

SCREENING CHIMIQUE ET ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DE CINQ PLANTES MEDICINALES (*Anthonotha macrophylla*, *Azadiractha indica*, *Trema orientalis*, *Citrus limon* et *Ananas comosus*) SUR LES SOUCHES DE *SALMONELLA* ANTIBIORESISTANTES A KISANGANI (RD CONGO)

[CHEMICAL SCREENING AND STUDY OF THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF FIVE MEDICINAL PLANTS (*Anthonotha macrophylla*, *Azadiractha indica*, *Trema orientalis*, *Citrus limon* and *Ananas comosus*) ON KISANGANI ANTIBIORESISTANTS *SALMONELLA* STRAINS (DR CONGO)]

Jules Lokonga Okenge¹, Trésor Kwembe Konganape², and Daniel Osenge Nkfutela²

¹Département des sciences Biotechnologiques, Faculté des sciences, BP 2012, Université de Kisangani, RD Congo

²Département de Chimie, Faculté des sciences, BP 2012, Université de Kisangani, RD Congo

Copyright © 2020 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: In order to identify and isolate the active principles of medicinal plants with antibacterial activity in the Kisangani region (DR Congo), five medicinal plants including *Anthonotha macrophylla*, *Azadiractha indica*, *Trema orientalis*, *Citrus limon* and *Ananas comosus* have been used for this study. The objective of this study is to characterize phenotypically the 17 strains of *Salmonella*, for the identification, and the chemical study of the active principles of medicinal plants used in the treatment of typhoid in the city of Kisangani. Strain characterization and chemical screening were used for the detection of *Salmonella* and phytochemical groups present in our plants.

The liquid-liquid extraction made it possible to obtain the dried extracts of the major phytochemical groups after evaporation of the solvents employed.

The method of inhibiting bacterial growth by diffusion in agar medium was used to study the sensitivity of *Salmonella typhi* strains to extracts of medicinal plants. The results of our research reveal that the phenotypic characterization showed that there is similarity between the 17 strains of *Salmonella typhi* studied and the reference strain.

The chemical screening revealed the abundant presence of tannins and saponins in the leaves of *Anthonotha macrophylla*, *Azadiractha indica* and in the leaf of *Trema orientalis*, but traces of alkaloids in the leaves of *Trema orientalis*, as well as very abundant presence of sterols and terpenes as well as quinone in the bark of the *Citrus limon* root.

In addition, the extraction of the active ingredients yielded respectively the following yields: 4.92% of the leaves of *Trema orientalis*, and 2.48% of the leaves of *Azadiractha indica* and 2.44% of *Anthonotha macrophylla* for the leaves. saponins. As for extracts of tannins, in *Azadiractha indica*, 22.76% and in *Anthonotha macrophylla* is 14.76%, while the leaves of *Trema orientalis* contain only 14.44%. Determination of microbial growth inhibitory activity extracts revealed growth inhibition of *Salmonella typhi* strains, saponin extracts and Tanic extracts of *Anthonotha macrophylla* and *Trema orientalis* were active on microbial strains tested (*Salmonella typhi*) with inhibition zone diameters means 13, 14 and 16mm in diameter for *Anthonotha macrophylla* and extracts of *Trema orientalis* with inhibition diameter of 14, 12, 11, 10mm. *Azadiractha indica* extracts showed antibacterial activity of 11mm in diameter.

KEYWORDS: screening, chemical, antibacterial activity, *Anthonotha macrophylla*, *Azadiractha indica*, *Trema orientalis*, *Citrus limon*, Pineapple comosus, *Salmonella*, antibiotic-resistant

RESUME: Dans le but d'identifier et d'isoler les principes actifs des plantes médicinales à activité antibactérienne dans la région de Kisangani (RD Congo), cinq plantes médicinales entre autre *Anthonotha macrophylla*, *Azadiractha indica*, *Trema orientalis*, *Citrus limon* et *Ananas comosus* ont été utilisées pour cette étude.

Cette étude se fixe comme objectifs de faire la caractérisation phénotypique des 17 souches de *Salmonella*, pour l'identification, et l'étude chimique des principes actifs des plantes médicinales utilisées dans les traitements de la typhoïde dans la ville de Kisangani.

La caractérisation de souches et le screening chimique ont été utilisés pour la mise en évidence de *Salmonella* et des groupes phytochimiques présents dans nos plantes. L'extraction liquide-liquide a permis l'obtention des extraits secs des groupes phytochimiques majeurs après évaporation des solvants employés. La méthode de l'inhibition de la croissance bactérienne par diffusion en milieu gélosé a été utilisée pour étudier la sensibilité des souches *Salmonella typhi* vis-à-vis des extraits des plantes médicinales.

Les résultats auxquels a abouti notre recherche révèlent que la caractérisation phénotypique a montré qu'il ya similitude entre les 17 souches des *Salmonella typhi* étudiées et la souche de référence. Le screening chimique a révélé la présence très abondante des tanins et des saponines dans les feuilles d'*Anthonotha macrophylla*, *Azadiractha indica* ainsi que dans la feuille de *Trema orientalis*, mais présence en trace d'alcaloïdes dans les feuilles de *Trema orientalis*, ainsi que la présence très abondante en stérols et terpènes ainsi que quinone dans l'écorce de la racine de *Citrus limon*. Par ailleurs, l'extraction des principes actifs a donné respectivement les rendements ci-après : soit 4,92% des feuilles de *Trema orientalis*, et 2,48% des feuilles d'*Azadiractha indica* et 2,44% pour *Anthonotha macrophylla* pour les saponines. Quant aux extraits des tanins, dans *Azadiractha indica*, soit 22,76% et dans *Anthonotha macrophylla* soit 14,76%, tandis que les feuilles de *Trema orientalis* ne renferment que 14,44%. La détermination de l'activité inhibitrice de croissance microbienne des extraits a révélé une inhibition de la croissance de souches de *Salmonella typhi*, aux extraits des saponines et les extraits taniques d' *Anthonotha macrophylla* et *Trema orientalis* ont été actifs sur les souches microbiennes testée (*Salmonella typhi*) avec les diamètres de zone d'inhibition moyens soit 13, 14 et 16mm de diamètre pour *Anthonotha macrophylla* et les extraits de *Trema orientalis* avec de diamètre d'inhibition de 14, 12, 11, 10mm. Les extraits d'*Azadiractha indica* ont manifesté une activité antibactérienne de 11mm de diamètre.

MOTS-CLEFS: screening, chimique, activité antibactérienne, *Anthonotha macrophylla*, *Azadiractha indica*, *Trema orientalis*, *Citrus limon*, *Ananas comosus*, *Salmonella*, antibioresistantes.

1 INTRODUCTION

Les fièvres typhoïde et paratyphoïde sont des maladies infectieuses potentiellement mortelles en l'absence de traitement. L'agent des fièvres typhoïde et paratyphoïde sont des bactéries du genre *Salmonella*, strictement adaptées à l'homme (*Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A*, et certaines souches de *Salmonella paratyphi B* et *Salmonella paratyphi C*). Ces fièvres surviennent le plus souvent dans des zones où l'hygiène est précaire et frappent principalement les pays en voie de développement [1].

