

Potentiel antimicrobien de l'huile essentielle extraite de clous de girofle (*Syzygium aromaticum* L. Merr. et Perry) vendus dans les épiceries de Kinshasa en République Démocratique du Congo

Nsimaketo Victor Héritier VAWAZOLA^{1*}, Eder Eder MAZINA¹, Mabiala Isaac MBADU¹,
Thasur Eric KIMBEMUKEN¹, Kamari Angélique FEZA¹, Vumilia Roger KIZUNGU²
et Ndyanabo Jude-Thaddée MASIMANGO¹

¹ Université de Kinshasa, Faculté des Sciences Agronomiques et Environnement, Laboratoire de Microbiologie, BP 117 Kinshasa XI, République Démocratique du Congo

² Université de Kinshasa, Faculté des Sciences Agronomiques et Environnement, BP 117 Kinshasa XI, République Démocratique du Congo

(Reçu le 27 Décembre 2024 ; Accepté le 28 Janvier 2025)

* Correspondance, courriel : victor.vawazola@unikin.ac.cd

Résumé

La présente étude a pour but d'évaluer le potentiel antimicrobien de l'huile essentielle extraite de clous de girofle (*Syzygium aromaticum* L. Merr. et Perry) vendus dans les épiceries de Kinshasa. Pour ce faire, la technique d'extraction par hydrodistillation, les techniques de disque de diffusion sur milieu solide et de macro dilution en bouillon modifié suivie d'un ensemencement dans un milieu gélosé exempt d'huile essentielle ont été utilisées. La dynamique d'antagonisme de la croissance de deux souches fongiques est modélisée par la fonction $nlm()$ du logiciel R. Les résultats montrent que l'huile essentielle, extraite de clous de girofle avec le rendement de 1,36 % possède un potentiel bactéricide sur *Escherichia coli* et de *Staphylococcus aureus*; elle manifeste par contre un potentiel fongicide sur *Fusarium oxysporum* et un potentiel fongistatique sur *Aspergillus flavus*. La dynamique d'antagonisme de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* sur la croissance de 2 souches fongiques est différente. L'huile essentielle de clous de girofle vendus dans les épiceries de Kinshasa détient un potentiel antimicrobien considérable.

Mots-clés : huile essentielle, clou de girofle, épicerie, potentiel antimicrobien, dynamique d'antagonisme.

Abstract

Antimicrobial potential of essential oil extracted from cloves (*Syzygium aromaticum* L. Merr. et Perry) sold in grocery stores of Kinshasa in the Democratic Republic of Congo

The aim of the present study was to evaluate the antimicrobial potential of essential oil extracted from cloves (*Syzygium aromaticum* L. Merr. et Perry) sold in grocery stores in Kinshasa. For this purpose, the hydrodistillation extraction technique, the diffusion disk techniques on solid media and macro dilution in modified broth followed by inoculation in agar medium free of essential oil were used. The growth antagonism dynamics of two fungal strains were modeled using the $nlm()$ function in R software. The results

show that the essential oil extracted from cloves with a yield of 1.36 % has bactericidal potential on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* ; on the other hand, it has fungicidal potential on *Fusarium oxysporum* and fungistatic potential on *Aspergillus flavus*. The dynamics of antagonism of *Syzygium aromaticum* essential oil on the growth of 2 fungal strains is different. The essential oil of cloves sold in grocery stores in Kinshasa has considerable antimicrobial potential.

Keywords : *essential oil, clove, grocery store, antimicrobial potential, antagonism dynamics.*

1. Introduction

Les plantes médicinales et aromatiques ont des vertus thérapeutiques connues depuis l'antiquité. Elles sont utilisées dans toutes les pathologies et sont devenues l'une de principales voies d'accès aux soins de santé. Néanmoins l'intérêt accordé à leur étude scientifique sur leur pouvoir n'a augmenté que durant ces dernières années dans l'optique de rechercher des alternatives aux antibiotiques et aux substances chimiques nocifs aussi bien pour la santé humaine que pour l'environnement [1 - 3]. L'usage excessif de ces molécules à grande échelle peut participer à l'émergence de micro-organismes multirésistants, qui constitue un sérieux problème dans le traitement des maladies infectieuses et la détérioration de la qualité hygiénique des produits agricole et alimentaire [4]. Il peut aussi induire la production de toxines et la pollution des sols et des eaux, avec présence probable de leurs résidus dans les produits agricoles [5 - 6]. Certains auteurs estiment que, eu égard aux méfaits liés à l'usage de conservateurs conventionnels utilisés en agroalimentaire, aux pesticides chimiques et autres produits de synthèse sur la santé humaine et animale, sur les végétaux et sur l'environnement, les huiles essentielles peuvent être des candidates sérieuses à leur substitution [7 - 11]. En effet, les plantes aromatiques sont caractérisées par la biosynthèse de molécules bioactives odorantes (notamment les huiles essentielles). Elles ont, selon nombreuses études, une action inhibitrice [5], parfois létale, sur la croissance microbienne et la toxino-génèse de plusieurs bactéries et champignons responsables de toxi-infections alimentaires [12, 13]. Le clou de girofle est le produit de récolte du giroflier (*Syzygium aromaticum*), plante aromatique et médicinale. Il est très utilisé en médecine traditionnelle, en agriculture, en agroalimentaire et en cosmétique. C'est une épice utilisée depuis longtemps pour la conservation des aliments et pour les traitements de diverses affections dont respiratoires et digestives, le rhume, la grippe, les caries dentaires [1, 4, 8, 14]. Il possède des propriétés biologiques et pharmacologiques intéressante lui conférant des usages multiples. Ce sont des propriétés antimicrobienne, antioxydante, insecticide, anti-inflammatoire, analgésique, anesthésique, antinociceptive, anticancéreuse, antiparasitaire, larvicide [3, 8, 14 - 22]. Ses boutons floraux (appelés clous de girofle) contiennent l'huile essentielle dont les constituants phytochimiques principaux sont : l'eugénol, l'acétate d'eugénol, le β -caryophyllène, l' α -humulène et plusieurs autres constituants minoritaires [3, 4, 7, 8, 14, 16, 23]. C'est de la synergie de ces constituants majoritaires et minoritaires que découlent les propriétés biologiques et pharmacologiques exceptionnelles ci-haut citées de l'huile essentielle de clous de girofle. Compte tenu du fait que les clous de girofle commercialisés à Kinshasa, capitale de la République Démocratique du Congo, soient importés et transportés dans des conditions méconnues, il est nécessaire d'explorer l'efficacité antimicrobienne de son huile essentielle sur 2 souches bactériennes (*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*) et 2 souches fongiques (*Aspergillus flavus* et *Fusarium oxysporum*), qui sont généralement impliquées dans la détérioration de qualité hygiénique et marchande des aliments et dans les toxi-infections alimentaires. La présente étude a pour objectif d'évaluer le potentiel antimicrobien de l'huile essentielle extraite de clous de girofle vendus les épicerie de Kinshasa sur la croissance de certaines souches microbiennes cosmopolites, précisément *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus flavus* et *Fusarium oxysporum*.

