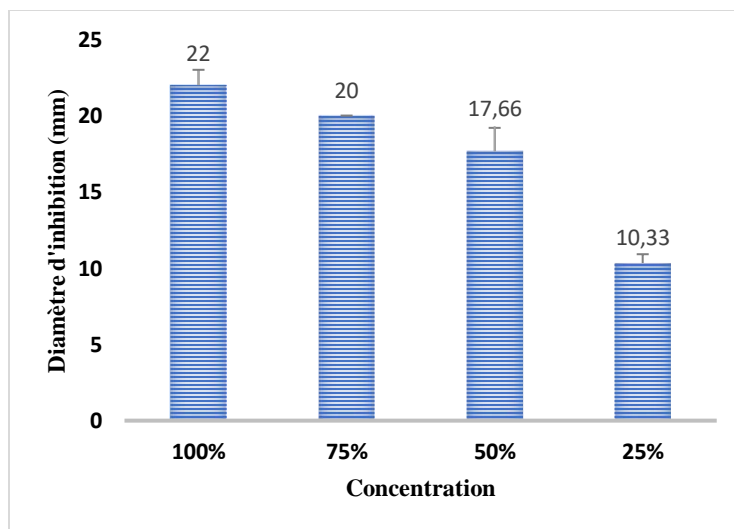


Figure 22 : histogramme des diamètres des zones d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'huile essentielle de clou de girofle contre *Candida albicans*.

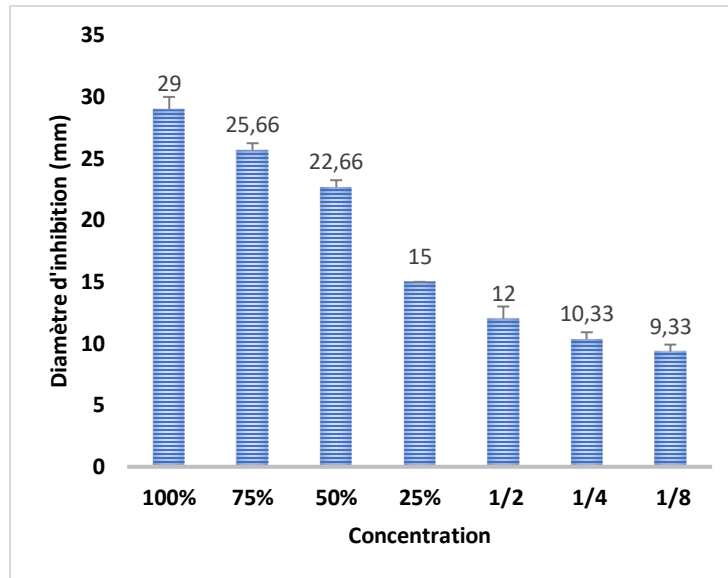


Figure 23 : histogramme des diamètres des zones d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'huile essentielle de clou de girofle pour *Aspergillus brasiliensis*.

En ce qui concerne les champignons, les résultats de l'activité antifongique indiquent que l'huile essentielle de clou de girofle présente une activité contre *Aspergillus brasiliensis* et *Candida albicans*. Ces résultats sont soutenus par une étude de **Pinto et al., (2009)**, qui a examiné le pouvoir antifongique de l'huile essentielle de clou de girofle vis-à-vis de la multiplication des souches d'*Aspergillus* et de *Candida*. Ils ont confirmé l'activité antifongique de l'huile essentielle de clou de girofle. **Hee Youn Chee et Min Hee Lee (2007)** ont également soutenu ces résultats, en montrant que la vapeur volatile de l'huile essentielle de clou de girofle présente une activité antifongique contre les champignons dermatophytes, y compris *Candida albicans*. L'huile essentielle de clou de girofle et ses vapeurs volatiles inhibent fortement la germination des spores et la croissance mycélienne. La vapeur volatile de l'huile essentielle de clou de girofle présente une activité fongistatique, tandis que l'application directe du clou de girofle présente une activité fongicide.

Les résultats des disques imprégnés de Tween 80 n'ont montré aucun effet antibactérien ou antifongique sur les six souches testées, ce qui indique une absence de zones d'inhibition.

La comparaison est résumée dans le **tableau 16**.

Tableau 16 : comparaison des concentrations minimales fongicide (CMF) de l'huile essentielle de clou de girofle, avec celles de quelques études.

CMI Souche Fongique	Notre CMF d'huile essentielle de clou de girofle (mg/ml)	Pinto <i>et al.</i> , 2009	Ashraf Abdel- Fattah Mostafa et al. 2023	Miroslava Kačániová et al. 2021
<i>Candida albicans</i>	0,5	0,6	1,25	2,2

Selon les comparaisons effectuées dans le tableau ci-dessous,

Dans la littérature de **Pinto *et al.*, (2009)**, **Mostafa *et al.*, (2023)**, **Miroslava Kačániová *et al.*, (2021)**, qui ont estimé une activité fongicide contre *Candida albicans* à une CMF de 0,6 mg/ml, 1,25 mg/ml, 1,25 mg/ml et 2,22 mg/ml respectivement, ces résultats sont un peu différents que les notre, ce qui peut être expliqué par la faible teneur en eugénol ou d'autres composés majoritaire, aussi au type de culture de l'échantillon, aux concentrations des substances et aux différences dans les méthodes d'extraction des huiles essentielles.¹⁰⁵

NB : Tous les résultats dans ce travail ont été comparés avec des travaux qui ont utilisé la même espèce *Syzygium aromaticum*.

5. Évaluation de la toxicité de l'huile essentielle de clou de girofle par la détermination de sa dose létale (DL₅₀)

Le **tableau 17** représente les symptômes des souris lors des 10 jours d'observation après le test de toxicité de l'huile essentielle de clou de girofle par gavage de deux doses de 1000mg/kg et 2000mg/kg :

Tableau 17 : symptômes observés chez les souris pendant le suivi de 10 jours après le test de toxicité.

N° de Lot	Nombre des souris dans chaque lot	Doses administrées mg/ml	Temps d'observation	Signe cliniques	Nombre des souris mortes
01	04	Témoin	Après 30 min	1. Alimentation et consommation d'eau normales 2. Très actif 3. Mouvements normaux	00
			Après 2 heures	1. Alimentation et consommation d'eau normales 2. Très actif 3. Mouvements normaux	
			Après 24heures	1. Alimentation et consommation d'eau normales 2. Très actif 3. Mouvements normaux	
			Après 2 jours	1. Alimentation et consommation d'eau normales 2. Très actif 3. Mouvements normaux	
			Après 4 jours	1. Alimentation et consommation d'eau normales. 2. Très actif. 3. Mouvements normaux. 4. Mesure de la température : 33,6°C, 33,6°C, 33,6°C.	
			Après 6 jours	1. Alimentation et consommation d'eau normales.	

				<p>2. Activité très élevée. 3. Mouvements normaux.</p>	
			Après 9 jours	<p>1. Alimentation et consommation d'eau normales. 2. Activité très élevée. 3. Mouvements normaux.</p>	
02	04	1000	Après 30 min	<p>1. Essuyage de la bouche 2. Tremblements 3. Faiblesse Activité moyenne</p>	00
			Après 2 heures	<p>1. Reprise de l'activité normalement. 2. Pas de changement des yeux. Activité moyenne</p>	
			Après 24heures	<p>1. Activité normale. 2. Alimentation et consommation d'eau normales. 3. Essuyage de la bouche. Pas de changement des yeux</p>	
			Après 2 jours	<p>1. Activité normale. 2. Respiration normale. 3. Rythme cardiaque régulé. 4. Alimentation et consommation d'eau normales.</p>	

				5. Pas de changement des yeux.	
			Après 4 jours	1. Activité normale. 2. Respiration normale. 3. Rythme cardiaque régulier. 4. Alimentation et consommation d'eau normales 5. Pas de changement des yeux 6. Mesure de la température : 32,6°C, 33,8°C, 34,5°C	
			Après 6 jours	1. Activité normale. 2. Respiration normale. 3. Rythme cardiaque régulé. 4. Alimentation et consommation d'eau normales. 5. Pas de changement des yeux.	
			Après 9 jours	1. Activité normale. 2. Respiration normale. 3. Rythme cardiaque régulé. 4. Alimentation et consommation d'eau normales. 5. Pas de changement des yeux.	

03	04	2000	Après 30 min	<ol style="list-style-type: none"> 1. Essuyage de la bouche 2. Tremblements 3. Faiblesse 4. Difficulté respiratoire 5. Changement de couleur des yeux 6. Battements de cœur élevés 	02
			Après 2 heures	<ol style="list-style-type: none"> 1. Absence d'activité. 2. Difficulté respiratoire. 3. Changement de couleur des yeux. 4. Battements de cœur élevés. 5. Tremblement. 6. Rythme cardiaque dérégulé. 7. Difficulté de mouvement 	
			Après 24 heures	<ol style="list-style-type: none"> 1. Activité moyenne. 2. Battements de cœur élevés. 3. Difficulté de bouger. 4. Les yeux fermés. 5. Alimentation et consommation d'eau pratiquement normales. 6. Essuyage de la bouche. 	
			Après 2 jours	<ol style="list-style-type: none"> 1. Tremblement de tout le corps. 2. Difficulté de bouger 	

			Après 4 jours	<ol style="list-style-type: none"> 1. Difficulté respiratoire. 2. Activité moyenne. 3. Battements de cœur élevés. 4. mesure de la température (36,1-36,9-35,6)°C 	
			Après 6 jours	<ol style="list-style-type: none"> 1. Décès de la première souris. 	
			Après 9 jours	<ol style="list-style-type: none"> 1. Décès de la deuxième souris. 	