D'après l'Organisation mondiale de la santé, 2013, le nombre de patients atteints dans le monde serait de 21 millions de personnes, avec 216 000 à 600 000 décès annuellement.

La maladie est quasiment absente des pays développés, mais reste fréquente dans les pays en développement d'Asie, d'Amérique latine et d'Afrique. Le germe le plus souvent responsable reste *Salmonella typhi*, près de dix fois plus fréquemment retrouvé que les *Salmonella paratyphi*.

Les études montrent que la fièvre typhoïde reste une problématique sous-estimée en Afrique. Elles fournissent aussi des nouvelles données permettant d'étayer les estimations sur le poids mondial de cette maladie. En 2010, les Salmonelloses Non-Typhoïdes (NTS) ont causé 3,4 millions d'infections et 681 000 décès à travers le monde, avec une majorité de cas en Afrique Sub-saharienne [1].

Des antibiotiques permettent de baisser le risque de mortalité à moins de 1 %, mais malheureusement, des souches résistantes aux antibiotiques font leur apparition. Le traitement actuel repose sur les fluoroquinolones de 2^{ème} génération et la ceftriaxone. Aussi, le coût relativement cher des antibiotiques limite l'accès des populations des pays en voie de développement à ces médicaments. Mais ces dernières années, on assiste à une émergence de souches multi-résistantes de l'agent causal dans plusieurs régions du monde [2, 3, 4, 5]. Cette pharmacorésistance est à l'origine du coût élevé de la prise en charge. Les populations vulnérables étant en général pauvres, il devient urgent de trouver de nouveaux médicaments

susceptibles de traiter ce mal à moindre coût. Les plantes médicinales représentent une source non négligeable de nouveaux médicaments ; surtout qu'elles présentent moins d'effets secondaires [5, 6]

De plus, après la guérison d'une fièvre typhoïde, moins de 5 % des individus continuent à être contaminants, portage chronique [1].

A Kisangani, certaines souches de *Salmonella* isolées des malades sont résistantes aux antibiotiques courants [7].

L'antibiorésistance est une menace sérieuse et urgente pour la santé dans le monde. Ce phénomène émergent résulte de l'acquisition, par des bactéries pathogènes, de systèmes les protégeant de certains antibiotiques utilisés en médecine. Ces bactéries voient leurs structures ou fonctionnement évoluer, les rendant ainsi insensibles aux antibiotiques habituels. Elles peuvent même acquérir des enzymes capables d'inactiver les antibiotiques. De plus, ce système est évolutif : certains caractères d'antibiorésistance se transmettent d'une bactérie à une autre, diversifiant et étoffant les défenses existantes chez ces dernières. Même si de nouveaux antibiotiques sont développés pour contrer ces mécanismes de défense, ceux-ci évoluent et les bactéries pathogènes s'arment donc toujours mieux contre les différentes générations d'antibiotiques [5, 8, 9]

La résistance bactérienne aux antibiotiques peut être naturelle ou acquise. La problématique actuelle concerne les résistances acquises moins stables que les résistances naturelles. Une bactérie est dite résistante lorsque la concentration d'antibiotiques nécessaire pour inhiber sa croissance (Concentration Minimale Inhibitrice = CMI) est supérieure à la concentration maximale d'antibiotique disponible dans l'organisme humain dans le cadre d'un traitement, administré aux posologies recommandées [9] Chaque année, en Europe, environ 25 000 personnes meurent d'une infection à germe multirésistant [9].

La résistance peut être acquise par transfert de gènes (acquisition d'un plasmide ou d'un transposon) : acquisition, par les bactéries, de gènes codant pour des protéines conférant une résistance accrue à des familles d'antibiotiques (le plasmide comportant plusieurs gènes de résistance). Elles sont transmissibles entre bactéries d'espèces différentes. Ces bactéries sont normales et ne sont donc pas contre-sélectionnées en l'absence d'antibiotiques ; ou par mutation chromosomique : ces mutations se produisent au hasard et ne sont pas provoquées par un antibiotique mais elles peuvent diminuer la sensibilité de la bactérie. La mutation chromosomique ne s'exerce que vis-à-vis d'un seul antibiotique et n'est, en principe pas transférable d'une espèce bactérienne à l'autre. Les bactéries mutées sont plus fragiles que les bactéries normales et sont en fait souvent contre-sélectionnées en l'absence d'antibiotiques [9].

Aujourd'hui encore la science confirme les différentes vertus des plantes aromatiques et de leurs huiles essentielles et extraits dont les domaines d'applications sont très variés.

La pharmacopée traditionnelle, essentiellement basée sur la phytothérapie, est un domaine de recherche intéressant pour améliorer la situation sanitaire des pays en développement.

Les plantes médicinales se définissent comme tout végétal contenant dans l'un ou plusieurs de ces organes de substances qui peuvent être utilisées directement à des fins thérapeutiques. La teneur en principes actifs d'une plante médicinale varie avec l'organe végétal considéré, mais aussi avec l'âge de la plante, l'époque de l'année et l'heure de la journée aux quelles avait eu lieu la récolte [10, 11].

Dans les pays en développement, plus du tiers des habitants n'a pas accès aux médicaments modernes, et environ 80% de la population a recours aux recettes de la médecine traditionnelle pour leurs besoins de santé [12, 13]. Malheureusement ces recettes sont utilisées sans évaluation scientifique de leur propriété thérapeutique. Il est donc important de valider scientifiquement les recettes traditionnelles afin de contribuer à une meilleure prise en charge thérapeutique de la santé des populations.

La concurrence de médicaments chimiques ne s'exerce pas dans certains domaines et la phytothérapie occupe encore une place de choix dans bon nombre de traitements.

Or, un végétal est formé de très nombreuses substances chimiques et ces substances sont capables de guérir plusieurs sortes des maladies au même titre que les médicaments de la médecine moderne, il s'agit entre autres des tanins, saponines, quinones, flavonoïdes, terpènes stérols et alcaloïdes [10, 11].

C'est dans cet ordre d'idée que nous avons choisi d'apporter une contribution à la connaissance sur l'extraction de quelques principes phytochimiques des plantes soignant la fièvre typhoïde dans la ville de Kisangani et ses environs.

La présente étude a pour but de caractériser phénotypiquement les 17 bactéries antibiorésistantes du genre *Salmonella* et d'identifier le groupe phytochimique, contenu dans *Citrus limon*, *Trema orientalis*, *Anthonotha macrophylla*, *Azadiractha indica*, *Ananas comosus* ayant une activité antibactérienne.

L'intérêt de ce travail réside d'une part dans la caractérisation phénotypique des bactéries du genre *salmonella* responsables de la fièvre typhoïde et à la valorisation de la phytothérapie ;

D'autre part, enrichir la base des données sur les recherches des médicaments à base des plantes médicinales en générale et sur celles soignant la fièvre typhoïde en particulier.

Des extraits de plantes fournissent les principes actifs de médicaments dans les industries pharmaceutiques.

