

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



**MEMOIRE**

Année Académique

2021-2022

Présenté pour l'obtention du diplôme de

**MASTER**

Biologie-Santé et Substance Naturelles d'Intérêts

**Option** : Phytothérapie et pharmacologie des substances naturelles

Présenté par :

**NIAMIEN Kouassi Pacôme**

Numéro d'ordre :

110/2022

Thème :

---

Etude de l'activité antibactérienne des extraits aqueux et hydro-éthanoliques de trois plantes (*Harungana madagascariensis*, *Zanthoxylum leprieurii* et *Xylopia aethiopica*) sur la croissance *in vitro* de *Salmonella typhi* et *Escherichia coli*

---

**Soutenue publiquement le 01 octobre 2022**

**Jury**

**M. KOUASSI Kouassi Clément**, Maître de Conférences, UJLoG, **Président de jury**

**M. ACKAH Jacques Auguste A. B.**, Maître de Conférences, UJLoG, **Directeur scientifique**

**M. AHON Gnamien Marcel**, Maître-Assistant, IPNETP, **Encadreur**

**M. VOKO Bi Rosin Don-Rodrigue**, Maître-Assistant, UJLoG, **Examineur**

## **DEDICACE**

Je dédie ce mémoire à mes parents :

A mon père NIAMIEN N'goran Kan et à ma mère KOUAME Ahou.

## **AVANT- PROPOS**

Le présent travail est issu de l'unité de formation et de recherche (UFR) Agroforesterie de l'Université Jean LOROUGNON Guédé (UJLOG) de Daloa. Ce travail a été réalisé au centre National Floristique (CNF) sous la direction scientifique du Docteur ACKAH Jacques Auguste Alfred Bognan, sous l'encadrement technique du Docteur AHON Gnamien Marcel.

Ce mémoire s'intitule "Etude de l'activité antibactérienne des extraits aqueux et hydro-éthanoliques de trois plantes *Harungana madagascariensis*, *Zanthoxylum lepreurii* et *Xylopi aethiopia* sur la croissance *in vitro* de *Salmonella typhi* et *Escherichia coli*."

Ce travail s'inscrit dans le programme de la valorisation des plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle en vue de développer des produits nouveaux, fiables et accessibles à tous. Une telle recherche scientifique a l'avantage de permettre de connaître les propriétés pharmacologiques des médicaments issus des plantes médicinales. Elle peut permettre également de trouver sûrement d'autres nouvelles séries de médicaments.

## **REMERCIEMENTS**

Je tiens à adresser mes sincères remerciements à :

Madame TIDOU Abiba Sanogo épouse KONE, Professeur Titulaire d'Ecotoxicologie, Présidente de l'Université Jean LOROUGNON Guédé pour la bonne marche de l'Université.

Monsieur KONE Tidiani, Professeur Titulaire d'Hydrobiologie, Vice-Président de l'Université Jean LOROUGNON Guédé pour son humilité et tous les efforts qu'il fait quotidiennement en vue de la bonne marche de l'institution.

Monsieur AKAFFOU Doffou Sélastique, Professeur Titulaire de Génétique, Vice-Président de l'Université Jean LOROUGNON Guédé pour sa participation dans le système éducatif académique.

Madame TONESSIA Dolou Charlotte, Maître de Conférences de Phytopathologie, Directrice de l'UFR Agroforesterie pour sa bonne gestion de l'UFR et son attention aux étudiants.

Monsieur OUATTARA Djakalia, Maître de Conférences, Directeur du Centre National de Floristique et toute son équipe de m'avoir permis de travailler dans ses locaux.

Membres du jury :

Monsieur KOUASSI Kouassi Clément, Maître de Conférences de Microbiologie-Sécurité Alimentaire, Président du jury de ce mémoire, pour avoir accepté de présider, de juger et d'apporter des critiques scientifiques à ce travail.

Monsieur ACKAH Jacques Auguste Alfred Bognan, Maître de Conférences de Biochimie-Microbiologie, Directeur Scientifique de ce mémoire, Responsable du parcours Biologie Santé et Substances Naturelles d'Intérêts, pour l'effort, le sérieux et l'amour qu'il met pour la bonne marche de ce parcours. Merci pour la patience, la disponibilité et surtout les judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion.

Monsieur AHON Gnamien Marcel, Docteur en Biotechnologie Spécialité Biochimie-Microbiologie. Encadreur de ce mémoire, Maître-Assistant CAMES à IPNETP. Je te remercie de m'avoir encadré, orienté, aidé et conseillé. Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde gratitude et mon respect.

Monsieur VOKO Bi, Maître-Assistant de Biochimie-Microbiologie, Examineur de ce mémoire, pour avoir accepté d'examiner de façon minutieux et apporté des critiques constructives sur ce mémoire.

Et à des docteurs qui ont participé à ma formation :

Monsieur BOLOU Gbouhoury Eric Kevin, Chargé de recherche de Biochimie-Pharmacologie à l'Université Félix Houphouët-Boigny, Chef du laboratoire de microbiologie du Centre Nationale de Floristique. Je te remercie pour tes conseils de microbiologie.

Monsieur BEUGRE Grah Avit Maxwell, Professeur Titulaire de Biochimie-Nutrition, Directeur du laboratoire d'Agrovalorisation, pour son soutien et ses conseils aux étudiants.

Monsieur KPOROU Kouassi Elisée, Maître de Conférences de Biochimie Pharmacologie, merci pour ta contribution théorique de ma formation.

Je remercie également toute l'équipe pédagogique du parcours Biologie Santé et des Substances naturelles d'Intérêts et les intervenants professionnels responsables de ma formation en Biochimie-Microbiologie, notamment les Docteurs : KOFFI Allali Eugène, OKOU Obou Constantin, AKRE Djako Sosthène, COULIBALY Bakary, OUATTARA Abou, pour avoir assuré la partie théorie de ma formation.

Je remercie également mes collègues du laboratoire du Centre National de Floristique de l'Université Felix Houphouët Boigny de Cocody (Abidjan), TIEMOKO Kouamé Kouassi Marcelin et KOUAME Cindy, qui m'ont apporté leur soutien moral et intellectuel tout au long de ma démarche et des étudiants de thèse LIDJI Jessica qui m'a assisté durant la manipulation et ANGE pour ces conseils.

Je tiens à remercier aussi tous mes camarades de la filière Biologie Santé pour leur motivation à la recherche scientifique.

A mon oncle NIAMIEN N'goran "NG" et son épouse NIAMIEN Adjoua Justine, je vous remercie de m'avoir hébergé et de m'avoir soutenu tout au long de ce stage qui s'est déroulé à l'université Félix HOUPHOUËT BOIGNY de Cocody (Abidjan).

A ma grande sœur NIAMIEN Ahou Charlotte et à mes petits frères NIAMIEN Kouamé Constant et YAO N'guessan Oscar, merci pour vos encouragements et vos prières, vous êtes ma principale source de motivation.

Et à mon cousin HANZI Boidi Franck, merci pour ta participation financière.

<b>TABLE DES MATIERES.....</b>	<b>Pages</b>
DEDICACE.....	i
AVANT-PROPOS.....	ii
REMERCIEMENTS.....	iii
TABLE DES MATIERES.....	v
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS.....	viii
LISTE DES TABLEAUX.....	ix
LISTE DES FIGURES.....	x
INTRODUCTION.....	1
<b>PREMIERE PARTIE : GENERALITÉS</b>	
1.1 Espèces étudiées.....	3
1.1.1 <i>Harungara madagascariensis</i> .....	3
1.1.1.1 Descriptions botaniques.....	3
1.1.1.2 Classification.....	4
1.1.1.3 Ethnobotaniques et utilisations .....	5
1.1.2 <i>Zanthoxylum leprieurii</i> Guill.....	5
1.1.2.1 Descriptions botaniques.....	5
1.1.2.2 Classification.....	6
1.1.2.3 Ethnobotaniques et utilisations.....	7
1.1.3 <i>Xylopi aethiopica</i> .....	7
1.1.3.1 Descriptions botaniques.....	7
1.1.3.2 Classification.....	8
1.1.3.3 Ethnobotaniques et utilisations.....	8
1.2 Métabolites secondaires des plantes médicinales.....	9
1.2.1 Alcaloïdes.....	9
1.2.2 Polyphénols.....	9
1.2.3 Terpènes et stéroïdes.....	10
1.3 Microorganismes testés.....	10
1.3.1 <i>Salmonella typhi</i> .....	10
1.3.1.1 Morphologie.....	10
1.3.1.2 Infection au <i>salmonella typhi</i> .....	10

1.3.1.3	<i>Salmonella typhi</i> et la résistance aux antibiotiques.....	11
1.3.1.4	Principe du traitement des infections à <i>Salmonella typhi</i> .....	11
1.3.1.4.1	Traitement curatif.....	11
1.3.1.4.2	Traitement préventif.....	12
1.3.2	<i>Escherichia coli</i> .....	12
1.3.2.1	Morphologie.....	12
1.3.2.2	Infection à <i>Escherichia coli</i> .....	12
1.3.2.3	<i>Escherichia coli</i> et résistance aux antibiotiques.....	13
1.3.2.4	Principe du traitement des infections à <i>Escherichia coli</i> .....	13
1.3.2.4.1	Traitement curatif.....	13
1.3.2.4.2	Traitement préventif.....	13
<b>DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES</b>		
2.1	<b>MATÉRIEL</b> .....	14
2.1.1	Matériel végétal.....	14
2.1.2	Germes bactériens.....	14
2.1.3	Matériels techniques.....	14
2.1.3.1	Appareillages.....	14
2.1.3.2	Milieus de cultures.....	14
2.1.3.3	Solvant.....	14
2.1.3.4	Petits matériels.....	15
2.2	<b>MÉTHODES</b> .....	15
2.2.1	Collecte des plantes.....	15
2.2.2	Préparation des extraits végétaux.....	15
2.2.3	Calculs du rendement.....	18
2.2.4	Etudes phytochimiques.....	18
2.2.4.1	Criblage phytochimique.....	18
2.2.4.2	Recherche des saponosides.....	18
2.2.4.3	Recherche des polyphénols.....	18
2.2.4.4	Recherche des tanins catéchiques.....	18
2.2.4.5	Recherche des tanins galliques.....	19
2.2.4.6	Recherche des flavonoïdes.....	19
2.2.4.7	Recherche des stérols.....	19
2.2.4.8	Recherche des anthocyanes.....	19

2.2.5	Evaluation de l'activité antibactérienne <i>in vitro</i> des différents extraits aqueux, et hydro-éthanoliques par la méthode de diffusion ou de dilution.....	19
2.2.5.1	Tests antibactériens.....	19
2.2.5.2	Tests d'efficacités des extraits végétaux en milieu solide.....	20
2.2.5.3	Test de détermination des paramètres antimicrobiens des Extraits végétaux en milieu liquide.....	20
<b>TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION</b>		
3.1	<b>RESULTATS.....</b>	<b>24</b>
3.1.1	Rendement des différents extraits obtenus.....	24
3.1.2	Caractéristiques du tri photochimique.....	25
3.1.3	Action des extraits aqueux et hydro-éthanoliques sur la croissance <i>in vitro</i> des germes en milieux solide.....	27
3.1.3.1	Effets des extraits aqueux sur la croissance <i>in vitro</i> des germes en milieu solide.....	27
3.1.3.2	Effets des extraits hydro-éthanoliques sur la croissance <i>in vitro</i> des germes en milieu solides.....	29
3.1.4	Paramètres antibactériens des extraits aqueux et hydro-éthanoliques (M1aq, M2aq, EHmaq, M1éth, M2éth, EHméth) sur la croissance <i>in vitro</i> des germes en milieux liquide .....	31
3.1.5	Comparaison de l'activité antibactérienne des extraits aqueux et Hydro-éthanoliques des trois plantes sur la croissance <i>in vitro</i> de <i>S. typhi</i> et <i>E. coli</i> .....	36
3.2	<b>DISCUSSION.....</b>	<b>37</b>
	<b>CONCLUSION ET PESPECTIVES.....</b>	<b>40</b>
	<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIES.....</b>	<b>41</b>

## LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

BMH	: Bouillon Muller-Hinton
CMB	: Concentration Minimale Bactéricide
CMI	: Concentration Minimale Inhibitrice
CNF	: Centre National Floristique
GMH	: Gélose Mueller Hinton
HE	: Huile Essentielle
ME	: Macération d'Ecorce
IPCI	: Institut Pasteur de Cote d'Ivoire
MH	: Muller-Hinton
UJLOG	: Université Jean Lorougnon Guédé
UFHB	: Université Félix Houphouët-Boigny
M1aq	: Mélange1 aqueux
M1éth	: Mélange1 hydro-éthanolique
M2aq	: Mélange2 aqueux
M2éth	: Mélange2 hydro-éthanolique
EHmaq	: Ecorce de <i>Harungana madagascariensis</i> aqueux
EHméth	: Ecorce de <i>Harungana madagascariensis</i> hydro-éthanolique
FHmaq	: Feuille de <i>Harungana madagascariensis</i> aqueux
FHméth	: Feuille de <i>Harungana madagascariensis</i> hydro-éthanolique
EZ1aq	: Ecorce de <i>Zanthoxylum leprieurii</i> aqueux
EZ1éth	: Ecorce de <i>Zanthoxylum leprieurii</i> hydro-éthanolique
FrXaeéth	: Fruit de <i>Xylopi aethiopica</i> hydro-éthanolique
FrXaeaq	:Fruit de <i>Xylopi aethiopica</i> aqueux

<b>LISTES DES TABLEAUX.....Pages</b>	
Tableau I	:Rendements des extraits totaux aqueux des trois plantes étudiées.....24
Tableau II	:Rendements des extraits hydro-éthanoliques des trois plantes étudiées.....25
Tableau III	:Résultant la présence ou l'absence des composés chimiques dans les différents extraits aqueux et hydro-éthanoliques .....26
Tableau IV	:Paramètres des diamètres d'inhibitions des extraits aqueux sur la croissance <i>in vitro</i> de <i>E. coli</i> et <i>S. typhi</i> en milieu solide.....28
Tableau V	:Paramètres des diamètres d'inhibitions des extraits hydro-éthanoliques sur la croissance <i>in vitro</i> de <i>E. coli</i> et <i>S. typhi</i> en milieu solide.....30
Tableau VI	:Paramètres antibactériens des extraits aqueux et hydro-éthanoliques du Mélange 1 sur la croissance <i>in vitro</i> de <i>S. typhi</i> et <i>E. coli</i> en milieu liquide.....32
Tableau VII	:Paramètres antibactériens des extraits aqueux et hydro-éthanoliques du Mélange 2 sur la croissance <i>in vitro</i> de <i>S. typhi</i> et de <i>E. coli</i> en milieu liquide.....33
Tableau VIII	:Paramètres antibactériens des extraits aqueux et hydro-éthanoliques de l'écorce de <i>Harungana madagascariensis</i> sur la croissance <i>in vitro</i> de <i>S. typhi</i> et <i>E. coli</i> en milieu liquide.....34
Tableau IX	:Résultant la comparaison des extraits aqueux (M1aq, M2aq, EHmaq) et hydro-éthanoliques (M1éth, M2éth, EHméth) sur la croissance <i>in vitro</i> de <i>S. typhi</i> et <i>E. coli</i> .....36

<b>LISTES DES FIGURES.....</b>	<b>Pages</b>
Figure 1 :Photos des différents organes de <i>harungana madagascariensis</i> ; Feuilles (A), Ecorces (B), Fruits (C).....	4
Figure 2 : Photos des différents organes de <i>Zanthoxylum leprieurii</i> ; Ecorces (A), Fruits (B), Feuilles (C).....	6
Figure 3 :Photos des différents organes de <i>Xylopia aethiopica</i> ; Feuilles (A), Fruits (B).....	8
Figure 4 : Diagramme de préparation des différents extraits aqueux et hydroalcooliques.....	17
Figure 5 : Schéma du protocole de détermination de la CMI.....	22
Figure 6 : Schéma du protocole de détermination de la CMB.....	23
Figure 7 : Détermination de la CMI de l'extrait aqueux du mélange1 (M1aq) sur la croissance <i>in vitro</i> de <i>S. typhi</i> en milieu liquide.....	32
Figure 8 : Détermination de la CMB de l'extrait aqueux du mélange 1 (M1aq) sur la croissance <i>in vitro</i> de <i>S. typhi</i> en milieu liquide.....	33
Figure 9 : Détermination de la CMI de l'extrait aqueux de l'écorce de <i>Harungana madagascariensis</i> (EHmaq) sur la croissance <i>in vitro</i> de <i>S. typhi</i> en milieu liquide.....	34
Figure 10 : Détermination de la CMB de l'extrait aqueux de l'écorce de <i>Harungana madagascariensis</i> (EHmaq) sur la croissance <i>in vitro</i> de <i>S. typhi</i> milieu liquide.....	35

# INTRODUCTION

## INTRODUCTION

Les maladies infectieuses sont une des premières causes de mortalité dans le monde. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime que les maladies infectieuses sont responsables de 14 millions de décès par an dans le monde et elles représentent 43% des décès dans les pays en voie de développement (OMS,1999). En effet, les maladies infectieuses constituent une préoccupation importante de santé publique à cause de leur fréquence et de leur gravité dans ces pays (Traoré *et al.*, 2012). Les agents responsables de ces infections sont divers et variés comprenant les champignons, les bactéries et les virus. En outre, pour lutter contre ces agressions microbiennes la population se tourne vers la médecine moderne qui dispose des antibiotiques dans la lutte contre ces maladies. En plus des problèmes d'infection s'ajoutent les conditions socioéconomiques des populations se traduisant par l'inaccessibilité aux antibiotiques les plus efficaces (Millogo-Kone *et al.*, 2008). Cependant, pour ces dernières décennies avec la valorisation de la recherche scientifique et les substances naturelles, la pharmacopée traditionnelle a constitué pour ces populations une principale voie d'accès aux soins. Selon le rapport annuel de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), environ 80 % de cette population utilisent les plantes pour se soigner (OMS, 2003 ; Elujoba *et al.*, 2005). Le recours à la médecine traditionnelle s'explique par les habitudes traditionnelles et culturelles, la proximité des plantes et les coûts élevés des médicaments modernes qui sont hors de portée pour la plupart des populations africaines aux revenus dérisoires (Stevens, 1997).