Il convient de noter que les trois souris témoins ont reçu de l'eau physiologique par gavage afin de confirmer que la mort des souris n'est pas due au gavage ni à la sonde de gavage. Les souris témoins n'ont pas été exposées à la substance testée et ne montrent donc aucun résultat de DL_{50} . Les souris témoins sont utilisées pour comparer les effets observés dans les groupes exposés à la substance et évaluer leur spécificité.

Pour la première dose de 1000 mg/kg : Les résultats obtenus pour les souris exposées à cette dose montrent une certaine variabilité, sans atteindre la DL_{50} . Cela suggère que la toxicité de la substance à cette dose est modérée, car toutes les souris ont survécu.

En ce qui concerne le deuxième lot de souris exposées à la dose de 2000 mg/kg, les résultats de la DL_{50} sont plus élevés, indiquant une toxicité plus élevée par rapport au premier lot à la dose de 1000 mg/kg. Deux souris sont mortes, ce qui démontre une sensibilité accrue des souris à la substance à cette dose. La dose létale (DL_{50}) est une mesure couramment utilisée pour évaluer la toxicité d'une substance et représente la dose nécessaire pour tuer 50% des sujets.

Il convient de noter que les quatre souris témoins ont reçu de l'eau physiologique par gavage afin de confirmer que la mort des souris n'est pas due au gavage ni à la sonde de gavage. Les souris témoins n'ont pas été exposées à la substance testée et ne montrent donc aucun résultat de DL_{50} . Les souris témoins sont utilisées pour comparer les effets observés dans les groupes exposés à la substance et évaluer leur spécificité.

Pour la première dose de 1000 mg/kg : Les résultats obtenus pour les souris exposées à cette dose montrent une certaine variabilité, sans atteindre la DL_{50} . Cela suggère que la toxicité de la substance à cette dose est modérée, car toutes les souris ont survécu.

En ce qui concerne le deuxième lot de souris exposées à la dose de 2000 mg/kg, les résultats de la DL_{50} sont plus élevés, indiquant une toxicité plus élevée par rapport au premier lot à la dose de 1000 mg/kg. Deux souris sont mortes, ce qui démontre une sensibilité accrue des souris à la substance à cette dose. La dose létale (DL_{50}) est une mesure couramment utilisée pour évaluer la toxicité d'une substance et représente la dose nécessaire pour tuer 50% des sujets.

Dans notre étude, la dose de 1000 mg/kg n'est pas suffisamment élevée pour provoquer la mort des souris, car aucune n'a succombé à cette dose. Cela suggère que la substance n'est pas toxique à 1000 mg/kg.

Il est important de noter que la mortalité observée chez les souris exposées à la dose de 2000 mg/kg peut être attribuée à une réponse toxique directe de la substance ou à d'autres facteurs tels que le métabolisme individuel des souris et leur sensibilité spécifique.

L'absence de mortalité observée chez les souris à la dose de 1000 mg/kg par rapport à la mortalité observée à la dose de 2000 mg/kg indique une relation dose-réponse de la substance. Cela suggère que la toxicité de la substance est dose-dépendante, avec des doses plus élevées entraînant une augmentation de la toxicité et du risque de mortalité.

L'utilisation de l'huile essentielle de clou de girofle dans notre étude montre une toxicité potentielle à différentes doses. Les résultats indiquent que les souris exposées à une dose de 1000 mg/kg d'huile essentielle de clou de girofle n'ont montré aucun signe de mortalité, tandis que deux souris sont mortes parmi celles ayant reçu une dose de 2000 mg/kg.

L'huile essentielle de clou de girofle est connue pour contenir divers composés bioactifs, notamment l'eugénol qui est le principal constituant responsable de ses propriétés

pharmacologiques. L'eugénol a été étudié pour ses effets antibactériens, antifongiques, antioxydants et analgésiques. Cependant, à des doses élevées telles que 2000 mg/kg, il peut présenter une certaine toxicité. Par conséquent, l'huile essentielle de clou de girofle est considérée comme légèrement toxique.

En se basant sur la classification de toxicité de **Hodge et Sterner (A. BENSAXHRIA 2018) (annexe 4)**, et en tenant compte de l'estimation de la DL_{50} ainsi que des articles précédemment mentionnés sur l'huile essentielle de clou de girofle, on peut conclure que cette huile est légèrement toxique et que nos résultats se situent dans la même gamme.

6. Composition du bain de bouche (Brevet)

Nous avons réalisé une formulation pharmaceutique à base d'huile essentielle de clou de girofle qui évoque les avantages suivants :

- ❖ La matière végétale n'a subi aucun traitement avant l'extraction.
- ❖ L'huile essentielle de clou de girofle obtenue est utilisée directement dans la formulation vu sa composition est en accord avec les normes de la pharmacopée.
- ❖ Le principe actif de la formulation est principalement à base d'une plante légèrement toxique.

6.1. Résultats des contrôles physico-chimiques et pharmaco-techniques du bain de bouche pour chaque essai.

6.2. Caractéristiques organoleptiques

Les résultats des caractéristiques organoleptiques sont présentés dans le **Tableau 18**.

Tableau 18 : Caractéristiques organoleptiques des différents essais.

Aspect	Liquide
Couleur	Blanc
Odeur	Fait penser aux clous de girofle frais

6.3. Densité relative

Les résultats de la densité relative sont présentés dans le **Tableau 19**.

Tableau 19 : résultats de la densité relative des différents essais.

	Essai 1	Essai 2	Essai 3
Densité relative	0,980	0,982	1,001

D'après les résultats du tableau 13, nous remarquons que les densités des différents essais sont proches.

6.4. pH

Les résultats des pH sont présentés dans **le Tableau 20**.

Tableau 20 : résultats du pH des différents essais.

	Essai 1	Essai 2	Essai 3
Ph	7,95	8,49	8,70

Remarque : Certains rince-bouches peuvent causer des problèmes, car plusieurs d'entre eux sont trop acides. C'est pourquoi la charte pH des rince-bouches recommande d'élaborer un bain de bouche à pH neutre ou basique afin de ne pas affaiblir l'émail dentaire et de le protéger. Maintenir également un pH supérieur à 7 facilitera la reminéralisation des dents.

Conclusion et perspectives

En conclusion, notre étude sur l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* a démontré les nombreuses vertus de cette plante médicinale. Les résultats obtenus ont confirmé son activité antimicrobienne à large spectre contre diverses souches bactériennes et fongiques. Sa composition chimique, principalement constituée d'eugénol, de trans-caryophyllène et d'acétyléugénol, lui confère des propriétés antimicrobiennes remarquables. Cependant, il est important de noter que l'activité antimicrobienne peut varier en fonction de la souche microbienne ciblée et de la concentration utilisée.

Par ailleurs, l'extraction de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* a été réalisée avec un rendement satisfaisant et répond aux normes de qualité établies par l'AFNOR. Cependant, il convient de prendre des précautions concernant sa toxicité, car des tests ont révélé une légère toxicité de l'huile essentielle de clou de girofle à des doses élevées chez les souris.

Dans le cadre de l'exploitation de cette huile essentielle, nous envisageons son utilisation potentielle dans le développement de produits pharmaceutiques, tels que des bains de bouche, pour les soins bucco-dentaires. Des études supplémentaires, notamment sur la composition chimique précise et l'activité antimicrobienne spécifique, sont nécessaires pour approfondir notre compréhension de cette plante et exploiter pleinement son potentiel thérapeutique.

Il est également recommandé d'établir une réglementation spécifique aux huiles essentielles en Algérie et de sensibiliser les personnes à l'utilisation appropriée des plantes et de leurs huiles essentielles. Cette démarche contribuerait à maximiser les bienfaits de ces ressources naturelles et à promouvoir leur utilisation responsable dans le domaine de la santé.

En conclusion, nos résultats encourageants ouvrent de nouvelles perspectives pour l'utilisation de l'huile essentielle de clou de girofle en tant qu'agent antimicrobien naturel. Nous espérons qu'ils contribueront à la recherche continue et à l'innovation dans le domaine des plantes médicinales.

Références bibliographiques

1. Haro-González, J. N., et al. "Clove Essential Oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, Chemical Composition, Food Applications, and Essential Bioactivity for Human Health." *Molecules* 26.4 (2021): 1162.
2. Dorman, H. J. D., and S. G. Deans. "Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils." *Journal of Applied Microbiology* 88.2 (2000): 308-316.
3. Pramod, K., et al. "Evaluation of antibacterial activity of eugenol against *Staphylococcus aureus* and its synergism with antibiotics." *Journal of Clinical Diagnostic Research* 8.12 (2014): DC12-DC15.
4. AliGiannis, N., et al. "Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45.2 (1997): 811-815.
5. Byng, J. W., Florens, F. B. V. & Baider, C. *Syzygium pyneei* (Myrtaceae), a new critically endangered endemic species from Mauritius. *PhytoKeys* 46, 61–66 (2015).
6. Vermeulen F., Johnston M.D.L, 2011, Plants, homeopathic and medicinal uses from a botanic family perspective. Glasgow : Saltire Books, 3,729-745p - Recherche. <https://www.bing.com/search?pglt=41&q=Vermeulen+F.%2C+Johnston+M.D.L%2C+2011%2C+Plants%2C+homeopathic+and+medicinal+uses+from+a+botanic+family+perspective.+Glasgow+%3A+Saltire+Books%2C+3%2C729-745p&cvid=11453814d3164e97b594977193947b1f&aqs=edge.0.69i59j69i60l2.1007j0j1&FORM=ANNTA1&PC=U531>.
7. Barbelet, S. (2015). Le giroflier : historique, description et utilisations de la plante et de son huile essentielle (Doctoral dissertation, Université de Lorraine - Recherche. [https://www.bing.com/search?pglt=41&q=Barbelet%2C+S.+\(2015\).+Le+giroflier+%3A+historique%2C+description+et+utilisations+de+la+plante+et+de+son+huile+essentielle+\(Doctoral+dissertation%2C+Universit%C3%A9+de+Lorraine&cvid=1fc1f57a92684a5aad70fcd047440757&aqs=edge.0.69i59.1248j0j1&FORM=ANNTA1&PC=U531&ntref=1](https://www.bing.com/search?pglt=41&q=Barbelet%2C+S.+(2015).+Le+giroflier+%3A+historique%2C+description+et+utilisations+de+la+plante+et+de+son+huile+essentielle+(Doctoral+dissertation%2C+Universit%C3%A9+de+Lorraine&cvid=1fc1f57a92684a5aad70fcd047440757&aqs=edge.0.69i59.1248j0j1&FORM=ANNTA1&PC=U531&ntref=1).
8. Jeanguyot, Michelle. & Séguier-Guis, Martine. *L'herbier voyageur : histoire des fruits, légumes et épices du monde*. (Ed. Plume de carotte, 2004).