De nombreuses études ont été réalisées sur les plantes médicinales traitant la fièvre typhoïde [5, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21]

2 MATERIEL

Le matériel d'étude est constitué de matériel bactériologique et végétal.

2.1 MATERIEL BACTERIOLOGIQUE

Le matériel bactériologique était constitué des 17 bactéries du genre *Salmonella* isolées des produits pathologiques humains (selles et sang). Ces bactéries étaient résistantes aux ciprocin, chloramphénicol, clamoxile, ampicilline, gentamicine, négram, érythromycine, doxycycline, céphatax et cloxacilline.

2.2 MATERIEL VEGETAL

Les 5 plantes faisant l'objet de notre étude est constitué des écorces de racines *citrus limon*, *ananas comosus*, des feuilles des *Trema orientalis*, *anthonotha macrophylla*, et *Azadiractha indica*. Les illustrations photographiques des espèces végétales sont représentées respectivement par les figures 1 à 5.



Fig. 1. *Citrus limon* : famille :Rutaceae



Fig. 2. *Ananas comosus* : famille :Bromeliaceae



Fig. 3. *Trema orientalis* : famille :Cannabaceae

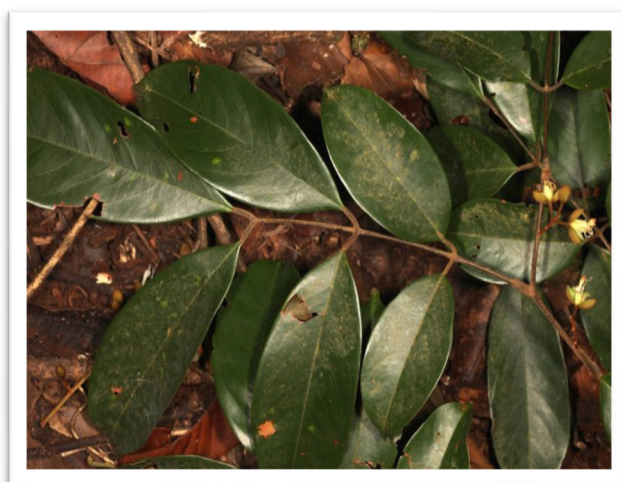


Fig. 4. *Anthonotha macrophylla* : famille :Fabaceae



Fig. 5. *Azadiractha indica*: famille:Meliaceae

2.3 METHODES

2.3.1 CARACTÉRISTIQUES MORPHOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES

La caractérisation phénotypique des 17 souches de *Salmonella* antibiorésistantes était basée sur les caractéristiques morphologiques et biochimiques [22, 23, 24, 25, 26, 27]. L'identification a été faite conformément à la clé de détermination de Sneath *et al.* [26, 28]

Le coefficient de similarité calculé suivant la formule de Gower Sneath *et al.*, [28], a permis de comparer les profils de nos souches à ceux des souches standards.

2.3.2 PRÉPARATIONS DES EXTRAITS VÉGÉTAUX

Différents types d'extrait ont été préparés à partir de la poudre des feuilles ou de l'écorce

2.3.2.1 DÉCOCTION

Cent grammes de poudre végétale sont portés à ébullition pendant 60 minutes dans 2 litres d'eau distillée. Le décocté refroidi a été filtré deux fois sur coton hydrophile et une fois sur papier filtre whatman N°1. Le filtrat obtenu a été ensuite séché à l'étuve à 55°C, pour donner le décocté de plantes qui se présente sous forme d'une poudre.

2.3.2.2 MACÉRATION DANS L'EAU

Cette extraction a été réalisée selon la méthode décrite par Guédé-Guina *et al.* [29].

Cent grammes de poudre végétale sont agités vigoureusement dans 2 litres d'eau distillée à l'aide d'un mixeur électrique. La mixture subit une double filtration sur coton hydrophile et sur papier filtre Whatman N°1. Le filtrat obtenu est concentré à l'évaporateur rotatif à pression réduite à 70°C puis séché à l'étuve à 55°C. La poudre obtenue est le macéré aqueux ou extrait total aqueux (ETA).

2.3.2.3 MACERATION DANS L'ETHANOL 95% ET DANS L'ETHER

La préparation de cet extrait se fait selon la méthode décrite par Zirihhi *et al.* [30]. Cent grammes de poudre végétale sont agités vigoureusement au mixeur dans 1,5 L d'éthanol 95 %, puis filtré sur coton hydrophile. Ce filtrat subit une décantation pendant 24 heures. La phase hydro-alcoolique est isolée du dépôt résiduel, filtrée sur papier filtre Whatman N°1 et séché à l'étuve à 40°C. La poudre obtenue est l'extrait hydroalcoolique ou extrait éthanolique 95%.

2.4 SCREENING PHYTOCHIMIQUE DES EXTRAITS VÉGÉTAUX

Différents groupes de métabolites secondaires tels que : les terpénoïdes, les polyphénols dont les flavonoïdes et les tanins, les alcaloïdes, les saponosides et les substances quinoniques ont été recherchés selon les méthodes décrites par Ribereau-Gayon *et al.* [31], Rizk [32], Sofowora [33] et utilisées par Pareck *et al.* [34] in Bolou *et al.* [5].

L'humidité a été effectuée après un séchage à l'étuve des échantillons traités, à la température de 105°C pendant 24h, jusqu'à un poids constant, les cendres brutes ont été obtenues après calcination à haute température (550°C) d'un matériel préalablement séché à l'étuve à 105°C pendant [7, 8, 9].

Les alcaloïdes ont été détectés en utilisant les réactifs de Dragendorff et de Meyer ainsi que les saponines ont été détectées en utilisant le test de mousses selon Mabika [10] tandis que les flavonoïdes, les tanins, les stérols et les terpènes ont été détectés selon Weast et Robert [18] et Grivet et Ogle [39]. Le test qualitatif d'oxalate a été effectué selon Feigl *et al.* [19]., celui de cyanure et nitrite selon Dessart *et al.* [16]. Tandis que celui de nitrates a été effectué selon Fritz et Vinzen [20]. Les sucres totaux ont été dosés selon Dubois *et al.* [21]. Les quinones ont été détectés selon Fouret [43].

2.5 EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE

2.5.1 PRÉPARATION DES BIODISQUES

Les biodisques pour essai de l'activité antibactérienne se fabriquent à partir du papier filtre millipore. Ces papiers filtres superposés sont perforés à l'aide d'un perforateur de 6mm de diamètre et 0,5mm d'épaisseur [5].

2.5.2 METHODE DE DIFFUSION EN MILIEU GELOSE

L'activité antibactérienne des différents extraits végétaux est évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé telle que décrite par Bauer *et al.* [44] et reprise par BARRY *et al.* [45]. A partir de colonies jeunes de 18 à 24 h, une suspension bactérienne est réalisée dans l'eau distillée stérile pour chaque souche. La turbidité de cette suspension est ajustée à 0,5 Mc Farland puis diluée au 1/100. On obtient alors un inoculum estimé à 10⁶ unités formant colonie par millilitre (ufc/ml). Cet inoculum est ensemencé par inondation sur des boîtes de Pétri contenant la gélose Mueller-Hinton. Les disques imprégnés des différents extraits sont ensuite délicatement déposés à la surface de la gélose. Les boîtes de Pétri sont d'abord laissées pendant 1h à la température ambiante pour une pré-diffusion des substances, avant d'être incubées à 37°C à l'étuve pendant 24 h [45]. L'activité antibactérienne est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque [5, 46, 47].