Cependant, de nombreuses recherches ne cessent de démontrer que, non seulement, les plantes médicinales renferment de nombreux principes biologiquement actifs qui exercent différentes activités pharmacologiques : activités antioxydantes, antiinflammatoires, analgésiques, antiviraux, antibactériennes, antifongiques (Candan *et al.*, 2003 ; Lagnika *et al.*, 2012 ; Dinzedi, 2015), mais encore qu'elles restent la source la plus importante de molécules entrant dans la composition des médicaments pharmaceutiques. En Côte d'ivoire, de nombreuses plantes ont fait l'objet d'études scientifiques pour leurs propriétés pharmacologiques et médicinales (Zirihi *et al.*, 1991 ; Bekro *et al.*, 2007 ; Tra Bi *et al.*, 2008 ; Soro *et al.*, 2010 ; Kouassi *et al.*, 2012). En plus, depuis 1979, Adjanohoun & Aké-Assi ne cessent de montrer que le patrimoine floristique africain est très riche en plantes médicinales et regorge près de 5000 espèces médicamenteuses.

Si la découverte et l'utilisation des antibiotiques ont été à l'origine des plus grands succès de la médecine, aujourd'hui, l'émergence et la diffusion des bactéries multi-résistantes dans les populations humaines sont devenues des problèmes de santé publique très préoccupants (Lozniewski & Rabaud, 2010). Ainsi la progression des bactéries résistantes et l'absence de

réelles perspectives de découverte de nouveaux antibiotiques dans les années à venir, nous ont conduit à étudier l'efficacité des plantes à vertus thérapeutiques afin d'en isoler les principes actifs. Parmi les espèces sollicitées figurent *Harungana madagascariensis*, *Zanthoxylum leprieurii* et *Xylopi. aethiopica*. Des études antérieures ont montré que ces plantes possèdent des activités antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires, anti-hépatotoxiques, anti-protozoaires et anti-malariales (Madubunyi & Obi, 1995 ; Iwalewa & Omisore, 2008). Pour compléter cette étude, le présent travail a eu pour objectif d'évaluer l'efficacité des espèces de plantes (*Harungana madagascariensis*, *Zanthoxylum leprieurii*, *Xylopi aethiopica*) sur l'inhibition de la croissance des germes.

Pour atteindre cet objectif, les objectifs spécifiques suivants ont été définis comme suit :

1. Evaluer l'activité antibactérienne des extraits aqueux et hydroalcooliques de trois plantes (*Harungara madagascariensis*, *Zanthoxylum leprieurii* et *Xylopi aethiopica*) sur la croissance *in vitro* de *Salmonella typhi* et d'*Escherichia coli*.
2. Comparer l'activité antibactérienne des extraits aqueux et hydroalcooliques de trois plantes (*Harungara madagascariensis*, *Zanthoxylum leprieurii* et *Xylopi aethiopica*) sur la croissance *in vitro* de *Salmonella typhi* et d'*Escherichia coli*.
3. Identifier les groupes de familles des métabolites secondaires contenues dans les extraits aqueux et hydroalcooliques de trois plantes (*Harungara madagascariensis*, *Zanthoxylum leprieurii* et *Xylopi aethiopica*).

# PREMIERE PARTIE : GENERALITÉS

## 1.1 Espèces étudiées

### 1.1.1 *Harungana madagascariensis*

#### 1.1.1.1 Descriptions botaniques

Le nom vernaculaire de cette plante est : Fotoï (Baoulé), Balanza (Dioula), *Harungana madagascariensis* aussi appelé bois harongue ou haronga, est une espèce d'arbuste de la famille des Rutaceae Cet arbre fruitier, de genre *Harungana*, est une plante originaire de Madagascar et pousse dans les forêts d'Afrique tropicale. C'est un arbuste d'une dizaine de mètres (Randriambelona, 2002) avec un tronc assez droit portant des rameaux toujours feuillés (figure 1). Ce tronc est couvert d'une écorce qui peut se détacher en lanière courte (Ramahandrimanana, 1986). Tous les organes jeunes sont couverts de poils roux, tels que les bourgeons, les tiges et l'inflorescence. *Harungana* présente un suc jaune ou orangé dénommé communément « dintin-karongana » ou résine de l'harongana. Ce suc se solidifie à l'air libre en une gomme soluble dans l'eau (Rasoloarizafy, 1987). *Harungana* présente des feuilles opposées simples sans stipule (figure 1). Elles sont assez grandes, avec une dimension moyenne de 10 cm sur 4 cm et peut atteindre les 16 cm sur 5 cm. Leurs couleurs sont caractéristiques avec une face supérieure de couleur vert sombre et une face inférieure rousse. Elles sont imprégnées de points noirs visibles par transparence Les fleurs sont hermaphrodites c'est à dire que l'appareil reproducteur mâle et femelle sont portés par une même fleur (Capuron, 1957). Les fruits sont des drupes sèches renfermant plusieurs noyaux (figure 1). Son diamètre est de 2 à 4 mm. Les graines de *Harungana* sont orthodoxes c'est-à-dire graines qui supportent sans dommage la dessiccation jusqu'à des teneurs en eau très basse, de l'ordre de 5 à 100 (Rajaonarivelo, 1995).

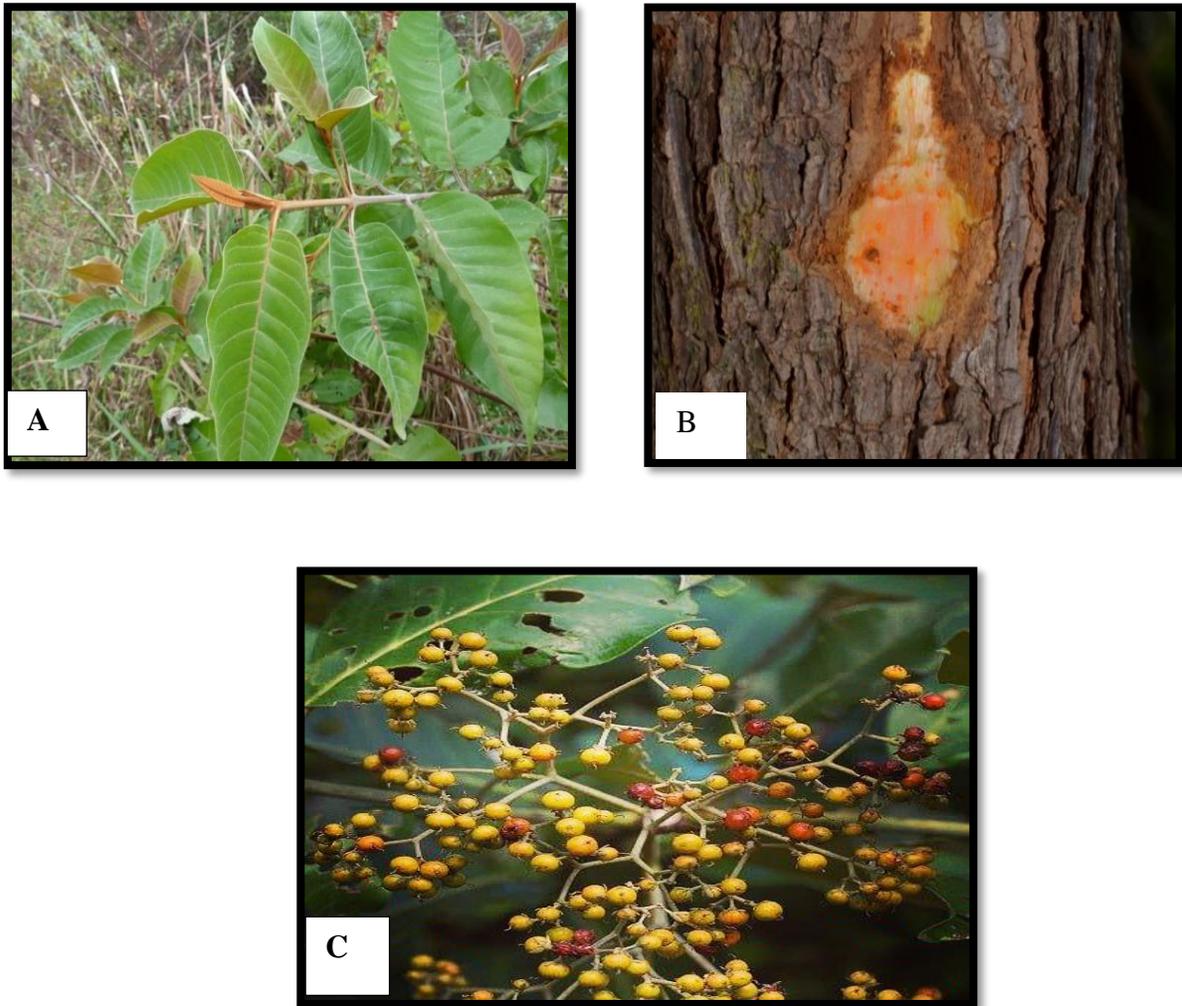


Figure 1 : Photos des différents organes de *Harungana madagascariensis* ; Feuilles (A), Ecorces (B), Fruits (C). (Niamien, 2022 ; Daloa/Côte d'Ivoire)

#### 1.1.1.2 Classification

Selon la classification de Belesi (2009), cette espèce appartient au :

Règne	:	Plantae
Division	:	Magnoliophyta
Classe	:	Magnoliopsida
Ordre	:	Malpighiales
Famille	:	Rutaceae
Genre	:	<i>Harungana</i>
Espèce	:	<i>Harungana madagascariensis</i>

### 1.1.1.3 Ethnobotaniques et utilisations

*Harungana* est une de plante héliophile qui fleurisse vers le mois de Mars au mois de Juin. Elle commence à donner des fruits matures aux mois d’Août et de Septembre (Randriambelona, 2002). Sa multiplication est essentiellement sexuée avec une durée de germination de 20 à 40 jours après le semis. Elle est utilisée dans le traitement de la gale qui est une maladie parasitaire due à des acariens appelés *Sarcoptes scabiei* (Descheemaeker, 2003). Au Nigeria les feuilles de *Harungana madagascariensis* mélangées à l’eau sont bouillies et prises par voie orale sont utilisées dans le traitement des maladies gastro-intestinales ; Quant à la sève, elle est utilisée pour le traitement de dartres sèches (Biapa & Agbor, 2007).

### 1.1.2 *Zanthoxylum leprieurii* Guill.

#### 1.1.2.1 Descriptions botaniques

Les noms vernaculaires de cette plante sont : Djédjé (Baoulé), Dagari (Dioula), Melan, Djamelang, Manyandje (Bamiléké), Oksanda (Bassa), Bongo (Boulou), Elongo (Douala), Bobili (Nom-dong), Ata (Yoruba). *Zanthoxylum leprieurii* Guill et Perr également connu sous le nom de *Fagara angolensis* Engl. et *Fagara leprieurii* Engl., et *Fagara polyacantha* a une large distribution à travers l’Afrique tropicale. C’est un arbre de taille moyenne atteignant 15–25 m de haut et 40 cm de diamètre à la base et appartenant à la famille des Rutaceae (figure 2). Les branches comportent des épines qui deviennent des bosses sur le fût. Les feuilles sont alternes, composées imparipennées avec un rachis épineux sur le dessous possédant 8–16 folioles de 15–55 cm de long (figure 2). Ces folioles sont apex acuminées ou caudées, à base oblique et cunéiforme, bords entiers vers la base, dentés ailleurs, glabres, papyracées, à nombreux points glandulaires minuscules. Les fleurs sont unisexuées, régulières, tétramères, petites, presque sessiles ; sépales légèrement soudés à la base, largement ovales, de 0,4–0,6 mm de long. Le fruit est un follicule presque globuleux, de 4–5 mm de diamètre, presque sessile, rougeâtre, ponctué de glandes (figure 2). Les graines presque globuleuses, de 3–3,5 mm de diamètre, noires et brillantes (Lovett *et al.*, 2003).



Figure 2 : Photos des différents organes de *Zanthoxylum leprieurii* ; Ecorces (A), Fruits (B), Feuilles (C). (Niamien, 2022 ; Daloa/Côte d'Ivoire)

#### 1.1.2.2 Classification

Selon la classification de (Waheed *et al.*, 2011) cette espèce appartient au :

Règne :	Plantae
Division:	Magnoliophyta
Classe :	Magnoliopsida
Ordre :	Malpighiales
Famille :	Rutaceae
Genre :	<i>Zanthoxylum</i>
Espèce :	<i>Zanthoxylum leprieurii</i>

### 1.1.2.3 Ethnobotaniques et utilisations

La plupart des organes de *Zanthoxylum leprieurii* sont très aromatiques et sont couramment utilisés en médecine traditionnelle. Des décoctions d'écorces, de tiges ou de racines sont généralement prises comme diurétique et purgatif pour traiter des maladies vénériennes, la stérilité, les douleurs rénales, les douleurs du bas du dos, les douleurs post-partum, l'arthrose, les infections cutanées, les infections urinaires, la dysenterie, les vers intestinaux et les douleurs abdominales (Tchinda *et al.*, 2009 ; Sofowora, 2010 ; Talontsi *et al.*, 2012 ; Yao *et al.*, 2014). De plus, il est démontré que l'infusion de fruits de *Z. leprieurii* soulage les symptômes de la drépanocytose (Tabuti *et al.*, 2011). L'écorce de la tige ou des jeunes pousses ou les feuilles transformées en pâte sont également appliquées de façon topique pour traiter des blessures, des plaies syphilitiques, les ulcères lépreux, les maux de dents, le saignement des gencives, l'arthrose, les douleurs rénales et les douleurs rhumatismales. Au Cameroun, on utilise les fruits séchés comme épice dans des soupes locales appelées "nkui" et "nah-poh" (Tchiégang *et al.*, 2005).

### 1.1.3 *Xylopi*a *aethi*opica

#### 1.1.3.1 Descriptions botaniques

Noms vernaculaires : Sidiant (Baoulé), Niako (Dioula), Nkimba (foufoudé : Nord-Cameroun), Ekui (Ewondo). *Xylopi*a *aethi*opica, plante aromatique, est une espèce d'arbre persistante de la famille des *Annonaceae*. C'est un arbre à fût droit pouvant atteindre 20 mètres de hauteur (figure 3). Les feuilles sont oblongues-lancéolées, obtuses ou arrondies à la base, acuminées, glabres, glauques en dessous, de 4 à 10 cm de longueur, de 2 à 4 cm de largeur (figure 3). Les fleurs sont de couleur blanc-verdâtre, parfumées. Les fruits cylindriques, linéaires, sont disposés en capitules et forment des bouquets de 12 à 20 capsules bacciformes (figure 3). C'est une espèce de la zone guinéenne localisée dans les sols humides ou marécageux, connue du Sénégal au Gabon.