9. McVaugh, R. NOMENCLATURAL NOTES ON MYRTACEAE AND RELATED FAMILIES (continuation). *Taxon* **5**, 162–167 (1956).
10. Le giroflier... - Les plantes oubliées. <http://bleunwennature.canalblog.com/archives/2013/05/14/27156721.html>.
11. Barbelet, S. Le giroflier : historique, description et utilisations de la plante et de son huile essentielle.
12. À la découverte du clou de girofle à Munduk, Bali | Carnet de Voyage Olfactif. <http://carnetdevoyageolfactif.com/2011/12/11/a-la-decouverte-du-clou-de-girofle-a-munduk-bali/>.
13. Plantes thérapeutiques - Max Wichtl , Robert Anton - 2ème édition - Librairie Eyrolles. <https://www.eyrolles.com/Sciences/Livre/plantes-therapeutiques-9782743006310/>.
14. Baider, C. & Florens, F. B. V. *Eugenia alletiana* (Myrtaceae), a new critically endangered species endemic to the island of Mauritius. *Phytotaxa* **94**, 1–12 (2013).
15. Low, Y. W. *et al.* Genomic insights into rapid speciation within the world’s largest tree genus *Syzygium*. *Nat Commun* **13**, (2022).
16. Larsson, M. & Foley, B. The king’s spice cabinet-Plant remains from Gribshunden, a 15th century royal shipwreck in the Baltic Sea. *PLoS One* **18**, (2023).
17. Danthu, P. *et al.* The clove tree of Madagascar: a success story with an unpredictable future. *Bois et Forêts des Tropiques* **320**, 83–96 (2014).
18. Bois, D. (1856-1946). A. du texte. Les plantes alimentaires chez tous les peuples et à travers les âges : histoire, utilisation, culture. Phanérogames légumières / par D. Bois,... (1927).
19. Ranoarisoa, K. M., Penot, E., Danthu, P. & Rakotondravelo, J.-C. Evolution historique et Etat des lieux de la filière girofle à Madagascar. Document de travail de synthèse n°1, 2012. Projet AFS4FOOD. (2012).
20. Qué ver en Lovina y alrededores. (Explorando el norte de Bali). <https://elcalderoviajero.com/2019/02/07/que-ver-en-lovina-alrededores-norte-bali/>.

21. DESMARES, C., LAURENT, A. & DELERME, C. *Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles : contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles.* (AFSSAPS, 2008).
22. À la découverte du clou de girofle à Munduk, Bali | Carnet de Voyage Olfactif. <http://carnetdevoyageolfactif.com/2011/12/11/a-la-decouverte-du-clou-de-girofle-a-munduk-bali/>.
23. ISO 9235:2013 - Matières premières aromatiques naturelles — Vocabulaire. <https://www.iso.org/fr/standard/51017.html>.
24. Nos missions - Médicaments à base de plantes et huiles essentielles - ANSM. <https://ansm.sante.fr/qui-sommes-nous/notre-perimetre/les-medicaments/p/medicaments-a-base-de-plantes-et-huiles-essentielles>.
25. Etude De L'activité Antibactérienne Et Hémolitique De L'huile Essentielle De Syzygium Aromaticum(clou De Girofle).
26. Etat Des Connaissances Portant Sur Les Activités Biologiques De L'huile Essentielle De Syzygium Aromaticum.
27. Lobstein, A., Couic-Marinier, F. & Barbelet, S. Huile essentielle de Clou de girofle. *Actualités Pharmaceutiques* **56**, 59–61 (2017).
28. Chaieb, K. *et al.* The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): a short review. *Phytother Res* **21**, 501–506 (2007).
29. Haro-González, J. N., Castillo-Herrera, G. A., Martínez-Velázquez, M. & Espinosa-Andrews, H. Clove Essential Oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, Chemical Composition, Food Applications, and Essential Bioactivity for Human Health. *Molecules* **26**, (2021).
30. Plata-Rueda, A. *et al.* Terpenoid constituents of cinnamon and clove essential oils cause toxic effects and behavior repellency response on granary weevil, *Sitophilus granarius*. *Ecotoxicol Environ Saf* **156**, 263–270 (2018).

31. Nana, W. L. *et al.* Antimicrobial Activity of *Syzygium aromaticum* and *Zanthoxylum xanthoxyloides* Essential Oils Against *Phytophthora megakarya*. *Journal of Phytopathology* **163**, 632–641 (2015).
32. Guan, W., Li, S., Yan, R., Tang, S. & Quan, C. Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. *Food Chem* **101**, 1558–1564 (2007).
33. Luz, T. R. S. A. *et al.* Seasonal variation in the chemical composition and biological activity of the essential oil of *Mesosphaerum suaveolens* (L.) Kuntze. *Ind Crops Prod* **153**, 112600 (2020).
34. Bouyahya, A. *et al.* Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie* **16**, S173–S183 (2018).
35. Khanna, R., Macdonald, J. K. & Levesque, B. G. Peppermint oil for the treatment of irritable bowel syndrome: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Gastroenterol* **48**, 505–512 (2014).
36. Özkaraman, A., Dügüm, Ö., Yılmaz, H. Ö. & Yeşilbalkan, Ö. U. Aromatherapy: The Effect of Lavender on Anxiety and Sleep Quality in Patients Treated With Chemotherapy. *Clin J Oncol Nurs* **22**, 203–210 (2018).
37. Nadjib, B. MÉTHODES D'EXTRACTION ET DE DISTILLATION DES HUILES ESSENTIELLES : REVUE DE LITTÉRATURE. (2019).
38. Elhouiti, F. & Ouinten, M. Valorisation des huiles essentielles de *Rhanterium adpressum* Goss. & Durieu par analyse chimique et étude de leurs bioactivités. (2018).
39. Etude Biologique Des Huiles Essentielles Du *Mentha Spicata* Et Formulation D'un Lave-mains.
40. Carson, C. F., Hammer, K. A. & Riley, T. V. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clin Microbiol Rev* **19**, 50–62 (2006).
41. Han, X., Gibson, J., Eggett, D. L. & Parker, T. L. Bergamot (*Citrus bergamia*) Essential Oil Inhalation Improves Positive Feelings in the Waiting Room of a Mental Health Treatment Center: A Pilot Study. *Phytother Res* **31**, 812–816 (2017).
42. Lillehei, A. S. & Halcon, L. L. A systematic review of the effect of inhaled essential oils on sleep. *J Altern Complement Med* **20**, 441–451 (2014).

43. Husseini, Y. *et al.* Analgesic and anti-inflammatory activities of hydro-alcoholic extract of *Lavandula officinalis* in mice: possible involvement of the cyclooxygenase type 1 and 2 enzymes. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 2015 26:1 **26**, 102–108 (2015).
44. Göbel, H., Heinze, A., Heinze-Kuhn, K., Göbel, A. & Göbel, C. [Peppermint oil in the acute treatment of tension-type headache]. *Schmerz* **30**, 295–310 (2016).
45. PDQ Integrative, Alternative, and Complementary Therapies Editorial Board. Topics in Integrative, Alternative, and Complementary Therapies (PDQ®): Health Professional Version. *PDQ Cancer Information Summaries* (2002).
46. Lee, I. S. & Lee, G. J. [Effects of lavender aromatherapy on insomnia and depression in women college students]. *Taehan Kanho Hakhoe Chi* **36**, 136–143 (2006).
47. Gagnier, J. J. *et al.* Herbal Medicine for Low Back Pain: A Cochrane Review. *Spine (Phila Pa 1976)* **41**, 116–133 (2016).
48. Nurzyńska-Wierdak, R., Pietrasik, D. & Walasek-Janusz, M. Essential Oils in the Treatment of Various Types of Acne-A Review. *Plants (Basel)* **12**, (2022).
49. Lizarraga-Valderrama, L. R. Effects of essential oils on central nervous system: Focus on mental health. *Phytother Res* **35**, 657–679 (2021).
50. Hart, P. H. *et al.* Terpinen-4-ol, the main component of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil), suppresses inflammatory mediator production by activated human monocytes. *Inflammation Research* **49**, 619–626 (2000).
51. Pozzatti, P. *et al.* In vitro activity of essential oils extracted from plants used as spices against fluconazole-resistant and fluconazole-susceptible *Candida* spp. *Can J Microbiol* **54**, 950–956 (2008).
52. Kwon, H. K. *et al.* Correction to: Cinnamon extract induces tumor cell death through inhibition of NFκB and AP1. *BMC Cancer* **19**, (2019).
53. Tisserand, R. & Young, R. Essential oil safety : a guide for health care professionals. 795.
54. Buckle, J., Preceded by: Buckle, Jane. & Revision of: Buckle, Jane. *Clinical aromatherapy : essential oils in healthcare.* (2015).