3 RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 CARACTERISATION PHENOTYPIQUE DES SOUCHES

La caractérisation phénotypique des souches de *Salmonella* basée sur l'étude des caractéristiques morphologiques, biochimiques, le coefficient de similarité et l'identification est consignée dans le tableau 1.

Tableau 1. Caractérisation phénotypique des souches

| TEST MORPHOLOGIQUE | | TEST BIOCHIMIQUE | | | | | | | | | TEST STATISTIQUE | |
|--------------------|--------------------|------------------|---------|------------------|---------|----------|--------|--------|----|----------|------------------|----------------------------|
| Souches | Coloration de gram | Kligler | | | Citrate | Mobilité | Indole | Uréase | Rm | Acétoïne | S(ij) | Identification des Souches |
| | | Glucose Gaz | Lactose | H ₂ S | | | | | | | | |
| S1 | - | + | - | - | + | + | - | + | + | - | 0,8 | <i>Salmonella typhi</i> |
| S2 | - | - | - | - | + | + | - | + | + | - | 0,7 | <i>Salmonella typhi</i> |
| S3 | - | + | + | - | + | + | - | + | + | - | 0,7 | <i>Salmonella typhi</i> |
| S4 | - | + | - | - | + | + | + | + | + | - | 0,7 | <i>Salmonella typhi</i> |
| S5 | - | + | + | - | + | + | + | + | + | + | 0,6 | <i>Salmonella typhi</i> |
| S6 | - | - | - | - | - | + | + | + | - | - | 0,6 | <i>Salmonella typhi</i> |
| S7 | - | - | - | - | + | + | + | + | + | - | 0,7 | <i>Salmonella typhi</i> |
| S8 | - | + | - | - | - | + | + | + | + | - | 0,8 | <i>Salmonella typhi</i> |
| S9 | - | + | - | - | - | + | + | + | + | - | 0,8 | <i>Salmonella typhi</i> |
| S10 | - | - | - | - | - | - | + | - | + | - | 0,7 | <i>Salmonella typhi</i> |
| S11 | - | - | - | - | - | + | + | + | + | - | 0,7 | <i>Salmonella typhi</i> |
| S12 | - | - | - | - | - | + | + | + | + | - | 0,7 | <i>Salmonella typhi</i> |
| S13 | - | - | - | - | - | + | + | + | - | - | 0,6 | <i>Salmonella typhi</i> |
| S14 | - | - | - | - | + | + | + | + | + | - | 0,7 | <i>Salmonella typhi</i> |
| S15 | - | + | - | - | + | + | + | + | + | - | 0,8 | <i>Salmonella typhi</i> |
| S16 | - | + | - | - | + | + | + | + | + | - | 0,8 | <i>Salmonella typhi</i> |
| S17 | - | + | - | - | + | + | + | + | + | - | 0,8 | <i>Salmonella typhi</i> |

Il ressort de ce tableau 1 que le test de caractérisation phénotypique montre qu'il y a similitude entre les souches étudiées et les souches de référence. Toutes les 17 souches isolées des différents malades appartiennent au genre *Salmonella* et à l'espèce *typhi*.

3.2 TENEUR EN HUMIDITÉ

La détermination de la teneur en humidité a abouti aux résultats illustrés par la figure 1 que voici :

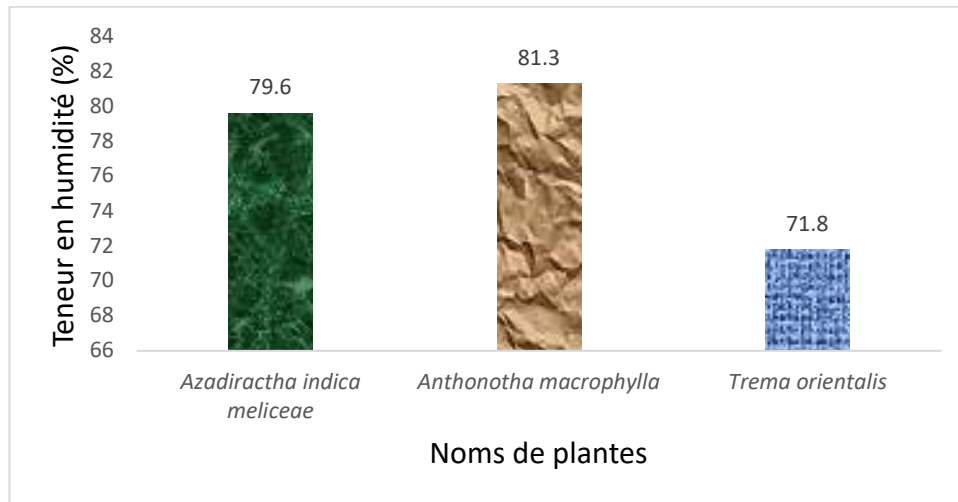


Fig. 6. Teneur en humidité

De cette figure, il est à constater que les feuilles d'*Anthonotha macrophylla*, renferme plus d'eau soit 81,3% alors que les feuilles de *Trema orientalis* en contient moins soit, 71,8%.

3.3 EXTRAITS TOTAUX

Les résultats obtenus des extraits totaux d'*Anthonothamacrophylla*, *Azadiracthaindica* et de *Trema orientalis* d'après les différents types des solvants sont illustrés respectivement par les figures 1, 2 et 3 ci-après :

3.3.1 ANTHONOTHA MACROPHYLLA

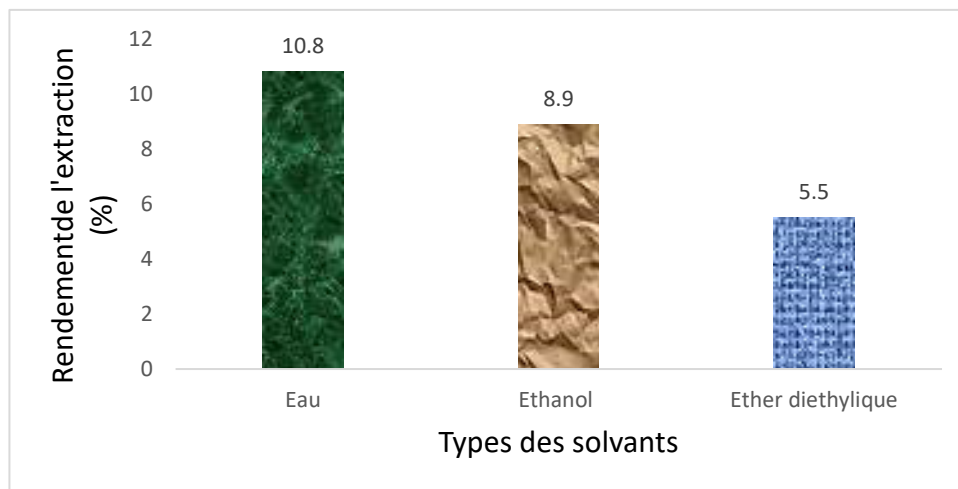


Fig. 7. Rendement d'extrait totaux d'*Anthonotha macrophylla*

Il ressort de la figure ci-dessus que la teneur observée en eau est supérieur soit 10,8 %, 8,9 % pour l'éthanol et 5,5% pour éther diéthylique.

