

Université Dr. Tahar Moulay de Saïda  
Faculté de science  
Département biologie



**MEMOIRE**  
**DE FIN D'ETUDE**

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

**Domaine:** Sciences de la Nature et la Vie

**Filière:** Sciences Biologiques

**Spécialité:** Microbiologie Appliquée

**Intitulé :**

**Etude bibliographique sur**  
**l'activité antimicrobienne de girofle**  
**(*Syzygium aromaticum* L.)**

**Présenté Par:**

◆ Boukhecheba Houaria

**Devant le jury composé de :**

Mr Ammam Abdelkader	Président	MCA	Université Dr MOULAY Taher Saida
Me Boukabene Fouzia	Examinatrice	MCB	Université Dr MOULAY Taher Saida
Me Alioui Latifa	Encadreur	MCB	Université Dr MOULAY Taher Saida

**Année universitaire : 2020-2021**

## ***Remerciements***

Tout d'abord, je tiens à remercier Dieu le tout puissant, de m'avoir donné le courage et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Je tiens tout particulièrement à adresser mon plus vifs remerciements, à mon promoteur, Mme ALIOUI, d'avoir accepté de m'encadrer, je le remercie également pour sa patience, sa gentillesse et sa disponibilité durant tout au long de notre travail. Comme je ne pue pas oublier à remercier les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail. Nous tenons à exprimer nos sincères et respectueux remerciements et notre profonde gratitude à tous les enseignants de la filière de biologie de l'université de Saida. Je remercie également toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## ***Dédicace***

Je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chers à mon cœur.

Mes chers parents, pour leur amour, leur sacrifice, leur soutien sans égale  
dans les moments les plus difficiles de ma vie.

Mon mari, Mouloud que dieu le protège et leur procure bonne santé et long  
vie.

A mes chères sœurs

A mon cher frère Samir.

Je dédie ce modeste travail également : À mes amies les plus proches.

## ***Résumé:***

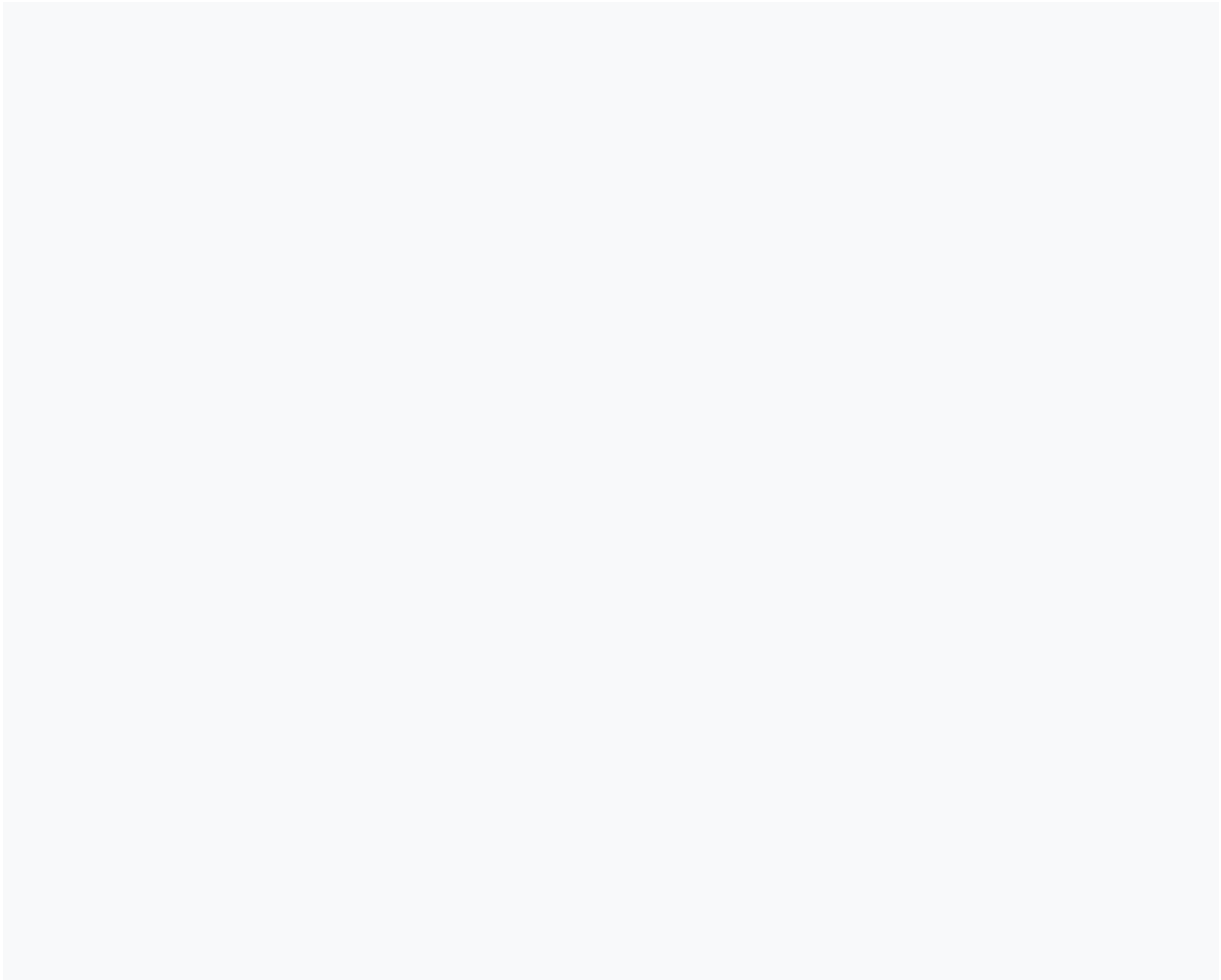
Le giroflier est un grand arbre originaire des îles de l'archipel des Moluques (Indonésie). L'HECG et l'eugénol sont reconnus pour leurs propriétés biologiques. Ces principes actifs naturels peuvent constituer des alternatives aux agents antimicrobiens de synthèse dans les formulations alimentaires et pharmaceutiques. L'HECG présente des propriétés très intéressantes en tant qu'antibactérien grâce à sa composition en eugénol et en eugényle acétate. Elle pourrait ainsi être une alternative à l'utilisation d'antibiotique afin de lutter contre l'apparition de souches résistantes. L'HECG est active aussi bien contre les bactéries Gram positif, que contre les bactéries Gram négatif. Cette activité pourrait être attribuée essentiellement à l'eugénol. L'eugényle acétate, possède également des propriétés bactéricides. L'HECG possède une puissante activité contre les *dermatophytes* et les champignons pathogènes et opportunistes. L'activité antifongique de l'huile est attribuée essentiellement à son composé majeur l'eugénol.

**Mots clés :** activité antibactérienne, activité antifongique, clou de girofle, HECG, eugénol.

***Abstract:***

The clove tree is a large tree native to the islands of the Moluccas archipelago (Indonesia). HECG and eugenol are recognized for their biological properties. These natural active ingredients can constitute alternatives to synthetic antimicrobial agents in food and pharmaceutical formulations. HECG exhibits very interesting properties as an antibacterial thanks to its composition of eugenol and eugenyl acetate. It could thus be an alternative to the use of antibiotics to fight against the appearance of resistant strains. HECG is active against both Gram positive and Gram negative bacteria. This activity could be attributed primarily to eugenol. Eugenyl acetate also has bactericidal properties. HECG has potent activity against dermatophytes and pathogenic and opportunistic fungi. The oil's antifungal activity is attributed primarily to its major compound eugenol.

**Key words:** antibacterial activity, antifungal activity, clove, HECG, eugenol.



## ملخص:

شجرة القرنفل هي شجرة كبيرة موطنها جزر أرخبيل ملوكا (إندونيسيا). يمكن أن تشكل هذه المكونات الطبيعية النشطة بدائل لمضادات الميكروبات الاصطناعية في التركيبات الغذائية والصيدلانية. يحتوي القرنفل الأساسي على خصائص مثيرة للاهتمام كمضاد للبكتيريا بفضل تركيبته من الأوجينول وأسيتات الأوجينيل ، وبالتالي يمكن أن يكون بديلاً عن استخدام المضادات الحيوية لمحاربة ظهور السلالات المقاومة. زيت القرنفل الأساسي فعال ضد البكتيريا الموجبة والسالبة للجرام. يمكن أن يعزى هذا النشاط في المقام الأول إلى الأوجينول. أسيتات الأوجينيل، لها أيضاً خصائص مبيدة للجراثيم. زيت القرنفل الأساسي له نشاطاً قوياً ضد الفطريات الجلدية والفطريات المسببة للأمراض والانتهازية. يُعزى نشاط الزيت المضاد للفطريات بشكل أساسي إلى مركب الأوجينول الرئيسي.

**الكلمات المفتاحية:** النشاط المضاد للبكتيريا ، النشاط المضاد للفطريات، القرنفل ، زيت القرنفل الأساسي، الأوجينول.

### *Liste des abréviations*

ADN	Acide Désoxyribo Nucléique
ATCC	American Type Culture Collection
<i>B. subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>B. subtilis</i>	<i>bacillus subtilis</i>
<i>C. albicans</i>	<i>Candidas albicans</i>
<i>C. parapsilosis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
<i>C. tropicalis</i>	<i>Candida tropicalis</i>
CMF	Concentration Minimale Fongicide
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
COV	Composés Organiques Volatils
Croh	Caryophyllène
Eug Ac	Acétate d'Eugénol
Eug	Eugénol
FAO	Food and Agriculture Organisation
HE	Huile Essentielle
HECG	Huile Essentielle de Clou de Girofle
HSV	Herpes Simplex Virus
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>
<i>L. monocytogene</i>	<i>Listeria monocytogène</i>
LPS	Lipo Poly Saccharides
ml	Millilitre
mg	Milligramme
µg	Microgramme
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
%	Pourcentage
ppm	partie par million
<i>P. aeruginosa</i>	<i>pseudomonas aeruginosa</i>
<i>P.vulgaris</i>	<i>pseudomonas vulgaris</i>
<i>P.vulgaris</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. typhimurium:</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>S.aromaticum</i>	<i>Syzygium aromaticum</i>
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
CPE	Commission de la Pharmacopée Européenne

### *Liste des tableaux*

N°	Titre	P
<b>01</b>	Classification botanique ( <b>Barbelet, 2015</b> ).....	07
<b>02</b>	Calendrier de récolte des clous de girofle en fonction du pays producteur ( <b>Ranoarisoa, 2012</b> ).....	10
<b>03</b>	Production mondiale de clou de girofle (tonnes) ( <b>Jeanguyot et al., 2004</b> )	10
<b>04</b>	Récapitulatif des quantités, familles chimiques et propriétés des principaux composants de l'HE de clous de girofle ( <b>Sebaaly, 2016</b> ) .....	20
<b>05</b>	L'efficacité de l'HECG et l'eugénol isolé (CMI) ( <b>Chouhan et al., 2017</b> ) ..	23
<b>06</b>	Seuil d'efficacité CMI de l'HE contre quatre bactéries pathogènes ( <b>Bourekba et Lamri, 2020</b> ).....	30
<b>07</b>	Activité antimicrobienne (CMI et CMF) de l'HECG et de l'eugénol contre des souches de <i>Candidas</i> , <i>Dermatophytes</i> et <i>Aspergillus</i> ( <b>Barbelet, 2015</b> ).	34
<b>08</b>	Résultats de l'activité antimicrobienne de l'HECG exprimés par le diamètre de la zone en mm ( <b>Boukartaba et Hammoum, 2019</b> ).....	36



## *Liste des figures*

N°	Titre	P
<b>01</b>	Arbre de Giroflier .....	06
<b>02</b>	Feuilles de giroflier. ....	06
<b>03</b>	Boutons floraux .....	06
<b>04</b>	Fleurs de giroflier.....	06
<b>05</b>	Structure de girofle .....	07
<b>06</b>	Clous de girofle séchés .....	08
<b>07</b>	Composés antibactériens dans le triangle aromatique .....	17
<b>08</b>	Mode d'action des HE sur les bactéries .....	18
<b>09</b>	Structure chimique des constituants de l'HECG	121
<b>10</b>	Eugénol .....	22
<b>11</b>	Structure de la paroi bactérienne des bactéries Gram positif et Gram négatif	26
<b>12</b>	Mécanisme antibactérien de l'eugénol .....	32
<b>13</b>	Sensibilité de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 vis-à-vis de l'HE de <i>Syzygium aromaticum</i> .....	37
<b>14</b>	Sensibilité <i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876 vis-à-vis de l'HE de <i>Syzygium aromaticum</i> .....	37
<b>15</b>	Sensibilité <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 vis-à-vis de l'HE de <i>Syzygium aromaticum</i> .....	38
<b>16</b>	Sensibilité <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 vis-à-vis de l'HE de <i>Syzygium aromaticum</i> .....	38

## Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Table de matières	
Introduction.....	01
<b>Chapitre I: Giroflier (<i>Syzygium aromaticum L.</i>)</b>	
I/- Genre <i>Syzygium</i> .....	04
I-1/- Définition de <i>Syzygium</i> .....	04
I-2/-Description botanique de <i>Syzygium</i> .....	04
I-3/- Classification.....	07
I-4/- Synonymes taxonomiques.....	08
I-5/- Nomenclature de la plante.....	08
I-6/- Culture de giroflier .....	09
I-7/- Production de giroflier.....	09
I-8/- Répartition géographique.....	11
I-9/- Usages de <i>Syzygium aromaticum L.</i> .....	11
I-9-1/- Usages anciens et actuels de <i>Syzygium</i> .....	11
I-9-2/- Intérêt en phytothérapie.....	11
I-9-3/- Usages médicinales.....	12
I-9-3-1/- Traitement buccodentaire.....	12
I-9-3-2/- Antispasmodique.....	12
I-9-3-3/- Stimulant physique et intellectuel.....	12
I-9-4/- Usages culinaires.....	12
I-9-4-1/- Conservation des aliments.....	12
I-9-4-2/- Assaisonnement.....	12
I-9-4-3/- Vanilline.....	13
I-9-5/- Usages cosmétiques .....	13
I-9-6/- Autres utilisations.....	14
I-9-6-1/- En agriculture.....	14
I-9-6-2/- Kreteks.....	14
I-10/- Produits contenant des clous de girofle.....	15
II-Les huiles essentielles .....	15