55. Code of Ethics – IFPA. <https://ifparoma.org/code-of-ethics/>.
56. Global Burden of Disease Study 2019 (GBD 2019) Data Resources | GHDx. <https://ghdx.healthdata.org/gbd-2019>.
57. Warinner, C. *et al.* Pathogens and host immunity in the ancient human oral cavity. *Nat Genet* **46**, 336–344 (2014).
58. Dagli, N., Dagli, R., Darwish, S., Pract, K. B.-J. C. D. & 2016, undefined. Oral microbial shift: factors affecting the microbiome and prevention of oral disease. *researchgate.net* doi:10.5005/jp-journals-10024-1808.
59. Ledogar, J. A., Winchester, J. M., St. Clair, E. M. & Boyer, D. M. Diet and dental topography in pitheciine seed predators. *Am J Phys Anthropol* **150**, 107–121 (2013).
60. Newbrun, Ernest. *Cariology*. 289 (1978).
61. Chaussain-Miller, C. *et al.* Dental abnormalities in patients with familial hypophosphatemic vitamin D-resistant rickets: prevention by early treatment with 1-hydroxyvitamin D. *J Pediatr* **142**, 324–331 (2003).
62. Dubach, P. *et al.* Effect of high intensity exercise training on central hemodynamic responses to exercise in men with reduced left ventricular function. *J Am Coll Cardiol* **29**, 1591–1598 (1997).
63. Adler, C. J. *et al.* Sequencing ancient calcified dental plaque shows changes in oral microbiota with dietary shifts of the Neolithic and Industrial revolutions. *Nat Genet* **45**, 450–455 (2013).
64. Bertière, M.-C., Soustre, Y., Folliguet, M. & Bénétière, P. 2-Alimentation (199-208) Page 199 Mercredi, 11. *Sci Aliments* **23**, 12 (2003).
65. Petersen, P. E. The World Oral Health Report 2003: continuous improvement of oral health in the 21st century--the approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community Dent Oral Epidemiol* **31 Suppl 1**, 3–24 (2003).
66. Selon l’OMS, le défaut de soins bucco-dentaires touche près de la moitié de la population mondiale. <https://www.who.int/fr/news/item/18-11-2022-who-highlights-oral-health-neglect-affecting-nearly-half-of-the-world-s-population>.

67. Chaussain-Miller, C. *et al.* Dental abnormalities in patients with familial hypophosphatemic vitamin D-resistant rickets: prevention by early treatment with 1-hydroxyvitamin D. *J Pediatr* **142**, 324–331 (2003).
68. Clevenger, J. F. Apparatus for the determination of volatile oil. *J Am Pharm Assoc* **17**, 345–349 (1928).
69. Cliff, S. De, Burundi-Série, P. H.-R. de l'Université du & 2013, undefined. Extraction de l'Huile Essentielle Complète des Fleurs de *Cananga Odorata* de la Plaine de l'Imbo: Vers la Vulgarisation d'une Nouvelle Filière de Plante Industrielle. *auf.hal.science* (2013).
70. Lucchesi, M.-E. Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes
Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. (2005).
71. Bekhechi, C., Atik-Bekkara, F. & Abdelouahid, D. E. Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* d'Algérie. *Phytotherapie* **6**, 153–159 (2008).
72. Ajjouri, M. El *et al.* Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. & Link contre les champignons de pourriture du bois d'œuvre. <https://popups.uliege.be/1780-4507>.
73. KHRIBCH, J., NASSIK, S., HOUADFI, M. EL, ZRIRA, S. & OUKESSOU, M. Activité antibactérienne de l'huile essentielle d'origan et du carvacrol sur des souches d'*Escherichia coli* d'origine aviaire. *Moroccan Journal of Agricultural and Veterinary Sciences* **6**, 300–307 (2018).
74. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. & Idaomar, M. Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology* **46**, 446–475 (2008).
75. Erwin, M. E. & Jones, R. N. Studies To Establish Quality Control Ranges for SB-265805 (LB20304) When Using National Committee for Clinical Laboratory Standards Antimicrobial Susceptibility Test Methods. *J Clin Microbiol* **37**, 279 (1999).
76. Le Bars, J. OBTENTION D'UNE SÉRIE DÉFINIE DE DILUTIONS A PARTIR D'UNE SUSPENSION DE GERMES FONGIQUES.

77. Borges, L. C. & Ferreira, D. F. PODER E TAXAS DE ERRO TIPO I DOS TESTES SCOTT-KNOTT, TUKEY E STUDENT-NEWMAN-KEULS SOB DISTRIBUIÇÕES NORMAL E NÃO NORMAIS DOS RESÍDUOS. *Rev. Mat. Estat* **21**, 67–83 (2003).
78. Guinoiseau, E., Corse-pasquale Paoli, U. DE, Guinoiseau, E., Bolla Jean-Michel, M. & Casanova Joseph, M. M. Molécules antibactériennes issues d’huiles essentielles: séparation, identification et mode d’action. (2010).
79. Essai n° 423: Toxicité orale aiguë - Méthode par classe de toxicité aiguë. (2002) doi:10.1787/9789264071018-FR.
80. (PDF) The content of oils in umbelliferous crops and its formation. https://www.researchgate.net/publication/283600809_The_content_of_oils_in_umbelliferous_crops_and_its_formation.
81. Alfikri, F. N., Pujiarti, R., Wibisono, M. G. & Hardiyanto, E. B. Yield, Quality, and Antioxidant Activity of Clove (*Syzygium aromaticum* L.) Bud Oil at the Different Phenological Stages in Young and Mature Trees. *Scientifica (Cairo)* **2020**, (2020).
82. Lagunez Rivera, L. Etude de l’extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe. (2006).
83. Amelia, B. *et al.* GC-MS analysis of clove (*Syzygium aromaticum*) bud essential oil from Java and Manado. *AIP Conf Proc* **1862**, 30082 (2017).
84. Alfikri, F. N., Pujiarti, R., Wibisono, M. G. & Hardiyanto, E. B. Yield, Quality, and Antioxidant Activity of Clove (*Syzygium aromaticum* L.) Bud Oil at the Different Phenological Stages in Young and Mature Trees. *Scientifica (Cairo)* **2020**, (2020).
85. Barakat, H. Composition, Antioxidant, Antibacterial Activities and Mode of Action of Clove (*Syzygium aromaticum* L.) Buds Essential Oil. *Br J Appl Sci Technol* **4**, 1934–1951 (2014).
86. Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C. & Roura, S. I. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT - Food Science and Technology* **36**, 679–684 (2003).

87. Radünz, M. *et al.* Antimicrobial and antioxidant activity of unencapsulated and encapsulated clove (*Syzygium aromaticum*, L.) essential oil. *Food Chem* **276**, 180–186 (2019).
88. Chaieb, K. *et al.* The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): a short review. *Phytother Res* **21**, 501–506 (2007).
89. Nathaniel Hiwandika, Susana Elya Sudrajat & Rahayu, I. Antibacterial and Antifungal Activity of Clove Extract (*Syzygium Aromaticum*): Review. *Eureka Herba Indonesia* **2**, 93–103 (2021).
90. Singh, P. Antibacterial activity of *Syzygium aromaticum* (clove) with metal ion effect against food borne pathogens Elucidation of the anti-hyperammonemic mechanism of *Lactobacillus amylovorus* JBD401 by comparative genomic analysis View project RNA-seq of E.coli MG1655 View project. (2011).
91. Kačániová, M. *et al.* Chemical Composition, In Vitro and In Situ Antimicrobial and Antibiofilm Activities of *Syzygium aromaticum* (Clove) Essential Oil. *Plants (Basel)* **10**, (2021).
92. Mostaqim, S. *et al.* Antibacterial Activities of Clove (*Syzygium aromaticum*) Extracts Against Three Food Borne Pathogens: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Mymensingh Med J* **28**, 779–791 (2019).
93. Mansourian, A., Boojarpour, N., Ashnagar, S., Momen Beitollahi, J. & Shamshiri, A. R. The comparative study of antifungal activity of *Syzygium aromaticum*, *Punica granatum* and nystatin on *Candida albicans*; an in vitro study. *J Mycol Med* **24**, e163–e168 (2014).
94. Mostafa, A. A. F., Yassin, M. T., Al-Askar, A. A. & Al-Otibi, F. O. Phytochemical analysis, antiproliferative and antifungal activities of different *Syzygium aromaticum* solvent extracts. *J King Saud Univ Sci* **35**, 102362 (2023).
95. Rana, I. S., Rana, A. S. & Rajak, R. C. Evaluation of antifungal activity in essential oil of the *Syzygium aromaticum* (L.) by extraction, purification and analysis of its main component eugenol. *Brazilian Journal of Microbiology* **42**, 1269–1277 (2011).
96. Cai, L. & Wu, C. D. Compounds from *Syzygium aromaticum* Possessing Growth Inhibitory Activity Against Oral Pathogens. *J Nat Prod* **59**, 987–990 (1996).

99. Ayoola, G. A. *et al.* Chemical analysis and antimicrobial activity of the essential oil of *Syzygium aromaticum* (clove) INVESTIGATION OF NATURAL PRODUCTS AND BIODIVERSITY SPECIES USED BY SOUTHWESTERN NIGERIANS IN THE MANAGEMENT OF NEUROLOGICAL DISORDERS INCLUDING ALZHEIMERS DISEASE. View project Chinwendum ALARIBE View project Chemical analysis and antimicrobial activity of the essential oil of *Syzygium aromaticum* (clove). *Article in African Journal of Microbiology Research* 162–166 (2007).
100. Selles, S. M. A., Kouidri, M., Belhamiti, B. T. & Ait Amrane, A. Chemical composition, in-vitro antibacterial and antioxidant activities of *Syzygium aromaticum* essential oil. *Journal of Food Measurement and Characterization* **14**, 2352 (2020).
101. Alitonou, G. *et al.* Chemical and biological investigations of *Syzygium aromaticum* L. essential oil from Benin. *Int J Biol Chem Sci* **6**, (2012).
102. Lee, S., Najiah, M., Wendy, W. & Nadirah, M. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Syzygium aromaticum* flower bud (Clove) against fish systemic bacteria isolated from aquaculture sites. *Front Agric China* **3**, 332–336 (2009).
103. Pinto, E., Vale-Silva, L., Cavaleiro, C. & Salgueiro, L. Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *J Med Microbiol* **58**, 1454–1462 (2009).
104. Chee, H. Y. & Lee, M. H. Antifungal activity of clove essential oil and its volatile vapour against dermatophytic fungi. *Mycobiology* **35**, 241 (2007).
105. Manzano Espinosa, I. *et al.* Caracterización geoarqueológica de los depósitos cuaternarios del Arroyo de la Gavia (cuenca del río Manzanares-Madrid). *Geoarqueología y patrimonio en la Península Ibérica y el entorno mediterráneo, 2005*, ISBN 84-7359-581-5, págs. 261-272 261–272 (2005).
106. Moni, J. N. R. *et al.* Therapeutic Potentials of *Syzygium fruticosum* Fruit (Seed) Reflected into an Array of Pharmacological Assays and Prospective Receptors-Mediated Pathways. *Life (Basel)* **11**, 1–21 (2021).

