



Activités antimicrobiennes des huiles essentielles de *Eucalyptus citriodora* Hook et *Eucalyptus houseana* W.Fitzg. ex Maiden

N. TRAORE^{1*}, L. SIDIBE¹, S. BOUARE¹, D. HARAMA², A. SOMBORO¹,
B. FOFANA¹, D. DIALLO², G. FIGUEREDO³ et J-C. CHALCHAT³

¹ Laboratoire de Chimie Organique et substances Naturelles, Faculté des Sciences et Techniques de Bamako, BP E 3206 Mali.

² Laboratoire de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP), Département de Médecine Traditionnelle. BP 1746 Bamako, Mali.

³ Laboratoire des Huiles Essentielles, Université Blaise Pascal de Clermont. Campus des Cézaux, 63177 Aubière Cédex, France.

*Auteur correspondant, E-mail : nahtraore@yahoo.fr

RESUME

Les huiles essentielles de *Eucalyptus citriodora* et *Eucalyptus houseana* récoltées à N'Débougou (Mali) ont été testées sur les bactéries *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et le champignon *Candida albicans*. Nous avons utilisé la méthode de diffusion en Agar pour la détermination des activités antibactériennes. La plus grande activité a été notée avec l'huile essentielle de *Eucalyptus houseana* sur *Staphylococcus aureus*. L'activité antifongique a été déterminée par chromatographie sur couche mince (CCM). Les deux huiles essentielles ont été actives sur *Candida albicans*.

© 2013 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés: Antibactérienne, antifongique, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*.

INTRODUCTION

Les *Eucalyptus* sont de grands arbres dont certains peuvent dépasser 100 m de hauteur, mais la moyenne des espèces les plus courantes est de 40 à 50 m, d'autres ont des dimensions plus faibles. Les feuilles sont entières et coriaces avec une forte cutine ; elles sont persistantes et aromatiques. Les jeunes feuilles sont presque toujours différentes des feuilles adultes (chez *E. citriodora*, les jeunes feuilles sont opposées alors que celles âgées sont lancéolées) (Arbonnier, 2009).

L'acclimatation relativement facile des *Eucalyptus* a permis de les introduire dans diverses parties du monde, notamment en Afrique. Au Mali, le genre *Eucalyptus* a été introduit vers les années 1940 en tant que plante ornementale et pour l'assèchement des marais. (FAO, 1982). De nombreuses espèces, en provenance surtout d'Australie et du Soudan, ont été introduites à titre d'essai à N'Débougou (Mali) : par la suite seules les espèces bien adaptées au sol et au climat malien ont été développées. Parmi les espèces pures acclimatées au Mali, nous avons

Eucalyptus citriodora et *Eucalyptus houseana*.

Les huiles essentielles des *Eucalyptus* sont utilisées depuis longtemps en pharmacie pour faire des antiseptiques, des inhalants, des embrocations, etc. (Bruneton, 2009). Cependant, leurs activités biologiques vis-à-vis des microorganismes sont mal connues, quoiqu'il y ait déjà eu quelques travaux entrepris dans ce cadre, sur un petit nombre d'espèces.

Adames et al. (1983) ont testé les HE de *Eucalyptus citriodora* par la méthode de diffusion. Ils ont trouvé qu'elles ont montré une certaine activité contre *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus albus*, *Escherichia coli*, et contre *Proteus vulgaris*.

Beylier a testé les huiles essentielles des *Eucalyptus citriodora*, *E. dives* et *E. radiata* par la méthode de Simeon de Buochberg (1976) a noté qu'elles ont montré une certaine activité contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et contre les champignons *Candida albicans* et *Aspergillus niger* (Beylier, 1979).

De même, les huiles essentielles des *Eucalyptus crebra*, *E. citriodora*, *E. camaldulensis*, *E. robusta* et *E. rudis* ont été testées par Razafindrakoto. Elle a noté que les huiles essentielles de *Eucalyptus citriodora*, *E. camaldulensis* et *E. robusta* sont classées parmi les essences actives (Razafindrakoto, 1988).