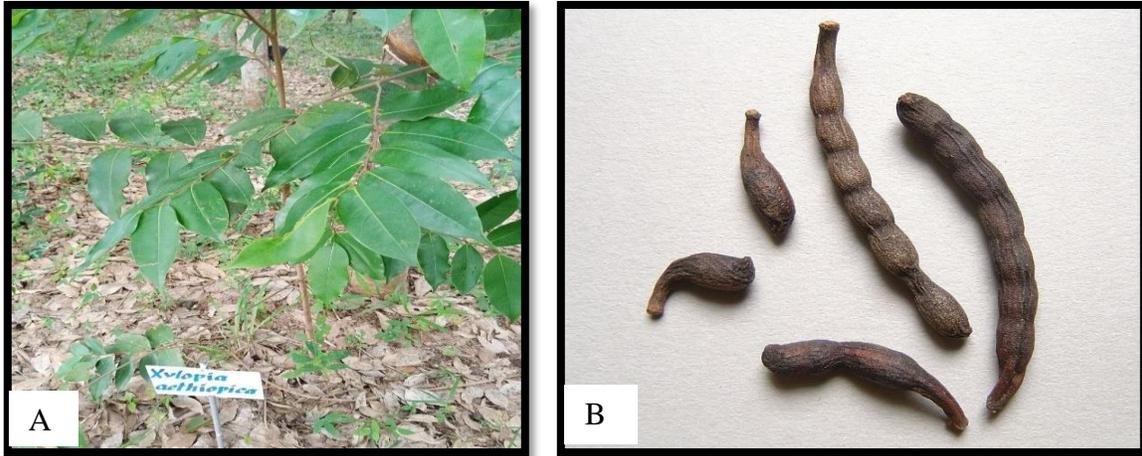


Figure 3 : Photos des différents organes de *Xylopiya aethiopica* ; Feuilles (A), Fruits (B).  
(Niamien, 2022 ; Daloa/Cote d'Ivoire)

#### 1.1.3.2 Classification

Selon la classification de Cronquist (1981), cette espèce appartient au :

Règne :	Plantae
Division:	Magnoliophyta
Classe :	Magnoliopsida
Ordre :	Magnoliales
Famille :	Annonaceae
Genre :	<i>Xylopiya</i>
Espèce :	<i>Xylopiya aethiopica</i>

#### 1.1.3.3 Ethnobotaniques et utilisations

Des recherches antérieures ont révélé que les organes de *Xylopiya aethiopica* sont utilisés à des fins alimentaires, médicinales, commerciales et agricoles. Dans l'alimentation, les fruits de *Xylopiya aethiopica* sont utilisés entiers ou écrasés comme aromatisant (Dupriez & De Leener, 1987). Au Sénégal, ils servent à parfumer le café Touba qui est la boisson traditionnelle des Mourides *Xylopiya aethiopica* possède des propriétés curatives ; elle est utilisée comme antibiotique, anti-inflammatoire, anti-sporadique et anti-dermique. Généralement, le fruit séché est utilisé comme épice et pour ses vertus médicinales, en particulier contre la grippe, les bronchites et la dysenterie. Cette espèce entre aussi dans la composition des produits cosmétiques. Ses fruits pilés dans un peu d'eau constituent un remède stimulant et tonique qui

est conseillé aux nouvelles accouchées comme reconstituant (Berhaut, 1967). Les racines, aussi aromatiques que les graines, sont plutôt utilisées en décoction concentrée contre les maux de dents (Burkill, 1985). La décoction des feuilles s'emploie contre le rhumatisme ou comme vomitif (Berhaut, 1967). Ses feuilles macérées dans du vin de palme favorisent l'ivresse (Raponda-Walker & Sillans, 1995). Dans le domaine agricole, les formulations à base de fruits secs de *Xylopiya aethiopica* servent à une protection durable et à coût peu élevé contre *Callosobruchus maculatus* F. dans les stocks de niébé (Adjanohoun, *et al.*, 1998). En outre, l'huile essentielle de *Xylopiya aethiopica* est toxique vis-à-vis du charançon du maïs (Kouninki *et al.*, 2005).

## 1.2 Métabolites secondaires des plantes médicinales

En fonction de leur nature biochimique et de leur origine biosynthétique, on distingue plusieurs catégories de métabolites secondaires. Il s'agit notamment des alcaloïdes, les polyphénols, les terpènes et stéroïdes.

### 1.2.1 Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques azotées d'origine végétale, à caractère alcalin, de structure complexe. Les alcaloïdes ont été trouvés dans plusieurs familles de plantes. Les principales molécules trouvées dans les alcaloïdes sont la morphine isolée en 1805, la strychnine en 1818, la caféine, la quinine, la colchicine, le curare et l'atropine. Les alcaloïdes sont des substances toxiques même à faibles doses avec des effets thérapeutiques connus. Bon nombre d'entre eux ont fait l'objet de modifications chimiques pour donner de nouvelles substances à activité modifiée (nalorphine, vinorelbine, etc.), ou ont donné naissance à des familles de médicaments synthétiques (Allain, 2000).

### 1.2.2 Polyphénols

Les principaux composés phénoliques végétaux sont les phénols et acides phénoliques simples, les coumarines, les flavonoïdes et composés apparentés (anthocyanes), les tanins, les quinones, etc.

- Les phénols et acides phénoliques simples sont souvent fortement antioxydants, parfois antibactériens urinaires, analgésiques et anti-inflammatoires ou stimulants de la sécrétion biliaire ;

- Les coumarines ont des propriétés anti-œdémateuses ou photo-sensibilisantes qui servent à préparer des médicaments anti-tumoraux ;
- Les flavonoïdes et composés apparentés (anthocyanes) sont principalement responsables de nombreux pigments végétaux et en particulier les pigments jaunes et oranges. Les plantes riches en flavonoïdes ont souvent des propriétés antiparasitaires. Les anthocyanes sont des dérivés de l'acide cyanhydrique.
- Les tanins (phénols associés à un sucre) ont généralement une activité bactériostatique qui permet de diminuer la fréquence des récurrences d'infection bactérienne (Jepson & Craig, 2007) ;
- Les quinones constituent une série de dicétones éthyléniques conjuguées cycliques qui peuvent comporter un noyau de benzène.

### 1.2.3 Terpènes et stéroïdes

Dérivés formellement de l'isoprène, les terpènes se différencient par le nombre d'unités isopréniques qui les constituent. Les principaux constituants terpéniques des végétaux sont : les mono-, les di-, les tri- et les sesquiterpènes.

## 1.3 Microorganismes testés

### 1.3.1 *Salmonella typhi*

#### 1.3.1.1 Morphologie

Les bactéries du genre *Salmonella* appartiennent à la famille des entérobacteriaceae dont elles possèdent les principaux caractères. Bacilles de 0,7-1,5 µ m x 2 -5 µm à Gram négatif, anaérobies facultatifs, habituellement mobiles grâce à une ciliature péritriche ou immobile (Bourgeois, 1996).

La fièvre typhoïde, la plus grave des salmonelloses humaines, a constitué un modèle dans l'étude des maladies infectieuses. (Petit & Serres, 1813 ; Bretonneau, 1813) elle fut individualisée avant l'ère bactériologique sur la base des signes cliniques et des lésions ulcéreuses de l'intestin (Aly, 2018). L'habitat naturel des espèces est normalement dans les intestins de tout type d'animal Homéotherme (y compris les humains). Quelques sérovars sont spécifiquement humains : Typhi et Paratyphi, et d'autres ne se rencontrent que chez l'animal (Boubrit & Bousad, 2007 ; Doctissimo, 2019).

#### 1.3.1.2 Infection au *Salmonella typhi*

Les caractéristiques essentielles de la pathogénie des Salmonelles sont leur capacité à entrer dans les cellules-hôtes et y demeurer comme parasite intracellulaire facultatif (Millemann, 1998). Les germes pénètrent, même en nombre restreint, par voie digestive et après une incubation assez longue (jusqu'à 3 semaines) traversent la muqueuse intestinale et envahissent le tissu (plaques de Peyer). Les symptômes apparaissent environ 24 - 48 h après digestion de l'aliment contaminé et se traduisent par des nausées, des vomissements, des maux de tête et des diarrhées (Boubric & Boussad, 2007). *Salmonella typhi*, *S. paratyphi A.* et, à un degré moindre, *S. paratyphi B.* Les Salmonelles hébergent fréquemment des plasmides porteurs de facteurs de résistance aux antibiotiques (Boubric & Boussad, 2007). Il est différent pour les Salmonelles majeures (que l'on ne trouve que chez l'homme) et les Salmonelles mineures (ubiquistes). *Salmonella* majeures (*Salmonella Typhi*, *S. Paratyphi A*, *S. Paratyphi B*, *S. Paratyphi C*) est respectivement responsable des fièvres typhoïdes et paratyphoïdiques.

#### 1.3.1.3 Salmonelles et la résistance aux antibiotiques.

Les Salmonelles sont résistantes à la plupart des antibiotiques à large spectre. Les Salmonelles sont susceptibles de développer une résistance acquise par deux mécanismes : par le transfert de gène de résistance, d'origine plasmidique ou lié à des transposons, qui est le plus fréquent et par la mutation qui est rare. La résistance transmise aux B-lactamines est essentiellement de type pénicillinase et ne touche pas les céphalosporines de troisième génération.

L'augmentation de la résistance chez les bactéries d'origine aviaire peut être attribuée à l'usage abusif des antibiotiques. Cependant, les bactéries dans l'environnement naturel peuvent héberger des gènes de résistance dérivés de l'utilisation de ces médicaments chez les humains et les animaux. Ces résistances sont surtout importantes pour les antibiotiques suivants : Tétracyclines, Triméthoprime, Sulfamides, Triméthoprime-Sulfaméthoxazole, Ampicilline, Céfalotine, Streptomycine (Fofana, 2004).

#### 1.3.1.4 Principe du traitement des infections à *Salmonella typhi*.

##### 1.3.1.4.1 Traitements curatifs

Le sérodiagnostic de Widal et Félix n'est utile que pour le diagnostic tardif des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes. Diagnostic indirect par recherche dans le sérum du patient des agglutinines correspondant à la bactérie en cause. Cette recherche est habituellement limitée au

diagnostic des fièvres typho-paratyphoïdiques. Le titre des agglutinines O et H, leur coexistence et leur évolution permettent d'établir un diagnostic de probabilité ; seul l'isolement de la bactérie autorise un diagnostic de certitude.

#### 1.3.1.4.2 Traitement préventif

Les antibiotiques utilisés contre les salmonelles pour le traitement des fièvres typhoïdes sont thiamphénicol, ampicilline, triméthoprime-sulfaméthoxazole par voie orale. Ceftriaxone et fluoroquinolones ont une excellente activité et réduisent le temps de traitement.

### 1.3.2 *Escherichia coli*

#### 1.3.2.1 Morphologie

*Escherichia coli* est un hôte normal de la flore digestive de l'homme et de nombreuses espèces animales (Suto, 1988) isolée pour la première fois par Escherich en 1885, *Escherichia coli* est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fundamentalistes pour des travaux de physiologie et de génétique (Dabernat, 1992). *E. coli* est un bacille Gram négatif, le plus souvent mobile, sa taille est de 1-1,5 x 2-6 µm (Avril, 1992 ; Eyquem A, 1998) appartenant à la famille des entérobactéries se développe en 24 heures à 37°C sur les milieux gélosés en donnant des colonies rondes, lisses, à bords réguliers de 2 à 3mm de diamètre, non pigmentées. *E. coli* est une espèce commensale du tube digestif de l'homme et des animaux ou elle est présente à raison de 10<sup>7</sup> à 10<sup>9</sup> bactéries par gramme de selle (Avril, 1992), sa présence dans les aliments est témoin d'une contamination fécale (Joffin, 1993).

#### 1.3.2.2 Infection à *Escherichia Coli*

*Escherichia coli* est un germe très courant. Son habitat est le colon humain où il est le plus abondant anaérobie facultatif, alors que sa survie est extrêmement difficile dans l'environnement. Il est également le germe préférentiel des infections urinaires. L'incidence de ces infections est plus marquée chez les personnes de sexe féminin en milieu extrahospitalier en raison notamment de la colonisation de la région péri-urétrale et de la longueur de l'urètre. *E. coli* peut coloniser le vagin et générer des méningites néonatales suite au passage du nouveau-né à travers la voie génitale maternelle colonisée ou suite à l'infection du liquide amniotique consécutive à une rupture prolongée des membranes. *E. coli* cause principalement des infections du tractus digestif entre autres la diarrhée du voyageur en raison de la contamination de l'eau ou des aliments par la flore fécale

des malades ou des porteurs. *E. coli* est aussi à l'origine d'infections pulmonaires chez les personnes gravement malades, ces patients étant souvent colonisés au niveau des voies respiratoires supérieures (Avril *et al.*, 1992 ; Mirabaud, 2003 ; Chong *et al.*, 2011).

### 1.3.2.3 *E. coli* et résistance aux antibiotiques

*Escherichia coli* se caractérise par son aptitude particulière à acquérir des mécanismes de résistance à des antibiotiques habituellement actifs, pouvant parfois survenir en cours d'antibiothérapie. Une connaissance actualisée sur ses mécanismes de résistance est donc indispensable à l'optimisation des schémas thérapeutiques. La résistance aux bêta lactamines est fréquente ; elle peut être due à des mutations modifiant les protéines de liaison à la pénicilline (PLP), mais le mécanisme de résistance le plus commun est la production de bêta lactamases (Ben & Khedher, 2010). Le taux de résistance d'*Escherichia coli* aux quinolones a connu une croissance inquiétante au cours des dernières années, passant de moins de 5 % en 1996 à plus de 15 % en 2007 (Batard *et al.*, 2011). Une étude menée par (Fatna *et al.*, 2009) montra que les taux de résistance d'*Escherichia coli* pour l'amoxicilline, l'amoxicilline associée à acide clavulanique, la ticarcilline, le ceftriaxone, la ceftazidime, la gentamicine, la triméthoprime associée au sulfaméthoxazole, l'acide nalidixique, la ciprofloxacine, sont respectivement de 76 %, 57 %, 64 %, 5 %, 5 %, 10 %, 51 %, 38 %, 23 %, 2 %. Cette forte résistance de *Escherichia coli* fut également confirmée par les travaux de (Ben & Khedher, 2010).

### 1.3.2.4 Principe du traitement des infections à *Escherichia coli*

#### 1.3.2.4.1 Traitements curatifs

Le traitement curatif des infections urinaires et biliaires repose sur l'antibiothérapie et la correction des facteurs favorisants (anatomiques, calculs...). Le traitement curatif des diarrhées aiguës à colibacilles repose surtout sur la réhydratation. Le traitement des infections péritonéales repose sur le drainage et l'antibiothérapie.

#### 1.3.2.4.2 Traitements préventifs

Le traitement préventif fait surtout appel aux mesures d'hygiène générale notamment alimentaire et aux mesures d'hygiène individuelle.

**DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET  
METHODES**

## 2.1 MATÉRIEL

### 2.1.1 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est constitué des feuilles de fruits et des écorces de trois plantes (*Harungana madagascariensis*, *Zanthoxylum leprieurii*, et *Xylopiya aethiopica*). Ces organes ont été récoltés dans la région de Daloa centre ouest Côte d'Ivoire.

### 2.1.2 Germes bactériens

Les isolats bactériens ont été fournis par le laboratoire de bactériologie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI). Il s'agit de *Salmonella typhi*, et d'*Escherichia coli*.

### 2.1.3 Matériels techniques

#### 2.1.3.1 Appareillages

L'appareillage utilisé au cours de cette étude se compose d'agitateurs magnétiques chauffant de types AGIMATIC-N (Espagne) qui ont servi à l'extraction des substances végétales et à la préparation des réactifs. Un blender de type UBC-25 qui a servi à l'homogénéisation des substances végétales, d'une étuve (Allemagne) et un évaporateur (BUCHI) nécessaires à l'évaporation et aux séchages des substances végétales extraites. Les tests microbiologiques ont été réalisés grâce à une hotte à flux laminaire de type SPCRIS 15 (France), une étuve de type UL 30 (Allemagne) et un autoclave de type SANO CLAV (Allemagne). Une balance de type ANSI/UL (Allemagne) a servi aux pesées.

#### 2.1.3.2 Milieu de culture

La gélose Mueller Hinton (GMH) a été utilisée pour les tests en milieu solide et le bouillon Mueller Hinton (BMH) pour les tests milieu liquide.

#### 2.1.3.3 Solvants et réactifs

Les solvants utilisés ont été l'éthanol pour la préparation des extraits hydro-alcooliques, d'acide sulfurique concentré, l'alcool isoamylique, l'anhydride acétique et l'acide chlorhydrique pour le tri-phytochimique. D'autres composés comme le chlorure ferrique, copeaux de magnésium ; ont été aussi utilisés dans l'étude du tri-phytochimique.

#### 2.1.3.4 Petits matériels

En plus de la verrerie courante de laboratoire, cette étude a nécessité l'utilisation de baguettes en verre, des boîtes de pétri stérile, des tubes à essai (l1 =20 cm,  $\Phi$  1 =3 cm ; l 2 =15 cm,  $\Phi$  2 =1,5 cm), de coton hydrophile, coton cardé et de micropipette (1000  $\mu$ L, 100  $\mu$ L).

## 2.2 MÉTHODES

### 2. 2.1 Collecte des plantes

Les écorces du tronc de *Harungana madagascariensis* et de *Zanthoxylum leprieurii*, les fruits de *Xylopiya aethiopica* et les feuilles de *Harungana madagascariensis* ont été récoltés en mars 2022 dans la région de Daloa (Côte d'Ivoire). Des échantillons de cette récolte et certains organes (les écorces, les feuilles et les fruits) ont été utilisés pour l'identification des plantes. Ces échantillons ont été identifiés au Centre National Floristique (CNF) de l'Université Félix Houphouët-Boigny (UFHB). Les écorces, les feuilles et les fruits (*Harungana madagascariensis*, *Zanthoxylum leprieurii* et *Xylopiya aethiopica*) ont été découpés en petits morceaux et séchés à l'abri du soleil, à la température ambiante de  $27\pm 2$  ° C au laboratoire de biochimie de l'université Jean Lorougnon Guedé de Daloa pendant environ trois semaines. Une fois sèches, ils ont été rendus en poudre fine à l'aide d'une broyeuse électrique (UJLoG). Ces poudres ont servi à la préparation des différents extraits aqueux et hydro-alcooliques.