2. Matériel et méthodes

2-1. Matériel

Le matériel est constitué de clous de girofle obtenus dans les épiceries de Kinshasa. Il est composé aussi des souches microbiennes d'*Escherichia coli* ATCC 25922, de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, d'*Aspergillus flavus* et de *Fusarium oxysporum*.

2-2. Méthodes

2-2-1. Hydrodistillation

La préparation a consisté au tri, au lavage et au broyage de clou de girofle. La teneur en eau et en composés volatils (%ECOV ou humidité relative), est déterminée par séchage à l'étuve [11 - 13]. Elle correspond à la perte de masse subie par l'échantillon après chauffage dans une étuve à 105°C jusqu'au poids constant. La teneur en eau et composés volatils et la teneur en matière sèche ont été calculées. Une quantité de 1036,9 g de broyat de clous de girofle a été soumise à l'hydrodistillation pendant 2 à 3 heures. L'huile essentielle obtenue a été, par la suite, pesée et exprimée en grammes (M_{HE}) ; elle a été enfin conservée dans des flacons bruns (opaques) gardés à l'obscurité dans un réfrigérateur. Le rendement d'huile essentielle a été obtenu en calculant le rapport entre la masse de l'huile essentielle en gramme (M_{HE}) et la masse de la matière végétale sèche ou broyat sec en gramme (M_{VS}) ().

2-2-2. Méthode de disque de diffusion

La méthode de disque de diffusion a été utilisée par l'utilisation de la gélose de Mueller Hinton pour la détermination ou mise en évidence de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de clous de girofle [5, 11, 13, 24]. Deux cents cinquante microlitres (250 μ L) de chaque suspension bactérienne sous étude ont été ensemencés, par incorporation, dans différentes boîtes de Pétri stériles contenant 20 mL en milieu gélose Mueller Hinton stérilisé. Après solidification, un papier disque stérile de 6 mm de diamètre a été étalé sur le milieu solidifié, en boîte de Pétri, lequel ont été imbibés de 7,5 μ L de l'huile essentielle de clous de girofle dans les différentes boîtes de Pétri inoculées. L'expérience a été réalisée en 3 répétitions. Ces préparations en boîtes de Pétri ont été ensuite incubées pendant 24 heures à la température de 37°C. L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de clous de girofle a été évaluée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition (ZI) qui a été exprimé en millimètre.

2-2-3. Méthode de dilution d'agar

L'activité antifongique de l'huile essentielle de clous de girofle a été déterminée par la méthode de dilution d'agar ou méthode d'empoisonnement [11, 13, 25]. Des volumes précis d'huiles essentielle de clou de girofle ont été déposées, au préalable, dans des boîtes de pétri stériles et vides. Des volumes précis de la gélose de Sabouraud, en surfusion, ont été coulés dans ces différentes boîtes de Pétri dans le but d'obtenir 20 mL de préparation de concentrations respectives de 0, 0,01, 0,025, 0,05, 0,1, 0,25, 0,5 et 1 % (v/v) en huile essentielle. Après solidification du mélange, un volume de 7,5 μ L d'une suspension des spores de chaque souche fongique (*Aspergillus flavus* et *Fusarium oxysporum*) à tester a été ensemencé au centre de toutes les boîtes de Pétri contenant la gélose de Sabouraud contenant l'huile essentielle de clous de girofle aux différentes concentrations et de la boîte de Pétri témoin. Ces opérations ont été réalisées en 3 répétitions. Toutes les boîtes ainsi ensemencées ont été ensuite incubées à la température ambiante (27±2°C) pendant 7 jours. Chaque jour, le diamètre des différentes colonies formées a été mesuré et

exprimé en millimètre. L'activité antifongique a été évaluée, d'une part, par l'effet des concentrations croissantes de l'huile essentielle de clous de girofle sur la croissance mycélienne radiale de deux souches fongiques. Cet effet des concentrations croissantes sur les deux souches fongiques a été évalué quantitativement, durant 7 jours, par trois paramètres indépendants : (1) la taille ou la limite supérieure ou asymptotique (Asym), qui est le diamètre maximal pouvant être atteint. (2) le taux ou le temps nécessaire pour que la croissance prenne place (Xmid). S'il est petit, le phénomène est dit précoce sinon il est tardif. C'est le point d'inflexion de la courbe ou le temps nécessaire pour atteindre la moitié de la hauteur maximale. (3) la mesure ou la forme de l'étalement de la croissance dans le temps (1/Scal) qui est la pente au point d'inflexion. Elle traduit la vitesse de croissance. Ce phénomène est modélisé par la courbe logistique. L'estimation des paramètres de ce modèle non linéaire sont déterminés par le principe du moindre carré et par les fonctions nls(), et par la fonction SSlogis() du *logiciel R*. Sur chaque courbe, la situation observée jusqu'au 7^{ème} jour a été donnée, en plus d'une simulation de ce qui adviendrait jusqu'au 10^{ème} jour [25]. Et, d'autre part, par calcul du pourcentage d'inhibition de croissance de la souche fongique [11, 13, 25]

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{(C-T)}{C} * 100 \quad (1)$$

avec, *C* : diamètre moyen du mycélium de la souche sur la boîte de Pétri témoin (mm), et *T* : diamètre moyen du mycélium de la souche sur la boîte de Pétri traitée avec une concentration en huile essentielle (mm). Les spectres antifongiques ont été générés avec Excel 2013 en rapportant en abscisse les concentrations en huile essentielle et en ordonnée les pourcentages d'inhibition (%) correspondants de la croissance mycélienne.