C'est dans le souci de valoriser ses ressources naturelles que nous avons jugé important d'étudier les activités antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles de *Eucalyptus citriodora* et *E. houseana* dont la composition chimique a fait l'objet d'une publication (Traoré et al., 2010).

MATERIEL ET METHODES

Matériel végétal et extraction des huiles

Les huiles essentielles sont extraites des feuilles séchées de *Eucalyptus houseana* récoltées dans l'arboretum et *E. citriodora*

récoltées dans la parcelle N° 12379 de l'Institut d'Economie Rurale (IER) de N'Débougou (Niono – Mali). L'extraction a été faite par distillation à la vapeur d'eau sur un appareil de type Kaiser Land modifié au laboratoire de Chimie Organique et Substances Naturelles de la Faculté des Sciences et Techniques de Bamako.

Tests biologiques

Les tests antibactérienne et antifongique ont été réalisés au service de Bactériologie Sérologie et Stérilisation de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) de Bamako (Mali).

Germes pathogènes testés

- Bactéries : souche clinique *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ;
- Souche de référence *Escherichia coli* ATCC922 ;
- Champion *Candida albicans* (souche clinique).

Solutions à tester et témoin

Les huiles essentielles de *Eucalyptus houseana* et *E. citriodora*, devant subir le test biologique ont été utilisées à la concentration de 1/2 dissous dans du DMSO et du méthanol.

Différentes familles d'antibiotiques ont été utilisées comme témoin (Pefloxacin, Gentamicine, Colistine, Chloramphenicol, Tétracycline, Erythromycine, Pristinamycine, Oxacilline, Lincomycine). Le test antifongique sur *Candida albicans* recommande la nystatine comme témoin.

Activités antibactériennes

Nous avons utilisé la méthode de diffusion en Agar pour la détermination de cette activité. Des disques imprégnés avec les solutions à tester sont déposés sur les boîtes de Pétri. Après un séjour de 24 heures à l'étuve à 37 °C, les activités sont appréciées en mesurant les zones d'inhibition autour des disques.

La suspension bactérienne préparée a été coulée sur le milieu Muëller Hinton (MH) pour les bacilles et le staphylocoque. Après l'inondation de toute la surface du milieu par la suspension bactérienne, le surnageant a été jeté par aspiration avec une pipette de transfert. Chaque boîte a reçu cinq disques déposés sur un numéro d'identification apposé sur la face inférieure de ladite boîte. Les milieux ont ensuite été incubés à l'étuve pendant 24 heures à 37 °C. Les milieux de réisolement sont conservés au réfrigérateur.

Nous avons procédé à la mesure du diamètre des zones d'inhibition autour de chaque disque. Les antibiotiques standards ont été testés dans les mêmes conditions.

Activités antifongiques

Pour tester l'activité antifongique de nos huiles essentielles, nous avons utilisé la méthode bio autographique (Diallo, 2000). Elle consiste à la dilution rapide ainsi qu'à

l'isolement des constituants actifs à travers une cible. Les chromatogrammes sont recouverts d'un milieu de culture incorporé de micro organique. Après une incubation pendant 24 heures à 37 °C un révélateur approprié permet d'observer l'activité (Ouattara, 2005).

RESULTATS

Le Tableau 1 nous donne les résultats de l'activité antibactérienne. Il est aisément remarquable que les solvants de dissolution n'influencent pas l'activité observée. L'huile essentielle de *Eucalyptus houseana* dissoute dans du DMSO a été plus active sur *Staphylococcus aureus* avec 4 µl. Le diamètre des zones d'inhibition est de 14 mm.

Les deux huiles essentielles de *Eucalyptus* testées ont montré une activité vis-à-vis de *Candida albicans* comme l'indique le Tableau 2.

Tableau 1: Résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles, des solvants et des antibiotiques de références.