### 2.2.2 Préparation des extraits végétaux

La préparation des extraits végétaux a été faite selon la méthode décrite par (Zirihi *et al.*, 2003). Pour ce fait, 100 g de poudre végétale ont été homogénéisés vigoureusement dans 1L d'eau distillée à l'aide d'un Mixeur électrique Blinder. L'homogénat obtenu a été essoré dans un tissu percal puis une triple filtration successive sur du coton hydrophile. Le filtrat aqueux ainsi obtenu a été concentré au 2/3 à l'aide d'un évaporateur rotatif de type BUCHI à la température de 60° C. La solution concentrée correspondant au 1/3 de la solution initiale a été congelée et lyophilisée pour donner une poudre qui constitue les extraits totaux aqueux codifiées par des lettres A B C D E et F (figure 4). Les extraits hydro-éthanoliques ou hydro-alcooliques ont été préparés selon le même procédé comme décrit ci-dessus à la différence que le solvant utilisé est un mélange d'éthanol pur (70%), eau distillée (30%) v/v. Le filtrat a été concentré à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif de type BUCHI à la température de 60 °C pour donner une

poudre qui constitue les extraits totaux hydro-alcooliques (figure 4). Les poudres obtenues ont été désignées par les lettres G H I J K et L.

#### Extraits totaux aqueux

A : FHmaq : Feuille de *Harungana madagascariensis* ;

B : EZLaq : Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* ;

C : FrXaeaq : Fruit de *Xylopi aethiopica*;

D : EHmaq : Ecorce de *Harungana madagascariensis*;

E : M1aq : Feuille de *Harungana madagascariensis* (40g) + Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* (50g) + Fruit de *Xylopi aethiopica* (10g) ;

F : M2aq : Ecorce de *Harungana madagascariensis* (40g) + Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* (50g) + Fruit de *Xylopi aethiopica* (10g) (Figure 4).

#### Extraits totaux hydroalcooliques

G : FHméth : Feuille de *Harungana madagascariensis* ;

H : EZéth : Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* ;

I : FrXaeéth : Fruit de *Xylopi aethiopica*;

J : EHméth : Ecorce de *Harungana madagascariensis*;

K : M1éth : Feuille de *Harungana madagascariensis* (40g) + Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* (50g) + Fruit de *Xylopi aethiopica* (10g);

L : M2éth : Ecorce de *Harungana madagascariensis* (40g) + Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* (50g) + Fruit de *Xylopi aethiopica* (10g) (Figure 4).

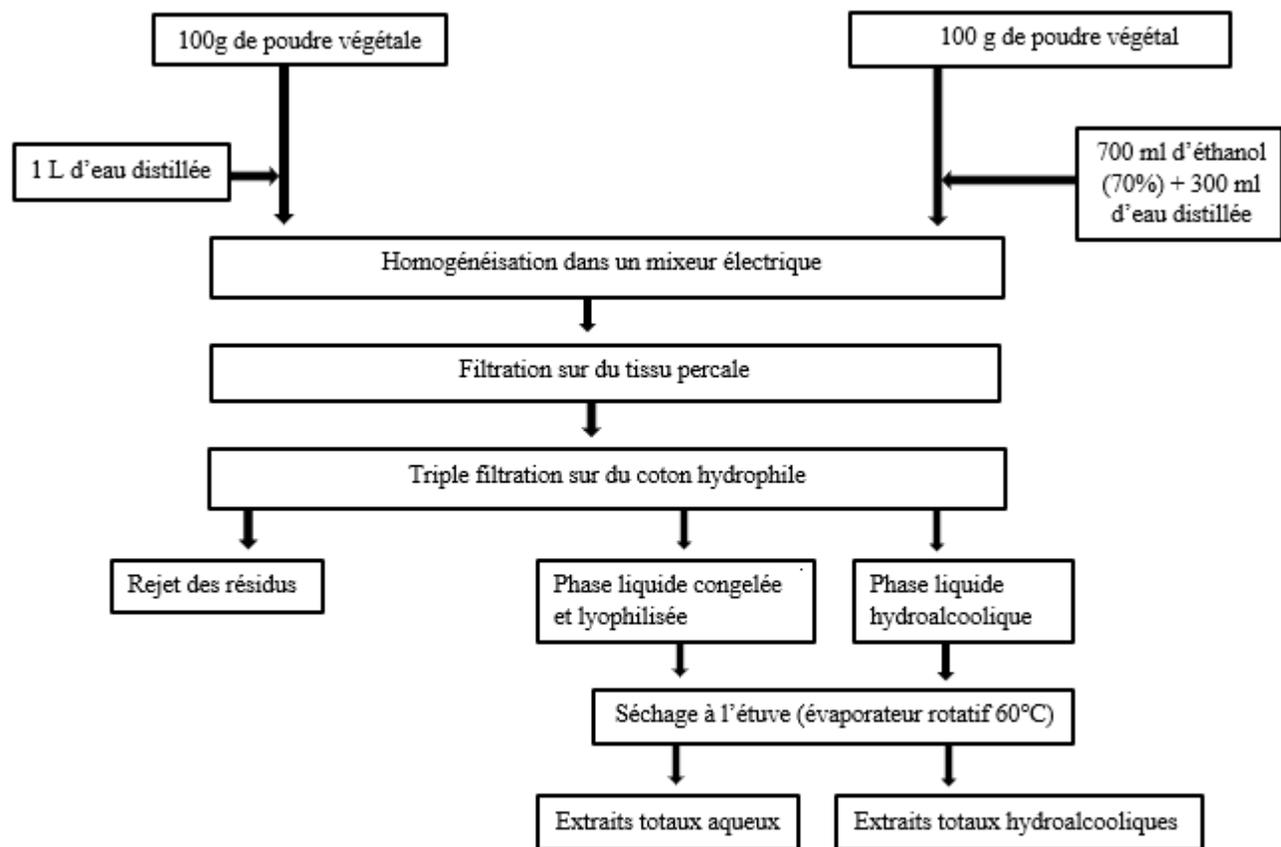


Figure 4 : Diagramme de préparation des différents extraits aqueux et hydroalcooliques

### 2.2.3 Calcul du rendement

Le rendement est la quantité d'extrait obtenue à partir d'une matière végétale (Bssaibis *et al.*, 2009). Il est exprimé en pourcentage par rapport à la matière sèche (poudre végétale) et a été calculé selon la formule

$$R (\%) = \frac{M1}{M0} \times 100$$

- R (%) : Rendement de l'extrait exprimé en pourcentage (%) ;
- M1 : Masse de l'extrait (en g) ;
- M0 : Masse de poudre végétale (en g)

### 2.2.4 Etudes phytochimiques

#### 2.2.4.1 Criblage phytochimique

L'étude phytochimique basée sur des tests de coloration et/ou de précipitation, a été réalisée sur les extraits aqueux et hydro-éthanoliques du broyat des fruits de feuilles et des écorces du tronc de *Harungana madagascariensis*, *Zanthoxylum leprieurii* et *Xylopiya aethiopica* (Oyetayo *et al.*, 2007 ; Reza *et al.*, 2007 ; Tiwari *et al.*, 2011 ; Ashafa & Umebese, 2012). Les familles de molécules ciblées par cette étude sont les saponines, les tanins, les polyphénols, les flavonoïdes, les stéroïdes et les anthocyanes.

#### 2.2.4.2 Recherche des saponosides

Dans un tube à essai contenant 4 mL d'eau distillée, 2 mL d'échantillon de l'extrait correspondant y ont été ajoutés. L'ensemble a été vigoureusement agité pendant 1 minute et laissé au repos pendant 1 à 2 minutes. La hauteur de la mousse a été mesurée. La présence de saponine est mise en évidence lorsque cette (Koudougou, 2004) mesure est supérieure à 1cm, (Bonga *et al.*, 1996).

#### 2.2.4.3 Recherche des polyphénols

La réaction au chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) a 2 mL d'extraits, une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2 % est ajoutée. L'obtention d'une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée, indique une réaction positive (Reza *et al.*, 2007).

#### 2.2.4.4 Recherche des tanins cathéchiques

Un échantillon de 5 mL de chaque extrait ont été évaporé à sec dans une capsule en porcelaine chauffé sur un bain de sable. A ce résidu, ont été ajoutés 15 mL du réactif de Stiasny

et l'ensemble a été porté au bain-marie à 80° C pendant 30 minutes. L'apparition des précipités indique la présence de tanins cathéchiques (Tiwari *et al.*, 2011).

#### 2.2.4.5 Recherche des tanins galliques

Un échantillon de 5mL d'extrait, a été évaporé à sec dans une capsule en porcelaine chauffé sur du sable. Trois gouttes de FeCl<sub>3</sub> à 2% ont été ajoutées à ce résidu. Le développement d'une teinte bleue - noire indique la présence de tanins galliques (Tiwari *et al.*, 2011).

#### 2.2.4.6 Recherche des flavonoïdes

Dans une capsule en porcelaine 2 mL d'extrait ont été évaporés à sec au bain de sable. Le résidu a été repris après refroidissement dans 5 mL d'alcool chlorhydrique dilué au demi. La solution obtenue a été renversée dans un tube à essai et quelques copeaux de magnésium y sont ajoutés. L'apparition d'une coloration rouge-violacée (Nacoulma & Ouedraogo, 1996 ; Nikiema, 1997 ; Audu *et al.*, 2007 ; Bekro *et al.*, 2007) spécifique permet de déduire la présence du flavonoïde.

#### 2.2.4.7 Recherche des stérols

Dans une capsule en porcelaine, 5 mL des extraits ont été évaporés à sec au bain de sable. Le résidu a été dissout à chaud dans 1 mL d'anhydride acétique. L'ensemble a été renversé dans un tube à essai auquel 0,5 mL d'acide sulfurique concentré a été ajouté. En milieu d'acide fort (acide sulfurique), les stérols d'un extrait végétal à l'anhydride acétique sont colorés en pourpre ou violet (Obasi *et al.*, 2010).

#### 2.2.4.8 Recherche des anthocyanes

A 5 mL d'extrait à 5 %, sont ajoutés 5 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 10 %, puis une base (5 gouttes de NH<sub>4</sub>OH 25 %). Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu-violacé en milieu basique, cela permet de conclure la présence d'anthocyane.

### 2.2.5 Évaluation de l'activité antibactérienne *in vitro* des différents extraits aqueux et hydro-éthanoliques par la méthode de diffusion et de dilution.

#### 2.2.5.1 Tests antibactériens

L'étude de l'activité antibactérienne s'est faite par deux méthodes :  
- méthode de diffusion ou de puit sur milieu solide afin d'étudier l'efficacité des extraits,

- méthode de dilution en milieu liquide pour déterminer les paramètres antibactériens (CMI : Concentration Minimale Inhibitrice et la CMB : Concentration Minimale Bactéricide) (Kone *et al.*, 2007).

#### 2.2.5.2 Tests d'efficacités des extraits végétaux en milieu solide.

Le test d'efficacité sert à détecter l'activité antimicrobienne d'une substance. Pour ce test, la gélose Mueller Hinton a constitué le principal milieu de culture (Soro *et al.*, 2010 ; Golly *et al.*, 2012 ; Outtara *et al.*, 2016). Pour la préparation des extraits, quatre concentrations (100mg/mL ; 50mg/mL ; 25mg/mL, 12,5 mg/L) de chaque extrait ont été obtenues avec de l'eau distillée stérile. Les tests ont été réalisés sur un inoculum bactérien de  $5.10^6$  UFC/ mL.

Pour le test d'efficacité, la méthode de puits a été utilisée. En effet, à l'aide d'une pipette Pasteur, des puits ont été faits dans les boites de pétri gélosées précédemmentensemencés avec des inocula bactériens de *E. coli*1178C/19 ou de *S. typhi*. Un volume de 60 µL de chaque concentration d'extrait végétal à tester est introduit dans chaque puit. L'ensemble des boites ainsi inoculées a été incubé à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures. Ces tests ont été répétés trois fois. L'observation d'une zone d'inhibition de croissance bactérienne traduit l'existence d'une activité antimicrobienne. Le diamètre de la zone d'inhibition permet de juger l'efficacité de l'extrait. Des puits témoins inoculés avec 60 µL du solvant de préparation des extraits ont permis de juger de l'effet du solvant sur les germes.

#### 2.2.5.3 Test de détermination des paramètres antimicrobiens des extraits végétaux en milieu liquide.

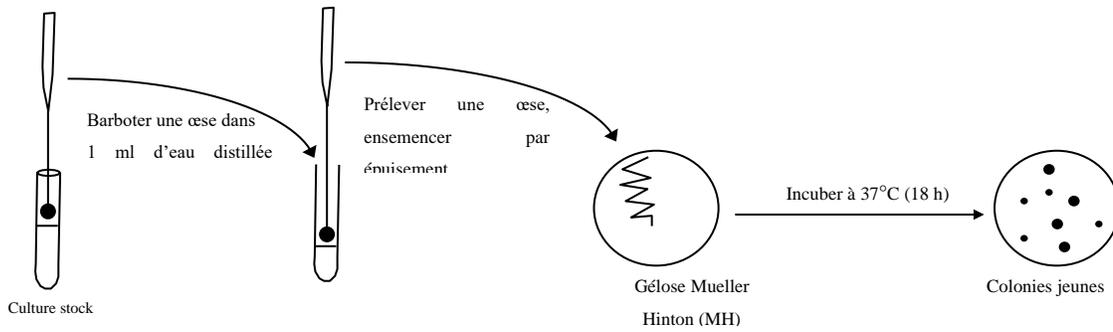
Les paramètres antimicrobiens que sont la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) des extraits ont été déterminés selon la méthode de dilution en milieu liquide (Soro *et al.*, 2010 ; Golly *et al.*, 2012 ; Ouattara *et al.*, 2016). Une gamme de concentration de substances végétales a été préparée par la méthode de la double dilution avec des concentrations allant de 50 à 1.56 mg/mL (Figure 5).

Les tests ont été réalisés par l'introduction dans une série de tubes à hémolyse de 1 mL de la solution de substance végétale et de 1 mL de l'inoculum bactérien décrit selon (Moro *et al.*, 2008). En lieu et place d'extrait végétal, le tube témoin reçoit 1mL du solvant de préparation des extraits et 1ml de l'inoculum bactérien. L'ensemble a été incubé à 37°C pendant 18 à 24 heures. La lecture des résultats a été faite à la lumière du jour et à l'œil nu. La limpidité du milieu implique l'effet antimicrobien de l'extrait testé tandis que la présence d'un trouble

indique son inefficacité (signe de croissance bactérienne). La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) va correspondre à celle du premier tube limpide (Figure 6). La concentration minimale bactéricide (CMB), est la plus faible concentration d'extrait qui tue au moins 99,99% de bactéries en culture. Pour sa détermination, le contenu du tube témoin a été dilué à  $10^{-4}$ , ce qui correspond à 0,01% de survie de bactérie en culture. Les contenus limpides des tubes expérimentaux à partir de la CMI sont repiqués par des stries de 5cm sur une gélose Mueller Hinton et incubés à 37°C pendant 24 heures. Le premier tube expérimental dans lequel le nombre de germes déterminés est inférieur ou égal à celui de la dilution  $10^{-4}$  correspondra à la CMB (Figure 6).