II-1/- Définition des HE.....	15
II-2/- Composition chimique des HE.....	16
II-2-1/- Composés terpéniques. ....	16
II-2-2/-Composés aromatiques.....	16
II-3/- Mode d'action des HE sur les bactéries.....	17
II-3-1/- Dommages membranaires.....	17
II-3-2/- Dommages cytoplasmiques.....	17
II-4/- Sensibilités des bactéries Gram+/Gram- aux HE.....	18
II-5/- Les différentes HE issues du giroflier.....	18
II-5-1/- Huile essentielle du clou.....	19
II-5-2/- Huile essentielle de griffe.....	19
II-5-3/- Huile essentielle de feuille et de tiges.....	19
II-6/- Composition chimique de l'huile de girofle.....	20
II-7/- Eugénol .....	22
II-7-1/- Définition de l'eugénol.....	22
II-7-2/- Propriétés chimique de l'eugénol.....	23

### **Chapitre II: Activités antimicrobiennes de giroflier**

I/- Souches microbiennes.....	25
I-1/- Souches bactériennes. ....	25
I-1-1/- Définition des bactéries.....	25
I-1-2/- Morphologie des bactéries.....	25
I-1-3/- Structure bactérienne .....	26
I-1-4/- Bactéries à Gram négatif .....	27
I-1-4-1/- <i>Escherichia coli</i> .....	27
I-1-4-2/- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . ....	27
I-1-5/- Bactéries à Gram positif.....	27
I-1-5-1/- <i>Staphylococcus aureus</i> .....	27
I-1-5-2/- <i>Listeria monocytogène</i> . ....	28
I-2/- Souches fongiques.....	28
I-2-1/- <i>Candida albicans</i> . ....	28
I-2-2/- <i>Dermatophytes</i> . ....	28
II/- Activités antimicrobiennes de clou de girofle .....	28
II-1/- Activité antibactérienne.....	28

II-1-1/- Mécanisme d'action antibactérien de l'eugéno.....	31
II-2/- Activité antifongique.....	33
II-2-1/- CMF de l'HCCG et l'eugéno.....	35
Conclusion.....	40
Références bibliographiques.....	42

# *Introduction*

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 2003), environ 65-80% de la population mondiale a recours à la médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne (**Guendouz et Touahria, 2019**).

Depuis des siècles, l'homme a utilisé les plantes dans plusieurs domaines, tels que la parfumerie, la pharmacologie et l'agroalimentaire, grâce à leurs propriétés découvertes par hasard. Les plantes produisent un grand nombre de composés. Ces composés ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultent de réactions chimiques ultérieures d'où le nom de métabolites secondaires (**El Haib, 2011**). La nature de la fonction chimique du composé majoritaire (phénol, alcool, aldéhyde, cétone...) joue un rôle prépondérant dans l'efficacité de leurs activités biologiques (**EL Kalamouni, 2010**).

Notre époque est profondément marquée par la recherche d'une vie plus saine, d'un retour à la nature, aux valeurs essentielles. Mais le succès de la phytothérapie s'explique avant tout par le niveau de maîtrise technique et scientifique que l'on atteint désormais dans ce domaine. La phytothérapie apparaît comme la réponse idéale aux "maladies du siècle" qui caractérisent nos sociétés, comme le stress, la perte du sommeil ou la prise de poids (**Chabrier, 2010**). La phytothérapie a pour but de désigner le soin par les plantes aromatiques. Elle est considérée comme médecine complémentaire voire alternative pour certains, et elle est souvent perçue comme moins nocive et iatrogène que les médicaments issus de l'industrie chimique, elle est souvent utilisée dans l'esthétique (**Bellamine, 2017**).

La résistance aux antibiotiques constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale, la sécurité alimentaire et le développement. L'utilisation extensive et fréquemment abusive des antibiotiques, rend compte de l'évolution vers la résistance des bactéries, principalement, au cours des dernières décennies (**Bouskraoui et al., 2017**).

Au vu de la propagation du phénomène de résistance et du nombre limité d'antibiotiques en cours de développement, la découverte de nouveaux agents antimicrobiens, est devenue plus qu'indispensable. Les pistes de recherche sont nombreuses mais l'exploration des ressources naturelles apparaît comme des plus prometteuses car celles-ci constituent, de par leur biodiversité, la plus grande réserve de substances actives (**Guinoiseau, 2010**).

Le but de mon travail est de caractériser l'activité antimicrobienne de giroflier et de rechercher, dans leur réservoir de molécules chimiques qu'elles constituent, des composés susceptibles d'inhiber la croissance de bactéries pathogènes.

Le giroflier est une plante médicinale la plus utilisée à travers le monde. Cette plante est entrée dans la médecine traditionnelle. Clou de girofle possède une odeur caractéristique et à saveur chaude et piquante (**Chabrier, 2010**).

L'HECG mériterait une place importante à l'officine. Il présente des propriétés très intéressantes en tant qu'antibactérien grâce à sa composition en eugénol et en eugényle acétate. Elle pourrait ainsi être une alternative à l'utilisation d'antibiotique afin de lutter contre l'apparition de souches résistantes (**Benzeggouta, 2015**).

Notre travail a pour objectif de démontrer l'espèce *Syzygium aromaticum L.* et d'illustrer son activité antimicrobienne. Ce manuscrit s'organise comme suit : D'abord, on commence par une introduction, ensuite le premier chapitre qui s'intéresse à la description botanique de la plante giroflier, des généralités sur les HE, l'HECG et l'eugénol. Le deuxième chapitre, aborde les activités antimicrobiennes de clou de girofle, des HE, d'HECG et l'eugénol et enfin, ce manuscrit est achevé par une conclusion pour l'ensemble du travail.

***Chapitre I:***

**Giroflier**

***(Syzygium aromaticum L.)***



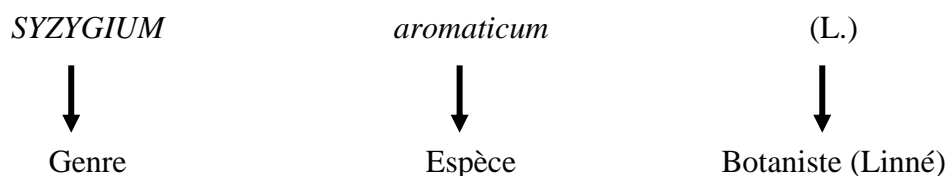
## I/- Genre *Syzygium*

*Syzygium* est un genre de plantes angiospermes appartenant à la famille des Myrtaceae.

### I-1/- Définition de *Syzygium*

Le nom botanique *Syzygium* provient du grec syn: avec, et zygon : joug, car les pétales sont soudées ensemble, est une altération latine tardive de *Caryophyllum*, transcription des grec *Karyophyllon*, désignant clou de girofle. Le terme de clou est dû à la forme caractéristique du bouton floral séché (Salvatori, 2005). Ce genre englobe 400 à 500 espèces d'arbres et d'arbustes aromatiques, persistants, vivants dans les sous-bois et les forêts humides de toutes les régions tropicales (Iserin, 2007).

Afin d'éviter tout risque de confusion, il est recommandé d'utiliser le nom international de la plante. Celui-ci, en latin, se compose du nom de genre (avec une majuscule et en italique), et du nom l'espèce (en minuscule et en italique également), suivi de l'abréviation du botaniste qui a décrit la plante pour la première fois (pour Linné). Dans certains cas, ces informations peuvent être complétées par la sous-espèce ou la variété quand cela est nécessaire.



Les normes ISO 4720 établissent la liste de tous les noms latins internationaux des plantes à H.E., ainsi que leurs noms communs en français et anglais (Afssaps, 2008). Selon ces normes, l'Huile essentielle de Giroflier peut être répertoriée sous les noms *Syzygium aromaticum* ou *Eugenia caryophyllus*.

### I-2/-Description botanique de *Syzygium*

Le giroflier est un grand arbre originaire des îles de l'archipel des Moluques (Indonésie). Elancé d'une hauteur moyenne de 10 à 20 mètres, il peut atteindre jusqu'à 20 mètres de haut, avec un port pyramidal et un tronc gris clair ridé (Figure N°1). Le genre *Syzygium* est caractérisé par le développement initial de deux cotylédons non soudés.

Les cotylédons sont les feuilles embryonnaires de la plante, contenant des substances nutritives pour permettre son développement. Une autre spécificité propre à ce genre est l'inflorescence en cyme terminale (**Amshoff et Aymonin, 1966**).

Ses feuilles de 8 à 10 cm de long, sont coriaces (**Figure N°2**). La face supérieure est vert rougeâtre et la face inférieure vert sombre, légèrement ponctuée. Elles sont aromatiques et dégagent une forte odeur de clou de girofle au froissement.

L'inflorescence comprend des petites cymes (4 à 5 cm) compactes et ramifiées, regroupées en panicules de 3 à 5 petites fleurs parfumées, au calice tubulaire blanc cassé, puis rouge (4 sépales rouges charnus et persistants) et à la corolle blanc-rosé (4 dialypétales blancs) (**Figure N°3 et 4**). La fleur hermaphrodite, possède de nombreuses étamines (formant un pompon), et un pistil à ovaire infère à deux loges. Son fruit est une drupe ellipsoïde brun violet, contenant une seule graine d'environ 1,5 cm de long (**Goetz, 2021**). (**Figure N°5**).

Le giroflier fleurit deux fois par an (**Amit et Parul, 2011**). Le moment le plus favorable à la récolte des boutons floraux ou clous de girofle, est avant l'épanouissement de la corolle (**Ghedira et al, 2010**), quand ils commencent à prendre une teinte rosée. Les clous de girofle sont mis ensuite sur des claies au soleil ou à feu doux pour les sécher. Au cours du séchage, les clous perdent entre 67% et 72 % d'eau (**Benzeggouta, 2015**).

Les parties utilisées de la plante sont, les boutons floraux, les feuilles et les tiges, d'où l'huile respective est extraite, par hydrodistillation à partir des clous et feuilles, et par distillation à la vapeur pour les tiges. Le giroflier peut vivre jusqu'à 150 ans (**Barbelet, 2015**). La production des clous de girofle commence à l'âge de 20 ans et reste active pendant une cinquantaine d'années (**Iserin, 2007**).



**Figure N°01: Arbre de Giroflier**

**(Barbelet, 2015)**



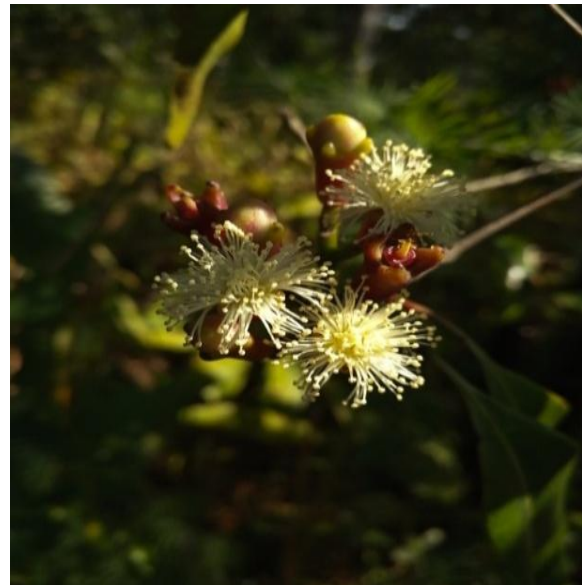
**Figure N°02 : Feuilles de giroflier**

**(Barbelet, 2015).**



**Figure N°03: Boutons floraux**

**(Bruneton, 1999).**



**Figure N°04: Fleurs de giroflier**

**(Barbelet, 2015)**



**Figure N°05 : Structure de girofle (Kim et al., 1998).**

### I-3/- Classification

La classification botanique de *Syzygium aromaticum* est comme suit :

**Tableau N° 01 : Classification botanique (Barbelet, 2015)**

<b>Embranchement</b>	Spermatophytes
<b>Sous embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotyledonae
<b>Sous classe</b>	Rosidae
<b>Ordre</b>	Myrtales
<b>Famille</b>	Myrtaceae
<b>Genre</b>	<i>Syzygium</i>
<b>Espèce</b>	<i>Syzygium aromaticum</i>

#### I-4/- Synonymes taxonomiques

Comme beaucoup d'espèces, le giroflier a porté plusieurs noms scientifiques avant d'être nommé *Syzygium aromaticum* (Faucon, 2012 ; Goetz, 2021).

- *Caryophyllus aromaticus* L. (1753);
- *Eugenia caryophyllata* Thunb. (1788);
- *Eugenia caryophyllus* Spreng. (1825);
- *Eugenia aromatica* (L.) Baill. (1876)
- *Jambosa caryophyllus* (Thunb.) Nied. (1893) ;
- *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry, (1939).

#### I-5/- Nomenclature de la plante

Actuellement, les noms *Syzygium aromaticum* et *Eugenia caryophyllus* sont tous les deux employés (Pulikottil et Nath, 2015). Le nom commun est clove (Amit et Parul, 2011). Elle est appelée en arabe: Koronfil (قرنفل), en français: Clou de girofle, arbre au clou et en anglais: Clove buds (Ghedira et al., 2010) (Figure N°6).



**Figure N°06:** Clous de girofle séchés (Teuscher et al., 2005).

## **I-6/- Culture de giroflier**

Le giroflier, comme beaucoup d'autres plantes de la famille des Myrtacées, est habitué aux climats tropicaux. Il nécessite beaucoup d'ensoleillement si non il ne donnera pas de clou. Il a également besoin d'humidité, de chaleur, et d'une altitude basse qui ne dépasse pas les 300 mètres. Les climats marins semblent favoriser son développement (**Bois, 1999**).