2-2-4. Méthode de macro dilution suivie d'un ensemencement sur milieu gélosé exempt d'huile essentielle

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et les concentrations minimales bactéricide/fongicide (CMB/CMFc) ont été déterminées par la méthode de la macro dilution suivie d'un ensemencement sur milieu gélosé exempt d'huile essentielle [11, 13, 25 - 27]. Différentes préparations de 3 mL de volume ont été réalisées dans différents tubes à essai avec le BTS modifié (Bouillon Trypticase de Soja modifié par l'ajout de 0,2 % d'agar). L'inoculum (120 µL) et l'huile essentielle ont été ensuite incorporés dans ces tubes à essai en vue d'obtenir des préparations concentrées en 0,01, 0,025, 0,05, 0,1, 0,25, 0,5 et 1 % (v/v) d'huile essentielle. Après homogénéisation, les différents tubes à essai ont été incubés pendant 24 heures à 37°C pour les souches bactériennes et pendant 7 jours à la température ambiante pour les souches fongiques. Ensuite, une öse de chaque préparation contenue dans les différents tubes à essai a été ensemencée par stries respectivement au centre d'une boîte de Pétri stérile en milieu gélose Mueller Hinton exempte d'huile essentielle en 3 répétitions pour les souches bactériennes et en gélose de Sabouraud exempte d'huile essentielle en 3 répétitions pour les souches fongiques. Les boîtes de Pétri ainsi ensemencées ont été incubées à 37°C pendant 24 heures pour les souches bactériennes et pendant 7 jours à la température ambiante pour les souches fongiques.

2-2-5. Pouvoir bactériostatique, fongistatique ou bactéricide, fongicide

Le pouvoir bactériostatique/fongistatique ou bactéricide/ fongicide de l'huile essentielle de clous de girofle a été déterminé par le calcul du rapport CMB/CMI ou CMFc/CMI. Le pouvoir d'une huile essentielle est dit bactéricide/fongicide lorsque le rapport CMFc/CMI est inférieur ou égal à 4 ; en opposition, lorsque ce rapport est supérieur à 4, le pouvoir est dit bactériostatique/fongistatique [11, 13, 25 - 27].

3. Résultats

3-1. Rendement d'extraction de l'huile essentielle par hydro distillation

L'extraction par hydro distillation effectuée à partir de clous de girofle a conduit à l'obtention de l'huile essentielle ainsi qu'à la déduction du rendement en huile. Le **Tableau 1** donne la masse correspondante de la matière végétale sèche et celle d'huile essentielle obtenue ainsi que le rendement en huile essentielle extraite.

Tableau 1 : Masse de la matière végétale sèche (M_{VS}) et celle de l'huile essentielle (M_{HE}) obtenue et rendement en huile essentielle (Rdt_{HE})

Nom du végétal	M_{VS} (g)	M_{HE} (g)	Rdt_{HE} (%)
<i>Syzygium aromaticum</i>	1 036,9	14,1	1,36

3-2. Méthode de disque de diffusion

Les résultats des diamètres de la zone d'inhibition (ZI) formés sous l'effet de l'huile essentielle de clous de girofle sur les deux souches bactériennes sont consignés dans le **Tableau 2**.

Tableau 2 : Diamètres de la zone d'inhibition (ZI) formés sous l'effet de l'huile essentielle de clous de girofle sur les 2 souches bactériennes

Souches bactériennes	Diamètres (mm) de la zone d'inhibition			
	Boite 1	Boite 2	Boite 3	Moyenne
<i>Escherichia coli</i>	12	13,5	14,5	$13,3 \pm 1,30$
<i>Staphylococcus aureus</i>	13	12,5	13,5	$13 \pm 0,50$

3-3. Méthode de dilution d'agar

Les **Figures 1 et 2** montrent respectivement les courbes de croissance de deux souches fongiques sous l'effet des concentrations croissantes de l'huile essentielle extraite de clous de girofle ; alors que les **Tableaux 3 et 4** donnent l'évolution des paramètres de simulation de 2 souches fongiques sous l'effet de la même HE et les **Figures 3 et 4** donnent les spectres antifongiques de cette huile essentielle pour les deux souches fongiques pendant le temps d'incubation.

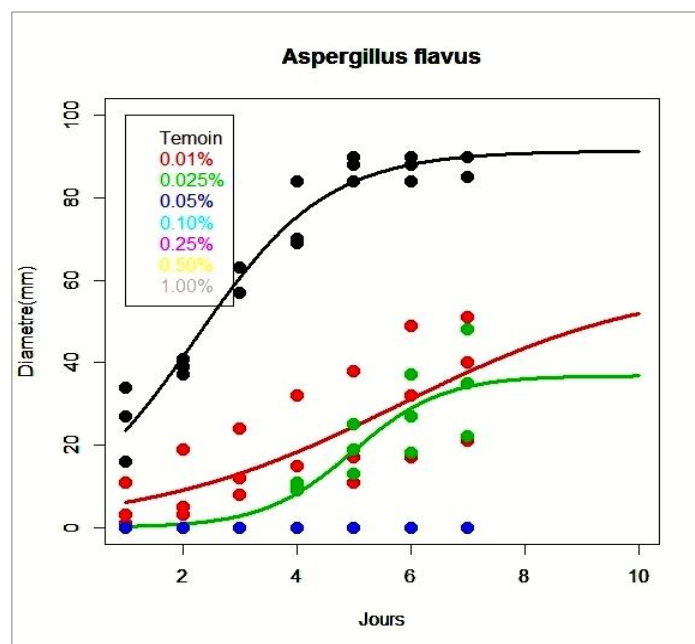


Figure 1 : Effet des concentrations croissantes de l'huile essentielle de clous de girofle sur la croissance radiale d'*A. flavus*