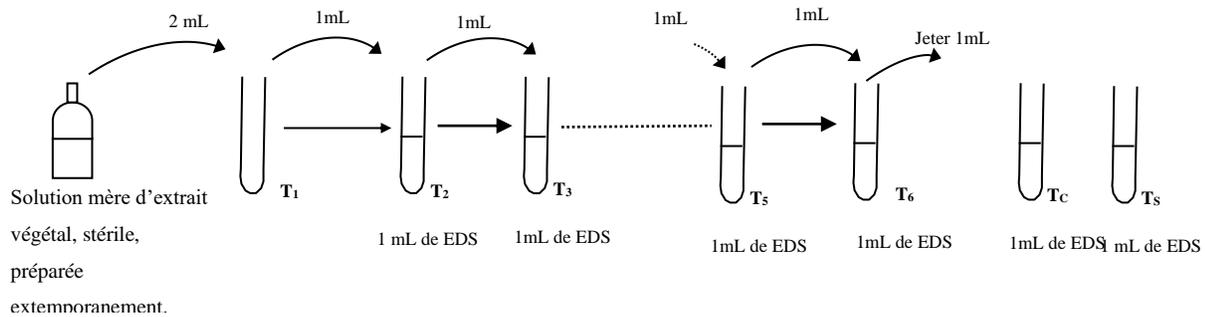
## Jour 1

### • Préparation de colonies jeunes



## Jour 2

### • Préparation de la gamme de concentration de l'extrait végétal



### • Préparation de l'inoculum et du témoin de bactéricidie

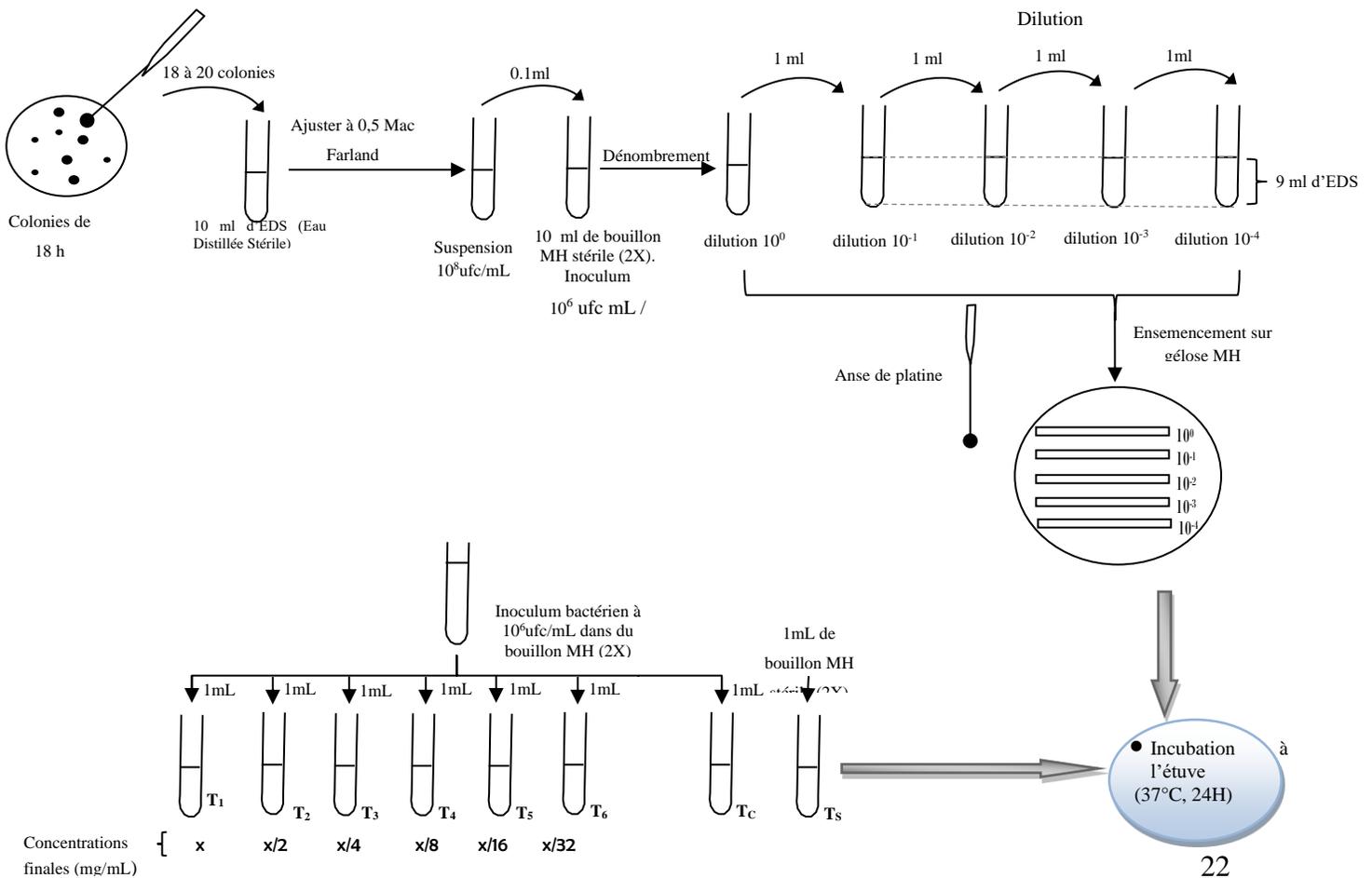
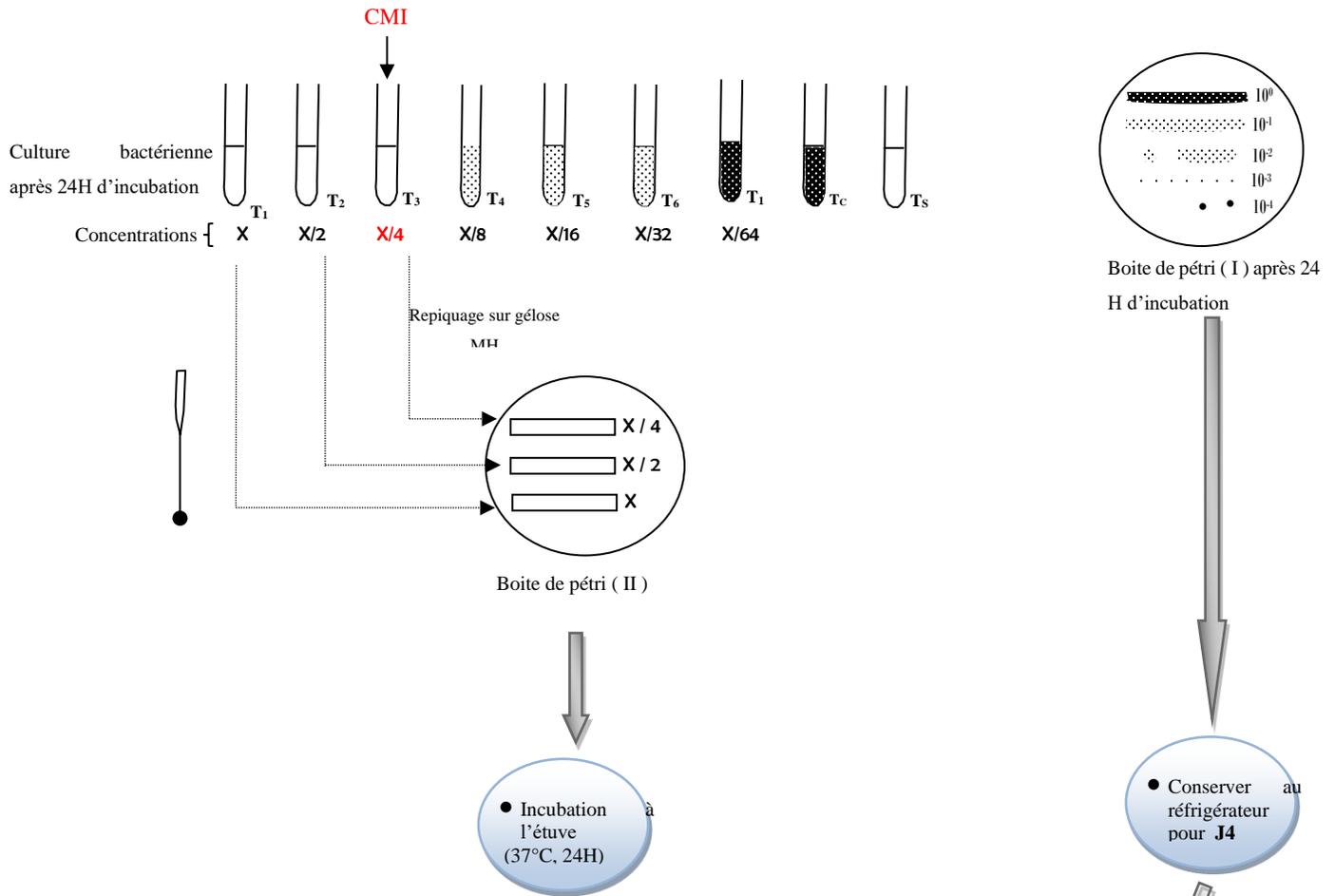


Figure 5 : Schéma du protocole de détermination de la CMI

**Jour3** Lecture de la CMI et repiquage pour la détermination de la CMB



**Jour 4** Lecture de la CMB

Comparaison des stries de la boîte de pétri (II) à la strie 10<sup>-4</sup> de la boîte de pétri (I)

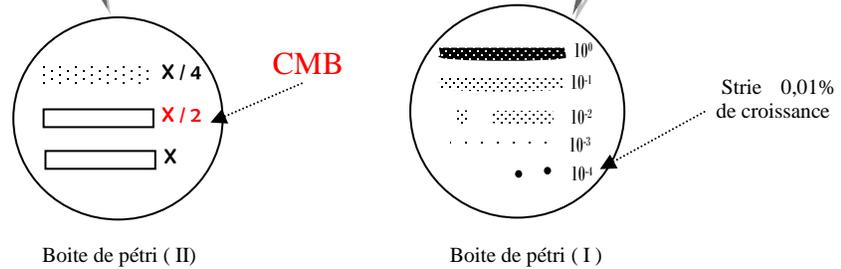


Figure 6 : Schéma du protocole de détermination de la CMB

**TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET  
DISCUSSION**

### 3.1 RESULTATS

#### 3.1.1 Rendement des différents extraits obtenus

Les masses moyennes obtenues avec une masse initiale de 100 g de poudre fine sont consignées dans un tableau (Tableau I). De l'analyse de ce tableau, il ressort que les rendements élevés ont été obtenus avec les extraits aqueux de FHm (8,27 %) et FrXae (7,98 %). Cependant, l'extrait EZI a été celui qui a donné un faible rendement d'extraction (2,59 %). Les extraits issus du mélange (M1 et M2) et l'extrait (EHm) ont des rendements d'extraction (M1 : 6,17 % ; M2 : 6,52 % et EHm : 6,56 %) situés entre les élevés (FHm : 8,27% et FrXae : 7,98) et les faibles (EZI : 2,59).

**Tableau I** : Rendements des extraits totaux aqueux des trois plantes étudiées

Extraits aqueux	FHmaq	FrXaeaq	EHmaq	M1aq	M2aq	EZIaq
Masses moyennes (g)	8,27	7,98	6,56	6,17	6,52	2,59
Rendement (%)	8,27	7,98	6,56	6,17	6,52	2,59

FHm aq : Feuille de *Harungana madagascariensis* ; EZL aq : Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* ; FrXae aq: Fruit de *Xylopi aethiopica*; EHm aq: Ecorce de *Harungana madagascariensis*; M1aq : Feuille de *Harungana madagascariensis* (40g) + Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* (50g) + Fruit de *Xylopi aethiopica* (10g) ; M2aq : Ecorce de *Harungana madagascariensis* (40g) + Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* (50g) + Fruit de *Xylopi aethiopica* (10g).

Concernant les extraits hydro-éthanoliques avec une masse initiale de 100 g, les masses moyennes obtenues ont été relativement élevées. Les valeurs des rendements sont consignées dans un tableau (Tableau II). Les extraits FrXae (13,68 %) et EHm (13,24 %) ont obtenus les rendements élevés. Le rendement le plus faible a été obtenu avec l'extrait EZI (5,20 %). Les autres extraits FHm (8,28 %), M1 (7,04 %) et M2 (9,92 %) ont des valeurs de rendements situées entre les plus élevées et les faibles.

**Tableau II** : Rendements des extraits hydro-éthanoliques des trois plantes

Extraits éthanoliques	FHméth	FrXaeéth	EHméth	M1éth	M2éth	EZIéth
Masses moyennes (g)	8,28	13,68	13,24	7,04	9,92	5,20
Rendement (%)	8,28	13,68	13,24	7,04	9,92	5,20

FHm aq : Feuille de *Harungana madagascariensis* ; EZL aq : Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* ; FrXae aq: Fruit de *Xylopia aethiopica*; EHm ag: Ecorce de *Harungana madagascariensis*; M1aq : Feuille de *Harungana madagascariensis* (40g) + Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* (50g) + Fruit de *Xylopia aethiopica* (10g) ; M2aq : Ecorce de *Harungana madagascariensis* (40g) + Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* (50g) + Fruit de *Xylopia aethiopica* (10g).

### 3.1.2 Caractéristiques du tri phytochimique

Les résultats du tri phytochimique des extraits des trois plantes ont montré que les extraits EHmaq, FHmaq, FrXaeaq, M1aq M2aq, EHméth, FHméth, FrXaeéth, M1éth, M2éth renferment 5 grands groupes chimiques : les polyphénols, les tanins catéchiques, les tanins galliques, les flavonoïdes et les saponosides. Il y a aussi la présence d'anthocyane dans les extraits totaux (EHmaq, FHmaq, FrXaeaq, EZlaq, FHméth, FrXaeéth, EZléth, M1éth et M2éth) et elle est absente dans les extraits aqueux de M1aq et M2aq, et EHméth. Par contre, il y a absence de stérols dans tous les extraits totaux aqueux et hydro-éthanoliques (Tableau III).

**Tableau III** : Résultant la présence ou l'absence des composés chimiques dans les différents extraits aqueux et hydro-éthanoliques.

	Extraits aqueux						Extraits hydro-éthanoliques					
	EHmaq	FHmaq	FrXaeaq	EZlaq	M1aq	M2aq	EHméth	FHméth	FrXaeéth	EZléth	M1éth	M2éth
Polyphénols	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Flavonoïdes	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saponosides	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tanins galliques	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tanins catechiques	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Stérols	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Antoxyanes	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+

FHm aq : Feuille de *Harungana madagascariensis* ; EZL aq : Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* ; FrXae aq: Fruit de *Xylopi aethiopica*; EHm ag: Ecorce de *Harungana madagascariensis*; M1aq : Feuille de *Harungana madagascariensis* (40g) + Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* (50g) + Fruit de *Xylopi aethiopica* (10g) ; M2aq : Ecorce de *Harungana madagascariensis* (40g) + Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* (50g) + Fruit de *Xylopi aethiopica* (10g); Extraits totaux hydroalcooliques ; FHm éth: Feuille de *Harungana madagascariensis*; EZL éth: Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* ; FrXae éth: Fruit de *Xylopi aethiopica*; EHm éth: Ecorce de *Harungana madagascariensis*; M1 éth: Feuille de *Harungana madagascariensis* (40g) + Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* (50g) + Fruit de *Xylopi aethiopica* (10g); M2 éth : Ecorce de *Harungana madagascariensis* (40g) + Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* (50g) + Fruit de *Xylopi aethiopica* (10g).

### 3.1.3 Action des extraits aqueux et hydro-éthanoliques sur la croissance *in vitro* des germes en milieu solide

#### 3.1.3.1 Effets des extraits aqueux sur la croissance *in vitro* des germes en milieu solide.

Les effets des différents extraits aqueux de ces trois plantes sur la croissance *in vitro* des germes bactériens en milieu solide sont consignés dans un tableau (Tableau IV). Ces effets sont exprimés par les diamètres d'inhibitions de ces extraits. Les extraits M1aq, M2aq et EHmaq ont été actifs sur tous les germes bactériens aux deux fortes concentrations (100 mg/mL et 50 mg/mL) avec des diamètres d'inhibitions variables. Les diamètres d'inhibitions de M1aq varient de 10, 24 mm à 8,33 mm sur *E. coli* 1178C/19 et de 9,87 mm à 7,91 mm sur la souche *S. typhi*. Ceux de M2 sont de 8,23 mm et 7,33 mm sur la souche de *E. coli* 1178 C/19 et 7,84 mm et 7,72 mm sur *S. typhi*. Quant à l'extrait EHmaq les diamètres d'inhibitions sont de 9,33 mm et 7,31 mm sur *E. coli*1178C/19 et de 7,18 mm et 7,72 mm sur *S. typhi* (Tableau IV). Les autres extraits n'ont présenté aucun diamètre sur les deux souches.

**Tableau IV** : Paramètres des diamètres d'inhibitions des extraits aqueux sur la croissance *in vitro* de *E. coli* 1178C/19 et *S. typhi* en milieu solide.

Germes bactériens			
Concentrations (mg/mL)	Extraits	<i>E. coli</i> 1178C/19	<i>S. typhi</i>
100 mg/mL	EHm aq	9,33mm	7,18mm
	EZI aq	0mm	0mm
	FrXae aq	0mm	0mm
	FHm aq	0mm	0mm
	M1aq	10,24mm	9,87mm
	M2 aq	8,23mm	7,73mm
50 mg/mL	EHm aq	7,31mm	7mm
	EZI aq	0mm	0mm
	FrXae aq	0mm	0mm
	FHm aq	0mm	0mm
	M1 aq	8,33mm	7,91mm
	M2 aq	7,84mm	7,72mm
25 mg/mL	EHm aq	0mm	0mm
	EZI aq	0mm	0mm
	FrXae aq	0mm	0mm
	FHm aq	0mm	0mm
	M1 aq	0mm	0mm
	M2 aq	0mm	0mm
12,5 mg/mL	EHm aq	0mm	0mm
	EZI aq	0mm	0mm
	FrXae aq	0mm	0mm
	FHm aq	0mm	0mm
	M1 aq	0mm	0mm
	M2 aq	0mm	0mm

FHm aq : Feuille de *Harungana madagascariensis* ; EZL aq : Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* ; FrXae aq: Fruit de *Xylopi aethiopica*; EHm aq: Ecorce de *Harungana madagascariensis*; M1aq : Feuille de *Harungana madagascariensis* (40g) + Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* (50g) + Fruit de *Xylopi aethiopica* (10g) ; M2aq : Ecorce de *Harungana madagascariensis* (40g) + Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* (50g) + Fruit de *Xylopi aethiopica* (10g).

### 3.1.3.2 Effets des extraits hydro-éthanoliques sur la croissance *in vitro* des germes en milieu solide

De l'analyse du tableau (Tableau V), il ressort que les extraits M1éth, M2éth et EHméth ont été actifs sur la croissance *in vitro* des germes bactériens étudiés. Cependant, l'extrait M1éth a été celui qui a exercé une action inhibitrice forte sur tous les germes bactériens à toutes les concentrations. Cet extrait (M1éth) a enregistré des diamètres d'inhibition à toutes les concentrations (100 mg/mL à 12,5 mg/mL). Ainsi, à la concentration de 100 mg/mL les diamètres d'inhibition sur *E. coli* 1178C/19 ont été de 11,33 mm et de 10,15 mm sur *S. typhi*. A la concentration de 50 mg/mL, cet extrait (M1éth) a enregistré des diamètres de 10,43 mm sur *E. coli* 1178C/19 et de 10,31 mm sur *S. typhi*. Les diamètres obtenus à la concentration 25 mg/mL par cet extrait sont de 10,34 mm sur *E. coli* 1178C/19 et de 10,21 mm sur *S. typhi*. A la dernière concentration (12,5 mg/mL), cet extrait a aussi enregistré des diamètres d'inhibitions de 10,11 mm sur *E. coli* 1178C/19 et de 10,21 mm sur *S. typhi*. Dans l'ensemble des résultats, l'extrait M1éth a enregistré des diamètres d'inhibition relativement plus élevés sur *E. coli* 1178C/19 (11,33 mm à 10,11mm) contre (10,15 mm à 10,04 mm) sur *S. typhi*. Concernant l'activité des extraits M2éth et EHméth, ceux-ci ont enregistré aux concentrations de 100 mg/mL et 50 mg/mL respectivement des diamètres d'inhibition de 8 mm et 8,33 mm sur *E. coli* 1178C/19 et 7,33 mm et 7 mm sur *S. typhi* (Tableau V). Les autres extraits (FrXaeéth, EZIéth et FHméth) n'ont toujours pas présenté une activité inhibitrice sur la croissance *in vitro* des germes bactériens étudiés.