Bien qu'il nécessite une humidité atmosphérique de 80%, l'eau stagnante est nuisible aux racines. Il se plaît sur les terrains qui s'écoulent bien et sur les pentes basses des collines. En revanche, les sols très argileux et sableux ne lui conviennent pas (**Ranoarisoa, 2012**).

Les techniques de culture restent artisanales et demandent beaucoup de main d'œuvre. En effet, tant pour la récolte que pour le tri des clous, griffes, feuilles ou fruits, il s'agit d'un travail minutieux qui se fait à la main. Cela permet d'obtenir des produits de qualité, sans pesticides ni autres produits chimiques, idéaux pour la fabrication des huiles essentielles (**Ranoarisoa, 2012**).

## **I-7/- Production de giroflier**

Le giroflier donne des clous à partir de la 5ème année. Autour de la 8ème année, la récolte est exploitable, mais le giroflier n'atteindra sa pleine production qu'à 20 ans. Un giroflier peut produire pendant 75 à 80 années, et ces vieux arbres peuvent donner 50kg de clous frais par an. La période de récolte diffère selon les zones de production (Tableau N° 02). A Madagascar, les clous sont récoltés en septembre à janvier, quand ils sont bien roses et qu'ils contiennent le maximum d'essence. Le moment de la récolte est très important car cueillis trop tôt les clous n'auront pas synthétisé la totalité de leurs composants, et cueillis trop tard ils perdront leurs pétales.

La cueillette se fait à la main, puis les clous sont séparés des griffes. Les clous roses vont sécher pour permettre leur conservation : 35 kg de clous frais donnent 10kg de clous secs. D'après le FAO, la production mondiale en clou de girofle en tonnes est regroupée dans le tableau N° 03 (**Jeanguyot et al, 2004**).

**Tableau N° 02 : Calendrier de récolte des clous de girofle en fonction du pays producteur (Ranoarisoa, 2012).**

PAYS	Jan	Fev	Mars	Avr	Mai	Juin	Juil	Aout	Sept	Oct	Nov	Dec
Indonésie												
Madagascar/Comores												
Zanzibar												
Sri Lanka												

Les zones vertes correspondent aux périodes de récolte.

**Tableau N° 03 : Production mondiale de clou de girofle (tonnes) (Jeanguyot et al., 2004).**

Pays	Production (tonnes)	%
Indonésie	87909	68,2
Madagascar	20000	15,5
Tanzanie	12500	9,7
Sri Lanka	4100	3,2
Comores	3013	2,3
Autres pays	1370	1,1
Total	128898	100

## **I-8/- Répartition géographique de giroflier**

Le giroflier, est un arbre tropical appartenant à la grande famille des *Myrtacées*, originaire d'Indonésie, dans la partie sud des Philippines et les îles de Moluques, d'Afrique et d'Amérique du Sud (Madagascar, Brésil, Zanzibar), principalement dans des pays tropicaux (**Abdelkader et Bouchakour, 2018**), elles furent l'une des premières épices à faire l'objet d'un commerce florissant dès l'Antiquité (**Iserin, 2007**). Les girofliers sont cultivés en Tanzanie, Madagascar, Seychelles, île Maurice, Antilles ainsi que, dans l'ouest de l'Inde et au Brésil (**Brickell et Mioulane, 2004**).

## **I-9/- Usages de *Syzygium aromaticum* L.**

Les usages du clou de girofle sont très variés.

### **I-9-1/- Usages anciens et actuels de *Syzygium***

C'est d'abord une épice utilisée dans de nombreuses cuisines orientales ou occidentales (ingrédients de la plupart des currys, du pain d'épices ou de la choucroute) (**Teuscher et al., 2005**). Le clou est connu pour ses propriétés antiseptiques et anesthésiques; il est utilisé depuis très longtemps en dentisterie, en cosmétique et en parfumerie, mais la majeure partie de la production mondiale et en particulier, le tout-venant malgache, sert à la fabrication des kreteks, cigarettes traditionnelles indonésiennes composées d'un mélange de tabac et de girofle (**Teuscher et al., 2005 ; Duclos et al., 2014**).

### **I-9-2/- Intérêt en phytothérapie**

Les clous de girofle sont efficaces en cas d'acné, d'ulcère cutanés, de plaies et d'orgelets, préviennent la nausée. Ils sont également très utilisés pour atténuer les indigestions (**Bremness et al., 2011**). En Asie tropical, ils furent souvent recommandés en cas de paludisme, de choléra, de tuberculose, de la gale et de certaines affections virales (**Iserin, 2007**).



### **I-9-3/- Usages médicinales**

Le giroflier a de grandes vertus médicinales

#### **I-9-3-1/- Traitement buccodentaire**

L'eugénate est composé d'eugénol, il est présent dans les huiles essentielles du clou de girofle et d'oxyde de zinc, il est utilisé comme pâte pour la reconstitution des dents. L'eugénol est aussi utilisé, comme anesthésiant et cautérisant pulpaire en cas d'alvéolite après extraction dentaire (**Lamendin et al., 2004**).

#### **I-9-3-2/- Antispasmodique**

Les clous de girofle soulagent les troubles digestifs tels que les flatulences et les coliques. Ils apaisent aussi la toux, les spasmes musculaires lors de leur application locale (**Iserin, 2001**).

#### **I-9-3-3/- Stimulant physique et intellectuel**

Le clou de girofle a une action stimulante aussi bien dans les cas d'asthénie intellectuelle (perte de mémoire), que corporelle, considéré comme aphrodisiaque, il stimule et augmente également les contractions de l'utérus lors de l'accouchement (**Iserin, 2001**).

### **I-9-4/- Usages culinaires**

#### **I-9-4-1/- Conservation des aliments**

L'activité antimicrobienne des plantes provient de leur essence. En effet les huiles essentielles ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celles des levures et la prolifération des acariens (**Oussalah et al., 2007**).

#### **I-9-4-2/- Assaisonnement**

Les clous de girofle se trouvent facilement en grande surface à des tarifs abordables. Le temps où ils étaient un produit de luxe est loin. De nos jours, les clous de girofle peuvent être incorporés dans la cuisine de tous les jours. On peut les acheter tels quels, ou bien dans des mélanges d'épices préalablement moulins (**Barbelet, 2015**).

Le mélange cinq épices chinois contient du poivre de Sichuan, de l'anis étoilé, de la cannelle de Chine, du fenouil et des clous de girofle.

Le quatre-épices quant à lui n'est pas un mélange, c'est une seule et même épice: *Pimenta dioica* ou Poivre de la Jamaïque. Son nom provient du fait qu'une fois broyé, il développe les senteurs mélangées de gingembre, muscade, poivre et girofle.

Les clous de girofle entrent aussi dans la composition du curry. Bien que sa recette change en fonction du pays (Indes, Indonésie, Sri Lanka etc..) ou de la région, les clous de girofle sont un ingrédient de base pour préparer le curry, au même titre que pour le colombo des Antilles, le massalé de la Réunion et le ras el hanout du Maghreb (**Barbelet, 2015**).

### **I-9-4-3/- Vanilline**

La vanilline est la molécule présente dans l'arôme de la vanille. Elle a été synthétisée pour la première fois par Erlenmeyer en 1876 à partir de l'eugénol de clou de girofle. Il s'agit en fait d'une hémisynthèse car la molécule de départ (l'eugénol) est un composé naturel possédant déjà une partie de la molécule visée (la vanilline). L'avantage de cette réaction est que la vanilline de synthèse ainsi obtenue est identique à la vanilline naturelle.

Grâce aux girofliers, la production de vanilline de synthèse a pu se développer. C'était en effet un procédé beaucoup moins coûteux que l'extraction à partir des gousses de vanille. Ce fut le premier moyen de production durant 50 ans (**Barbelet, 2015**).

En cuisine, il est présent dans le pain d'épices, les biscuits en mélange avec la cannelle, le pot-au-feu, les marinades, la choucroute et il est indispensable à la plupart des currys, comme il est utilisé en infusion avec le thé (**Thomas, 2015**).

### **I-9-5/- Usages cosmétiques**

Il sert de parfum d'ambiance sous forme de « pomme d'ambre » que l'on fabrique en piquant toute la surface d'une orange de clous de girofle odeur de clou de girofle, comme l'eugénol, qui est un phénol.

Le parfum que dégagent les clous de girofle est souvent utilisé en parfumerie. Il permet d'apporter une note orientale, boisée et épicée, aussi bien pour des parfums féminins que masculins, ou le plus souvent mixtes. Ce sont toujours des parfums chauds, classiques

et assez opulents qui, chez la femme, dégagent la sensualité et sophistication, et chez l'homme l'élégance (**Barbelet, 2015**).

Quelques exemples de parfums contenant des notes de girofle : Gentleman de Givenchy ®, Kenzo Jungle ®, Coco Chanel ®, Miss Dior ®, Opium de Yves Saint-Laurent ®, etc (**Barbelet, 2015**).

## **I-9-6/- Autres utilisations de *Syzygium***

### **I-9-6-1/- En agriculture**

L'huile essentielle possède un effet herbicide et protecteur des cultures contre les insectes et les champignons et un effet insecticide sur les charançons nuisibles des graines en stocks. Les clous de girofle entiers, mais aussi en poudre, servent à aromatiser les conserves de légumes, le chou rouge ou la choucroute, les compotes de pommes et autres fruits (**Barbelet, 2015**).

### **I-9-6-2/- Kreteks**

Les kreteks sont des cigarettes originaires d'Indonésie, constituées de tabac, de clous de girofle et d'une sorte de mélange aromatique. Elles ont été créées vers 1880 par un certain Haj Jamahri, asthmatique, qui voulait soulager sa douleur grâce aux pouvoirs anesthésiants de l'eugénol, et se soigner en fumant.

Plusieurs études ont comparé des cigarettes type American-blend (Malboro®, Winston®, etc) à des cigarettes kreteks. Il a été mis en évidence que pour une même quantité de fumée inhalée, l'inflammation des poumons est moins forte avec les kreteks. Les altérations histopathologiques des voies respiratoires sont également moins importantes qu'après l'inhalation de cigarettes American-blend (**Roemer et al ., 2014 ; Piade et al., 2014**).

Elles sont donc moins nocives, mais le demeurent tout de même. Cela ne soigna pas l'asthme de Haj Jamahri. A sa mort, l'idée fut reprise par un homme d'affaire, Nitisemito, qui fonda la première grande manufacture de cigarettes kreteks en Indonésie. Ces cigarettes sont vite devenues très populaires et aujourd'hui leur fabrication nécessite 95% de la production indonésienne de clous de girofle (**Barbelet, 2015**).

## **I-10/- Produits contenant des clous de girofle**

A l'officine, l'huile essentielle de clou de girofle se retrouve sous différentes formes: sprays assainissant pour purifier l'atmosphère, sprays pour la gorge, crème antalgique chauffante, traitements antiseptiques des voies respiratoires, bains de bouches, lotion antipoux, etc.

Quelques exemples de spécialités contenant de l'H.E. de clous de girofle

**Aromasol® (Naturactive®):** médicament en solution pour inhalation par fumigation.

**Gouttes aux essences® (Naturactive®):** solution buvable en cas d'affection bronchique aiguë bénigne.

**Baume Aroma® (Mayoly-Spindler®):** crème antalgique d'action locale.

**Nazinette du Dr Gilbert ® (Pharma Développement®):** pommade nasale pour le traitement des affections rhinopharyngées

**Baume du tigre et baume chinois:** baume en cas de douleurs musculaires ou articulaires (Barbelet, 2015).

## **II-Les huiles essentielles**

### **II-1/- Définition des HE**

Selon CPE (2010), l'HE est un Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'HE est le plus souvent séparé de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition.

Elles se forment comme produits du métabolisme secondaire dans plusieurs organes des plantes aromatiques, y compris les bourgeons, fleurs, feuilles, tiges, branches, graines, fruits, racines, bois ou écorces, et s'accumulent dans des cellules sécrétoires, cavités, canaux, cellules épidermiques ou glandulaires (Bruneton, 2016).

## II-2/- Composition chimique des HE

La composition d'une HE est souvent très complexe. La plupart du temps, elle comporte un ou deux composants majoritaires qui vont jouer un rôle central dans ses propriétés thérapeutiques. D'une façon générale, les constituants appartiennent principalement à deux types chimiques.

### II-2-1/- Composés terpéniques

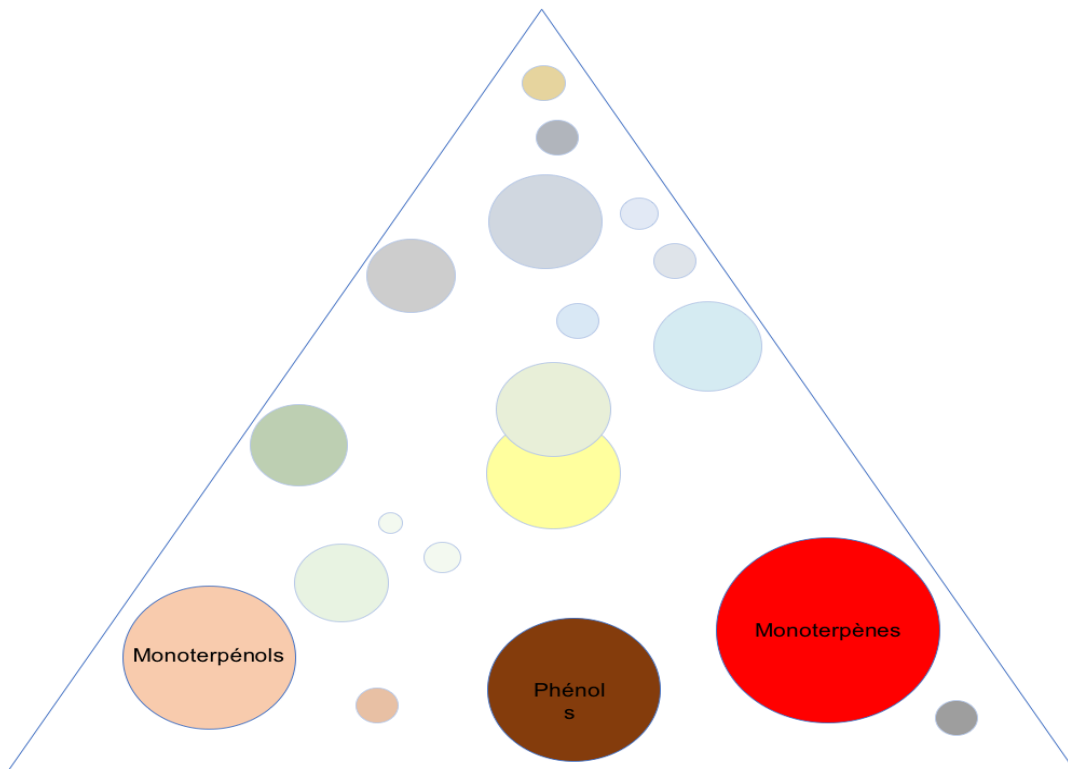
Les composés terpéniques (hydrocarbures) sont les monoterpènes ( $C_{10}$ ), les sesquiterpènes ( $C_{15}$ ), les diterpènes ( $C_{20}$ ) et les triterpènes ( $C_{30}$ ). Ce sont les molécules les plus fréquemment rencontrés dans les HE. Exemples: alcools, esters, aldéhydes, cétones, éthersoxydes mono- et sesquiterpéniques (**Fabre, 2017**).