Tableau 3 : Évolution des paramètres ajustés de la croissance mycélienne de la souche d'*A. flavus* sous l'effet des concentrations croissantes de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*

Souche fongique	Concentration (% v/v) de l'H.E	Paramètres ajustés		
		Asym (mm)	Xmid (jour)	Scal (%)
<i>Aspergillus flavus</i>	0	91,34 ± 2,70***	2,22 ± 0,13***	1,15 ± 0,13***
	0,01	59,69 ± 66,72	5,82 ± 5,24	2,21 ± 1,75
	0,025	36,79 ± 6,25***	4,98 ± 0,43***	0,79 ± 0,29*

Légende : *** = Hautement significatif ; ** = Très significatif ; * = Significatif.

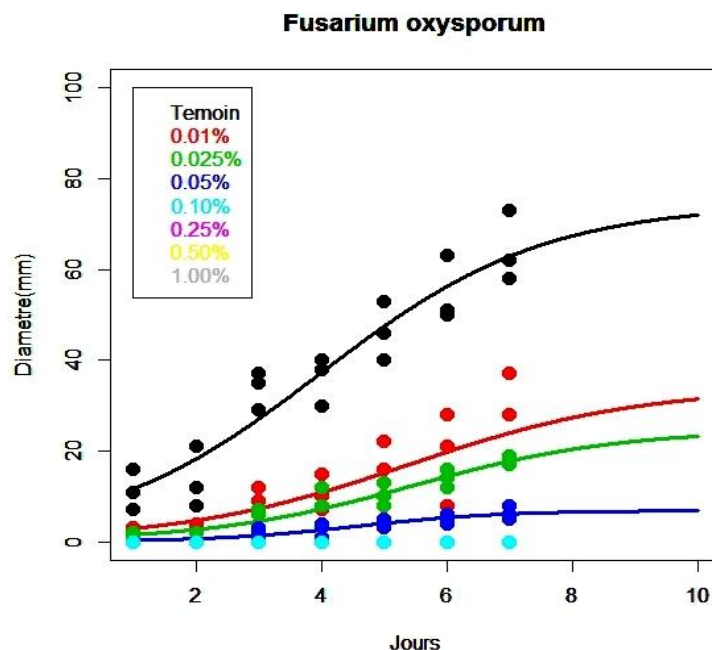


Figure 2 : Effet des concentrations croissantes de l'huile essentielle de clous de girofle sur la croissance radiale du *F. oxysporum*

Tableau 4 : Évolution des paramètres ajustés de la croissance mycélienne de la souche de *Fusarium oxysporum* sous l'effet des concentrations croissantes de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*

Souche fongique	Concentration (% v/v) de l'H.E	Paramètres ajustés		
		Asym (mm)	Xmid (jour)	Scal (%)
<i>Fusarium oxysporum</i>	0	74,41 ± 11,90***	3,99 ± 0,72***	1,77 ± 0,43***
	0,01	34,03 ± 27,13	5,40 ± 3,34	1,85 ± 1,28
	0,025	24,68 ± 7,64**	5,45 ± 1,17***	1,64 ± 0,46**
	0,05	6,87 ± 1,33***	4,58 ± 0,64***	1,16 ± 0,39**

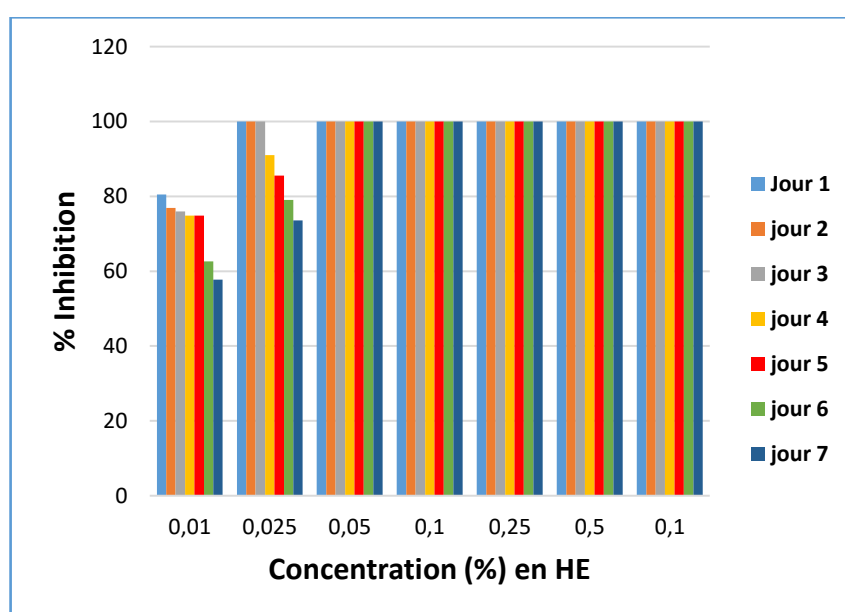


Figure 3 : Spectre antifongique de l'huile essentielle de clous de girofle pour *A. flavus*