Quantités	2 µl	4 µl	2 µl	4 µl
	Diamètre d'inhibition en mm			
Produits	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>	
<i>E. houseana</i>	10	10	8	14
<i>E. citriodora</i>	10	10	10	9
DMSO	0	0	0	0
Méthanol	0	0	0	0
Pefloxacin (PEF) (5 µg)	0 (R)		-	
Gentamicine (GM) (15 µg)	17 (S)		22 (S)	
Colistine (CL) (50 µg)	15 (S)		-	
Chloramphenicol (C) (30 µg)	22 (I)		-	
Tétracycline (Te) (30 UI)	0 (R)		-	
Erythromycine (E) (15 UI)	-		23 (S)	
Pristinamycine (PR) (15 µg)	-		26 (S)	
Oxacilline (OX) (5 µg)	-		15 (R)	
Lincomycine (L) (15 µg)	-		28 (S)	

Tableau 2: Résultats de l'activité antifongique des huiles essentielles de *E. citriodora* et de *E. houseana* et de la nystatine sur *Candida albicans*.

Produits	Taches	Rf
<i>E. citriodora</i>	1	0.57
	2	0.69
<i>E. houseana</i>	1	0.68
	2	0.78
Nystatine	1	0

DISCUSSION

Les huiles essentielles testées ont montré une certaine activité sur les germes utilisés.

La plus grande activité a été notée avec l'huile essentielle de *Eucalyptus houseana* sur *Staphylococcus aureus*.

Il a été remarqué que les solvants de dissolution n'influencent pas l'activité observée sur les bactéries.

Nous avons noté qu'avec l'huile essentielle de *Eucalyptus citriodora*, l'activité ne croit pas toujours avec l'élévation de la quantité de dépôt. L'activité semble ne pas être dose dépendante. Ceci pourrait s'expliquer d'une part par la dissolution plus ou moins bonne, d'autre part par la diffusion ou la charge des boîtes de pétri (condition d'absorption des germes par la gélose) ou encore la composition de l'huile essentielle. Par ailleurs, l'huile essentielle de *Eucalyptus houseana* semble avoir une activité beaucoup plus grande qu'on ne le pense, au vu de sa composition chimique avec le p-cymène (30.6%) et le 1,8-cinéole (32.1%) comme composés majoritaires (Traoré et al., 2010). Nous supposons qu'il y a un effet de synergie entre le p-cymène et le 1,8-cinéole.

L'huile essentielle de *Eucalyptus citriodora* qui a une composition particulière (citronellal) (Traoré et al., 2010) est classée parmi les essences actives. Son activité est probablement due à sa forte teneur en aldéhyde (76.33% de citronellal), encore que l'on n'a pas déterminé l'activité du composé pur. Conformément aux résultats déjà cités par Adames et al. (1983), cette essence est relativement active contre *Staphylococcus*

aureus, et particulièrement contre *Escherichia coli*, ce qui a été également observé par Beylier (Beylier, 1979).

Quant à l'activité antifongique, elle a été recherchée sur *Candida albicans*. Les deux huiles essentielles de *Eucalyptus* testées ont montré deux zones d'inhibition.

Les alcools aliphatiques (citronellol : 7,25% et méthyl eugénol : 8,21%) et l'aldéhyde (citronellal : 76,33%) de l'huile essentielle de *Eucalyptus citriodora* pourraient être responsables de son activité antifongique. D'après Maruzzella et al. (1958) ces composés sont actifs contre les champignons.

Les deux zones d'inhibition de l'huile essentielle de *Eucalyptus houseana* pourraient s'expliquer par la présence de ces principaux constituants le p-cymène (30,6%) et le 1,8-cinéole (32,1%).

Les huiles essentielles des *Eucalyptus* testées ont une activité non négligeable contre les bactéries et les champignons. Dans la littérature, des résultats similaires ont été obtenus pour des huiles essentielles de *Eucalyptus* d'espèces différentes. Ainsi Oyedeji et al. (1999) ont démontré des activités antibactériennes considérables sur les bactéries à gram positif et négatif, et antifongiques sur *Candida albicans* des huiles essentielles de cinq variétés de *Eucalyptus* du Nigéria. Elaissi et al. (2011) ont décrit que l'huile essentielle de *Eucalyptus odorata* est la plus active contre *Staphylococcus aureus*. Selon Bachir et al. (2012) l'huile essentielle de *Eucalyptus globulus* a un effet sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Les travaux de Gilles et al. (2010) ont mis en

évidence l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Eucalyptus staigeriana*.