### II-2-2/-Composés aromatiques

Sont des dérivés du phénylpropane. Exemples: Acide et aldéhyde cinnamiques, eugéniol, anéthole...

Les HE sont classées usuellement selon la nature chimique de leurs principes actifs majoritaires, plus rarement selon leur mode d'extraction, ou leurs effets biologiques (pharmaceutique/cosmétologique ou phytosanitaire) (**Fabre, 2017**).

Les huiles essentielles présentent de nombreux COV ayant une forte efficacité contre les bactéries. Les composés aromatiques les plus actifs contre les bactéries sont ceux qui sont situés dans la partie basse du triangle de Mailhebiau : les monoterpénols, les phénols, et les monoterpènes (**Figure N°7**) (**Fabre, 2017**).



**Figure N° 07:** Composés antibactériens dans le triangle aromatique (Huang *et al.*, 2014).

### II-3/- Mode d'action des HE sur les bactéries

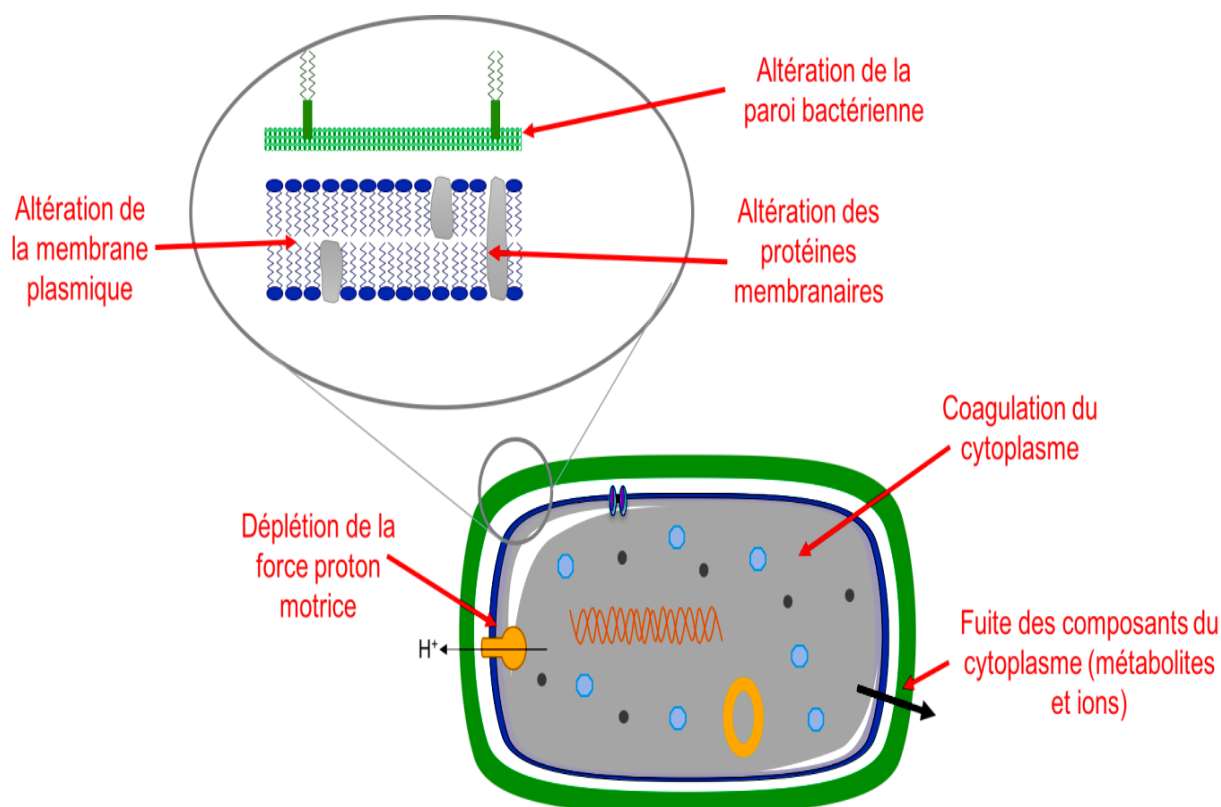
Les huiles essentielles peuvent présenter une action cytotoxique sur les bactéries, en agissant sur plusieurs structures. On peut résumer l'action des HE par deux catégories principales :

#### II-3-1/- Dommages membranaires

En traversant la paroi bactérienne et la membrane plasmique, les composés aromatiques des HE perméabilisent la membrane et perturbent son fonctionnement. Par exemple, ils peuvent la rendre perméable aux protons et à divers ions, et inhiber la production d'ATP. A terme, cela peut aboutir à une lyse de la bactérie. Ils peuvent aussi réduire la fluidité membranaire, ce qui nuit au bon fonctionnement de la bactérie (Huang *et al.*, 2014).

#### II-3-2/- Dommages cytoplasmiques

Les COV des HE peuvent déclencher une coagulation du cytoplasme et endommager les protéines et lipides qu'il contient (Figure N°08).



**Figure N° 08:** Mode d'action des HE sur les bactéries (**Huang et al., 2014**).

#### **II-4/- Sensibilités des bactéries Gram+/Gram- aux HE**

Les bactéries Gram + sont plus sensibles aux HE que les Gram - .En effet, il semblerait que la membrane externe des bactéries Gram- étant rigide, riche en LPS (Lipopolysaccharide) et plus complexe, les molécules aromatiques des HE aient plus de difficulté à la traverser. En revanche, ce système extramembranaire complexe étant absent des bactéries Gram+, les composés aromatiques peuvent atteindre plus facilement la membrane plasmique, occasionnant ainsi une meilleure activité antibiotique (**Huang et al., 2014**).

#### **II-5/- Les différentes HE issues du giroflier**

Le giroflier est à l'origine de plusieurs types d'HE, de qualité différente selon la partie de la plante utilisée. Il existe l'essence de clous, des feuilles, des griffes et des tiges. L'HECG est essentiellement utilisée en parfumerie et en aromathérapie, alors que l'HE de feuille est de loin la plus commercialisée, notamment pour la production d'eugénol du fait de son faible coût et de sa récolte plus facile (**Barbelet, 2015**).

## II-5-1/- Huile essentielle du clou

Elle est extraite des clous du giroflier, c'est à dire des inflorescences à l'état de bouton, par distillation à la vapeur d'eau. Les clous renferment à l'état frais environ 15 à 20% d'huile essentielle, dont 78 à 98% d'eugénol. Selon la CPE, l'HECG est un liquide jaune, limpide, virant au brun lorsqu'il est exposé à l'air. En ce qui concerne la composition, la CPE définit des intervalles de quantité recommandée pour chaque constituant.

- 75,0 et 88,0 % pour l'eugénol.
- 5,0 et 14,0 % pour le  $\beta$ -caryophyllène.
- 4,0 à 15,0 % pour l'acétyl-eugénol (acétate d'eugényle) (**Barbelet, 2015**).

## II-5-2/- Huile essentielle de griffe

L'HE de griffe est essentiellement produite pour des raisons économiques. En effet, lors de la récolte des clous, ceux-ci sont séparés de leurs pédicelles: c'est l'égriffage. Les griffes recueillies sont alors elles aussi distillées en tant que « produit second». Les griffes renferment à 4-6% d'huile essentielle dont 80 à 95% d'eugénol (**Barbelet, 2015**).

## II-5-3/- Huile essentielle de feuille et tiges

Cette huile est plus facile à obtenir car les feuilles peuvent être récoltées toute l'année, ce qui assure une source de revenu plus stable pour les producteurs. Cependant sa composition est moins intéressante du point de vue de l'aromathérapie. Elle était utilisée pour sa ressource en eugénol qui constituait la matière première de la fabrication de la vanilline. Les feuilles contiennent 1 à 3 % d'huile essentielle dont 75 à 88% d'eugénol (**Barbelet, 2015**).

L'huile essentielle de feuilles ou de griffe de giroflier est bon marché comparée à l'HE de clous de girofle. Mais celle-ci est beaucoup mieux tolérée (au niveau des allergies cutanées) par la présence de l'ester aromatique (acétate d'eugényle). C'est la raison pour laquelle elle est de meilleure qualité en aromathérapie.

De même que l'H.E. de griffe, l'HE de tige ne présente pas un intérêt majeur, elle est produite afin d'optimiser le rendement des récoltes (**Barbelet, 2015**).



## II-6/- Composition chimique de l'huile de girofle

Le clou de girofle est le bouton desséché du giroflier. Plusieurs procédés d'extraction comme l'hydrodistillation, la distillation à la vapeur, l'extraction par solvant organique et par fluide supercritique ont été utilisés pour extraire les terpènes de différentes parties de la plante (Barbelet, 2015).

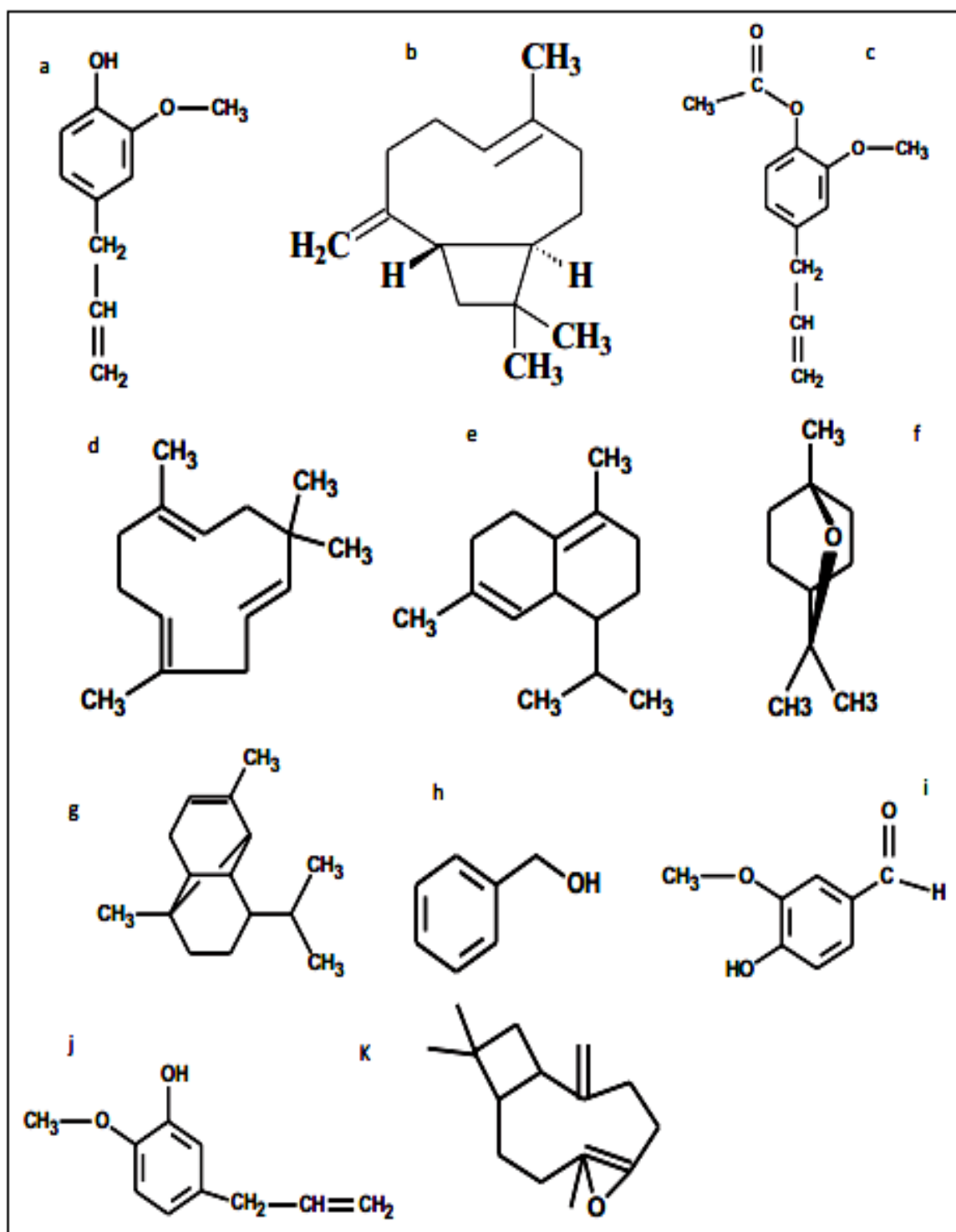
L'HECG et son constituant majeur l'eugénol sont reconnus pour leurs propriétés biologiques. Ces principes actifs naturels peuvent constituer des alternatives aux agents antimicrobiens, antioxydants et anti-inflammatoires de synthèse dans les formulations alimentaires et pharmaceutiques (Tableau N° 04). Cependant, leur utilisation est limitée en raison de leur faible solubilité aqueuse, volatilité et sensibilité à la lumière (Sebaaly, 2016).