107. United Nations. Economic Commission for Europe. Secretariat. Système général harmonisé de classification et d'étiquetage des produits chimiques (SGH). 611 (2009).

Annexes

Annexe 1

Annexe 01 : Questionnaire

Etude sur les habitudes alimentaires et les pratiques d'hygiène bucco-dentaire chez des constantinois (2022/2023)

N° du questionnaire : 01

Date de l'étude : 12/03/2023

III- PRATIQUES D'HYGIENE BUCCO-DENTAIRE

- 1- Est-ce que vous vous nettoyez les dents ? Oui Non
- 2- Si non, pourquoi ?
- 3- Si oui, qu'utilisez vous ? : Brosse à dent Pâte dentifrice Eau uniquement (rinçage)
Bain de bouche Fil dentaire Souak Autres
(quoi ?)
- 4- Quelle est votre fréquence de brossage par jour ? 3 fois 2 fois 1 fois
moins d'une fois
- 5- A quel moment vous vous brossez les dents ? Avant le petit déjeuner Après le petit déjeuner Après le déjeuner Après le dîner Après toute prise alimentaire
- 6- Quel est votre temps de brossage ? /_/_/_ minutes
- 7- Quel est le temps écoulé entre la fin du repas et le brossage des dents ? Moins d'une demi heure Plus d'une demi heure
- 8- Quels sont les moments de brossage que vous sautez le plus ? Après le petit déjeuner
Après le déjeuner Après le dîner Après prise alimentaire supplémentaire
- 9- Généralement, dans l'impossibilité de vous brossez les dents après un repas, vous remplacer cette pratique par ? Un rinçage à l'eau Un chewing-gum (sans sucre) Un chewing-gum (sucré) Un bonbon Un fruit (lequel ?)..... Rien du tout
- 10- Arrivez vous à manger après que vous êtes brossé les dents le soir ? Oui Non
- 11- Si oui, que mangez vous ?

12- Combien de brosses à dent achetez vous durant l'année ?

13- Avez-vous l'habitude de consulter le dentiste ? Oui Non

14- Quelle est votre fréquence de consultation ? Régulièrement (minimum 1 fois/an)

Occasionnellement (<1fois/an) Seulement en cas de problème Jamais

15- Pour quel motif consultez vous ?

16- Combien avez-vous de dents ? Cariées /_/_/ Obturées /_/_/ Absentes /_/_/

Annexe 02 :

Les six souches proposées et choisies de référence selon le référentiel international, selon l'American Type Culture Collection (ATCC), les souches sont les suivantes :

- ***Escherichia coli* ATCC 8739™** : Cette souche est une souche bactérienne à génome entier séquencée isolée des matières fécales. Elle est utilisée comme souche de contrôle de qualité dans les tests de formulation de désinfectants antibactériens, les tests de milieu, les tests d'efficacité et les tests de résistance biologique.

- ***Bacillus subtilis* ATCC 6633™** : La souche est une souche de type bactérien séquencée à génome entier qui peut être utilisée dans les tests de résistance bactérienne, l'assurance de la stérilité et le dépistage sanguin de la phénylcétonurie.

- ***Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027™** : Cette souche de *Pseudomonas aeruginosa* est une souche de type bactérien séquencée à génome entier. Ce produit peut être utilisé comme témoin positif pour la détection moléculaire dans les bioaérosols, comme souche de contrôle de qualité pour les produits Sensititre ou dans les tests de résistance bactérienne

- ***Staphylococcus aureus* ATCC 6538™** : Cette bactérie séquencée du génome entier peut être utilisée dans les milieux de test, les désinfectants, les conservateurs antimicrobiens et les bactéricides.

- ***Candida albicans* ATCC 10231™** : Cette souche fongique est multirésistante. Elle est recommandée pour les tests de performance des milieux, l'évaluation des procédures bactériologiques, des réactifs et des kits d'identification, ainsi que des colorants.

- ***Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404™** : Cette souche fongique est utilisée industriellement pour tester l'effet de stérilisation de l'irradiation UV-C sur les emballages alimentaires dans les machines de remplissage hygiéniques de classe IV. Elle est considérée comme l'un des champignons les plus résistants à l'irradiation UV-C.

Annexe 3

Résultats de l'étude statistique par ANOVA

R ANOVA SHIH 2 - Bloc-notes

Fichier Edition Format Affichage Aide

Shapiro-Wilk normality test

data: zone

W = 0.8516, p-value = 9.734e-11

```
> AnovaModel1 <- lm(zone ~ concentration*souche, data=anova, contrasts=list(concentration = "contr.Sum", souche = "contr.Sum"))
```

```
> Anova(AnovaModel1)
Anova Table (Type II tests)
```

Response: zone

	Sum Sq	Df	F value	Pr(>F)
concentration	7982.7	7	3933.292	< 2.2e-16 ***
souche	1653.7	5	1140.780	< 2.2e-16 ***
concentration:souche	535.8	35	52.804	< 2.2e-16 ***
Residuals	27.8	96		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```
> Tapply(zone ~ concentration + souche, mean, na.action=na.omit, data=anova) # means
souche
```

concentration	Aspergillus brasiliensis	Bacillus subtilis	Candida albicans	E.coli	Pseudomonas aeruginosa	Staphylococcus aureus
1/12	0.000000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
1/2	12.000000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
1/4	10.333333	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
1/8	9.333333	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
100%	29.000000	20.66667	22.00000	13.66667	17.00000	15.66667
25%	15.000000	8.00000	10.33333	8.33333	9.66667	9.00000
50%	22.666667	13.66667	17.66667	10.50000	11.33333	12.00000
75%	25.666667	18.00000	20.00000	11.00000	13.66667	13.00000

```
> Tapply(zone ~ concentration + souche, sd, na.action=na.omit, data=anova) # std. deviations
souche
```

concentration	Aspergillus brasiliensis	Bacillus subtilis	Candida albicans	E.coli	Pseudomonas aeruginosa	Staphylococcus aureus
1/12	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
1/2	1.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
1/4	0.5773503	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
1/8	0.5773503	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
100%	1.000000	0.5773503	1.000000	0.5773503	1.000000	0.5773503
25%	0.000000	0.000000	0.5773503	0.5773503	0.5773503	1.000000
50%	0.5773503	0.5773503	1.5275252	0.7071068	0.5773503	0.000000
75%	0.5773503	0.000000	0.000000	0.8164966	1.1547005	0.000000