3.3.2 AZADIRACTHA INDICA

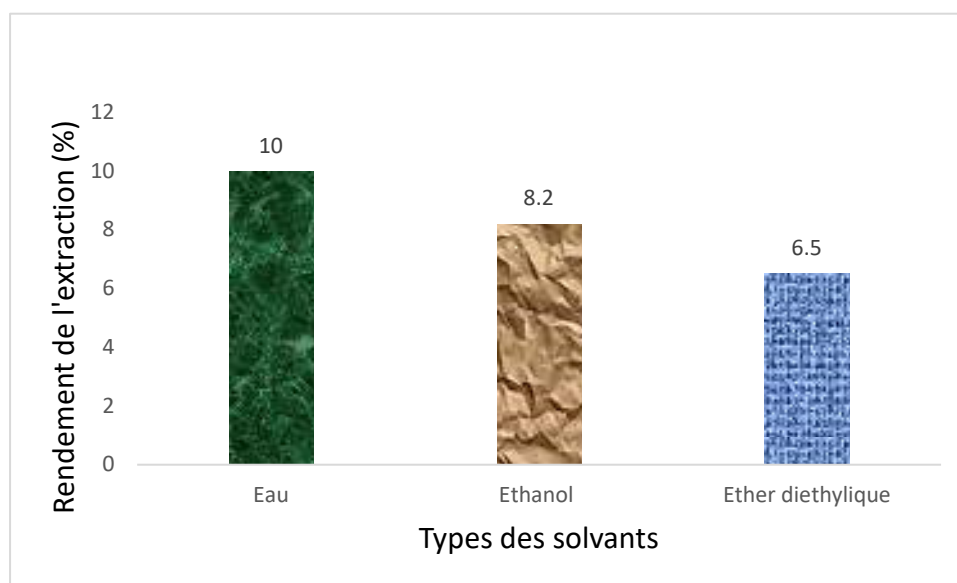


Fig. 8. Rendement taux d'*Azadiractha indica*

Il ressort de la figure ci-dessus que la teneur observée en eau est supérieure, suivi de l'éthanol et enfin de l'éther d'éthylque soit 10 %, 8,2 % et 6,5%.

3.3.3 TREMA ORIENTALIS

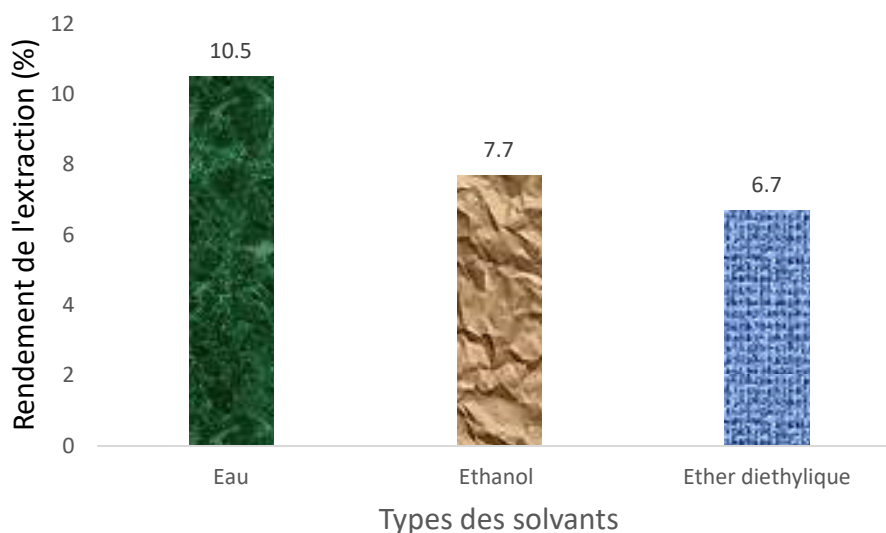


Fig. 9. Rendement extrait totaux de *Trema orientalis*

Il ressort de la figure ci-dessus que le rendement obtenu en eau est supérieur, suivi de l'éthanol et enfin de l'éther d'éthylque soit 10,5 %, 7,7 % et 6,7%.

D'après les résultats des extraits totaux, les solvants polaires sont les mieux indiqués pour réaliser les extraits totaux des plantes étudiées. L'eau étant le solvant le plus polaire (indice de polarité = 9), suivi d'éthanol (indice de polarité = 5,2) et enfin

l'éther diéthylique (indice de polarité = 2,8), étant le moins polaires. Cela nous révèle le caractère polaire des principes actifs contenus dans la matière végétale. C'est ainsi que l'eau a un bon rendement partout.

3.4 IDENTIFICATION DE SUCRE

Tableau 2. Identification de sucre

| Epreuves | Résultats de jus frais (2 ech) |
|----------|-----------------------------------|
| Molish | + pour les glucides |
| Iode | + glucogène et d'érythro-dextrine |

Le tableau 2 : Donne les résultats d'identification des sucres réducteurs dans le jus d'ananas. D'où il s'est avéré qu'il y a la présence de glucides, glucogène et d'érythro-dextrine. Comparée aux résultats de Kwembe [48], qui a trouvé de glucide, de mono-disaccharide, sucres réducteurs, hexoses, glucose dans le vin de *Raphia gilletii*

3.5 SCREENING CHIMIQUE

Les résultats de screening chimique des plantes étudiées sont repris dans les tableaux 3 et 4 suivants :

3.5.1 GROUPES PHYTOCHIMIQUES

Tableau 3. Identifications des groupes phytochimiques

| Echantillons Groupes | <i>Anthonotha macrophylla</i> | <i>Azadirachta indica</i> | <i>Trema orientalis</i> | <i>Citrus limon</i> |
|-------------------------|-----------------------------------|---------------------------|-------------------------|---------------------|
| Alcaloïdes | - | - | + | - |
| Tanins | +++ | +++ | +++ | + |
| Quinones | - | - | - | +++ |
| Terpènes et stérols | ++ | - | - | +++ |
| Flavonoïdes | - | + | + | - |
| Saponines | +++ | +++ | +++ | - |

Légende :

- : Absence
- + : Présence en trace
- ++ : Présence abondante
- +++ : Présence très abondante

Il a été observé des présences très abondantes des tanins et saponines dans les feuilles d'*Anthonotha macrophylla*, *Azadirachta indica* ainsi que dans la feuille de *Trema orientalis* et la présence très abondante en stérols et terpènes, quinones dans la racine de *Citrus limon*.