**Tableau N° 04 :** Récapitulatif des quantités, familles chimiques et propriétés des principaux composants de l'HECG (Sebaaly, 2016).

Nom de la molécule	Quantité	Famille chimique	Propriétés
Eugénol	75-88%	Phénylpropanoïdes (Phénols)	-Anti-infectieux (bactéricide, virucide, fongicide) -Anesthésiant, -Antiagrégant plaquettaire
Acétate d'eugényl	4-15%	Ester aromatique	-Antispasmodique musculotrope -Neurotrope stimulant général
$\beta$ -caryophyllène	5-14%	Sesquiterpènes	-Calmant et anti-inflammatoire

Le girofle est composé de plus de 15% d'huile essentielle et de 70-90% d'eugénol (Eug). Il ya également, entre 9-15% d'acétate d'eugénol (EugAc), entre 5-12% de  $\beta$ -caryophyllène (Crph) (Figure N°9) et 2% d'acide oléanique. Elle contient également de faibles quantités d'autres composés comme l'alpha-humulène connu autrement sous le nom

d'alpha-caryophyllène, cadinène, 1,8- cinéole, -copaène, alcool benzylique, vanilline, 3-allyl-6-methoxyphénol et oxyde de caryophyllène (Sebaaly, 2016).



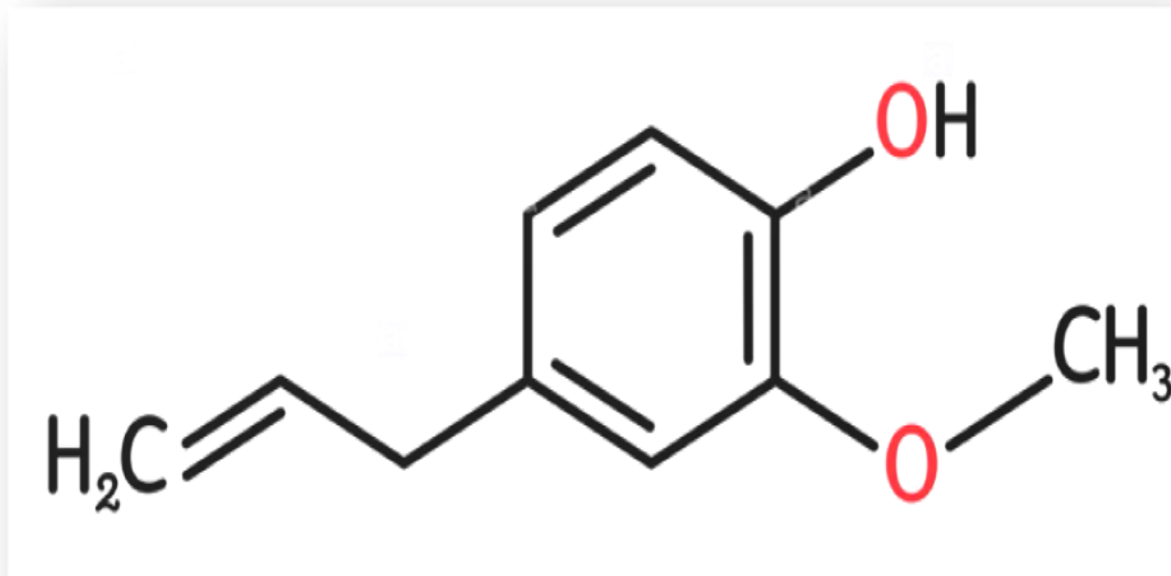
**Figure N° 09:** Structure chimique des constituants de l'huile essentielle de clou de girofle (Sebaaly, 2016). Eugénol (a),  $\beta$ -caryophyllène (b), acétate d'eugénol (c),  $\alpha$ -humulène ou  $\alpha$ -caryophyllène (d), cadinène (e), 1,8 cinéole (f),  $\alpha$ -copaène (g), alcool benzylique (h), vanilline (i), 3-allyl-6-méthoxyphénol (j) et oxyde de caryophyllène (K).

## II-7/- Eugénol

### II-7-1/- Définition de l'eugénol

L'eugénol, qui a une formule brute  $C_{10}H_{12}O_2$ , Il s'agit du 4-allyl-2-méthoxyphénol. Est une molécule possédant un cycle aromatique, ce qui est caractéristique des composés d'origine naturelle. On remarque que la molécule possède une fonction alcène, une fonction éther : le groupement méthoxy (O-CH<sub>3</sub>) et une fonction phénol (OH) (**Figure N°10**).

Le groupement hydroxyle de l'eugénol inhibe l'action des amylases et des protéases, induisant la détérioration de la membrane cellulaire. A forte concentration, l'eugénol provoque une lyse cellulaire (**Burt, 2004**).



**Figure N° 10:** Eugénol (Sienkiewicz et al., 2011).

## II-7-2/- Propriétés chimiques de l'eugénol

L'eugénol appartient à la famille des phénols monoterpéniques avec une formule brute  $C_{10}H_{12}O_2$  et une Autre dénomination : 4-allyl-2-méthoxyphénol, masse molaire est de 164,2 g/mol, température d'ébullition ( 254°C), température de fusion (à 1 bar) de -9 °C, point d'éclair (110°C), densité (1, 06 à 20 °C), il est peu soluble dans l'eau et insoluble dans l'eau salée.il est cependant très Soluble dans l'éthanol et le dichlorométhane légèrement dans le chloroforme (Memmu, 2015).

**Tableau N° 05 : L'efficacité de l'HECG et l'eugénol isolé (CMI) (Chouhan et al., 2017).**

<b>Composés aromatiques</b>	<b>CMI mesurée sur <i>E.coli</i> (ppm)</b>	<b>CMI mesurée sur <i>L. monocytogène</i> (ppm)</b>
<b>Eugénol</b>	500	>1000
<b>clou de girofle (80% d'eugénol)</b>	400-2500	200

CMI=Concentration Minimale Inhibitrice.

*Chapitre II:*

**Activités antimicrobiennes  
de giroflier**

## I/- Souches microbiennes

### I-1/- Souches bactériennes

#### I-1-1/- Définition des bactéries

Les bactéries ce sont des microorganismes unicellulaires de petite taille qui se présentent sous plusieurs formes, elles sont considérées comme des procaryotes du fait qu'elles sont dépourvues de noyau, leur matériel génétique n'est pas délimité par une membrane nucléaire contrairement aux eucaryotes qui possèdent un vrai noyau **(EL Boujnouni, 2020)**.

Les bactéries peuvent contenir une autre structure extra-chromosomique appelée plasmides, qui sont des molécules d'ADN double brin qui se répliquent indépendamment du chromosome, peuvent s'intégrer à celui-ci et qui sont transmissibles. Ces plasmides offrent aux bactéries plusieurs caractères supplémentaires tels que la résistance aux antibiotiques et aux antiseptiques, la virulence, les caractères métaboliques, entre autres. Les plasmides permettent aux bactéries d'acquérir un avantage sélectif **(EL Boujnouni, 2020)**.

Les bactéries sont ubiquitaires, elles sont présentes dans tous les types de biotopes rencontrés sur terre. Elles peuvent être isolées du sol, des eaux douces, marines ou saumâtres, de l'air, des profondeurs océaniques, des déchets radioactifs, sur la peau, les muqueuses et dans l'intestin de l'homme et des animaux. Selon l'interaction de ces micro-organismes avec leur hôte ils peuvent être soit bénéfiques ou inoffensifs soit pathogènes **(EL Boujnouni, 2020)**.

#### I-1-2/- Morphologie des bactéries

On peut distinguer trois formes caractéristiques : les sphériques, les allongées et les spiralées. La position des bactéries les unes par rapport aux autres est également une caractéristique distinctive importante

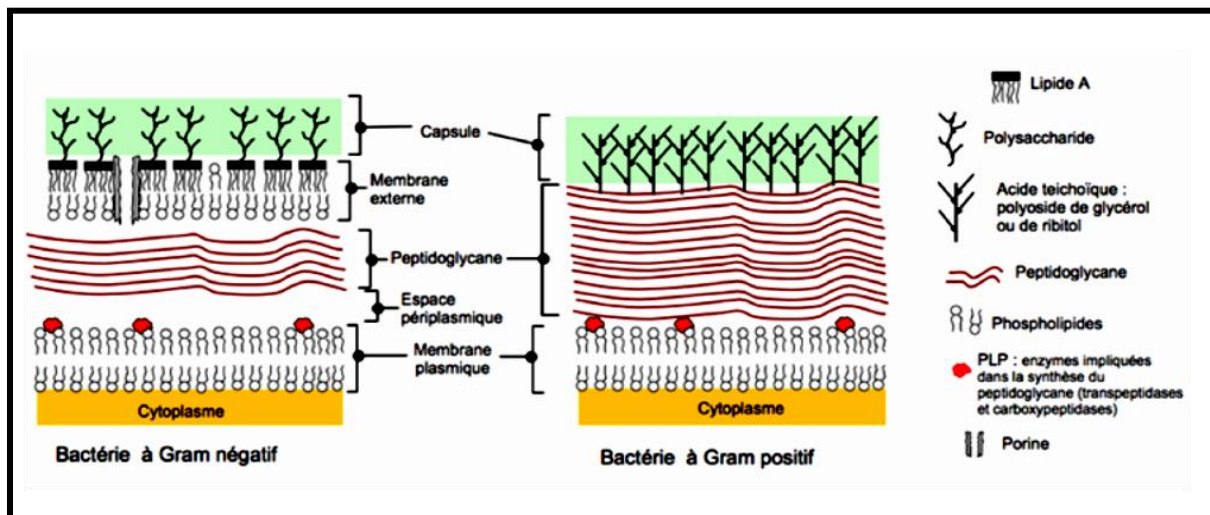
- Les bactéries allongées (bacilles) peuvent varier en longueur et en épaisseur. Elles forment également des chaînes **(Banouh et Azzouz, 2019)**.

- Les bactéries spiralées (spirilles) peuvent également varier en longueur et en taille des coques varie entre 0,4 et 1,5 mm (1 mm = 0,001 mm). La longueur des bacilles peut varier entre 1 et 10 mm, même si quelques espèces sont plus grandes ou plus petites (**Banouh et Azzouz, 2019**).

### I-1-3/- Structure bactérienne

La structure de la paroi bactérienne dépend l'appartenance des bactéries au groupe des bactéries à Gram positif ou à Gram négatif. Les deux groupes possèdent en commun un constituant essentiel, spécifique au monde bactérien, le peptidoglycane.

Le peptidoglycane est la partie la plus externe de la bactérie à Gram positif qui entoure la membrane cytoplasmique de la bactérie. La paroi bactérienne des bactéries à Gram positif contient un élément supplémentaire, la membrane externe, laquelle entoure le peptidoglycane qui est plus fin que chez les bactéries à Gram positif. Son feuillet interne est essentiellement phospholipidique et son feuillet externe est majoritairement formé de lipopolysaccharides et sont responsables du choc endotoxique des infections Gram négatif. L'espace situé entre les deux membranes est appelé l'espace péri plasmique (**Figure N°11**) (**Bouskraoui et al., 2017**).



**Figure N° 11:** Structure de la paroi bactérienne des bactéries gram positif et gram négatif (**Bouskraoui et al., 2017**).

## **I-1-4/- Bactéries à Gram négatif**

### **I-1-4-1/- *Escherichia coli*.**

Bacille à Gram négatif; elle provoque des infections urinaires; génitales; hépatobiliaires ou digestives, méningites chez les nourrissons, infection alimentaires, manifestations intestinales telles que des diarrhées variables selon la souche en cause : diarrhées des voyageurs ou turista grave, destruction des globules rouge et lésions rénales due à la souche sécrétant une puissante toxine appelée toxine Véro vomissement (**Banouh et Azzouz, 2019**).

### **I-1-4-2/- *Pseudomonas aeruginosa*.**

Il s'agit d'un petit bacille Gram négatif ; cette bactérie préfère les milieux humides et on la trouve quelque fois au niveau de la peau, de l'appareil respiratoire supérieur, de l'oreille externe et du tube digestif chez l'individu sain. Les infections sont le plus souvent des infections d'origine nosocomiale (soins associés aux soins) (**Bouskraoui et al., 2017**).

## **I-1-5/- Bactéries à Gram positif**

### **I-1-5-1/- *Staphylococcus aureus*.**

*Staphylococcus aureus* est l'espèce la plus pathogène au sein du genre *Staphylococcus*. Il fait partie des germes les plus fréquemment rencontrés en pathologie humaine. On le retrouve aussi bien dans les milieux communautaires qu'hospitaliers, il est au deuxième rang des infections nosocomiales derrière *Escherichia coli* et au deuxième des intoxications alimentaires après les *Salmonelles*. Il intéresse un très grand nombre de sites infectieux et peut être isolé au laboratoire dans tous les types de prélèvements. On le retrouve dans des infections aussi bien locales qu'invasives dont l'issue clinique (**Bouskraoui et al., 2017**).

### **I-1-5-2/- *Listeria monocytogène*.**

Est un petit bacille à Gram positif, très largement répandu dans l'environnement responsable d'infections humaines et animales (listériose). Les listérioses humaines sont principalement liées à l'ingestion d'aliments contaminés. La contamination est



essentiellement alimentaire et la période d'incubation varie de quelques jours à plusieurs semaines (Bouskraoui et al., 2017).

## **I-2/- Souches fongiques**

### **I-2-1/- *Candida albicans*.**

Elle provoque des infections fongiques (candidiase ou candidose) essentiellement au niveau des muqueuses digestives et gynécologiques, les candidoses sont une cause importante de morbidité chez les patients immunodéprimés comme les patients atteints du sida, les patients cancéreux sous chimiothérapie ou après transplantation de moelle osseuse (Banouh et Azzouz, 2019).

### **I-2-2/- *Dermatophytes*.**

Sont des ascomycètes. Ce sont des champignons filamenteux, au mycélium cloisonné plus ou moins régulier produisant des spores. Elles se développent préférentiellement dans la couche cornée de la peau et des phanères. Les dermatophytoses sont des infections fongiques superficielles (Er-Rachedy, 2020).