REMERCIEMENTS

Nous remercions vivement :

- L'ambassade de France au Mali pour son soutien financier ;
- L'Institut d'Economie Rurale (IER) de Niono ;
- Le Laboratoire de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) et le Département de Médecine Traditionnelle de Bamako pour la recherche de l'activité antimicrobienne,
- Le laboratoire des Huiles Essentielles à l'Université Blaise Pascal de Clermont pour sa collaboration dans les analyses.
- Le Laboratoire de Chimie Organique et Substances Naturelles de la Faculté des Sciences et Techniques de Bamako pour son soutien matériel.

REFERENCES

- Adames M, Mendoza E, De Nigrinis LSO. 1983. *Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmaceuticas*, **4**(1): 95-111.
- Arbonnier M. 2009. *Arbres, Arbustes et Lianes des Zones Sèches d'Afrique de l'Ouest* (3^{ème} edn). Ed. CNRS : Paris.
- Bachir RG, Benali M. 2012. Antibacterial activity of the essential oils from the leaves of *Eucalyptus globulus* against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, **2**(9): 739-742.
- Beylier MF. 1979. Bacteriostatic activity of some Australian essential oils. *Perfum. & Flavor*, **4**: 23-26.
- Bruneton J. 2009. *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales* (4^{ème} edn). Tec & Doc Lavoisier : Paris.
- FAO. 1982. *Les Eucalyptus dans les Reboisements* (Forets N°11). Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture: Rome.
- Diallo D. 2000. Ethnopharmacological survey of medicinal plant in Mali and phytochemical study of four of them: *Glinus oppositifolius* (AIZOACEAE), *Diospyros abyssinica* (EBENACEAE), *Entada africana* (MIMOSACEAE), *Trichilia emetica* (MELIACEAE). Thèse de doctorat, Lausanne.
- Elaissi A, Salah KH, Mabrouk S, Larbi KM, Chemli R, Harzallah-Skhiri F. 2011. Antibacterial activity and chemical composition of 20 *Eucalyptus* species' essential oils. *Food Chemistry*, **129**(4): 1427-1434.
- Gilles M J, Zhao M, Agboola S. 2010. Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of three Australian *Eucalyptus* species. *Food Chemistry*, **119**(2): 15
- Jasper C, Maruzzella Percival A. 1958. The antimicrobial activity of perfume oils. *Journal of the American Pharmaceutical Association*, **47** (7): 471-476.
- Razafindrakoto BS, 1988. Huiles essentielles d'*Eucalyptus* de Madagascar Thèse de Doctorat Université des Sciences et Techniques du Languedoc.
- Simeon de Buochberg M. 1976. Thèse Doct. Pharm., Montpellier.
- Traoré N, Sidibé L, Figuéredo G, Chalchat JC. 2010. Chemical composition of five essential oils of *Eucalyptus* species from Mali. *E. houseana* F. V. Fitzg. Ex Maiden, *E. citrodora* hook., *E. raveretiana* F. Muell., *E. robusta* Smith and *E. urophylla* S. T. Blake. *J. Essent. Oil. Res.*, **22**(6): 510-513.
- Ouattara F. 2005 Plantes médicinales et traitement traditionnel des infections sexuellement transmissibles en milieu Bamaman, Malinké et Minianka : cas de *Annona senegalensis* L. (Annonaceae) et de *Stachytarpheta angustifolia* Valh. (Verbenaceae). Thèse Pharmacie, Bamako
- Oyedéji AO, Ekundayo O, Olawore ON, Adenivi BA, Koenig WA. 1999. Antimicrobial activity of the essential oils of five *Eucalyptus* species growing in Nigeria. *Fitoterapia*, **70**(5): 526-528.