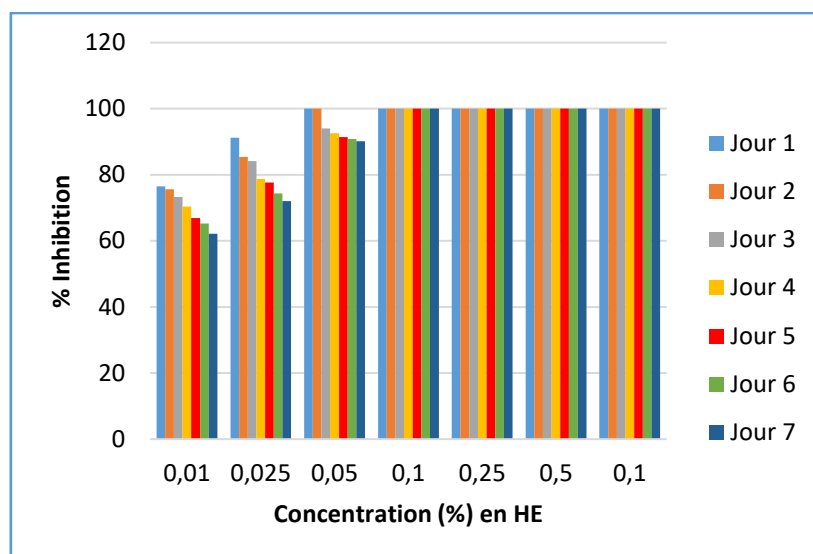


Figure 4 : Spectre antifongique de l'huile essentielle de clous de girofle pour *F. oxysporum*

3-4. Méthode de macrodilution suivie d'un ensemencement sur milieu exempt d'huile essentielle

Les résultats des concentrations minimales inhibitrices (CMI), concentrations minimales bactéricides/fongicides (CMB/CMFc), rapports CMB/CMI et CMFc/CMI et pouvoir de l'huile essentielle sur les souches microbiennes testées sont résumés dans les **Tableaux 5 et 6**.

Tableau 5 : Rapports CMB/CMI et Pouvoirs de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* sur les deux souches bactériennes

Souches	CMI (%)	CMB (%)	CMB /CMI	Pouvoir de l'HE
<i>Escherichia coli</i>	0,05	0,05	1	Bactéricide
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,25	0,25	1	Bactéricide

Légende : CMI = Concentration minimale inhibitrice ; CMB = Concentration minimale bactéricide.

Tableau 6 : Rapports CMFc/CMFs et Pouvoirs de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* sur les deux souches fongiques

Souches	CMI (%)	CMFc (%)	CMFc/CMI	Pouvoir de l'H.E
<i>Aspergillus flavus</i>	0,05	0,25	5	Fongistatique
<i>Fusarium oxysporum</i>	0,1	0,1	1	Fongicide

4. Discussion

4-1. Rendement en huile essentielle de clou de girofle

Le clou de girofle vendu dans les épicerie de Kinshasa contient l'huile essentielle, le rendement d'extraction consigné dans le **Tableau 1** est de 1,36 %. Ce rendement est de loin inférieur à la fourchette de 2,6 à 18 % obtenu selon l'organe utilisé (feuilles, griffes ou clou de girofle) [28]. Un autre rendement de 0,5 ml/g a été obtenu [23]. Le faible rendement en huile essentielle de clou de girofle vendu dans les épicerie, obtenu par la présente étude, peut être dû aux conditions de traitement post-récolte, de stockage et de transport car il est importé à l'état sec (11 à 12 % d'humidité). Un stockage des organes de plantes aromatiques peut entraîner la perte de composés phytochimiques volatils.

4-2. Potentiel antibactérien de l'huile essentielle de clous de girofle

Le **Tableau 2** montre les diamètres de la zone d'inhibition obtenus sous l'effet de l'huile essentielle de clou de girofle ; le spectre d'activités antibactériennes sur les 2 souches donne le diamètre moyen de la zone d'inhibition de $13,3 \pm 1,30$ mm pour *Escherichia coli* et $13 \pm 0,50$ mm pour *Staphylococcus aureus*. Des diamètres de zone d'inhibition variant de 6 à 7 mm [20] et de 16,5 à 20,4 mm [17] ont été mesurés lors de l'utilisation de l'HE de clou de girofle mélangée à un diluant à différentes concentrations contre *Staphylococcus aureus*. Pour *E. coli*, des diamètres allant de 17 à 24 mm ont été mesurés [5]. En se référant à l'échelle de mesure de l'activité antibactérienne [29], l'huile essentielle extraite de clou de girofle vendu dans les épicerie exerce une activité légèrement inhibitrice sur les deux souches sous étude. Le diamètre de la zone d'inhibition ne donne pas d'indication sur le pouvoir antibactérien d'une huile essentielle, raison pour laquelle l'on recourt toujours la détermination de CMI, CMB et ratio CMB/CMI. Selon le **Tableau 5**, le pouvoir exercé par cette huile essentielle sur les 2 souches bactériennes est bactéricide avec les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales bactéricides (CMB) proches de 0,05 % pour *S. aureus* et 0,25 % pour *E. coli*. Le pouvoir d'une huile essentielle est dit bactéricide lorsque le rapport CMB/CMI est inférieur ou égal à 4 [11, 26, 27]. affirment Le pouvoir bactéricide de l'HE de clou de girofle avec la CMI et CMB allant de 0,078 et 0,156 % a été observé selon les souches bactériennes [5] alors qu'une CMB allant de 0,04 à 0,1 % de cette huile essentielle contre *Staphylococcus aureus* a été obtenue [20]. Une CMI de 50 µg/ml de l'huile essentielle de clou de girofle contre certains micro-organismes a été signalée [4]. Le pouvoir bactéricide est consécutif aux dommages irréversibles causés par les composés phytochimiques constitutifs de l'huile essentielle de clous de girofle sur les cellules bactériennes. Cette huile essentielle augmente la perméabilité de la membrane cellulaire bactérienne occasionnant ainsi la perte des organes cellulaires et de constituants cellulaires comme les protéines, les acides nucléiques et autres molécules essentielles; elle inhibe la synthèse de l'ADN et de protéines et détruit la paroi et la structure cellulaire [4, 5, 17, 20, 30]. Le pouvoir antibactérien d'une huile essentielle est tributaire de ses constituants phytochimiques majoritaires. Généralement, ce sont les terpènes oxygénés qui sont constituants bioactifs selon l'ordre décroissant suivant : phénol>aldéhyde>cétone>alcool>hydrocarbure [31]. La teneur élevée en eugénol, constituant majoritaire de l'huile essentielle de clou de girofle et la présence d'autres comme acétate d'eugényle, β-caryophyllène, salicylate de méthyle, oxyde de caryophyllène, constituants minoritaires, confère à cette huile essentielle de propriétés antibactériennes, antiseptiques, antifongiques, antivirales, anesthésiants, antioxydantes, antiparasitaires, larvicides, anti-inflammatoires, etc [1, 3, 8, 9, 15, 19, 20, 22, 23].