## **II/- Activités antimicrobiennes de clou de girofle**

### **II-1/- Activité antibactérienne**

Le clou de girofle était parfois utilisée (début XXème siècle) pour désinfecter les mains des chirurgiens, des accoucheurs, des infirmiers et les champs opératoires. Il était également connu, à l'époque, que cette huile essentielle était un excellent pansement ombilical : non toxique pour le nouveau né ni pour la mère, et dotée d'un certain pouvoir analgésique (Bourekba et Lamri, 2020).

L'HECG présente des propriétés très intéressantes en tant qu'antibactérien grâce à sa composition en eugénol et en eugényle acétate. Elle pourrait ainsi être une alternative à l'utilisation d'antibiotique afin de lutter contre l'apparition de souches résistantes.

L'HECG active aussi bien contre les bactéries Gram positif, telles que *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Acinetobacter spp*, *Helicobacter pylori* et *Listeria monocytogenes* que contre les bactéries à Gram négatif, telles que *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*,

*Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* et *Pseudomonas aeruginosa*. Cette activité pourrait être attribuée essentiellement à l'eugénol (Rhayour, 2002; Oussalah et al, 2007).

L'HECG et l'Eugénol sont principalement connus par leurs activités antibactériennes contre diverses souches des bactéries à Gram négatif : *Salmonella Typhi*, *Salmonella enterica*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Aeromonas hydrophila*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fragi* (Pan et al., 2012), *Pseudomonas fluorescens*, *Helicobacter pylori*, *Shewanella putrefaciens*, *Photobacterium phosphoreum* et à Gram positif : *Listeria monocytogenes* , *Listeria innocua*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mutans* ( Sebaaly, 2016).

L'eugénol s'agit de composés fortement anti-infectieux (bactéricides, virucides et parasitocides). Il est notamment actif sur la flore buccale. Il détruit les germes suivants: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Monilia albicans*....etc. Il détruit aussi les champignons à l'origine de certaines mycose (Werner et Von Braunschweig , 2008).

Aujourd'hui, les études peuvent prouver les pouvoirs antibactériens de l'HECG. La première date de 1947 (Bartels, 1947). D'autres études ont été menées depuis, notamment sur des bactéries résistantes comme *Staphylococcus aureus*. Traiter une infection à *Staphylococcus aureus* avec des antibiotiques est compliqué puisque des souches résistantes ont fait leur apparition. L'eugénol est efficace (in vitro et in vivo sur des otites de rats) d'une manière identique sur le *Staphylococcus aureus* sensible et résistant à la méticilline (Yadav et al., 2012).

L'étude réalisée permet d'établir la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'HECG sur quatre bactéries pathogènes: *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes*. (Oussalah et al., 2007).

Les résultats se trouvent dans le tableau N°06 démontrent que l'HECG a un important pouvoir bactéricide.

**Tableau N°06 : Seuil d'efficacité CMI de l'HE contre quatre bactéries pathogènes (Bourekba et Lamri, 2020).**

HECG				CMI pour chaque bactérie testée en %			
Nom commun	Origine	partie utilisée	Composition majoritaire de l'huile essentielle	<i>E.coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S.aureus</i>	<i>L. monocytogène</i>
Clou de girofle	Madagascar	Fleur	Eugénol eugényl acétate	0,1	0,1	0,05	0,2

D'autres bactéries sont sensibles à l'HECG comme le *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Dans l'étude de Prabuseenvasan et *al.*, (2006), les chercheurs ont testé l'activité bactéricide de certaine HE sur ces bactéries, pour des concentrations allant de 0,8 à 12,8 mg/ml par palier de 0,8 mg/ml. Les valeurs obtenues pour la CMI de l'H.E. de clou de girofle sont respectivement 3,2 – 6,4 – 3,2 – 1,6 mg/ml pour *B.subtilis*, *K.pneumoniae*, *P.vulgaris* et *P.aeruginosa*. En comparaison les valeurs obtenues par *Cinnamomum zeylanicum* sont (1,6 – 3,2 – 1,6 – 0,8 mg/ml) (Bourekba et Lamri, 2020).

Les études sont nombreuses. Elles vont de l'efficacité de l'eugénol sur l'*Helicobacter pylori*, bactérie pouvant être responsable d'un ulcère gastrique, à l'efficacité sur l'*Haemophilus du creyi*, responsable de la maladie du chancre mou (maladie sexuellement transmissible). L'*Haemophilus du creyi* est une bactérie pouvant présenter des résistances envers certains antibiotiques, et également un germe cofacteur de la transmission du VIH, car les ulcérations que cette bactérie provoquent sur les muqueuses génitales augmentent les risques de transmission du VIH) ( Barbelet, 2015).

Mais l'eugénol n'est pas le seul actif antibactérien dans l'HECG. L'eug Ac, présent à 10% environ dans l'HE, possède également des propriétés bactéricides sur des bactéries aussi bien Gram négatif que Gram positif.

A la concentration de 150µg/ml, l'eug Ac inhibe la production des facteurs de virulence comme la pyocyanin et pyoverdin et diminue l'activité des protéases de *P.aeruginosa*. Avec la même concentration, l'eug Ac diminue l'activité hémolytique du *S.aureus* et diminue la production du pigment staphyloxanthin (Mustapha et al., 2015).

### II-1-1/- Mécanisme d'action antibactérien de l'eugénol

L'effet bactéricide de l'eugénol semble être dû à son caractère hydrophobe responsable de sa pénétration dans la bicouche lipidique de la membrane cellulaire des bactéries, conduisant à une altération de la membrane cytoplasmique voire même une augmentation de sa perméabilité non-sélective et une perte de l'intégrité membranaire et par conséquent une fuite des constituants intracellulaires (protéines, ions) aboutissant finalement à la mort cellulaire (Figure N°12). D'autre part, l'interaction des molécules hydrophobes avec les membranes cellulaires est connue pour affecter l'activité des enzymes liées à la membrane. En effet, l'eugénol inhibe l'ATPase. Il inhibe aussi directement les flagelles responsables de la motilité des cellules bactériennes par dissipation de gradient de protons de la membrane. De plus, la présence du groupe hydroxyle sur l'eugénol peut augmenter sa solubilité dans les suspensions aqueuses et améliorer sa capacité à passer à travers les portions hydrophiles de l'enveloppe cellulaire, et semble être essentiel pour l'activité antibactérienne de l'eugénol. Plusieurs études ont montré qu'une synergie d'action existe lorsque l'eugénol est associé à d'autres antibiotiques tels que la vancomycine, bêta-lactame, streptomycine et pénicilline (Sebaaly, 2016).

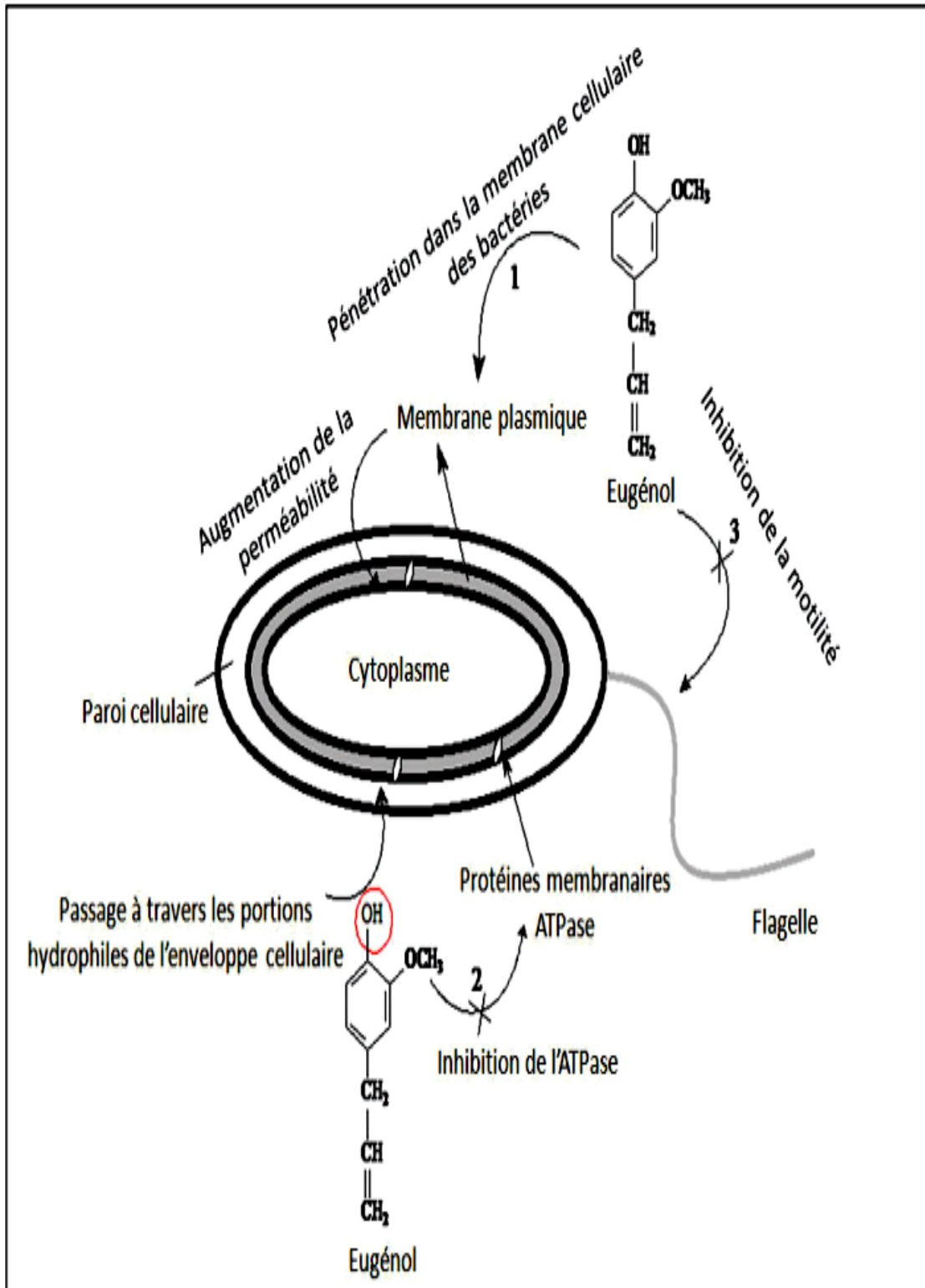


Figure N° 12: Mécanisme antibactérien de l'eugénol

(Greige-Gerges et al ., 2015).

## II-2/- Activité antifongique

L'HECG possède une puissante activité contre les dermatophytes et les champignons pathogènes et opportunistes, tels que les levures du genre *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. glabrata*) mais aussi *Cryptococcus neoformans* et *Aspergillus fumigatus*. L'huile est particulièrement connue pour son efficacité dans le traitement des candidoses cutano-muqueuses telle que, la candidose vulvovaginale. L'activité antifongique de l'huile est attribuée essentiellement à son composé majeur l'eugénol (**Pinto et al., 2009**).

Le giroflier possède des propriétés antifongiques efficaces sur différentes mycoses (cutanées, orales, unguéales). Le *Syzygium aromaticum* est un inhibiteur de la prolifération du *Candida albicans* (CMI= 0,156 mg/ml) comme l'a démontré l'étude de Lairungruang et al., (2014).

L'avantage de l'utilisation de l'HECG pour traiter des mycoses est qu'il n'y a pas de souches de levures et ou de *dermatophytes* résistantes, à la différence des traitements à base de fluconazole ou d'amphotéricine B.

Les recherches mettent en avant le potentiel de l'HECG en tant qu'option thérapeutique contre les infections fongiques chez l'homme. L'HECG a un large spectre d'action qui ne concerne pas que les *dermatophytes*, *Aspergillus* et les espèces de *Candidas* (*C.albicans*, *C.tropicalis*, *C.parapsilosis*). Il concerne surtout les espèces résistantes au fluconazole comme le *Candida krusei*, le *Candida glabrata* et quelques souches de candidas isolés. L'HECG peut donc être employée pour traiter les candidoses orales et les onychomycosis (**Pinto et al., 2009**).

**Tableau N° 07 :** Activité antimicrobienne (CMI et CMF) de l'HECG et de l'eugénol contre des souches de *Candidas*, *Dermatophytes* et *Aspergillus* (Barbelet, 2015).

	HECG		Eugenol	
	CMI	CMF	CMI	CMF
<b>Souches de <i>Candidas</i> ATCC</b>				
<i>C. albicans</i>	0.64	0.64– 1.25	0.64	0.64– 1.25
<i>C. krusei</i>	0.64	0.64	0.64	0.64
<i>C. tropicalis</i>	0.64	0.64	0.64	0.64
<i>C. parapsilosis</i>	0.32– 0.6	0.64– 1.25	0.3	0.64
<b>Souches cliniques de <i>Candidas</i> isolés</b>				
<i>C. albicans</i> D5	0.64	0.64	0.32– 0.64	0.64– 1.25
<i>C. albicans</i> D1	0.64	0.64– 1.25	0.64	0.64– 1.25
<i>C. krusei</i> D39	0.64	0.64	0.64	0.64
<i>C. tropicalis</i> D42	0.64	0.64	0.64	0.64
<i>C. glabrata</i> D10R	0.64	0.64– 1.25	0.64	0.64– 1.25
<b><i>Dermatophytes</i></b>				
<i>Epidermophyton floccosum</i>	0.16	0.32	0.16	0.32
<i>Trichophyton rubrum</i>	0.16	0.32	0.16	0.32
<i>Tichophyton mentagrophytes</i>	0.16	0.32	0.16	0.32
<i>Microsporium canis</i>	0.08– 0.16	0.16– 0.32	0.08	0.16
<i>Microsporium gypseum</i>	0.16	0.32	0.16	0.32
<b>Espèces d'<i>Aspergillus</i></b>				
<i>A. flavus</i>	0.64	1.25	0.32– 0.64	1.25
<i>A. fumigatus</i>	0.32	1.25	0.32	1.25
<i>A. niger</i>	0.32	1.25	0.32	1.25

**CMI :** Concentration minimale inhibitrice.

**CMF :** Concentration minimale fongicide

**ATCC :** American Type Culture Collection, centre de ressources biologiques qui procure des souches microbiennes de références.