```
> xtabs(~ concentration + souche, data=anova) # counts
souche
```

concentration	Aspergillus brasiliensis	Bacillus subtilis	Candida albicans	E.coli	Pseudomonas aeruginosa	Staphylococcus aureus
1/12	3	3	3	3	3	3
1/2	3	3	3	3	3	3
1/4	3	3	3	3	3	3
1/8	3	3	3	3	3	3
100%	3	3	3	3	3	3
25%	3	3	3	3	3	3
50%	3	3	3	2	3	3
75%	3	3	3	4	3	3

Annexe 4

Classes de toxicité : Échelle de Hodge et Sterner

Tableau 1 : Classes de toxicité : Échelle de Hodge et Sterner					
		Voies d'administration			
		DL ₅₀ orale	CL ₅₀ Inhalation	DL ₅₀ cutanée	
Indice de toxicité	Terme couramment utilisé	(une seule dose à des rats) mg/kg	(exposition de rats pendant 4 heures) ppm	(une seule application sur la peau des lapins) mg/kg	Dose probablement létale chez les humains
1	Extrêmement toxique	1 ou moins	10 ou moins	5 ou moins	1 grain (une pincée, une goutte)
2	Hautement toxique	1 à 50	10 à 100	5 à 43	4 mL (1 c. à thé)
3	Modérément toxique	50 à 500	100 à 1000	44 à 340	30 mL (1 on. liquide)
4	Légèrement toxique	500 à 5000	1000 à 10 000	350 à 2810	600 mL (chopine)
5	Presque pas toxique	5000 à 15 000	10 000 à 100 000	2820 à 22 590	1 litre (ou 1 pinte)
6	Relativement inoffensif	15 000 ou plus	100 000	22 600 ou plus	1 litre ou 1 pinte)

Annexe 5

BMC avec les 9 blocks

<p>Partenaires clés</p> <ul style="list-style-type: none"> - Biologiques, y compris les fournisseurs d'huile essentielle de clou de girofle. - Pharmacies et magasins spécialisés dans les produits naturels en Algérie pour la distribution du bain de bouche. - Fournisseurs d'ingrédients. - Professionnels de la santé bucco-dentaire pour recommander le produit à leurs patients. 	<p>Activités Clés</p> <ul style="list-style-type: none"> - Recherche et développement pour améliorer constamment la formule du bain de bouche et explorer de nouvelles utilisations de l'huile essentielle de clou de girofle. - Fabrication d'un bain de bouche dans des conditions hygiéniques et conformes aux réglementations en vigueur. - Marketing et promotion du produit pour sensibiliser le public à ses avantages et augmenter les ventes. <p>Ressources clés</p> <ul style="list-style-type: none"> - Fournisseurs d'huile essentielle de clou de girofle biologique. - Laboratoire de fabrication pour produire le bain de bouche conformément aux normes de qualité. - Équipe d'experts en aromathérapie ou de professionnels de la santé bucco-dentaire pour garantir l'efficacité du produit. 	<p>Propositions de valeur</p> <ul style="list-style-type: none"> - une lotion parapharmaceutique qui est un bain de bouche naturel à base d'huile essentielle extraite d'une plante médicinale clou de girofle pour soulager, prévenir des maladies bucco-dentaires et favoriser la santé bucco-dentaire. - Produit biologique et respectueux de l'environnement, répondant à la demande croissante de produits naturels en Algérie. - Solution efficace pour maintenir une bonne hygiène bucco-dentaire et prévenir des problèmes buccaux gênant quotidiennement. 	<p>Relation Client</p> <ul style="list-style-type: none"> - Fournir des informations détaillées sur les bienfaits du bain de bouche à base d'huile essentielle de clou de girofle et des conseils pour son utilisation optimale à fin d'avoir des résultats efficaces. - Répondre aux questions des clients se fera par le biais d'un service client très actif via le site web, les réseaux sociaux ou par téléphone. - Mettre en place un programme de fidélité pour récompenser les clients réguliers et renforcer la fidélité à la marque. <p>Canaux</p> <ul style="list-style-type: none"> - Vente en ligne via un site web dédié, offrant la possibilité de commander et de livrer le produit dans toute l'Algérie rapidement. - Distribution à travers des partenariats avec des pharmacies et des magasins spécialisés dans les produits naturels et bio. - Possibilité de vendre directement lors d'événements ou de salons axés sur la santé et le bien-être en Algérie. 	<p>Clients</p> <ul style="list-style-type: none"> - Toutes personnes souffrantes de maladies bucco-dentaires à cause d'une mauvaise hygiène bucco-dentaire, y compris les adultes et les enfants à partir de 3 ans. - Toutes Personnes intéressées par les produits bio et efficace en Algérie. - Toutes Personnes soucieuses d'avoir une bonne hygiène bucco-dentaire, et prévenir d'autres maladies plus grave.
<p>Coûts</p> <ul style="list-style-type: none"> - Coûts d'approvisionnement en ingrédients biologiques de haute qualité. - Coûts de fabrication et d'emballage du bain de bouche. - Dépenses marketing pour promouvoir le produit. - Frais de distribution et de logistique. - Coûts liés au développement et à la maintenance du site web et du service client en ligne. 		<p>Revenus</p> <ul style="list-style-type: none"> - Vente directe du bain de bouche à base d'huile essentielle de clou de girofle via le site web (B to C). - Accords de distribution avec des pharmacies et des magasins spécialisés, avec une marge bénéficiaire prévue (B to B). - Possibilité de proposer des offres complémentaires, telles que des kits de soins bucco-dentaires ou des produits connexes, pour augmenter les revenus. 		

Annexe 6

Les quatre axes de BMC

Premier axe : Présentation du projet

1.1. L'idée de projet

L'idée de ce projet est de développer et commercialiser un bain de bouche à base d'huile essentielle de clou de girofle offrant une solution naturelle et efficace pour une bonne santé bucco-dentaire. Nous sommes motivés par la nécessité de proposer une alternative sûre et pratique aux produits conventionnels du marché, en utilisant les bienfaits de l'huile essentielle du Clou de girofle.

Notre approche consiste à formuler une lotion pharmaceutique contenant une concentration optimale d'huile essentielle du Clou de girofle, extraite par distillation à la vapeur. Cette huile essentielle est reconnue pour ses propriétés antimicrobiennes, antifongiques, anti-oxydante et anti-inflammatoires, qui contribuent à maintenir une cavité buccale saine.

Le processus de fabrication de notre bain de bouche comprendra des étapes telles que l'extraction de l'huile essentielle, la mesure de ses propriétés physiques, l'évaluation de son activité antimicrobienne, la formulation de la lotion avec des excipients appropriés et pharmaceutiquement acceptable, enfin, son conditionnement dans des récipients adaptés pour une utilisation pratique.

Nous investirons dans les équipements nécessaires pour garantir la qualité et la sécurité de notre produit, en respectant les normes pharmaceutiques et réglementaires les plus strictes. Notre objectif est de fournir aux consommateurs une lotion de bain de bouche efficace, sûre et facile à utiliser, tout en offrant des avantages tels que l'effet antifongique et anti-inflammatoire.

En développant ce bain de bouche, nous souhaitons également promouvoir l'utilisation d'ingrédients naturels et respectueux de l'environnement, en contribuant à une meilleure santé bucco-dentaire sans compromettre la sécurité des utilisateurs ni l'écosystème.

L'objectif final de notre projet est de proposer une solution complémentaire au brossage des dents, offrant une alternative naturelle et efficace pour une hygiène buccale idéal. Nous croyons fermement que notre innovation contribuera à améliorer la santé bucco-dentaire des individus tout en favorisant la sensibilisation à l'importance des soins buccaux quotidiens.

1.2. Les valeurs proposées

Notre lotion de bain de bouche se distingue par plusieurs valeurs essentielles :

- **Efficacité** : Notre produit est spécialement formulé pour offrir une activité antimicrobienne, antifongique, anti-oxydante et anti-inflammatoire. En incorporant une concentration optimale d'huile essentielle du Clou de girofle, notre lotion vise à promouvoir une cavité buccale saine en réduisant la présence de bactéries et de champignons indésirables. Nous nous engageons à fournir une solution efficace pour une bonne santé bucco-dentaire.

- **Naturalité** : Nous accordons une grande importance à l'utilisation d'ingrédients naturels et respectueux de l'environnement dans notre lotion de bain de bouche. En choisissant l'huile essentielle du Clou de girofle extraite par distillation à la vapeur, nous privilégions une approche naturelle et durable pour les soins bucco-dentaires. Notre produit est exempt de substances chimiques agressives, offrant ainsi une alternative naturelle aux consommateurs.

- **Sécurité** : Nous nous engageons à garantir la sécurité de nos utilisateurs en respectant les normes pharmaceutiques et réglementaires les plus strictes lors de la fabrication de notre lotion de bain de bouche. Les excipients pharmaceutiquement acceptables que nous utilisons sont choisis pour assurer la stabilité et la biodisponibilité du bain de bouche, tout en garantissant une compatibilité optimale avec la cavité buccale.

- **Qualité** : Nous investissons dans des équipements de pointe et des procédures de contrôle de qualité rigoureuses pour assurer la qualité constante de notre bain de bouche. Nous nous engageons à fournir un produit de haute qualité qui répond aux attentes des consommateurs en matière d'efficacité et de sécurité.

- **Respect de l'environnement** : En utilisant des ingrédients naturels et en favorisant des pratiques durables, nous contribuons à la préservation de l'environnement. Notre approche respectueuse de l'écosystème garantit que notre lotion de bain de bouche ne compromet pas la santé de la planète.

1.3. Equipe de travail

L'équipe du projet est composée de :

BOULAHROUF Khaled : Enseignant-chercheur au département de microbiologie de l'université de Constantine 1, le porteur d'idée apporte son expertise dans le domaine de la microbiologie et joue un rôle clé dans la direction et la supervision du projet, veillant à son bon déroulement global.

NOM et Prénoms des étudiantes :

- BENKHENNOUF Nour El Houda Doria
- KAOUECHE Raounek

1.4. Objectifs du projet

Les objectifs de notre projet de bain de bouche sont les suivants :