4-3. Potentiel antifongique de l'huile essentielle de clous de girofle

Les **Figures 1 et 2** révèlent qu'aux concentrations inférieures à 0,025 % et 0,05 % de l'huile essentielle de clous de girofle, l'inhibition de la croissance mycélienne radiale est partielle respectivement pour *Aspergillus flavus* et *Fusarium oxysporum*. A ces concentrations, l'effet antifongique de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* diminue avec le temps d'incubation à cause du caractère volatil des actifs antifongiques contenus dans cette huile essentielle. Les paramètres simulés des courbes sigmoïdales de la croissance mycélienne radiale des deux souches fongiques repris dans les **Tableaux III et IV** renseignent sur l'impact de l'inhibition de l'huile essentielle de clous de girofle. Le diamètre maximal (Asym) du mycélium atteint sans huile essentielle (témoin) ne pourrait pas dépasser 94 mm pour *A. flavus* et 86 mm pour *F. oxysporum*. L'incorporation de l'huile essentielle à des concentrations croissantes a pour effet de diminuer Asym (diamètre maximal). Quant à Xmid, le constat est que la croissance d'*A. flavus* se met en place avec un léger retard (2 jours après l'incubation) alors que celle de *F. oxysporum* connaît un retard (4 jours après incubation) par rapport au témoin. L'incorporation de l'HE à différentes concentrations a eu pour effet de retarder la croissance effective de 2 souches fongiques. Le caractère décroissant de Xmid, d'une part, pour *A. flavus* indique la vulnérabilité ou la fragilité de cette souche, malgré sa croissance rapide, face à l'HE sous étude et d'autre part, le caractère croissant de Xmid, pour *F. oxysporum*, est signe

de son adaptation ou de sa résilience. Le caractère décroissant de $Scal$ est une indication de l'efficacité de l'HE de *Syzygium aromaticum* à empêcher la croissance de 2 souches sous étude. Le caractère volatil des actifs antifongiques de cette huile essentielle peut justifier la diminution de l'inhibition aux concentrations inférieures à 0,05 % pour *A. flavus* et 0,1 % pour *F. oxysporum* au fur et à mesure que le temps d'incubation augmente d'après les spectres antifongiques journaliers repris dans les **Figures 3 et 4**. L'huile essentielle du *Syzygium aromaticum* contient des actifs antifongiques gênant sévèrement la croissance mycélienne radiale de ces deux souches fongiques. Selon le **Tableau VI**, le pouvoir exercé par l'huile essentielle de clou de girofle est fongistatique pour *Aspergillus flavus* (ratio CMFc/CMI=5) alors que pour *Fusarium oxysporum*, il est fongicide (ratio CMFc/CMI=1), mais à des concentrations supérieures à 0,25 %, il y a mort de cellules fongiques. *A. flavus*, avec CMFc de 0,25 %, est plus résistante que *F. oxysporum* ayant une CMFc de 0,01 % de l'huile essentielle extraite de clou de girofle. Les terpènes oxygénés (eugénol, acétate d'eugényle, β -caryophyllène), considérés comme actifs antifongiques empêchent la formation des spores avec une perte de la pigmentation caractéristique de ces deux souches fongiques en croissance normale sur milieu gélosé ; ces souches sont restées toutes blanches. L'eugénol agit sur la membrane cellulaire par un mécanisme qui semble impliquer l'inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol. La teneur faible en ergostérol interfère avec l'intégrité et la fonctionnalité de la membrane cellulaire [32]. Ceci explique son utilisation ou celle de son constituant majeur, eugénol, en agroalimentaire dans diverses préparations [20]. Les potentiels antimicrobien et antioxydant de l'huile essentielle de clou de girofle ou de leurs constituants (eugénol, acétate d'eugényle, β -caryophyllène) ont été mis en évidence dans des préparations alimentaires et pharmaceutiques fabriquées par certains chercheurs [33]. L'encapsulation des huiles essentielles, particulièrement celle de clous de girofle, considérée comme une stratégie prometteuse, est proposée pour prolonger leur durée de conservation [3, 9]. L'efficacité anti-inflammatoire et antifongique d'une crème à base de cette huile essentielle a été rapportée [23]. Les combinaisons biomatériaux-huiles essentielles représentent une alternative prometteuse pour une nouvelle génération de systèmes biomédicaux hybrides intégrant des composés médicaux naturels dans des biomatériaux artificiels [20]. Des gels à base de nanoémulsions des huiles essentielles de cannelle et de clous de girofle ont été préparés pour améliorer l'administration topique et l'efficacité des médicaments [21]. Les clous de girofle vendus dans les épiceries contiennent de l'huile essentielle qui conserve son potentiel antibactérien et antifongique eu égard aux conditions d'entreposage et de transport de ce clou et le temps mis entre sa récolte et sa consommation.