**CMI et CMF:** sont exprimées enµl/ml.

Les résultats du tableau montrent que les genres fongiques ont une sensibilité plus ou moins importante à l'HECG et à l'eugénol. L'HECG et à l'eugénol ont la même activité antifongique pour toutes les espèces sauf *C.parapsilosis*, *C.albicans*, *Microsporium canis* et *A. flavus*, pour lesquelles, les CMI et les CMB de l'eugénol sont plus basse que celles de l' HECG.

## II-2-1/- CMF de l'HECG et l'eugénol

Les CMI, déterminées selon les protocoles de l'Institut des normes cliniques et de laboratoire, et la concentration fongicide minimale ont été utilisées pour évaluer l'activité antifongique de l'huile de clou de girofle et de son composant principal, l'eugénol, contre les souches cliniques *Candida*, *Aspergillus* et *dermatophytes* et American Type Culture Collection. L'HE et l'eugénol ont montré une activité inhibitrice contre toutes les souches testées. Pour clarifier son mécanisme d'action sur les levures et les champignons filamenteux, des études de cytométrie en flux et d'inhibition de la synthèse d'ergostérol ont été réalisées. L'iodure de propidium (est couramment utilisé comme marqueur de l'ADN afin de marquer le noyau des cellules ayant perdu leur intégrité membranaire (phénomène caractéristique de la nécrose)) a rapidement pénétré la majorité des cellules de levure lorsque les cellules ont été traitées avec des concentrations des CMI, ce qui signifie que l'effet fongicide résultait d'une lésion étendue de la membrane cellulaire. L'huile de clou de girofle et l'eugénol ont également entraîné une réduction considérable de la quantité d'ergostérol, un composant spécifique de la membrane cellulaire des champignons (Sebaaly, 2016).

La formation de tubes germinatifs par *Candida albicans* a été complètement ou presque complètement inhibée par des concentrations d'huile et d'eugénol inférieures aux valeurs de CMI. La présente étude indique que l'huile de clou de girofle et l'eugénol ont une activité antifongique considérable contre les champignons cliniquement pertinents, y compris les souches résistantes au fluconazole, méritant une étude plus approfondie pour une application clinique dans le traitement des infections fongiques. L'eugénol exerce une activité fongicide contre plusieurs espèces de champignons tels que *Aspergillus spp*, *Penicillium citrinum*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus flavus* et *Rhizopus nigricans*. L'effet antifongique de l'eugénol semble aussi être dû à son effet sur la membrane cellulaire (Sebaaly, 2016). L'eugénol avait une grande activité fongicide contre *Candida albicans* (Boukartaba et Hammoum, 2019).

D'autres composants tels que les alcools monoterpéniques, les aldéhydes aromatiques et les lactones, peuvent également être responsables de l'activité antimicrobienne (Ultee et al., 2002; Laurent, 2017). Il est à noter que les composés minoritaires peuvent avoir une part de contribution. En effet, ces derniers y agissent de manière synergique avec les composés majoritaires (Lahlou, 2004).



L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'HE de *Syzygium aromaticum* a été réalisée par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau N°08.

**Tableau N° 08 :** Résultats de l'activité antimicrobienne de l'HECG exprimés par le diamètre de la zone en mm (Boukartaba et Hammoum, 2019).

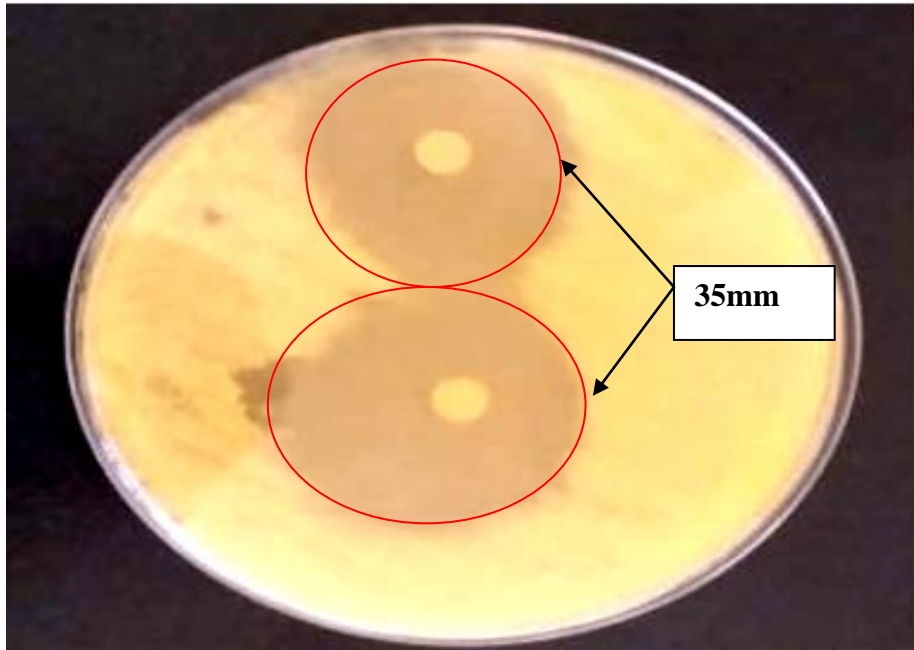
Souches microbiennes	Zone d'inhibition (mm)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	21± 2,39
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	30± 2,07
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	14± 3,55
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	35 ± 0.00

ATCC: American Type Culture Collection

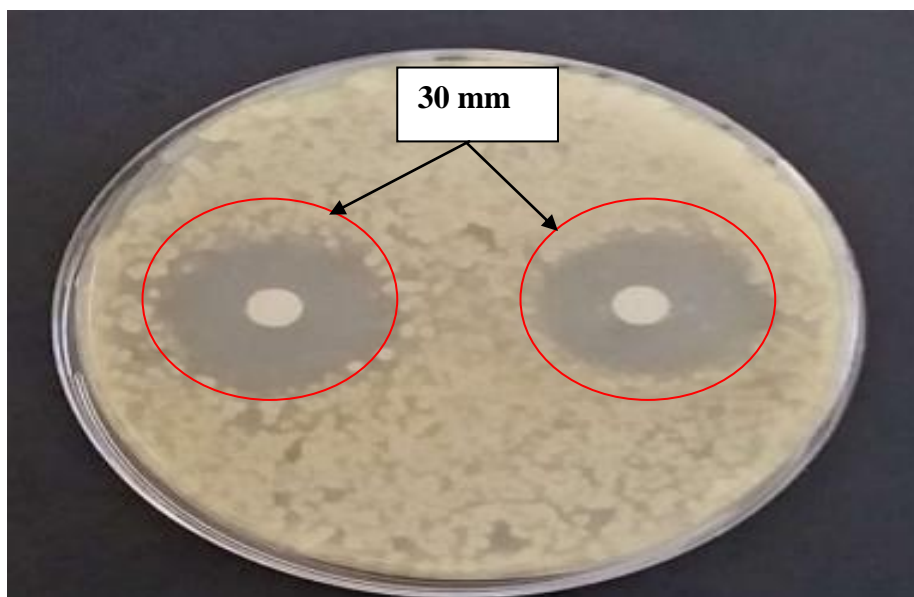
Les résultats obtenus par Boukartaba et Hammoum, (2019) l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* a été très active contre les quatre souches bactériennes et fongiques : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus cereus* ATCC 10876 et *Candida albicans* ATCC 10231. Cette dernière s'est avérée être plus sensible que les trois premières, avec une zone d'inhibition d'un diamètre maximal de 35 mm (Figure N° 13).

Concernant *Candida albicans*, Sameer et Badri (2017) ont noté un diamètre de zone d'inhibition de 32 mm, ce qui est presque similaire aux résultats Boukartaba et Hammoum, (2019) de (35 mm). Cependant, ces résultats restent inférieurs à celui trouvé par Simiat et al., (2017) (44 mm de diamètre).

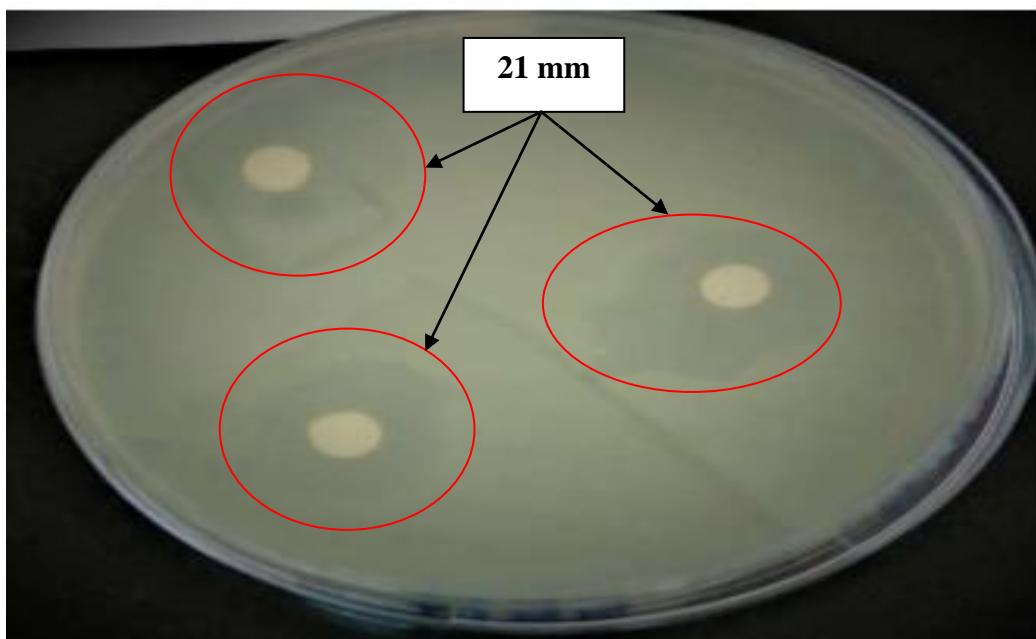
*Bacillus cereus* ATCC 10876 est la deuxième souche la plus sensible à l'HE avec une zone d'inhibition de 30 mm de diamètre (Figure N°14), suivie par *Escherichia coli* ATCC 25922 (21 mm de diamètre) et enfin, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 avec 14 mm de diamètre (Figure N°15, 16).



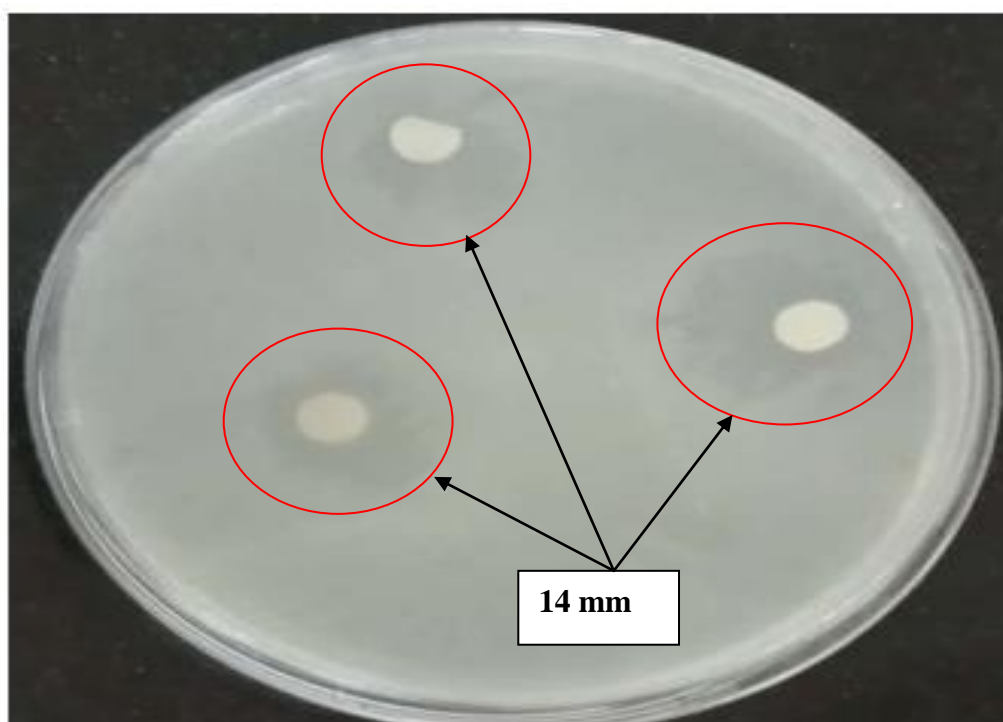
**Figure N° 13:** Sensibilité de *Candida albicans* ATCC 10231 vis-à-vis de l'HE de *Syzygium aromaticum* (Boukartaba et Hammoum, 2019).



**Figure N° 14:** Sensibilité *Bacillus cereus* ATCC 10876 vis-à-vis de l'HE de *Syzygium aromaticum* (Boukartaba et Hammoum, 2019).



**Figure N° 15:** Sensibilité *Escherichia coli* ATCC 25922 vis-à-vis de l'HE de *Syzygium aromaticum* (Boukartaba et Hammoum, 2019).



**Figure N° 16:** Sensibilité *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 vis-à-vis de l'HE de *Syzygium aromaticum* (Boukartaba et Hammoum, 2019).

# *Conclusion*

A l'origine le clou de girofle était une simple épice locale orientale. Mais au cours de l'Histoire, il est devenu un produit de luxe en occident, puis un produit alimentaire (notamment avec la vanilline) avant d'être utilisé en tant que produit d'aromathérapie. Aujourd'hui, le bouton floral du giroflier se retrouve aussi bien dans des produits thérapeutiques occidentaux (grâce à son huile essentielle) que dans des produits plus nocifs comme les cigarettes orientales kreteks (**Barbelet, 2015**).