**Tableau V** : Paramètres des diamètres d'inhibitions des extraits hydro- éthanoliques sur la croissance *in vitro* de *E. coli* 1178C/19 et *S. typhi* en milieu solide.

Germes bactériens			
Concentrations (mg/mL)	Extraits	<i>E. coli</i> 1178C/19	<i>S. typhi</i>
100 mg/mL	EHm éth	8,33mm	8mm
	EZI éth	0mm	0mm
	FrXae éth	0mm	0mm
	FHm éth	0mm	0mm
	M1 éth	11,39mm	10,15mm
	M2 éth	8mm	7,73mm
50 mg/mL	EHm éth	7,36mm	7,19mm
	EZI éth	0mm	0mm
	FrXae éth	0mm	0mm
	FHm éth	0mm	0mm
	M1 éth	10,43mm	10,31mm
	M2 éth	7,73mm	7mm
25 mg/mL	EHm éth	0mm	0mm
	EZI éth	0mm	0mm
	FrXae éth	0mm	0mm
	FHm éth	0mm	0mm
	M1 éth	10,34mm	10,21mm
	M2 éth	0mm	0mm
12,5 mg/mL	EHm éth	0mm	0mm
	EZI éth	0mm	0mm
	FrXae éth	0mm	0mm
	FHm éth	0mm	0mm
	M1 éth	10,11mm	10,04mm
	M2 éth	0mm	0mm

FHm éth : Feuille de *Harungana madagascariensis* ; EZL éth : Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* ; FrXae éth: Fruit de *Xylopi aethiopica*; EHm éth: Ecorce de *Harungana madagascariensis*; M1éth : Feuille de *Harungana madagascariensis* (40g) + Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* (50g) + Fruit de *Xylopi aethiopica* (10g) ; M2éth : Ecorce de *Harungana madagascariensis* (40g) + Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* (50g) + Fruit de *Xylopi aethiopica* (10g).

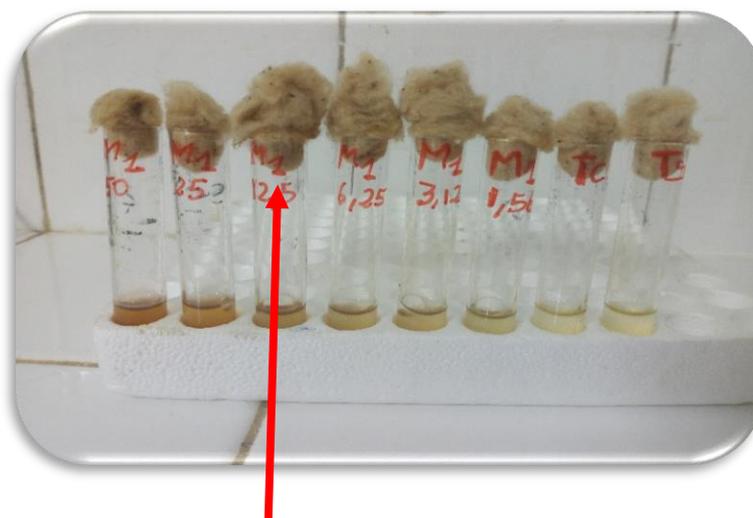
#### 3.1.4 Paramètres antibactériens des extraits aqueux et hydro-éthanoliques (M1aq, M2aq, EHmaq et M1éth, M2éth, EHméth) sur la croissance *in vitro* des germes en milieu liquide.

Compte tenu de la bonne activité des extraits M1aq, M1éth, M2aq, M2éth, EHmaq et EHméth en milieu solide, ils ont été retenus pour la détermination des paramètres antimicrobiens en milieu liquide. La concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB), ainsi que le rapport CMB/CMI de l'action de ces extraits aqueux et hydro-éthanoliques sur la croissance *in vitro* des différents germes étudiés sont résumées dans les tableaux VI, VII, et VIII. De l'analyse du tableau VI, il ressort que les extraits M1aq et M1éth inhibent la croissance *in vitro* à la fois de *E. coli* 1178C/19 et de *S. typhi*. Leurs concentrations minimales inhibitrices CMI sont respectivement de 50 mg/mL et 25 mg/mL sur *E. coli* 1178C/19 et de 12,5 mg/mL sur *S. typhi* (Figure 7). Leurs CMB sont de 50 mg/mL sur *E. coli* 1178C/19 et 25 mg/mL sur *S. typhi* (Figure 8). L'effet de ces extraits est bactéricide car le rapport CMB/CMI est inférieur à 4. Concernant les extraits M2aq et M2éth leurs CMI sont respectivement de 25 mg/mL et 12,5 mg/mL sur de *E. coli* 1178C/19 et sur *S. typhi*. Les CMB sont de 50 mg/mL sur les deux germes pour l'extrait M2éth et supérieur à 50 mg/mL pour M2aq. L'effet de ces extraits est bactéricide pour l'extrait M2éth et bactériostatique pour l'extrait aqueux de M2aq. Pour les extraits EHmaq et EHméth, les valeurs respectives de CMI sont de 50 mg/mL et de 25 mg/mL sur la croissance de *E. coli* 1178C/19 et sur *S. typhi* de 12,5 mg/mL (Figure 9). Liés à une CMB de 50 mg/ml sur *E. coli* 1178C/19 et sur *S. typhi* (Figure 10). Les extraits EHmaq et EHméth ont un effet bactéricide car le rapport CMB/CMI est inférieur ou égal à 4. Il apparait donc qu'en milieu liquide, les six extraits retenus possèdent chacun une activité antimicrobienne sur les germes étudiés quelle que soit leur nature.

**Tableau VI :** Paramètres antibactériens des extraits aqueux et hydro-éthanoliques du mélange 1 (M1aq et M1éth) sur la croissance *in vitro* de *S. typhi* et *E. coli* 1178C/19 en milieu liquide.

	M1aq	M1éth	M1aq	M1éth
CMI (mg/mL)	12,5	12,5	50	25
CMB (mg/mL)	25	25	50	50
CMB/CMI	2	2	1	2
Effet	Bactéricide	Bactéricide	Bactéricide	Bactéricide

M1aq : Feuille de *Harungana madagascariensis* (40g) + Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* (50g) + Fruit de *Xylopiya aethiopica* (10g) ; M1 éth : Feuille de *Harungana madagascariensis* (40g) + Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* (50g) + Fruit de *Xylopiya aethiopica* (10g);



CMI=12,5mg/mL

Figure 7 : Détermination de la CMI de l'extrait aqueux du mélange 1 (M1aq) sur la croissance *in vitro* de *S. typhi* en milieu

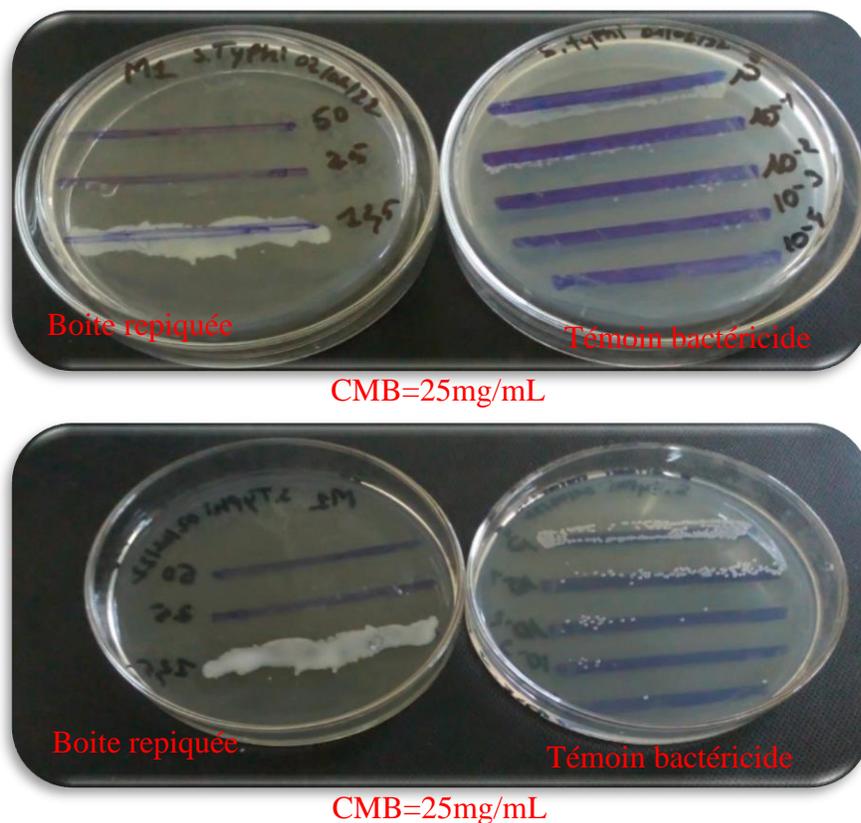


Figure 8 : Détermination de la CMB de l'extrait aqueux du mélange 1 (M1aq) sur la croissance *in vitro* de *S. typhi* en milieu liquide.

**Tableau VII** : Paramètres antibactériens des extraits aqueux et hydro-éthanoliques du mélange 2 (M2aq et M2éth) sur la croissance *in vitro* de *S. typhi* et *E. coli*1178C/19 en milieu liquide.

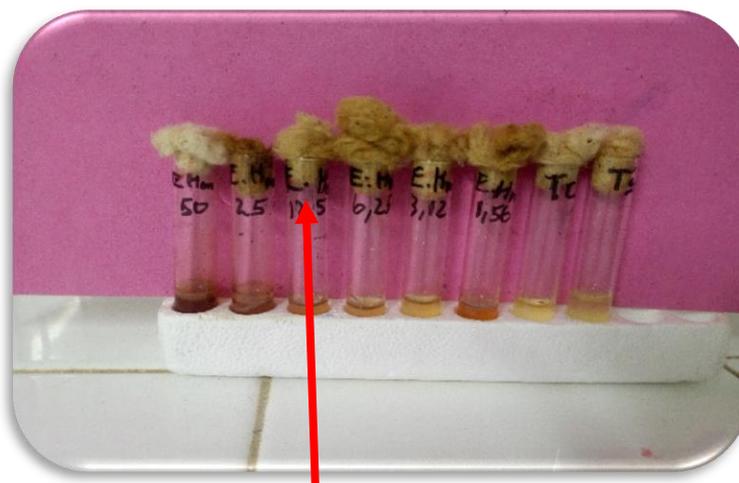
	<i>S. typhi</i>		<i>E. coli</i> 1178C/19	
	M2aq	M2éth	M2aq	M2éth
CMI (mg/mL)	12,5	25	12,5	25
CMB (mg/mL)	>50	50	>50	50
CMB/CMI	>4	2	>4	2
Effet	Bactériostatique	Bactéricide	Bactériostatique	Bactéricide

M2aq : Ecorce de *Harungana madagascariensis* (40g) + Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* (50g) + Fruit de *Xylopiya aethiopica* (10g) ; M2éth : Ecorce de *Harungana madagascariensis* (40g) + Ecorce de *Zanthoxylum leprieurii* (50g) + Fruit de *Xylopiya aethiopica* (10g).

**Tableau VIII** : Paramètres antibactériens des extraits aqueux et hydro-éthanoliques d'écorce de *Harungana madagascariensis* sur la croissance *in vitro* de *S. typhi* et *E. coli*1178C/19 en milieu liquide.

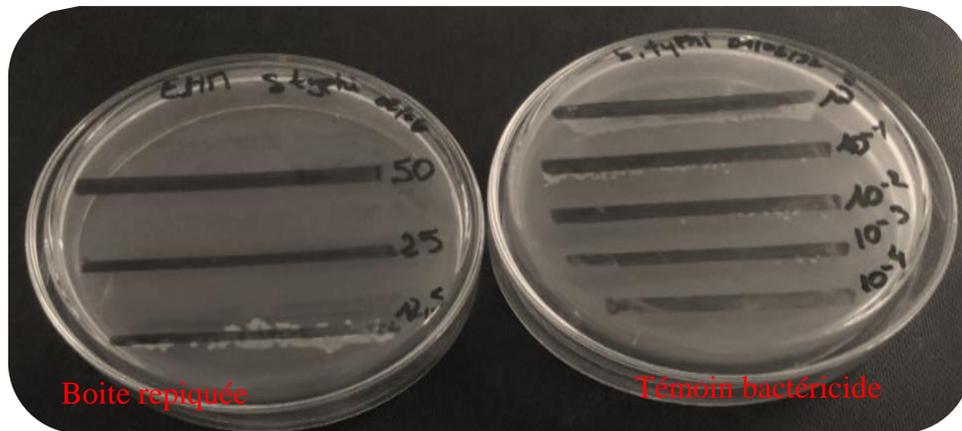
	<i>S. typhi</i>		<i>E. coli</i> 1178C/19	
	EHmaq	EHméth	EHmaq	EHméth
CMI (mg/mL)	12,5	12,5	50	25
CMB (mg/mL)	50	50	50	50
CMB/CMI	4	4	1	2
Effet	Bactéricide	Bactéricide	Bactéricide	Bactéricide

EHm aq : Ecorce de *Harungana madagascariensis*;EHm éth: Ecorce de *Harungana madagascariensis*;

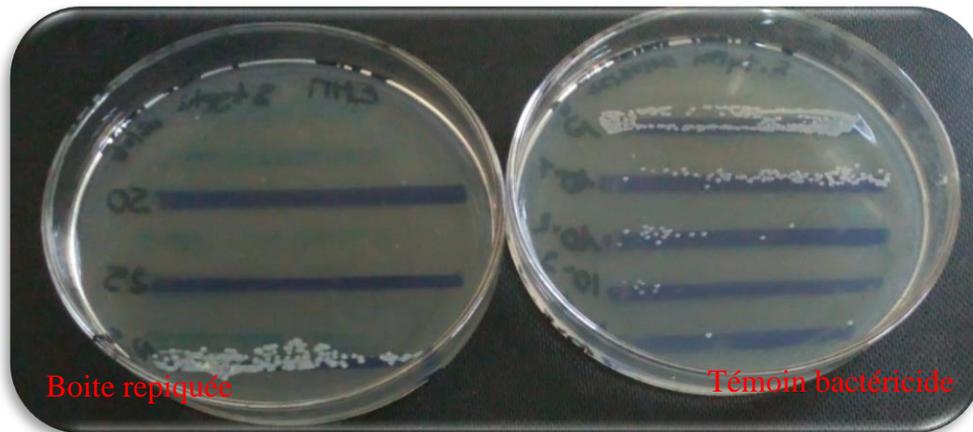


CMI=12,5mg/mL

Figure 9 : Détermination des CMI de l'extrait aqueux de l'écorce de *Harungana madagascariensis* (EHmaq) sur la croissance *in vitro* de *S. typhi* en milieu liquide.



CMB=50mg/mL



CMB=50mg/mL

Figure 10 : Détermination de la CMB de l'extrait aqueux de l'écorce de *Harungana madagascariensis* (EHmaq) sur la croissance *in vitro* de *S. typhi* en milieu liquide.

### 3.1.5 Comparaison de l'activité antibactérienne des extraits aqueux et hydro-éthanoliques des trois plantes sur la croissance *in vitro* de *S. typhi* et *E. coli*.

Le test de sensibilité des germes faces aux extraits aqueux a montré que M1aq, M2aq et EHmaq ont présenté des activités sur la croissance *in vitro* des germes en milieu solide et milieu liquide, à l'exception de M2aq qui n'a pas été actif en milieu liquide. Avec les diamètres d'inhibitions aux concentrations 100 et 50 mg/mL les plus élevées en milieu solide pour M1aq de 10,24 mm et 9,87 mm sur *E. coli*1178C/19 et *S. typhi*. Les diamètres d'inhibitions des extraits aqueux de M2aq et de E.Hmaq varient entre 8,23 mm et 9,33 mm sur *E. coli*1178C/19, de 7,18 mm et 7,73 mm sur *S. typhi*. Mais en milieu liquide seulement M1aq et EHmaq ont eu activités sur les deux isolats bactériens avec des CMI de 12,5 mg/mL sur *S. typhi* (Tableau IX). Contrairement aux extraits hydro-éthanoliques de M1éth, M2éth et EHméth, qui ont été plus efficace en milieu solide avec des diamètres d'inhibitions (M1) de 11,39 mm pour *E. coli*1178C/19 et 10,15 mm pour *S. typhi*. EHméth de 8,33 mm sur *E. coli*1178/9 et 8 mm sur *S. typhi*, M2éth de 8 mm pour *E. coli*1178C/19 et de 7,73 mm pour *S. typhi*. Mais en milieu liquide ces extraits ont présenté d'activités sur les deux germes bactériens an inhibant leur croissance avec des CMI de 25 mg/mL (Tableau IX).