5. Conclusion

La présente étude a pour objectif d'évaluer le potentiel antimicrobien de l'huile essentielle extraite de clous de girofle vendus les épiceries de Kinshasa sur la croissance de certaines souches microbiennes cosmopolites, précisément *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus flavus* et *Fusarium oxysporum*. L'étude montre que les clous de girofle vendus sur les épiceries de Kinshasa contiennent de l'huile essentielle pouvant être extraite à un rendement de 1,36 %; cette huile essentielle manifeste un potentiel antibactérien qui est bactéricide pour *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* mais occasionnant la formation des diamètres de zone d'inhibition de 12 à 13 mm; elle manifeste aussi un potentiel fongistatique sur *Fusarium oxysporum* se manifestant par une inhibition partielle aux concentrations inférieures à 0,025 % et une inhibition totale aux concentrations supérieures à 0,025 % alors que, sur *Aspergillus flavus*, ce potentiel est fongicide se manifestant par une inhibition partielle aux concentrations inférieures à 0,05% et une inhibition totale aux concentrations supérieures à 0,05%. La dynamique d'antagonisme de la croissance modélisé par la fonction $nlm()$ du logiciel R montre que les 2 souches fongiques se comportent différemment en contact avec l'huile essentielle de clous de girofle; les 3 paramètres simulés (Asym, Xmid et Scal) ne sont pas les mêmes pour les 2 souches. Cette huile essentielle conserve son potentiel antimicrobien malgré les conditions stockage et de transport de clous de girofle du lieu de production jusqu'aux épiceries de Kinshasa.

Références

- [1] - SURBHI, SUSHMA and REENA SHARMA, Biological Activity of Aromatic Compounds from Clove (*Syzygium aromaticum*). *Journal of Pharmaceutical Research International*, 33 (57A) 318 - 322
- [2] - M. M. TAJKARIMI, S. A. IBRAHIM & D. O. CLIVER, Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, 21 (9) (2010) 1199 - 1218
- [3] - R. LIÑÁN-ATERO, F. AGHABABAEI, S. R. GARCÍA, Z. HASIRI, D. ZIOGKAS, A. MORENO et M. HADIDI, Clove Essential Oil: Chemical Profile, Biological Activities, Encapsulation Strategies, and Food Applications. *Antioxidants*, 13 (2024) 488. <https://doi.org/10.3390/antiox13040488>
- [4] - V. MAGGINI, G. SEMENZATO, E. GALLO, A. NUNZIATA, R. FANI et F. FIRENZUOLI, Antimicrobial Activity of *Syzygium aromaticum* Essential Oil in Human Health Treatment. *Molecules*, 29 (2024) 999. <https://doi.org/10.3390/molecules29050999>
- [5] - E. V. GINTING, E. RETNANINGRUM et D. A. WIDIASIH, Antibacterial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) and cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) essential oil against extended-spectrum β -lactamase-producing bacteria, *Veterinary World*, 14 (8) (2021) 2206 - 2211
- [6] - J. FORTIER, C. MESSIER et L. COLL, La problématique de l'utilisation des herbicides en foresterie : le cas du Québec. *Vertigo*, Vol. 6, (2005) 57 p.
- [7] - L. JIROVETZ, G. BUCHBAUER, I. STOILOVA, A. STOYANOVA, A. KRASTANOV and E. SCHMIDT, *Chemical Composition and Antioxidant Properties of Clove Leaf Essential Oil*. *J. Agric. Food Chem.*, 54 (2006) 6303 - 6307
- [8] - G. E. S. BATIHA, L. M. ALKAZMI, L. G. WASEF, A. M. BESHBI SHY, E. H. NADWA and E. K. RASHWAN, *Syzygium aromaticum* L. (Myrtaceae) : Traditional Uses, Bioactive Chemical Constituents, *Pharmacological and Toxicological Activities*. *Biomolecules*, 10 (2020) 202; doi:10.3390/biom10020202
- [9] - R. NEHME, S. ANDRÉS, R. B. PEREIRA, M. BEN JEMAA, S. BOUHALLAB, F. CECILIANI, S. LÓPEZ, F.Z. RAHALI, R. KSOURI, D. M. PEREIRA et al., Essential Oils in Livestock : From Health to Food Quality. *Antioxidants*, 10 (2021) 330. <https://doi.org/10.3390/antiox10020330>.
- [10] - L. LAKHDAR, Évaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* : Étude *in vitro*. Thèse de doctorat ; Faculté de Médecine dentaire de Rabat ; Université Mohammed V de Rabat, (2015) 183 p.
- [11] - N. V. H. VAWAZOLA, D. A. NZIZIDI, K. P. MALUMBA et N. J. T. MASIMANGO, Activités biologiques et antiradicalaire des huiles essentielles de deux végétaux utilisés dans la fabrication des produits Tangawisi : *Xylopi aethiopica* (Dunal) A. Rich. et *Cyperus articulatus* L. *CONGOSCIENCES*, Vol. 5, N° 2 (September 2017) 149 - 155
- [12] - S. HMRI, M. RAHOUTI, Z. HABIB, B. SATRANI, M. GHANMI et M. EL AJJOURI, Évaluation du potentiel antifongique des huiles essentielles de *Mentha pulegium* et d'*Eucalyptus camaldulensis* dans la lutte biologique contre les champignons responsables de la détérioration des pommes en conservation. Laboratoire de botanique, mycologie et environnement ; Département de biologie ; Faculté des sciences ; Université Mohammed V de Rabat, (2011) 13 p.
- [13] - N. V. H. VAWAZOLA, Contribution à l'étude des huiles des plantes utilisées dans la fabrication des produits Tangawisi : Profils chromatographiques et propriétés biologiques et antiradicalaires. Thèse de doctorat : Facultés des Sciences Agronomiques ; Universités de Kinshasa, (2019) 153 p.
- [14] - D. F. CORTES-ROJAS, C. R. F. DE SOUZA & W. P. OLIVEIRA, Clove (*Syzygium aromaticum*) : A precious spice. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 4 (2) (2014) 90 - 96
- [15] - J. N. HARO-GONZÁLEZ, G. A. CASTILLO-HERRERA, M. MARTÍNEZ-VELÁZQUEZ et H. ESPINOSA-ANDREWS, Clove Essential Oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, Chemical Composition, Food Applications, and Essential Bioactivity for Human Health. *Molecules*, 26 (2021) 6387. <https://doi.org/10.3390/molecules26216387>.