Les huiles essentielles ont toujours été employées par les civilisations du monde entier pour leurs traditionnelles vertus thérapeutiques. Leur efficacité n'est plus à prouver et de nombreuses publications ont étayé scientifiquement leurs différentes propriétés (**Fabre, 2017**).

L'huile essentielle de clou de girofle et son constituant majeur l'eugénol sont des composés aromatiques naturels qui se caractérisent par un large spectre d'activités biologiques (**Sebaaly, 2016**).

Cette étude démontre et illustre le pouvoir antimicrobien du clou de girofle contre les bactéries à Gram positif et Gram négatif et contre les champignons et les levures.

L'HECG se démarque par ses pouvoirs antibactériens, antifongiques. Si elle n'est pas la plus puissante des huiles essentielles phénolées, elle est surtout la moins toxique. De plus, ses propriétés analgésiques locales en font l'HE idéale pour soigner les maux de bouche (**Barbelet, 2015**).

Les recherches récemment menées sur le clou de girofle ont permis de rendre compte du fort pouvoir antimicrobien de cette plante, et des nombreux bienfaits qu'il procure à l'organisme. L'HECG mériterait une place importante à l'officine. Des études complémentaires, sur sa toxicité chez l'Homme, pourraient motiver son utilisation dans le cadre de nouvelles stratégies thérapeutiques (**Barbelet, 2015**).

*Références*  
*bibliographiques*

1. Amit P., Parul S., 2011. Antibacterial activity of *Syzygium aromaticum* (clove) with metal ion effect against food borne pathogens. Asian Journal of Plant Science and Research, 1(2): 69-80.
2. Afssaps., 2008. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles: contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles.  
[http://ansm.sante.fr/var/ansm\\_site/storage/original/application/657257784ff10b16654e1ac94b60e3fb.pdf](http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/657257784ff10b16654e1ac94b60e3fb.pdf)
3. Amshoff G.J.H., Aymonin G.G, 1966, Flore du Gabon: Myrtacées et Thyméléacées. *Vol 11, MNHN, paris* : 106.
4. Banouh R., Azzouz Al., 2019. Evaluation de l'activité antibactérienne, antifongique et activité antioxydante de l'huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*).Thèse de Master. Université Bouira : 13-14.
5. Barbelet S., 2015. Le giroflier: historique, description et utilisations de la plante et de son huile essentielle. Thèse de Doctorat en Pharmacie, faculté de Pharmacie de Nancy. Université de Lorraine : 34,58, 85-87.
6. Barteles H.A., 1947.The effect of eugenol and oil of cloves on the growth of microorganisms. Am. J. orthodontics Oral Scorg. 33 : 458-465, 1147.
7. Bellamine K., 2017. La phytothérapie clinique dans les affections dermatologiques. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Mohamed V Rabat, faculté de médecine et de pharmacie.
8. Benzeggouta N., 2015. Evaluation des effets biologiques des extraits aqueux de plantes médicinales seules et combinées. Thèse de Doctorat en Sciences, Université de Constantine : 46-49.
9. Bianchi., 2004. Chemical composition and fungicidal activity of commercial essential oils of thymus vulgaris L J. Essent Oil Res 16(1): 69-74.

10. Bois D., 1999. Les plantes alimentaires chez tous les peuples et à travers les âges : histoire utilisation, culture. Volume 3: plantes à épices, à aromates, à condiments. Paris : Ed. CME : 1-11.
11. Boukartaba H., Hammoum K., 2019. Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum L.* Thèse de Master en microbiologie. Université de Khemis-Miliana : 36-38.
12. Bourekba W et Lamri C., 2020. Les effets thérapeutiques de l'huile essentielle de girofle (*syzygium aromaticum l.*). Thèse de Master en microbiologie appliquée, Université Bouira : 27.
13. Bouskraoui M., Zouhair S., Soraa N., Benaouda A., Zerouali K., Mahmoud M., 2017. Le guide pratique des bactéries pathogènes, SOMIPEV (société marocaine d'infectiologie pédiatrique et de vaccinologie) : 65.
14. Bremness L., Fletcher N., Ward M., Griggs P. 2011. Plantes aromatiques et médicinales. Larousse : 340.
15. Brickell C., Mioulane P., 2004. Royal Horticultural Society (Grande-Bretagne), Encyclopédie universelle des 15 000 plantes et fleurs de jardin. Larousse. Paris : 989.
16. Bruneton J0. 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed Tec & Doc. Lavoisier. Paris : 1120.
17. Bruneton J., 2016. Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales - (5° Edition), Lavoisier : 99.
18. Burt S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. International Journal of Food Microbiology, 94 : 223 – 253.
19. Chabrier J., 2010. Plantes médicinales et formes plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie d'utilisation en phytothérapie. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université Henri Poincare - NANCY 1 :08.



20. Chouhan S., Sharma K., Guleria S., 2017. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils—Present Status and Future Perspectives. *Medicines*, 4(3) : 58.
21. Courvalin P., Leclercq R., Bingen E., 2018. *Antibiogramme*. Paris : ESKA.
22. Davet P., Rouxel F. 1997. *Détection et isolement des champignons du sol*. Paris : 147.
23. Duclos T., Razafimamonjison D., Jahiel M., et al., 2014. Bud, leaf and stem essential oil composition of *Syzygium aromaticum* from Madagascar, Indonesia and Zanzibar. *International Journal of Basic and Applied Sciences* 3(3): 224-233.
24. EL Boujnouni A., 2020. *Histoire de la résistance bactérienne aux antibiotiques*. Thèse de docteur en Pharmacie .Université Mohammed V de Rabat, faculté de médecine : 6-7.
25. EL Haib A., 2011. *Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques*.Thèse de doctorat en Chimie organique et catalyse. Université de Toulouse : 01.
26. EL Kalamouni C., 2010. *Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées*.
27. Er-Rachedy N., 2020. *Les mycoses superficielles diagnostiquées a hôpital Ibn Sina de Rabat a propos de 1288 cas (2016-02019)*. Thèse de doctorat en médecine. Université Mohamed V de Rabat, Faculté de médecine et de pharmacie : 5-8.
28. Fabre N., 2017. *Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine*. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Paul Sabatier Toulouse : 22, 201.
29. Faucon M., 2012. *Traité d'aromathérapie scientifique et médicale: fondements & aide à la prescription : monographies : huiles essentielles, huiles végétales, hydrolats aromatiques*. Ed. Sang de la Terre. Paris : 879.
30. Ghedira K., Goetz P., Le Jeune R., 2010. *Syzygium aromaticum (L.) Merr. & Perry (Myrtaceae)* Giroflier. *Phytothérapie* : 8, 37-43.

31. Goetz P., 2021. Giroflier *Syzygium aromaticum* (L.) DU de phytothérapie. Paris-XIII, F-93017 Bobigny cedex, France. Lavoisier. SAS. Email: goetz.correspondance@gmail.com
32. Goetz P., Le Jeune R., 2010. *Syzygium aromaticum* (L.) Merry & Perry (*Myrtaceae*) Giroflier. *Phytothérapie* 8 : 37-43.
33. Greige-Gerges H., Gharib R., Fourmentin S., Charcosset C., Auezova L., 2015. Liposomes incorporating cyclodextrin-drug inclusion complexes: current state of knowledge. *carbohydrate polymers*: 129, 175-186.
34. Guendouz F., Touahria H., 2019. Contribution à l'étude phytochimique et l'activité antiradicalaire de la plante *Majorana hortensis*. Thèse de Master. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B. B. A : 01.
35. Guinoiseau E., 2010. Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse présentée de doctorat en Biochimie - Biologie moléculaire. Université de CORSE-PASQUALE PAOLI, Ecole Doctorale environnement et société UMR CNRS 6134 SPE, faculté des Sciences et Techniques : 2-3, 61.
36. Huang D. F., Xu J. G., Liu J. X., Zhang H., Hu Q. P., 2014. Chemical constituents, antibacterial activity and mechanism of action of the essential oil from *Cinnamomum cassia* bark against four food-related bacteria. *Microbiology*, 83(4): 357-365.
37. Iserin P., 2001. Encyclopédie des plantes médicinales: identification, préparation, soins 1st. Ed. Larousse Bourdasse. Paris. : 155-291
38. Iserin P., 2007. Encyclopédie des plantes médicinales: identification, préparation, soins (Vol. 1st). Paris: Ed. Larousse Bourdasse : 155.
39. Jeanguyot M., Segulier-Guis M., 2004. L'herbier du voyageur, histoire des fruits, légumes et épices du monde. Toulouse: Ed. Plume de carotte : 163.

40. Kim H.M., Lee E.H., Hong S.H., Song H.J., Shin M.K., Kim S.H and shin T.Y., 1998. Effect of *syzygium aromaticum* extract on immediate hypersensitivity in rats. *J.Ethnopharmacol*; 60: 125-131.
41. Lahlou M., 2004. Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*: 18, 435-448.
42. Lairungruang K., Itharat A., Panthong S., 2014. Antimicrobial activity of extracts from a Thai traditional remedy called Kabpi for oral and throat infection and its plant componenents. *Journal of medicine association of Thailand*; 97(8): 108-115.
43. Lamendin H., Toscano G., Requirand P., 2004. Phytothérapie et aromathérapie buccodentaires. *EMC-Dentisterie*, 1 : 179–192.
44. Laurent J., 2017. Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine. Thèse de doctorat en pharmacie sciences biologiques : 22-201.
45. Memmou F., 2015. Synthèse, études cinétiques et évaluation de l'activité de dérivés de l'eugénol, composition de l'huile essentielle extraite du clou de girofle. Thèse de doctorat. Université Aboubekr Belkaid de Tlemcen.
46. Musthafa K.S., Voravuthikunchai S.P., 2015. Anti-virulence potential of eugenyl acetate against pathogenic bacteria of medical importance. *Antonie Van Leeuwenhoek*; 107(3): 703-710.
47. Oussalah M., Caillet S., Saucier L., 2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *Escherichia coli* 0157:H7, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food control*. 18(5): 415-420.
48. Pan IF., Royo M., Maté JI., 2012. Antimicrobial activity of whey protein isolate edible films with essential oils against food spoilers and food borne pathogens. *Journal of Food Science*: 77, 383- 390.

49. Perrier de la b athie H., 1953. Flore de Madagascar et des Comores, 152 me famille. Myrtacées. Firmin-Didot et Cie. Paris : 1-2.
50. Piade JJ., Roemer E., Dempsey R., Wailer H et al., 2016. Toxicological assessment of kretek cigarettes Part 3: kretek and American-blended cigarettes , inhalation toxicity. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. Vol 70, supp 1, p S26-S40. DOI : 10.1016/j.yrt.
51. Pinto E., Vale-Silva L., Cavaleiro C., 2009. Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* on *Candida*, *Aspergillus* and *dermatophyte* species. *Journal of medical microbiology*, 58(11): 1454-1462.
52. Prabuseenivasan S., Jayakumar M., Igna-Cimuthus S., 2006. In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC Complement Alters Medicine*.6: 39.
53. Pulikottil S.J., Nath S., 2015. Potential of clove of *Syzygium aromaticum* in development of a therapeutic agent for periodontal disease. A review, *SADJ*, 70 (3): 108-115.
54. Ranoarisoa K., 2012. Evolution historique et état des lieux de la filiere girofle   Madagascar. Thèse d'Ingéniorat Agronome, Antananarivo : Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques : 89.
55. Rhayour K., 2002. Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *E.coli*, *Bacillus Subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse de Doctorat. Université de Fès. Maroc: 170.
56. Roemer E., Dempsey R., Schorp MK., 2014. Toxicological assessment of kretek cigarettes: Part 1: Background, assessment approach, and summary of findings *Regul Toxicol Pharmacol* 70(1): 2-14.
57. Salvatori O., 2005. Botanica encyclopédie de botanique & d'horticulture: plus de 10000 plantes du monde entier. H.F. Ullmann. Allemagne: K nigswinter:1020.
58. Sameer G.M., Badri A.M., 2017. Antimicrobial activity of *Syzygium aromaticum* and *Citrus aurantifolia* essential oils against some microbes in Khartoum, Sudan. *EC Microbiology*, 12(6): 253-259.

59. Sebaaly C., 2016. Préparation à petite et grande échelle des liposomes encapsulant l'huile essentielle de clou de girofle libre et sous forme de complexe d'inclusion dans l'hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrine : caractérisation des nanostructures et évaluation de leur effet antioxydant. Thèse de Doctorat. Université Claude Bernard Lyon 1 :75-76, 187.
60. Sienkiewicz M., Denys P., Kowalczyk E., 2011. Antibacterial and immunostimulatory effect of essential oils. *Int Rev Allergol Clin Immunol*, 17(1): 40-44.
61. Simiat O., Lateefah A., Kazeem A., 2017. Phytochemical screening and antimicrobial evaluation of *Syzygium aromaticum* extract and essential oil. *Int.J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 6(7): 4557-4567.
62. Teuscher E., Antor R., Lobstein A., 2005. Plantes aromatiques (epices, aromates, condiments et huiles essentielles), Tec & doc. Paris : 266-477.
63. Thomas B., La Hollande., 2015: idées reçues sur la Hollande, Le Cavalier Bleu Editions : 128. (ISBN 978-2-84670-596-7, lire en ligne [archive])
64. Traikia A., Mansouri M., 2020. Etude des caractéristiques physiques et chimiques des huiles essentielles du clou de girofle et de l'eucalyptus. Thèse Master, Faculté des Mathématiques et de l'Informatique et des Sciences de la Matière. Université 08 Mai 1945 Guelma : 01.
65. Ultee A., Bennik M.H.J., Moezelaar R., 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*: 68, 1561-1568.
66. Werner M., Von braunschweig R., 2008. L'aromathérapie: principes, indications, utilisations. Paris: Ed. Vigot: 334.
67. Yadav VR., Sung B., Prasad S et al., 2012. Cancer cell signaling pathways targeted by spice-derived nutraceuticals, *nutrition and cancer*; 64(2): 173-197.