**Tableau IX** : Résultant la comparaison des extraits aqueux (M1aq, M2aq, EHmaq) et hydro-éthanoliques (M1éth, M2éth, EHméth) sur la croissance *in vitro* de *S. typhi* et *E. coli*.

	<i>S. typhi</i>			<i>E. coli</i> 1178C/19		
	M1aq	M2aq	EHmaq	M1éth	M2éth	EHméth
CMI (mg/mL)	12,5	12,5	12,5	25	25	25
CMB (mg/mL)	25	>50	50	50	50	50
CMB/CMI	2	>4	4	2	2	2
Effet	+	-	+	+	+	+

Bactéricides : +, Bactériostatiques : -

M1aq : Mélange1 aqueux, M1éth : Mélange1 éthanoliques ; M2aq : Mélange2 aqueux, M2éth : Mélange 2 éthanoliques ; EHmaq : Ecorce de *Harungana madagascariensis* aqueux, EHméth : Ecorce de *Harungana madagascariensis* éthanoliques

### 3.2 DISCUSSION

Cette étude a consisté à évaluer l'activité antibactérienne des différents extraits de plantes afin d'identifier celui ou ceux qui ont une meilleure activité antimicrobienne. Les extraits testés étaient constitués des extraits de chaque plante et issus du mélange de *Harungana madagascariensis*, *Zanthoxylum leprieurii* et *Xylopia aethiopica* à différentes proportions afin de vérifier les vertus anti-infectieuses accordées à chaque plante mais aussi les mélanges qui les constituent. Avant les tests, il fallait préparer des extraits aqueux et hydro-éthanoliques afin d'évaluer leur activité antibactérienne. Cette extraction a enregistré différents rendements. De tous les extraits aqueux, les résultats ont révélé que l'extrait FHmaq a eu un meilleur rendement (8,27%). Ce résultat diffère de celui obtenu par Osonwa *et al.*, (2012) qui ont eu un rendement de 19,5% avec les extraits aqueux de *Combretum micranthum*. Par contre, les résultats de l'extraction des extraits hydro-éthanoliques montrent que les extraits EHméth et FrXaeéth ont été obtenus avec les rendements les plus élevés (13,24%), et (13,68%), ceci traduit que le solvant composé de l'éthanol et de l'eau (70/30 ; v/v) extrait mieux que le solvant constitué d'eau uniquement. En effet, le solvant (mélange de l'éthanol et l'eau) utilisé est très polaire, il a la capacité d'extraire la majorité des composés liposolubles et hydrosolubles de polarités diverses. Il constitue donc un bon solvant pour analyser le totum des extraits (Ambe *et al.*, 2016). Avant d'effectuer l'évaluation du potentiel antibactérien des extraits obtenus, il apparaît nécessaire de connaître la composition en métabolites secondaires de chaque extrait.

Les résultats du tri phytochimique réalisés montrent que tous les extraits (aqueux et hydroalcooliques) contiennent des polyphénols, des flavonoïdes, des saponosides, des tanins galliques, et catéchiques et ne contiennent pas de stérols. Ces résultats sont semblables à ceux de Sanogo *et al.*, (2016) qui ont mis en exergue la présence de ces composés dans le macérât aqueux de *Anogeissus leiocarpus*. Aussi, les résultats concordent avec ceux obtenus par Koevi *et al.*, (2015) qui ont identifié la présence des tanins, des composés phénoliques et des saponosides dans l'extrait éthanolique de *Combretum molle*. La présence de ces composés phénoliques pourrait justifier l'action inhibitrice exercée par certains extraits sur la croissance *in vitro* des germes bactériens étudiés car ils sont capables de rompre les membranes microbiennes entraînant la mort de la cellule. Par ailleurs, Lambert *et al.*, (2001) ont montré que les composés phénoliques provoquent une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique qui entraîne une modification de pH et une libération des ions organiques.

L'étude de l'effet des extraits aqueux et hydro-éthanoliques des trois plantes sur la croissance *in vitro* des deux isolats bactériens en milieu solide a montré que seulement six extraits (M1aq, M1éth, M2aq, M2éth, EHmaq, et EHméth) ont présenté une activité antibactérienne sur *E. coli*1178C/19 et *S. typhi* avec des diamètres d'inhibition allant de 7 mm à 11, 33 mm. La comparaison des résultats avec ceux de Ahon *et al.*, en (2021) qui ont étudié l'effet de l'extrait de la macération de l'écorce (ME) de *T. tetraptera* sur la croissance de *E. coli*1178C/19 en milieu solide révèle que les diamètres d'inhibition sur *E. coli*1178C/19 des six extraits de la présente étude sont inférieurs à ceux de l'extrait de (ME) de ces auteurs, car ceux-ci ont obtenus des diamètres d'inhibition sur *E. coli*1178C/19 variant de 13 mm à 19 mm. L'analyse des diamètres d'inhibition au cours de l'étude de l'activité antibactérienne permet de caractériser en milieu solide la sensibilité des souches bactériennes vis à vis des extraits de plantes ou molécules. Lorsque le diamètre est supérieur à 14 mm, l'extrait est dit actif, et la souche est dite sensible. Aussi, lorsque le diamètre est compris entre 10 mm et 13 mm l'extrait est dit partiellement actif et la souche est modérément sensible. Enfin, quand le diamètre est inférieur à 10 mm, l'extrait est inactif et la souche est résistante (Quinto & Santos, 2005). Ainsi selon cette classification seul l'extrait M1éth est partiellement actif sur la croissance des souches bactériennes étudiées en milieu solide.

Les paramètres antimicrobiens ont été par ailleurs déterminés en milieu liquide pour les extraits ayant induits une zone d'inhibition. Ce choix, de déterminer les paramètres antimicrobiens de ces extraits, a été fait suivant l'étude de Golly *et al.*, (2015). En effet, au cours de leur étude, l'extrait d'acétate d'éthyle de *Ceiba pendadra* qui n'avait pas été actif en milieu solide sur *Pseudomonas aeruginosaa* a présenté une activité bactéricide en milieu liquide. La détermination de paramètres antimicrobiens des six extraits (M1aq, M1éth, M2aq, M2éth, EHmaq et EHméth) a révélé que malgré leurs faibles diamètres d'inhibition en milieu solide, ces extraits ont présenté des activités bactéricides en milieu liquide. Ce résultat d'activité de ses extraits en milieu liquide pourrait confirmer l'hypothèse de la mauvaise diffusion des extraits en milieu solide comme indiqué par Zakaria *et al.*, (2006), mettant en cause la capacité des agents antibactériens à diffuser uniformément dans l'agar. En milieu liquide, l'effet bactéricide observé sur toutes les souches bactériennes pourrait être le fait de la disponibilité et le bon contact des principes actifs avec les bactéries dans les milieux de culture expérimentaux (Golly *et al.*, 2015). Les valeurs des paramètres antibactériens (CMI) obtenues indiquent que

par rapport à *S. typhi*, *E. coli* est moins sensible aux différents extraits. En effet, les CMI des extraits sont comprises en générale entre 25 et 50 mg/mL sur *E. coli* alors que celles-ci sont de 12,5 mg/mL sur *S. typhi*. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI : 25 mg/mL ; 50 mg/mL) obtenues sur *E. coli* avec les extraits sont plus élevées que celles obtenues (CMI : 3,125 mg/mL) par Ahon *et al.*, (2021) sur la même souche de *E. coli* avec l'extrait de (ME) de *T. tetraptera*. De tous les extraits testés en milieu liquide, les extraits hydro-éthanoliques sont ceux qui ont présenté les meilleurs paramètres antibactériens sur les souches étudiées. Ces résultats corroborent avec les travaux réalisés par Zekeri *et al.*, (2014) qui ont prouvé une activité bactéricide des extraits hydro-éthanoliques des feuilles *Combretum micranthum* sur les souches de *S. typhi*. De même, les résultats sont proches de ceux de Gbogbo *et al.*, (2013) qui ont montré l'activité inhibitrice des extraits éthanoliques des tiges de *Pteleopsis subrosa* sur les souches de *Salmonella* spp. L'extrait M1éth qui a été partiellement actif sur la croissance des souches bactériennes étudiées en milieu solide a présenté la meilleure activité en milieu liquide car ses rapports CMB/CMI sont de 2 alors que ceux de M2éth sont de 4 et ceux de EHméth sont compris entre 2 et 4. M1 (aqueux et hydro-éthanoliques) est issu du mélange constitué de 40 % de poudre de Feuille de *Harungana madagascariensis*, de 50 % de poudre + d'écorces de *Zanthoxylum leprieurii* et de 10 % de poudre de fruits de *Xylopi aethiopica*. Quant à l'extrait M2 (aqueux et hydro-éthanoliques), il est extrait d'un broyat constitué de 40 % de poudre d'écorces de *Harungana madagascariensis*, de 50 % de poudre + d'écorces de *Zanthoxylum leprieurii* et de 10 % de poudre de fruits de *Xylopi aethiopica*. Concernant l'extrait EHm (aqueux et hydro-éthanoliques) il est issu de 100 % de poudre de *Harungana madagascariensis*. La différence entre M1 et M2, se situe au niveau du fait que le mélange du premier contient les feuilles de *Harungana madagascariensis* alors que celui du second contient les écorces du tronc de la même plante. Cette différence a impacté l'activité antibactérienne de chaque extrait (M1 et M2). La bonne activité antibactérienne de l'extrait M1 pourrait être due à l'usage de différentes parties de plantes. Dans cet extrait les molécules actives de chaque organe (feuilles, écorces du tronc et fruit) participeraient de façon synergique à son activité antibactérienne.

## CONCLUSION ET PESPECTIVES

Cette étude a été réalisée sur trois plantes (*Harungana madagascariensis*, *Zanthoxylum lepreurii*, et *Xylopiya eathiopica*) issues de la flore ivoirienne. Elle avait pour but d'évaluer l'activité inhibitrice des extraits aqueux et hydro-éthanoliques des trois plantes. Les résultats de cette étude ont montré que de tous les extraits testés, les extraits M1aq, M1éth, EHmaq et EHméth ont été les plus actifs sur la croissance *in vitro* des germes bactériens étudiés. Ces extraits ont un effet bactéricide. Par contre l'extraits M2aq n'a pas été efficaces sur les deux germes. Cet extrait montre un effet bactériostatique. Cela peut justifier utilisation de M1aq, M1éth, EHmaq et EHméth en médecine traditionnel en tant que remède.

Les extraits (aqueux et hydro-éthanoliques, simples et composés) des trois plantes renferment des composés phénoliques, des flavonoïdes, des saponosides, des tanins et des anthocyanes.

Cette étude a permis de mettre en évidence l'effet antibactérien des extraits aqueux et hydro-éthanoliques des trois plantes qui sont utilisés en milieu traditionnel pour de nombreuses affections. Toutefois, d'autres études seront nécessaires pour la caractérisation des composés responsables de cette activité et l'identification de leur mécanisme d'action *in vivo*.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIES

- Adjanohoun E. J. & Aké-Assi L. (1979). Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte d'Ivoire CRES. Centre national de floristique. Thèse de Doctorat de Université Felix Houphouët Boigny, Abidjan (Côte d'Ivoire), 358 p.
- Adjanohoun E. J., Ahyi A. M. R., Ake-Assi L. & Dan Docko L. (1988). Médecine traditionnelle et pharmacopée : contribution aux études Ethnobotaniques et floristiques en République. Populaire du Congo. ACCT, Paris (France), 605 p.
- Ahon G. M., Golly K. J., Allou G. E. S. & Ackah J. A. A. B. (2021). Antibacterial activity of aqueous extracts of *Tetrapleura tetraptera* schumach. thonn. (Fabaceae). *Indian Journal of Plant Sciences* 10 : 114-121.
- Aly M. (2018). Surveillance de la résistance aux antimicrobiens des souches de Salmonella isolées au Laboratoire Rodolphe Mérieux de 2015 à 2017 à Bamako au Mali. Thèse Pharmacie, FaPH, Bamako (Mali), 187 p.
- Allain P. (2000). Pharmacorama- Connaissance du médicament 3<sup>ème</sup> édition broché ISBN 2-9510288-1-4, Lorraine (France), 500 p. Consulté 15 /06/2022.
- Ambe A.S.A., Camara D., Ouattara D., Yapo C.Y., Soumahoro A., Zihiri G.N. & N'guessan K.E. (2016). Etude ethnobotanique, évaluation *in vitro* de l'activité antifongique et cytotoxique des extraits de *Enantia polycarpa* (DC) Engl.et Diels (Annonaceae). *International Journal Biology Chemist Science*, 10(1) : 23-34.
- Ashafa A.O.T & Umebese C (2012). Phytochemical screening, antibacterial and antifungal activity of *Garuleumwoodiischinz*. Root extracts against human pathogenic microbes. *Journal of Medicinal Plants Research*, 42 : 5513-5518.
- Avril. J.L., Dabernat H., Denis & Monteil H. (1992). Bactériologie clinique 2<sup>ème</sup> édition Ellipses paris (France), pp 149- 171.
- Audu S. A., Mohamed I. & Kaita H. A. (2007). Phytochemical screening of the leaves of *Lophira lanceolata* (Ochanaceae). Populaire du congo, ACCT Paris (France). *Life Sciences Journal*. 4(4) : 75-79.
- Batard E., Montassier E., Ballereau F. & Potel G. (2011). De la consommation d'antibiotiques aux résistances bactériennes : l'exemple de la résistance d'*Escherichia coli* aux quinolones. *Médecine Thérapeutique*, 17: 294-301.

- Belesi. H. (2009). Dendrologie, notes de cours, Faculté des sciences Agronomiques, G<sub>3</sub> Eaux et Forêts Université de Kinshasa (Congo), inédite, 98 p.
- Ben A., & Khedher M. (2010). Frequency and antibiotic resistance in uropathogenic bacteriain the university hospital tahar sfar. *Revue Tunisienne d'Infectiologie*, 4 : 57-61.
- Békro Y.A., Békro J.A.M., Boua B.B., Tra B.F.H. & Ehilé E.E. (2007). Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpinaceae). *Sciences et Nature*, 4 : 217-225.
- Belhaj I., El Abbadi T & Ouchbani. (2016). Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne du miel naturel d'origine marocaine, Casablanca (Maroc), pp 22.
- Berhaut J. (1967). Flore illustrée du Sénégal, deuxième édition. Dakar (Senegal). Edition clairafrique. Boutinot, pp 485.
- Biapa P-C, Agbor G A, Oben J.E. & Ngogang J.Y. (2007). Phytochemical studies and antioxidant proprieties of four medicinal plants Cameroon. *African journal of traditional and complementary*, 4(4) : 495-500.
- Boubrit S. & Boussad N. (2007). Détermination "in vitro " du pouvoir antibactérien des huiles essentielles d'eucalyptus, myrte, clous de girofle et sarriette et leur application à la conservation de la viande fraiche type hachée. *Memoire Online*, pp 86.
- Bourgeois C. \tl., .Meccle.J.F. & l\Ionteil.H . (1996). Microbiologie alimentaire (tome 1). Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Edition :tee et document. Lorraine (France), pp 62-73.
- Bonga G.M., Vangah -Manda M.;de Souza C. & Guede- Guina F. (1996). Mise en évidence de phytostéroïdes antifongiques contre *Cryptococcus neoformans*. *Revue Medical Pharmacology Africa*, 9 : 21 – 28.
- Bssaibis F, Gmira N & Meziane M (2009). Activité antibactérienne de *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter. *Revue de Microbiologie Industrielle, Santé et environnement*, 3 : 44-55.
- Burt S.A. (2003). Antibacterial activity of select plant essential oils against *Escherichia Coli* O157:H7. 157: 47, *Letters in Applied Microbiology.*, 36 : 162-167.
- Burkill H.M. (1985). The useful plants of west tropical Africa, Vol 3 Royal Gardens, Kew, UK 42 p.
- Candan F., Unlu M., Tepe B., Daferera D., Polissiou M., Sökmen A. & Akpulat H.A. (2003). Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea*

- millefolium* subsp. *Millefolium* Afan. (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 87(2-3) : 215-220.
- Capuron (1957). Introduction à l'étude de la flore forestière de Madagascar (Tananarive), 125 p.
- Cronquist A. (1981). An Integrated System of classification of flowering Plants. New York (Etat unis), pp 248-250.
- Chong Y., Yakushiji H., Ito Y. & Kamimura T. (2011). Clinical and molecular epidemiology of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in à long-term study from Japan. *European Journal of Clinical Microbiology Infectious Diseases*, 30(1) : 83–87.
- Dabernat H., Avril.J.L Denis. & Monteil H. (1992). Bactériologie clinique 2ème édition Ellipses paris (France), pp 149-171.
- Descheemaeker A. (2003). Ravi-maitso, Editions Ambozontany-Analamahitsy, Antanarivo (Madagascar), 128 p.
- Dinzedi M.R. (2015). Activités antibactériennes de extraits de *Terminalia catappa* et *Thonningia sanguinea* sur *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus* multirésistantes d'origine humaine. Thèse de Doctorat de l'Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan (Côte d'Ivoire), 133 p.
- Dupriez H. & De Leener P.H. (1987). Jardins et vergers d'Afrique, Terres et Vie, l'harmattan, Apica, Enca, Cta, Paris (France) 354 p.
- Elujoba A.A., Odeleye O.M. & Ogunyemi C.M. (2005). Traditional medicine development for medical and dental primary health care delivery system in Africa. *AJTAM* 2 :46 – 61.
- Eyquem A., Alouf J. & Montanier L. (1998). Traitée de microbiologie clinique, piccinnuova, libreria S.P.A padoue, Rome (Italie), pp 369-391.
- Fatna B., Nourredine D., Brahim B., Hamid A. & Mohammed T. (2009). Profil de résistance aux antibiotiques des *Escherichia coli* uropathogènes communautaires au Maroc. *European Journal of Scientific Research*, 38 : 57-62.
- Fofana A, (2004) Etude de la résistance aux antibiotiques des souches de *Salmonella* sp et *Esherichia coli* isolées de la viande de poulet de chair au Sénégal [Mémoire de Diplôme d'études Approfondie, Es]. [Sénégal] : Université Cheikh Anta Diop de Dakar (Sénégal), 32 p. Consulté le 02/07/2022.