En confrontant nos résultats avec ceux de Solomo [49], dans l'écorce du tronc d'*Azadirachta indica*, il a remarqué une présence très abondante en tanins et de saponines.

Par rapport à ceux de Etutu [51], dans la plante de Musa AAB (type faux corne) à révéler une présence très abondante des tanins en et présence en trace de saponine dans ces trois plantes.

La différence des résultats s'expliquerait par le fait que les groupements phytochimiques varient en fonction d'une espèce de plante à une autre, en lui conférant ainsi le pouvoir thérapeutique particulier.

SCREENING CHIMIQUE ET ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DE CINQ PLANTES MEDICINALES (*Anthonotha macrophylla*, *Azadiractha indica*, *Trema orientalis*, *Citrus limon* et *Ananas comosus*) SUR LES SOUCHES DE *SALMONELLA* ANTIBIORESISTANTES A KISANGANI (RD CONGO)

3.5.2 IONS TOXIQUES

Tableau 4. Détections des ions toxiques

| Echantillons Groupes | <i>Anthonotha macrophylla</i> | <i>Azadiractha indica</i> | <i>Trema orientalis</i> | <i>Citrus lemon</i> |
|----------------------|-------------------------------|---------------------------|-------------------------|---------------------|
| Nitrates | + | + | - | - |
| Nitrites | - | - | - | + |
| Cyanures | - | - | - | + |
| Oxalates | - | - | - | - |

Légende :

- - : Absence
- + : Présence en trace

Il ressort de ce tableau 4 la présence en trace de nitrate dans les feuilles *Azadiractha indica*, et *Anthonotha macrophylla* et dans la racine de *citrus limon* il y a présence en trace en nitrite et cyanure. Mais l'absence de nitrites, cyanures et oxalates dans les feuilles de ces trois plantes *Anthonotha macrophylla*, *Azadiractha indica* ainsi que dans la feuille de *Trema orientalis*.

3.6 ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES EXTRAITS DES PLANTES SUR LES SOUCHES *SALMONELLA* TYPHI

3.6.1 EXTRAIT DÉCOCTÉE

Tableau 5. Rendement de l'activité antibactérienne de l'extrait décocté

| Souches | <i>Trema orientalis</i> | <i>Azadiractha indica</i> | <i>Anthonotha macrophylla</i> | <i>Citrus limon et ananas comosus</i> |
|---------|-------------------------|---------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|
| S1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S5 | 0 | 0 | 0 | 8 |
| S6 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S7 | 0 | 8 | 0 | 0 |
| S8 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S9 | 8 | 0 | 0 | 9 |
| S10 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S11 | 8 | 8 | 8 | 0 |
| S12 | 10 | 8 | 0 | 10 |
| S13 | 10 | 9 | 8 | 8 |
| S14 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S15 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| S16 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S17 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Dans le tableau 5 ci-dessus l'activité antibactérienne des extraits décoctés des différentes plantes révèle que pour *Trema orientalis* avec diamètre d'inhibition qui varient de 9 à 10 mm de diamètre pour les souches (S9,S11,S12, S15), pour *Anthonotha macrophylla* 8 mm de diamètre autour des souches (S7,S11,S12,S13,S15) , pour *Azadiractha indica* 8 à 9 mm de diamètre autour des souches (S11,S13,S15), et pour *Citrus limon* et *Anana comosus* de diamètre d'inhibition variant de 8 à 10 mm autour des souches (S5, S9, S12, S13, S15).

Les bactéries sélectionnées, au contact des extraits des plantes, ont montré une sensibilité variable d'un germe à l'autre.

3.6.2 EXTRAIT TOTAUX

Les extraits aqueux et éthanoliques de *Trema orientalis* et d'*Anthonotha macrophylla* ainsi que *Azadiractha indica* ont montré une activité sur les souches de *salmonella sp.*

Tableau 6. Comparaison de l'activité antibactérienne des extraits totaux, éthanoliques et éthérés

| N° souches | Eau AM | Eau AZ | Eau TO | Ethanol AM | Ethanol AZ | Ethanol TO | Ethéré AM | Ethéré TO | Ethéré AZ |
|------------|--------|--------|--------|------------|------------|------------|-----------|-----------|-----------|
| S1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S8 | 0 | 0 | 14 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S11 | 0 | 0 | 0 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S12 | 0 | 0 | 0 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S13 | 0 | 0 | 0 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S14 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S15 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S16 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S17 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Légende :

- AM : *Anthonotha macrophylla*
- AZ : *Azadiractha indica*
- TO : *Trema orientalis*

La sensibilité de souches aux extraits aqueux nous donne les diamètres de zone d'inhibition de 14 mm de diamètre autour de la souche S8. Les extraits éthanoliques ont présenté les diamètres des zone d'inhibition de 9 mm autour des souches (S11, S12, S13) pour les extraits d'*Anthonotha macrophylla*, et d'*Azadiractha indica* autour de la souche S7 . Par contre, il n'y a pas inhibition de croissance pour les extraits éthérés. La plupart des souches n'ont pas réagi.

Par rapport aux résultats de Lega [19], qui a obtenu de diamètres d'inhibition de 9, 11 et 13mm selon les concentrations autour des souches de *Salmonella* avec les extraits méthanoliques des feuilles d'*Argemone mexicana* L. La valeur de 9mm est la même que celle obtenue avec les extraits d'*Anthonotha macrophylla* et d'*Azadiractha indica* pour la même concentration.

De même ces résultats réconfortent ceux de Bolou *et al.*[5], qui ont constaté une activité antibactérienne des extraits de *Terminalia glaucescens* sur les souches de *Salmonella typhi* et *Salmonella paratyphi*.

3.7 RENDEMENT DES EXTRACTIONS DES QUELQUES GROUPES PHYTOCHIMIQUES MAJEURS

3.7.1 SAPONINES

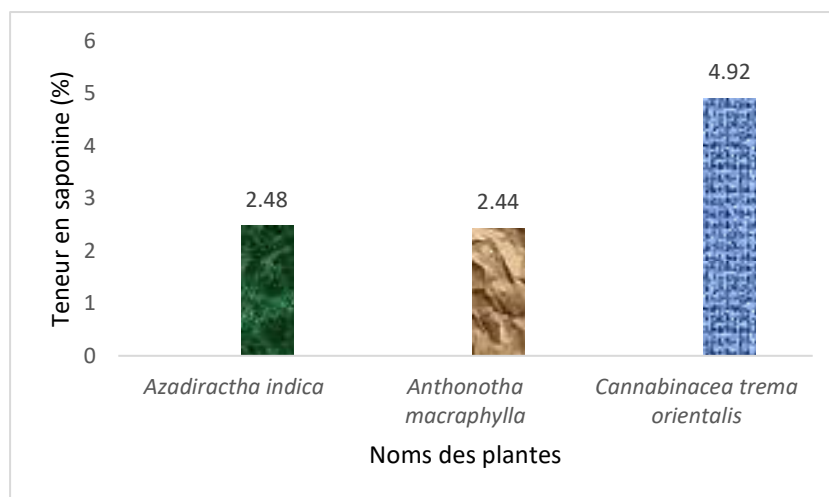


Fig. 10. Teneur en Saponines

Il ressort de la figure ci-dessus que la teneur observée en saponine est de 4,92 % au niveau des feuilles de *Trema orientalis*, et 2,48 % dans la feuille d'*Azadiractha indica*, tandis qu'elle est de 2,44% pour *Anthonotha macrophylla*.