- [16] - K. CHAIEB, H. HAJLAOUI, T. ZMANTAR, A. B. KAHLA-NAKBI, M. ROUABHIA, K. MAHDOUANI and A. BAKHROUF, The Chemical Composition and Biological Activity of Clove Essential Oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae) : A Short Review. *Phytother. Res.*, 21 (2007) 501 - 506
- [17] - J-G. XU, T. LIU, Q-P. HU and X-M. CAO, Chemical Composition, Antibacterial Properties and Mechanism of Action of Essential Oil from Clove Buds against *Staphylococcus aureus*. *Molécules*, 21 (2016) 1194, doi:10.3390/molecules21091194
- [18] - L. NUÑEZ and M. D'AQUINO, Microbicide activity of clove Essential Oil (*Eugenia caryophyllata*). *Brazilian Journal of Microbiology*, (2021) 1255 - 1260. ISSN 1517-8382
- [19] - S. KOYAMA and T. HEINBOCKEL, Chemical Constituents of Essential Oils Used in Olfactory Training: Focus on COVID-19 Induced Olfactory Dysfunction. *Front. Pharmacol.*, 13 (2022) 835 - 886. doi: 10.3389/fphar.2022.835886
- [20] - K. WINSKA, W. MACZKA, J. ŁYCZKO, M. GRABARCZYK, A. CZUBASZEK and A. SZUMNY, Essential Oils as Antimicrobial Agents - Myth or Real Alternative? *Molécules*, 24 (2019) 2130; doi:10.3390/molecules24112130
- [21] - F. ESMAEILI, M. ZAHMATKESHAN, Y. YOUSEFPOOR, H. ALIPANAH, E. SAFARI and M. OSANLOO, Anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of Cinnamon and Clove essential oils nanogels: an in vivo study, *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 22 (2022) 143
- [22] - D. BHOWMIK, K. S. KUMAR, A. YADAV, S. SRIVASTAVA, S. PASWAN & A. S. DUTTA, Recent trends in Indian traditional herbs *Syzygium aromaticum* and its health benefits. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1 (1) (2012) 13 - 23
- [23] - M. A. SELKA, A. CHENAFI et M. Y. ACHOURI, Mise au point et activité biologique d'une crème à base d'huile essentielle de clou de girofle. Development and biological activity evaluation of clove essential oil-based emulsion. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 80 (2022) 507 - 518
- [24] - N. TRAORE, L. SIDIBE, S. BOUARE, D. HARAMA, A. SOMBORO, B. FOFANA, D. DIALLO, G. FIGUEREDO et J-C. CHALCHAT, Activités antimicrobiennes des huiles essentielles de *Eucalyptus citriodora* Hook et *Eucalyptus houseana* W.Fitzg. Ex Maiden ; *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 7 (2) (2013) 800 - 804
- [25] - N. V. H. VAWAZOLA, T. E. KIMBEMUKEN, K. A. FEZA, V. R. KIZUNGU and N. J.-T. MASIMANGO, Nonlinear regression application in *Aspergillus flavus* radial mycelial growth inhibition by essential oils of *Piper guineense* Schum and Thonn., *Zingiber officinale* Roscoe and *Monodora myristica* (Gaertn) Dunal. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 12 (6) (2023) 130 - 136
- [26] - N. V. H. VAWAZOLA, K. P. MUTWALE, K. N. NGOMBE, K. M. MPUZA et N. J.-T. MASIMANGO, *In vitro* antifungal activity of essential oils extracted from some plants of Tangawisi® products on *Candida albicans*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6 (3) (2017) 01 - 05
- [27] - N. V. H. VAWAZOLA, N. A. DANI, M. A. MALUMBA, K. N. NGOMBE, V. R. KIZUNGU, Z. L. P. E. SUMBU and N. J.-T. MASIMANGO, Antibacterial and antiplasmodial potentials of essential oils from two plants of Tangawisi products: *Zingiber officinalis* Roscoe and *Monodora myristica* (Gaertn) Dunal. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7 (1) (2018) 643 - 648
- [28] - G. RAZAFIMAMONJISON, M. JAHIEL, P. RAMANOELINA, F. FAWBUSH et P. DANTHU, Effects of phonological stages on yield and composition of essential oil of *Syzygium aromaticum* buds from Madagascar. *International Journal of Basics and Applied Sciences*, 2 (2013) 312 - 318
- [29] - N. BOUSBIA, Extraction des huiles essentielles riches en anti oxydants à partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaires. Thèse en cotutelle ; Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique, (2011) 136 p.
- [30] - L. LI, X. LI, D. J. MCCLEMENTS, Z. IN, H. JI & C. QIU, Recent progress in the source, extraction, activity mechanism and encapsulation of bioactive essential oils, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, (25 Dec 2024), DOI: 10.1080/10408398.2024.2439040

- [31] - I. GABRIEL, F. ALLEMAN, V. DUFOURCQ, F. PERRIN et J.-F. GABARROU, Utilisation des huiles essentielles en alimentation des volailles : Hypothèses sur les modes d'action impliqués dans les effets observés ; INRA Prod. Anim., 26 (1) (2013) 13 - 24
- [32] - P. P. OLIVEIRA, J. M. MENDES and L. E. OLIVEIRA, « Investigation on mechanism of antifungal activity of eugenol against *Trichophyton rubrum* », *Med.Mycol.*, Vol. 51, N° 5 (juill. 2013) 507 - 513 p.
- [33] - D. MNAYER, Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. Thèse de doctorat en Sciences/Chimie. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse. Académie d'Aix-Marseille, (2014) 4 - 47 p.