- Gbogbo K.A., Agban A., Woegan Y.A, Amana E.K., Hoekou P.Y., Batawila K. ; Koumaglo K., & Akpagana K. (2013). Evaluation de l'activité antimicrobienne de *Momordica charantia* (Cucurbitaceae), *Psidium guajava* (Myrtaceae) et *Pteleopsis suberosa* (Combretaceae). *European Scientific Journal*, 9(36) : 411-422.
- Golly K.J, Siaka S, Guessennnd N, Soro Y, Djaman A.J & Dosso M. (2012). Phytochemical assessment and antimicrobial activity of leaves extract of *Vernonia colorata* (Wild.) Drake on Resistant Germs of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 4 : 2490-2494.
- Golly K.J, Siaka S, Soro Y, Guessennnd N, Dosso M & Djaman A.J, (2015). Phytochemical Study and Antimicrobial Activity of Bark Extracts of *Ceiba pentandra* (L.) Gaertn. (Bombacaceae) from Côte d'Ivoire on Antibiotic Resistant *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* *British Microbiology Research Journal*, 9(1) : 1-7.
- Iwalokun B.A., Ogunledun A., & Ogbolu D.O. (2004). In vitro antimicrobial properties of aqueous Garlic extract Against Multidrug-Resistant Bacteria and Candida species from Nigeria. *Journal of médicinale food* 7(3) : 327-333.
- Jepson. R.G & Craig J.C., (2007). A systematic review of the evidence for cranberries and blueberries in UTI prevention, [archive] *Molecule Nutrition Fond Research*, 51 : 738-745.
- Koevi. K. K. A, Millogo.V, Hzouda. fokou.J.B, Sarr.A, Ouedraogo.G.A & Bassene E. (2015). Phytochemical analysis and antioxidant activities of *Combretum molle* and *Pericopsis laxiflora*. *International. Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(5) : 2423-2431.
- Kouninki H., Hance T., Noudjou F.A, Lognay G., Malaisse F., Ngassoum M.B., Mapongmetsem P.M., Ngamo L.S.T. & Haubruge E. (2005). Communications in agricultural and applied biological PMID 16628918, Abidjan (Côte d'ivoire), pp 704-787.
- Koné W. M., Atindehou K. K., Kacou-n'douba A., & Dosso M. (2007). Evaluation of 17 medicinal plants from Northern Côte d'Ivoire for their in vitro activity against *Streptococcus pneumoniae*. *Africain Journal Traditional Complement Alternative Medical*, 4 : 17-22.
- Kouassi C.K., Koffi-Nevry R., Loukou Y.G., Nanga. Y.Z., Koussemon M., Kablan T & Kouassi K.A. (2012). Profiles of bioactive compounds of some pepper fruit (*Capsicum L.*) varieties grown in Côte d'Ivoire (Abidjan). *In Biotechnology* 11 : 23-31.

- Koudougou K. (2004). Etude de l'activité antipyrétique du phytomédicament FACA en comparaison avec celle de ses composantes : *Fagara zanthoxyloïdes* Lam. (Rutaceae) et *Calotropis pocera* Ait. (Asclepiadaceae). Thèse de Doctorat en pharmacie, UFR/SDS, Université de Ouagadougou (Burkina Faso), 80 p.
- Lambert R.J., Skandamis P.N., Coote P.J. & Nychas G.J. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of *Oregano* essential oil, thymol and carvacrol. *Journal Applied Microbiology* 91: 453-62.
- Lagnika L., Amoussa M., Adjovi Y. & Sanni A. (2012). Antifungal, antibacterial and antioxidant properties of *Adansonia digitata* and *Vitex doniana* from Bénin pharmacopeia. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 4 (4) : 44-50.
- Lozniewski A. & Rabaud C. (2010) Résistance bactérienne aux antibiotiques, Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux–Infections associées aux soins, CCLIN, Sud-Est, Nancy (France), 4 p.
- Lovett, J.C., Ruffo, C.K., Gereau, R. E. & Taplin, J. R. D. (2003). Field Guide to the Moist Forest Trees of Tanzania, Centre for Ecology Law and Policy, Environment Departement, University of York (Etat unies), United Kingdom, 149 p.
- Marmonier A.A., Carbonnelle B., Denis F., Pinon G. & Vargues R. (1988), Introduction aux techniques d'études des antibiotiques. En., Bactériologie médicale : Techniques usuelles, édition Simep, Paris (France), pp 227 – 234.
- Madubunyi I.I., Obi S.K.C., Nwebube N.I. (1995) & Chime A.B., Antihepatotoxic and antimicrobial activities of *Harungana madagascariensis* leaf extracts. *International Journal of Pharmacology*, 33(2) : 129-134.
- Millemann Y. (1998). Le pouvoir pathogène des *salmonelles* : facteurs de virulence et modèles d'étude. *Biology Medical Central*, 29(5) : 385-407. Consulté le 03/04/22.
- Millogo K.H., Asimi S., Guissou Ip. & Nacoulma O.G. (2008). Etude de l'activité antimicrobienne d'extraits de *Parkia biglobosa* (JACQ.) benth. Sur des souches de *Staphylococcus aureus*. *Pharmacopée et Médecine traditionnelle africaines*, 15 : 15-20.
- Mirabaud M. I. (2003). Entérobactéries à BLSE en pédiatrie en 1996. Thèse de Doctorat d'État en Médecine, Université de Genève (Suisse), 96 p.
- Moroh J.L.A, Bahi C, Dje K, Loukou Y.G, & Guédé-Guina F (2008). Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker) milne-

- redheat (rubiacaceae) sur la croissance *in vitro* des souches d'*Escherichia coli*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège* ; 77 : 44-61.
- Nacoulma & Ouedraogo G.O (1996). Plantes médicinales et pratiques médicinales traditionnelles au Burkina Faso. Cas du plateau central. Thèse de Doctorat ès Sciences naturelles, FAST Ouagadougou (Burkina Faso), Tome I et II, 605 p.
- Nikiema J.B. (1997). Contribution à l'étude phytochimique et pharmacologique de *Leptadenia hastata* (Asclepiadaceae). Thèse de pharmacie, Université libre de Bruxelles (Belgique), 125 p.
- Obasi N.L., Egbuonu A.C.C., Ukoha P.O. & Ejikeme P. M. (2010). Comparative phytochemical and antimicrobial screening of some solvent extract of *Samanea saman* Pods. *African Journal Applied Chemical*, (9) : 206-212.
- OMS (2003). Médicaments essentiels et politiques pharmaceutiques : donner un soutien aux pays pour réduire le manque d'accès aux médicaments. Genève (suisse) : OMS (Rapport annuel 2002), 20 p.
- Organisation Mondiale de la Santé (1999). Rapport sur la santé dans le monde, Genève (Suisse), 148 p.
- Osonwa.U, Alima.P, & Smith C.E. (2012). Stability studies on the aqueous extract of the fresh leaves of *Combretum micranthum* G. Don Used as antibacterial agent. *Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 6(5) : 417-424.
- Oyetayo F.L, Oyetayo V.O, & Ajewole V. (2007). Phytochemical profile and antibacterial properties of the seed and leaf of the Luffa plant (*Luffa cylindrical*). *Journal of Pharmacology and Toxicology* 7 : 586- 589.
- Ouattara A., Golly K.J., Touré A., Adima A.A., Ouattara K & Coulibaly A (2016). Investigation on traditional use of *Pericopsis (afrormosia) laxiflora* (Benth.) stem bark in treatment of infectious diseases caused by *Staphylococcus aureus* and *Shigella* sp., two multi-resistant bacteria. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 7(1) : 377-383.
- Quinto E. A. & Santos M. G. (2005). Microbiology, In Guevara, Beatrice, édition Guidebook to Plant Screening : Phytochemical and Biological, UST Publishing House, Manila (Philippines), pp 75-77.

- Randriambelona (2002). Inventaires des plantes médicinales dans la RNI n°1 de Betampona, Mémoire CAPEN, Antananarivo (Madagascar). CER *Sciences Naturelles*, 85 p.
- Ramahandrimanana J.C.R. (1986). Inventaire des plantes actives sur le Système cardiovasculaire, Mémoire CAPEN, Antananarivo (Madagascar). CER *Sciences Naturelles*, 77 p.
- Rajaonarivelo N. (1995). Evaluation des efforts actuels pour rétablir nos richesses en essences forestières autochtones, Mémoire CAPEN, Antananarivo (Madagascar). CER *Sciences Naturelles*, 115 p.
- Rasoloarizafy H., (1987). Inventaire de quelques plantes médicinales d'usage courant contre les maladies des voies respiratoires, Mémoire CAPEN, Antananarivo (Madagascar). CER *Sciences Naturelles*, 119 p.
- Reza H. S. M, Mandal C, Alam A. K, Salam A, Rahman A. M, Amin R. M, Huda N. M, Ghosh C. N, Ali R. M, & Ahmed F. (2007). Phytochemical, antibacterial and antinociceptive studies of *Hoya parasitica*. *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2(8) : 753-756.
- Sanogo Y, Amin G, Aforo P, & Najish. A (2016). Evaluation in vitro de l'activité des écorces de tige de *Anogeissus leiocarpus* (DC) Guill. et Perr. (*Combretaceae*) sur des bactéries responsables de maladies courantes en Afrique et criblage phytochimique. *International journal of biological and chemical sciences* 10(3) : 1139-1152.
- Seddik K., Nadjet I., Abderrahmane B., Daoud H. & Lekhmici A. (2010). Antioxidant and antibacterial activities of extracts from *Artemisia herba alba* Asso., leaves and some phenolic compounds. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(13) : 1273-2802.
- Soro D., Kone M.W & Kamanzi K. (2010). Evaluation des activités antimicrobiennes et anti-radicaux libres de quelques taxons bioactifs de Côte D'ivoire. *European Journal Scientific Research*, 6(40) : 307-317.
- Sofowora A. (2010). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique, KARTHALA Editions, Ibadan (Nigeria), 1982 ISBN : 978-2-8111-0330, 28 p.
- Stevens D.A. (1997). Oral Amphotericin B as antifungal agent. *Journal Mycology Medical*, 7: 241 – 242.
- Sutro L., Federighi M. & Trouve. J.L. (1988). Manuel de bactériologie alimentaire Norvège (Pays-Bas), pp 27-84.

- Talontsi F.M., Facey P., Tatong M.D.K., Islam M.T., Frauendorf H., Draeger S. & Laatsch H. (2012). Zoosporicidal metabolites from an endophytic fungus *Cryptosporiopsis* sp. of *Zanthoxylum leprieurii*. *Phytochemistry*, 83 : 87-94.
- Tabuti J. R. S. (2011)., *Zanthoxylum leprieurii* Guill et Perr. In:Schmelzer, G.H. et Gurib-Fakim, A. Edition PROTA (Plant Resources of Tropical Africa / Ressources végétales de l'Afrique tropicale) Wageningen, Netherlands. 11(1) : 87-98.
- Tchinda A.T., Fuendjiep V., Sajjad A., Matchawe C., Wafo P., Khan S., & Choudhary M.I. (2009). Bioactive compounds from the fruits of *Zanthoxylum leprieurii*. *Pharmacologyonline*, 1: 406-415.
- Tchiégang C. & Mbougueng, P. D. (2005). Composition chimique des épices dans la préparation du Nah poh et du Nkui de l'ouest Cameroun. *Tropicultura*, 23(4) : 193-200.
- Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G & Kaur H (2011). Phytochemical screening and extraction : *International Journal of Pharmaceutical Sciences review and Research*. 1 : 98-106.
- Tra bi F.H., Koné M.W. & Kouamé N.F. 2(008). Antifungal activity of *Erigeron floribundus* (*Asteraceae*) from Côte d'Ivoire, West Africa. *Tropical Journal Pharmaceutical Research* 7 : 975-979.
- Traoré Y., Quattara K., Yéo D., Doumbia I., & Coulibaly A (2012). Recherche des activités antifongique et antibactérienne des feuilles d'*Annona senegalensis* Pers. (*Annonaceae*). *Journal of Applied Biosciences* 58 : 4234-4242.
- Waheed, A., Mahmud, S., Akhtar, M., & Nazir, T. (2011). Studies on the Components of Essential Oil of *Zanthoxylum armatum* by CPGSM. *American Journal of Analytical Chemistry*, 2(2) : 258-260.
- Yao-Kouassi P.A., Caron C., Aké-Assi E., Martinez A., Le Magrex-Debar E., Gangloff, S.C., & Zèches-Hanrot M. (2014). A New Cycloheptapeptide from *Zanthoxylum mezoneurispinosum* Aké Assi (*Rutaceae*). *Mediterranean Journal of Chemistry*, 3(5) : 1013-1020.
- Zarrouq B. (2010). Etude phytochimique et activité antibactérienne d'*Anabasis aretioides* au Maroc. Thèse, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah Faculté des sciences Dhar El Mahraz Département de Biologie Rabat (Maroc), Fès. 74 p.
- Zakaria Z. A., Zaiton H., Henie E. F. P., Mat Jais A. M., Kasthuri D., Thenamutha M., Othman F.W., Nazaratulmawarina R & Fatimah C.A (2006). The *in vitro* Antibacterial Activity

of *Corchorusolitorius* and *Muntingia calabura* Extracts. *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 1 : 108-114.

Zekeri M.N (2014) effect of aqueous ethanol leaf of *combretum micranthum* (*Combretaceae*) on some systemic inflammatory immune response syndromes in mice and rat. *Journal of Medicine and Biomedical Sciences*, 22(6) : 1-6.

Zirihi G.N. (1991). Contribution au recensement à l'identification et à la connaissance de quelques espèces végétales utilisées en médecine traditionnelles chez les bétés du département d'Issia, Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat de 3ème cycle, Université de Cocody- Abidjan, FAST, Abidjan (Côte d'Ivoire), 253 p.

Zirihi G.N, Kra A. K. M & Guede-Guina F (2003). Evaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* (Lamarck) *O. kuntze* (Asteraceae) “ pyimi ” sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*. *Revue de Médecines et Pharmacopées africaines* 17 : 11-18.

## RESUME

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'action antibactérienne des extraits des plantes de *H. madagascariensis*, *Z. leprieurii* et *X. aethiopica*. Les extraits aqueux et hydroéthanoliques obtenus à partir de ces plantes ont été testés sur la croissance *in vitro* des isolats de *S. typhi* et de *E. coli*. Le test de sensibilité réalisé, à la fois en milieu solide et en milieu liquide, avec les extraits montre que des isolats microbiens varie d'un isolat à un autre en fonction du type d'extrait. Les données expérimentales révèlent que les extraits aqueux EHmaq, et M1aq ont présenté des activités sur les deux isolats excepté le M2aq alors que les extraits hydroéthanoliques de M1éth, M2éth, et EHméth ont eu d'effets sur les deux isolats. Les résultats montrent que l'activité inhibitrice de ces extraits dépend de la polarité des phytomolécules à l'égard des solvants, et l'alcool semble être le solvant le plus actif. Pour la mise au point de phytomédicament, ce solvant est conseillé.

**Mot clés :** Activité antibactérienne, recette, plante, croissance *in vitro*, isolats microbiens, Abidjan.

## ABSTRACT

The objective of this study is to evaluate the antibacterial action of plant extracts of *H. madagascariensis*, *Z. leprieurii* and *X. aethiopica*. The aqueous and hydroethanolic extracts obtained from these plants were tested on the *in vitro* growth of *S. typhi* and *E. coli* isolates. The sensitivity test performed, both in solid and liquid media, with the extracts shows that microbial isolates vary from one isolate to another depending on the type of extract. Experimental data indicate that aqueous extracts EHmaq, and M1aq showed activities on both isolates except M2aq while hydroethanolic extracts of M1éth, M2éth, and EHméth had effects on both isolates. The results show that the inhibitory activity of these extracts depends on the polarity of phytomolecules towards solvents, and alcohol appears to be the most active solvent. For the development of phytomedicine, this solvent is recommended.

**Keywords:** Antibacterial activity, recipe, plant, *in vitro* growth, microbial isolates, Abidjan.