Par rapport aux rendements des extractions de Ennadir *et al.*[50], qui ont obtenu avec l'extrait hexanique avec 14,9 et 8,4 % pour *Nigella sativa* et *Foeniculum vulgare* Mill respectivement.

Nous constatons que nos résultats sont faibles pour la feuille d'*Azadiractha indica*, *Anthonotha macrophylla* et à celui des feuilles de *Trema orientalis*. Cela s'expliquerait par les espèces des plantes étudiées, leurs conditions écologiques et les solvants utilisés.

Les résultats obtenus par Etutu,[51], dont 2,8 dans le rhizome de *Mussa AAB (type french)*, 11,8 % dans les feuilles des *Terminalia catappa* et 10,6% dans les écorces.

3.7.2 TANINS

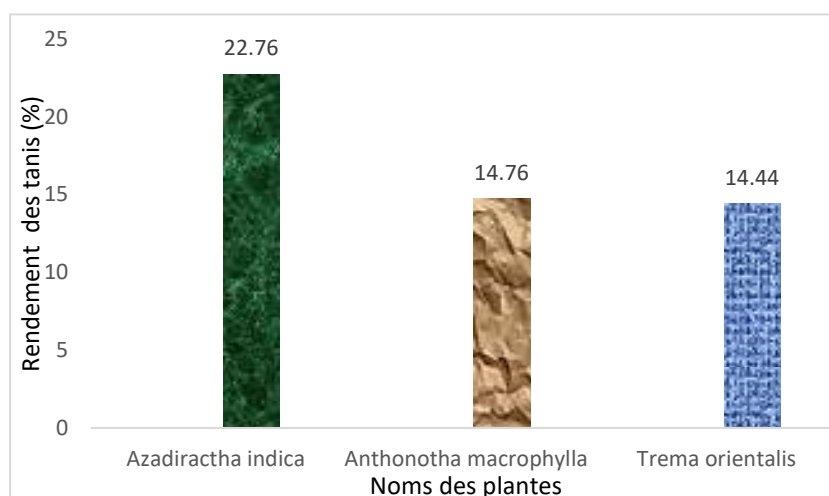


Fig. 11. Teneur en Tanins

La figure 11 révèle une teneur élevée en tanins dans *Azadiractha indica*, soit 22,76 % et dans *Anthonotha macrophylla* soit 14,76 %, tandis que les feuilles de *Trema orientalis* ne renferment que 14,44 %.

En Comparant aux résultats de Etutu [53], qui trouvé 21,12 % dans *rhizome Musa AAB (type french)*, 21,2 % *rhizome de Musa AAB (type faux corne)* et *Terminalia catappa* a présenté une teneur élevée de 25,8% dans l'écorces. Nos plantes possèdent des teneurs faibles.

Par rapport à ceux de Solomo [51], qui a constaté 4,76 % dans les feuilles de *Terminalia catapa*. Nos plantes renferment des teneurs supérieures.

3.8 EVALUATION DE LA SENSIBILITE DES EXTRAITS DE SAPONINE, TANIN ET TERPENES

La sensibilité de souches de *Salmonella* face aux extraits des saponines et des tanins (10%) à 24 heures après incubation est donnée dans le tableau 7.

Tableau 7. Rendement de l'activité antibactérienne des tanins, des saponines et terpènes

| Souches | AZ S | AM S | TO S | AZ T | AM T | TO T | CL TER et STER |
|---------|------|------|------|------|------|------|----------------|
| S1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 12 | 0 |
| S2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 12 | 0 |
| S8 | 0 | 13 | 0 | 11 | 13 | 14 | 0 |
| S9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S11 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 11 | 0 |
| S12 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 0 |
| S13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S14 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S15 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S16 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S17 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Légende :

- AZ S : *Azadiractha indica* saponine
- AM S : *Anthonotha macrophylla* saponine
- T.O S : *Tremaorientalis* saponine
- AZ T : *Azadiractha indicia* tanin
- AM T : *Anthonotha macrophylla* tanin
- T.O T : *Trema orientalis* tanin
- CL TER et STE : *Citrus limon* terpènes et stérols

L'activité antibactérienne des tanins, des saponines et terpène isolés dans les différentes plantes révèle que dans les souches S1, S7, S8, S11, S12 il y a eu inhibition pour tanin de *Trema orientalis* , les zones d'inhibitions sont des 14, 12, 11, 10 mm ; 13 mm pour *Anthonotha macrophylla* et 11 mm pour *Azadiractha indica*, pour les extraits des saponines dans *Anthonotha macrophylla* il y a eu 13 mm de diamètre d'inhibition tandis que dans *Trema orientalis*, et *Azadiractha indica* il n'y a pas eu inhibition de la croissance, de même que extraits de terpène et stérol de *Citrus limon*

Par référence aux résultats d'Etobo [20], qui a trouvé que seuls 2 extraits tanniques, celui de *Nymphaea lotus*, qui a inhibé la souche d'entérobactérie, E1 avec un diamètre de 12mm et l'extrait de *Psidium guineense* qui a inhibé la même souche E1 avec le plus grand diamètre d'inhibition de 15mm. Ce dernier diamètre est supérieur à nos diamètres d'inhibition.

Tableau 8. Rendement de l'activité antibactérienne des tanins et des saponines concentrées

| Souches | AM S | AZ T | AM T | TO T |
|---------|------|------|------|------|
| S1 | 14 | 0 | 0 | 0 |
| S2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S5 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S6 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S8 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S9 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S10 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S11 | 16 | 0 | 0 | 0 |
| S12 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S13 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S14 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S15 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S16 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| S17 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Ce tableau 8 montre une activité inhibitrice de croissance pour les souches S1 et S11 de l'extrait de saponine d' *Anthonotha macrophylla* avec 14 mm et 16 mm de diamètre d'inhibition. Les extraits de tanins des autres plantes étudiées n'ont pas révélé des activités inhibitrices de croissance bactérienne.

Deeni et Sadiq [46] ont étudié la composition phytochimique de quatorze extraits de feuilles de *Tapinanthus dodoneifolius* et ont montré que la présence de saponines, de tanins et d'alcaloïdes peuvent expliquer l'activité antimicrobienne. Selon Bassène [52], cette activité antibactérienne tient à la présence dans les feuilles de ces plantes de tanins et de flavonoïdes. Cela justifie l'utilisation des extraits de ces plantes dans le traitement des blessures et de la dysenterie dans le Nord Cameroun.