- **Développer un bain de bouche efficace** : Notre premier objectif est de formuler une lotion qui présente une activité antimicrobienne, antifongique, anti-oxydante et anti-inflammatoire, contribuant ainsi à maintenir une cavité buccale saine. Nous nous efforçons de fournir un produit qui aide à réduire la présence de bactéries et de champignons indésirables, favorisant ainsi une bonne santé bucco-dentaire.

- **Assurer la sécurité et la qualité du produit** : Nous mettons l'accent sur la sécurité et la qualité de notre bain de bouche. Nous nous engageons à respecter les normes pharmaceutiques et réglementaires les plus strictes lors de sa fabrication. Notre objectif est de garantir l'utilisation d'ingrédients sûrs et de maintenir des procédures de contrôle de qualité rigoureuses pour assurer la fiabilité et la constance du produit.

- **Sensibiliser à l'importance de l'hygiène bucco-dentaire** : Nous souhaitons sensibiliser les consommateurs à l'importance de l'hygiène bucco-dentaire et de l'utilisation d'une lotion de bain de bouche efficace. Nous visons à éduquer sur les avantages de notre produit et à encourager de bonnes pratiques d'hygiène bucco-dentaire pour prévenir les problèmes buccaux et promouvoir une bonne santé globale.

- **Répondre aux besoins des consommateurs** : Notre objectif est de proposer une solution adaptée aux besoins des consommateurs en matière de soins bucco-dentaires. Nous nous efforçons de formuler un bain de bouche qui répond aux attentes en termes d'efficacité, de naturalité, de sécurité et de qualité. Nous cherchons à offrir un produit qui soit pratique à utiliser et qui apporte une sensation de fraîcheur et de propreté.

- **Contribuer au développement durable** : Nous nous engageons à adopter des pratiques respectueuses de l'environnement tout au long du processus de fabrication et de distribution de notre bain de bouche. Nous visons à minimiser notre empreinte écologique en favorisant l'utilisation d'ingrédients naturels et durables, ainsi que des emballages respectueux de l'environnement.

1.5. Calendrier de réalisation du projet

Phase 1 : Recherche et développement (durée estimée : 6 mois) (déjà réalisé)

- **Mois 1** : Recherche sur les propriétés de l'huile essentielle du clou de girofle et l'identification des excipients pharmaceutiquement acceptables.

- **Mois 2** : Extraction de l'huile essentielle du clou de girofle et évaluation de son rendement d'extraction.

- **Mois 3** : Mesure de la densité, de l'indice de réfraction et du pH de l'huile essentielle.

- **Mois 4** : Évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle contre les bactéries, les levures et les champignons.

- **Mois 5** : utilisation de la CGMS pour analyser la composition chimique et garantir sa conformité aux spécifications et Réalisation d'études toxicologiques pour déterminer la DL50 (Dose Létale 50) de la lotion. Cela implique des tests sur des modèles animaux pour évaluer la toxicité potentielle du produit.

- **Mois 6** : Formulation de la lotion en mélangeant l'huile essentielle avec les excipients appropriés
Tests de stabilité et d'efficacité de la lotion formulée.

Phase 2 : Production à grande échelle (durée estimée : 3 mois)

- **Mois 7-9** : Acquisition des équipements de production nécessaires et mise en place des procédures de fabrication.

- Mois 10-11 : Production pilote pour valider les processus de fabrication et les contrôles de qualité.

- Mois 12 : Transition vers une production à grande échelle et préparation de la commercialisation.

Phase 3 : Commercialisation et sensibilisation (durée estimée : en continu)

- **Mois 13 et suivants** : Lancement du produit sur le marché, promotion et sensibilisation à travers des campagnes de marketing et de communication.

- **Mois 18 et suivants** : Suivi des retours clients, ajustements éventuels de la formulation en fonction des commentaires et des besoins des utilisateurs.

- **Mois 24 et suivants** : Expansion de la distribution, partenariats avec des professionnels de la santé bucco-dentaire et participation à des événements de l'industrie pour renforcer la visibilité du produit.

2. Deuxième axe : Aspects innovants

2.1. Nature des innovations

Notre bain de bouche présente plusieurs aspects innovants qui la distinguent des produits existants sur le marché. Voici les principales caractéristiques innovantes de notre lotion :

- Formule à base d'huile essentielle de clou de girofle : Notre bain de bouche est formulé avec une huile essentielle de clou de girofle spécialement sélectionnée pour ses propriétés antimicrobiennes. Le clou de girofle est reconnu pour ses effets bénéfiques sur la santé bucco-dentaire, notamment en combattant les bactéries responsables de la mauvaise haleine et en favorisant une meilleure hygiène buccale.

- Effet apaisant et rafraîchissant : L'huile essentielle de clou de girofle utilisée dans notre bain de bouche offre un effet apaisant et rafraîchissant à la fois. Elle procure une sensation agréable en bouche, aidant à soulager les irritations, les inflammations et les sensations de gêne.

- Action antibactérienne et antifongique : Grâce à ses propriétés antimicrobiennes, notre bain de bouche contribue à réduire la présence de bactéries et de champignons dans la cavité buccale. Cela aide à prévenir les infections buccales et à maintenir une flore buccale saine.

- Formule naturelle et respectueuse de l'environnement : Nous accordons une grande importance à l'utilisation d'ingrédients naturels et respectueux de l'environnement dans notre bain de bouche. En évitant les ingrédients chimiques agressifs, nous proposons une alternative plus douce et plus écologique pour la santé bucco-dentaire.

- Sans colorants artificiels : Notre bain de bouche est formulée sans colorants artificiels. Cela la rend adaptée aux personnes ayant une sensibilité aux produits contenant de l'alcool et contribue à une expérience buccale plus douce et naturelle.

- Goût agréable et rafraîchissant : Nous avons sélectionné des ingrédients naturels pour offrir un goût agréable et rafraîchissant à notre bain de bouche. Cela ajoute une sensation de fraîcheur à l'expérience du bain de bouche, la rendant plus plaisante et incitant à une utilisation régulière.

2.2. Domaine d'innovation

Le domaine d'innovation de notre bain de bouche se situe dans le domaine de la santé bucco-dentaire et de l'hygiène buccale. Nous apportons une approche novatrice en utilisant une formule naturelle à base d'huile essentielle de clou de girofle, qui présente des propriétés antimicrobiennes et contribue à maintenir une bonne santé buccale.

En intégrant cette huile essentielle spécifique dans notre bain de bouche, nous offrons une alternative naturelle et efficace pour lutter contre les bactéries responsables de la mauvaise haleine, des irritations buccales et des problèmes de santé bucco-dentaire. Cette approche novatrice permet de favoriser une hygiène buccale optimale tout en apportant une sensation apaisante et rafraîchissante.

Notre domaine d'innovation s'étend également à l'utilisation d'ingrédients naturels et respectueux de l'environnement, ainsi qu'à la formulation sans colorants artificiels. En proposant une solution de bain de bouche qui combine efficacité, naturalité et respect de l'environnement, nous répondons aux attentes croissantes des consommateurs en matière de produits d'hygiène bucco-dentaire.

3. Troisième axe : Analyse stratégique du marché

3.1. Le segment du marché

Le segment du marché ciblé par notre bain de bouche est celui des produits d'hygiène buccale et des soins dentaires. Ce segment englobe les consommateurs soucieux de leur santé bucco-dentaire et à la recherche de produits efficaces et naturels pour compléter leur routine de soins buccaux.

Dans ce segment, il existe une demande croissante pour des solutions naturelles et respectueuses de l'environnement, sans compromettre l'efficacité et la performance. Les

consommateurs sont de plus en plus conscients des ingrédients utilisés dans les produits d'hygiène buccale et cherchent des alternatives naturelles aux produits conventionnels qui peuvent contenir des agents chimiques agressifs.

De plus, la sensibilisation à l'importance de l'hygiène buccale et de la santé bucco-dentaire est en augmentation, ce qui crée des opportunités sur le marché. Les consommateurs recherchent des produits qui offrent des bénéfices supplémentaires tels que l'action antimicrobienne, l'effet apaisant ou rafraîchissant, et qui répondent à leurs besoins spécifiques.

Notre lotion de bain de bouche se positionne comme une solution innovante répondant à ces attentes du marché. En offrant une formule à base d'huile essentielle de clou de girofle, nous nous distinguons en proposant un produit naturel, efficace et respectueux de l'environnement. De plus, notre lotion offre des avantages tels que l'activité antimicrobienne, l'effet apaisant et rafraîchissant, ce qui la rend attrayante pour les consommateurs à la recherche d'une alternative naturelle pour leur hygiène buccale.

En analysant le segment du marché des produits d'hygiène buccale, nous identifions une opportunité de croissance pour notre lotion de bain de bouche en répondant aux besoins des consommateurs en quête de solutions naturelles et efficaces pour maintenir une bonne santé bucco-dentaire.

3.2. Mesure de l'intensité de la concurrence

En Algérie et même en Afrique, le marché des bains de bouche est dominé par des marques proposant des produits traditionnels à base de composants chimiques. Ces concurrents bénéficient d'une présence bien établie sur le marché et d'une base de clients fidèles.

Cependant, notre bain de bouche se démarque par son approche innovante et ses nombreux avantages pour la santé bucco-dentaire. Notre produit se compose d'une formule entièrement naturelle, sans agents chimiques agressifs, ce qui en fait une alternative plus sûre et respectueuse de l'environnement.

De plus, notre lotion de bain de bouche offre des propriétés antimicrobiennes puissantes grâce à l'incorporation d'huile essentielle de clou de girofle, reconnue pour ses propriétés antibactériennes et rafraîchissantes. Elle aide à combattre les bactéries responsables de la mauvaise haleine, de la plaque dentaire et des problèmes de gencives.

Notre produit se distingue également par son goût agréable et rafraîchissant, qui offre une sensation de propreté et de fraîcheur durable après chaque utilisation.

En proposant une lotion de bain de bouche naturelle, efficace et agréable à utiliser, nous répondons à la demande croissante des consommateurs en quête de solutions bucco-dentaires plus saines. Nous cherchons à sensibiliser le marché aux bénéfices de notre produit, tout en offrant une alternative de qualité supérieure aux bains de bouche traditionnels présents sur le marché actuel.

3.3. La stratégie marketing

- Communication axée sur les avantages

Nous mettrons en avant les principaux avantages de notre bain de bouche, tels que son action rafraîchissante, son efficacité contre la mauvaise haleine, son pouvoir antibactérien et sa contribution à une meilleure santé bucco-dentaire. Nous communiquerons sur les résultats tangibles que nos clients peuvent obtenir en utilisant notre produit, en mettant l'accent sur l'amélioration de leur confiance en soi et de leur hygiène buccale globale.

- Campagnes de sensibilisation à la santé bucco-dentaire

Nous développerons des campagnes de sensibilisation pour informer les consommateurs sur l'importance d'une bonne hygiène bucco-dentaire et sur les risques associés à une mauvaise santé buccale. Nous fournirons des conseils pratiques et des informations éducatives sur la prévention des caries, des gingivites et d'autres problèmes dentaires, tout en positionnant notre bain de bouche comme un outil efficace pour maintenir une bouche saine.

- Recommandations professionnelles

Nous collaborerons avec des professionnels de la santé bucco-dentaire tels que les dentistes, les hygiénistes dentaires et les orthodontistes pour recommander notre bain de bouche à leurs patients. Nous fournirons des échantillons gratuits et des informations détaillées sur les avantages de notre produit aux professionnels de la santé, afin qu'ils puissent les partager avec leurs patients et les encourager à l'inclure dans leur routine d'hygiène buccale.

- Marketing digital

Nous utiliserons les plates-formes en ligne telles que les sites web, les médias sociaux et les blogs spécialisés pour promouvoir notre bain de bouche. Nous créerons du contenu informatif et engageant sur les problèmes bucco-dentaires courants, les conseils d'hygiène buccale et les

avantages de notre produit. Nous interagissons avec notre communauté en répondant à leurs questions, en partageant des témoignages positifs et en offrant des promotions exclusives pour encourager l'achat.

- **Packaging attrayant et informations claires**

Nous veillerons à ce que notre emballage soit attrayant et reflète les valeurs de notre marque. Nous fournirons des informations claires sur les ingrédients, les instructions d'utilisation et les résultats attendus. Nous mettrons en évidence les certifications et les labels de qualité pour renforcer la confiance des consommateurs dans notre produit.

- **Évaluation des résultats et ajustements**

Nous suivrons de près les performances de notre stratégie marketing en analysant les ventes, les retours clients et les retombées médiatiques. Nous effectuerons des enquêtes de satisfaction et recueillerons les commentaires des consommateurs pour améliorer continuellement notre produit et notre stratégie marketing.

4. Quatrième axe : Plan de production et d'organisation

4.1. Le processus de production

Voici le processus de production proposé pour le développement de notre solution de bain de bouche à base d'huiles essentielles de clou de girofle :

- **Extraction des huiles essentielles** : Les huiles essentielles seront extraites des graines du clou de girofle par hydrodistillation de type Clevenger. Ce processus permettra de récupérer les composés volatils présents dans la plante.

- **Détermination du rendement** : Le rendement en huile essentielle sera évalué pour mesurer l'efficacité de l'extraction. Cette étape permettra de quantifier la quantité d'huile essentielle obtenue par rapport à la quantité de matière végétale utilisée.

- **Caractérisation des propriétés** : Les propriétés de l'huile essentielle de clou de girofle seront caractérisées. Cela inclura l'analyse de sa composition chimique, de ses propriétés physiques et de ses activités biologiques potentielles.

- **Test d'activité antimicrobienne** : Des tests seront réalisés pour évaluer l'activité antimicrobienne des échantillons d'huiles essentielles étudiées. Ces tests permettront de déterminer leur efficacité contre les bactéries et les champignons responsables des infections

buccales.

-Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CGMS) : Cette technique sera utilisée pour analyser en détail la composition chimique des huiles essentielles. Elle permettra d'identifier les différents composés présents et de quantifier leur concentration.

- Évaluation de la toxicité aiguë : La toxicité aiguë de l'huile essentielle de clou de girofle sera évaluée en déterminant la dose létale (DL50). Cette étape permettra de garantir la sécurité d'utilisation de notre produit.

- Développement de la solution de bain de bouche : En se basant sur les résultats obtenus, une solution de bain de bouche sera développée en utilisant l'huile essentielle étudiée. Cette solution sera formulée de manière à offrir une efficacité antimicrobienne tout en étant sûre et agréable à utiliser.

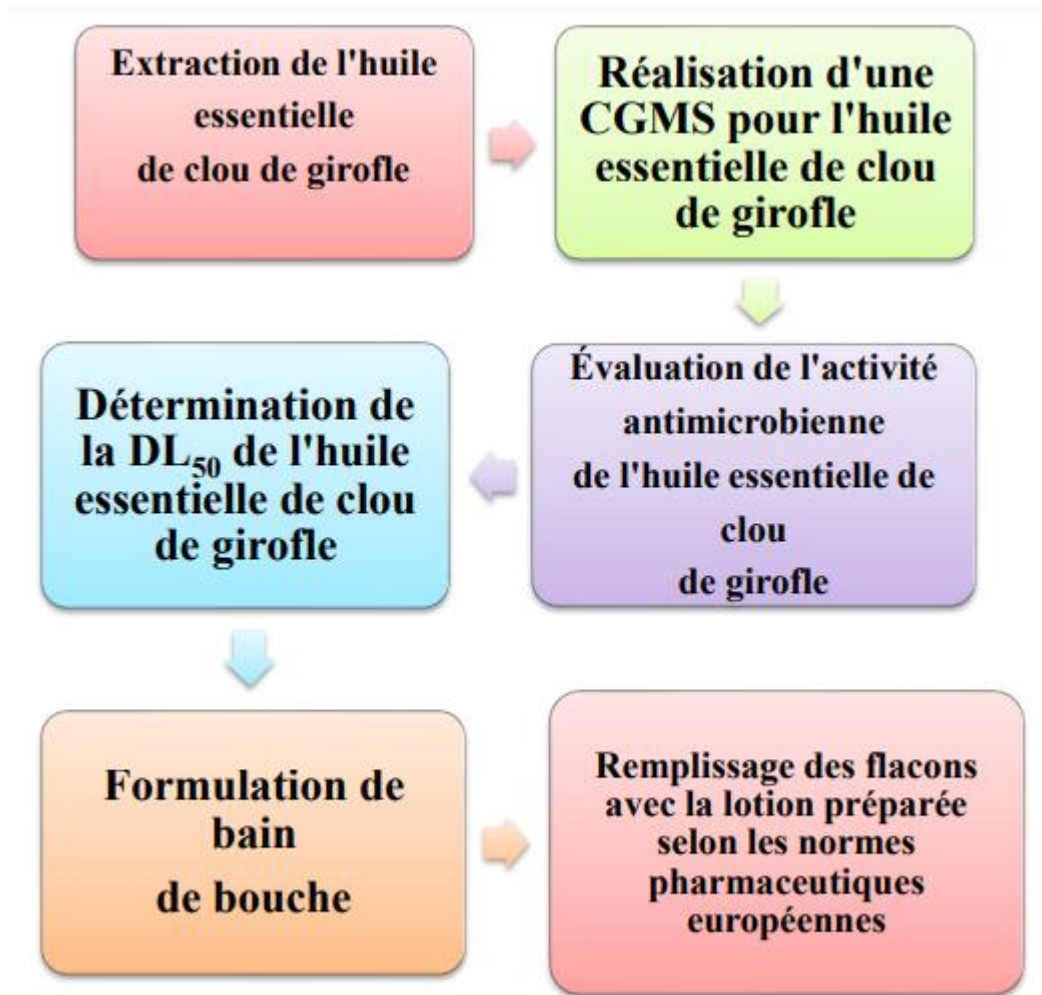


Figure : Étapes Expérimentales de la fabrication du bain de bouche

4.2. La main d'œuvre

Notre projet créera une vingtaine d'emploi au début et au fur et à mesure que l'entreprise va prospérer, la demande de main d'œuvre augmentera. Pour chaque poste, il faut une certaine qualification en rapport avec le poste, à fin d'éliminer le taux de chômage.

4.3. Les principaux partenaires

Nos partenaires les plus importants sont :

- Les agences de financement

- Incubateur de l'université de Constantine 1
- Agences de marketing
- Agences publicitaires

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Mycologie et Biotechnologie Fongique

Titre

Évaluation de l'activité antimicrobienne d'huile essentielle extraite de clou de girofle, et élaboration d'une lotion pharmaceutique (Bain de bouche)

Résumé

Syzygium aromaticum, communément appelé clou de girofle, est une plante appartenant à l'ordre des Myrtales et à la famille des Myrtacées. Il est également répertorié parmi les plantes aromatiques médicinales (PAM) et est connu sous le nom de "*koronfol*" en Algérie. Les huiles essentielles (HE) sont des composés extraits des plantes aromatiques qui possèdent des propriétés thérapeutiques grâce à leurs activités biologiques. L'objectif de notre étude était de valoriser l'huile essentielle de clou de girofle. Pour ce faire, nous avons extrait l'huile essentielle à partir d'échantillons de clous de girofle achetés chez un herboriste à la rue de chevalier, wilaya de Constantine, en mars 2023. L'extraction a été réalisée par hydrodistillation (type Clevenger) et le rendement de l'huile essentielle a été estimé à 1,18% selon les normes de l'AFNOR. Nous avons également évalué la qualité de l'huile essentielle en suivant les normes de l'AFNOR. Une analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/MS) a permis d'identifier 14 composés dans l'huile essentielle, dont quatre se sont révélés être les principaux et dominants : l'eugénol (67,1022%), le trans-caryophyllène (23,0672%), l'acétyleugénol (3,5904%) et l' α -caryophyllène (2,9272%). Nous avons ensuite étudié les activités biologiques de l'huile essentielle, en particulier son activité antimicrobienne, en utilisant la méthode de diffusion des disques sur gélose contre six souches microbiennes : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* et *Aspergillus brasiliensis*. Les résultats ont démontré un large spectre d'action de l'huile essentielle contre toutes les souches testées, avec des diamètres d'inhibition variant de 8 à 20 mm pour les bactéries et de 20 à 30 mm pour les champignons. Différentes concentrations d'huile essentielle ont été testées (100%, 75%, 50% et 25%, 1/2, 1/4, 1/12) pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI). La CMI a été estimée à une valeur de 0,5 mg/ml. Nous avons également évalué la toxicité de l'huile essentielle de clou de girofle en réalisant un test de toxicité aiguë (DL_{50}) sur des souris albinos. Les résultats ont montré une légère toxicité, avec une DL_{50} estimée à 200 mg/kg. En conclusion, notre étude met en évidence l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de clou de girofle, qui dépend des caractéristiques physico-chimiques et de la composition de l'huile, ainsi que des souches microbiennes testées. Dans le but d'une utilisation quotidienne pour les soins bucco-dentaires, notre objectif est de développer une lotion pharmaceutique (bain de bouche) à base de cette huile essentielle.

Mots clés : *Syzygium aromaticum*, Huile essentielle, Activité antimicrobienne, CG/MS, Bain de Bouche.

Membre du jury :

Encadreur : Dr. BOULAHROUF KHALED (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Président : Dr. BENKAHOUL MALIKA (MCA- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur : Dr. ABDELAZIZ WIDED (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Incubateur : Pr. BELIL INES (Professeur - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

CATI : Dr. BETTINA SOUMEYA (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

SECTEUR SOCIO-ECONOMIQUE : BENLATRECHE SALIMA (Catalyse Lab).

Présentée par :

BENKHENOUF NOUR EL HOUDA DORIA

KAOUACHE RAOUNEK

Année universitaire : 2022-2023