4 CONCLUSION

Au terme de cette étude portant sur le screening chimique et étude de l'activité antibactérienne des quelques plantes médicinales utilisées contre la fièvre typhoïde dans la ville de Kisangani (R.D.Congo) cas d'*Anthonotha macrophylla*, *Azadirachta indica*, *Trema orientalis*, *citrus limon* et *Ananas comosus*.

Les résultats ont révélé que :

- La caractérisation phénotypique a révélé qu'il y a similitude entre les 17 souches des *Salmonella typhi* étudiées.
- Le screening chimique a révélé la présence très abondante des tanins et des saponines dans les feuilles d'*Anthonotha Macrophylla*, *Azadirachta indica* ainsi que dans la feuille de *Trema orientalis*, mais présence en trace d'alcaloïdes dans les feuilles de *Trema orientalis*, ainsi que la présence très abondante en stérols et terpènes ainsi que quinone dans la racine de *citrus limon*.
- L'eau est un bon solvant pour les extraits totaux respectivement elle a un pouvoir élevé d'extraction des matières végétales des trois plantes étudiées pour *Anthonotha macrophylla* soit 10,8 %, pour *Azadirachta indica* soit 10% ainsi que 10,5% pour *Trema orientalis*. Et ces extraits totaux sont différents selon la nature des plantes et types de solvants.
- Les ions toxiques en trace de nitrate dans les feuilles *Azadirachta indica*, et *Anthonotha macrophylla* et dans la racine de *citrus limon*, il y a présence en trace de nitrite et cyanure. Mais l'absence de nitrite, cyanure et oxalate dans les feuilles de ces trois plantes *Anthonotha macrophylla*, *Azadirachta indica* ainsi que dans la feuille de *Trema orientalis* tels que les nitrates, cyanures et oxalates sont absents, sauf les nitrites dont la présence est en abondance dans les différents organes de plantes ;

- L'extraction des principes actifs majeurs a donné respectivement les rendements saponine de 4,92 % au niveau des feuilles de *Trema orientalis*, et 2,48 % dans la feuille d'*Azadiractha indica*, tandis qu'elle est de 2,44% pour *Anthonotha macrophylla* pour les saponines, pour les tanins : dans *Azadiractha indica*, soit 22,76 % et dans *Anthonotha macrophylla* soit 14,76 %, tandis que les feuilles de *Trema orientalis*ne renferment que 14,44 %.
- Pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits des saponines et les extraits taniques *Anthonotha macrophylla* et *Trema orientalis* ont été actifs à l'égard de la souche microbienne testée (*Salmonella typhi*) avec les diamètres de zone d'inhibition moyens soit 13, 14 et 16 mm de diamètre pour *Anthonotha macrophylla* et les extraits de *Trema orientalis* avec diamètre d'inhibition de 14, 12, 11, 10 mm. Les extraits d'*Azadiractha indica* ont manifesté une activité antibactérienne soit 11 mm de diamètre de zone d'inhibition.

A l'issue de cette étude, nous suggérons, toutefois, que la caractérisation génotypique et immunologique soit réalisée pour une identification rigoureuse et le sérotypage de ces souches.

Que les études sur ces plantes soient approfondies en vue de déceler, de caractériser et de séparer par chromatographie les principes actifs et surtout déterminer les molécules responsables de l'inhibition de la croissance de quelques souches de *Salmonella typhi in vitro* en vue de leur utilisation.

REFERENCES

- [1] OMS, 2013. Données épidémiologiques sur la typhoïde sur le site de l'OMS
- [2] Chin N.T., Perry C.M., Ly N.T., Ha h.D., Thong M., and Diep T.S, 2002. Randomized controlled comparison of azithromycin and ofloxacin for treatment of multidrug resistant or nalidixic acid resistant enteric fever, *Antimicrobial Agents and chemotherapy*, 44, p. 1855 - 1859.
- [3] Benoit D., Renand L., Danielle M., Ame B., David B., Michael R.M., Elisabeth C., and Anel.C.,2003. Variant *Salmonella* genomic island 1 antibiotic gene resistance cluster in *Salmonella enterica* Albany. *Emerging Infectious Diseases*, 9(5), p. 585-591.
- [4] Abdullah W.B., Anow H., Doli g., Amina T.S., Kamrun N., Korshed A., Neor A., Aliya N., Balakrish N., Stephen L., and Rkober B, 2005. Bacteremic typhoid fever in children in an urban slum, Bangladesh, *Emerging Infectious Diseases*, 11(2), p. 326 - 329.
- [5] Bolou G.E.K, Attioua B., N'guessan A.C., Coulibaly A., N' guessan J.D. et Djaman A.J., 2011. Évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne des extraits de *Terminalia glaucescens* planch. sur *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium in Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Vol. 80, p. 772 – 790*
- [6] Maghrani M., Zeggwagh N., Michel J., and Eddoules M., 2005. Antihypertensive effect of *Lepidium sativum* L. in spontaneously hypertension rats, *Journal of Ethnopharmacology*,100(102), p.193 - 197.
- [7] Lokonga O., 2012. Communication personnelle
- [8] Leclercq, R., 2008. Mondialisation de la résistance bactérienne aux antibiotiques. *MS-Medecine Sciences* 24 (hors série n° 3)
- [9] Leem : les entreprises du médicament. 2010. Résistance aux antibiotiques- Etat de lieux.
- [10] Mabika, 1983, *Plantes médicinales et médecines traditionnelles au Kasaï Occidental* », Thèse inédite, Fac.Sc, UNIKIS, 510p.
- [11] Adjanohoun, E.J., Adjakidje, V., Ahyi, M.R.A., et Akoegninou, A., 1989. « Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République Populaire du Benin. Agence de coopération culturelle et technique ». P. 112-113, 354-355.
- [12] OMS. 2003. *Manual for the laboratory identification and antimicrobial susceptibility testing of bacterial pathogens of public health importance in the developing world*, p. 103 - 162.
- [13] Gilles D., Sylvie H., Jet V., François XW., 2001 à 2003. Les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes en France, 6P.
- [14] Mbuyi, M., Bigawa, S., Kumbukame, L.B., Tchatchambe, W.B., et Omande, B., 1998. Recherches sur l'activité antimicrobienne de quelques espèces végétales utilisées dans le traitement des diarrheas infectieuses en médecine traditionnelle zaïroise in *Annales. Fac.Sc., UNIKIS*, vol6,pp 97-110
- [15] Mbuyi, M., Kumbukame, L.B. et Ambali, L. 1994. Etude comparée de l'activité antibactérienne in vitro des extraits bruts et celles des alcaloïdes totaux isolés de *Penianthus longifolius* Miers (Menispermaceae) et de *Cognauxia trilobata* Cogn (Cucurbitaceae) in *Ann. Fac. Sc.UNIKIS*, vol 10, pp 119-126
- [16] Sylvie Haeghebaert, Philippe Bouvet, Henriette de Valk . 2001. Les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes en France, *BEH* 2003; 14:77-79
- [17] Guigue L, Baron S. 1997. Les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes en France. *Bulletin Epidémiologique Annuel. Saint-Maurice, France : Réseau national de santé publique, 1999 (Institut de veille sanitaire, publication n°2)*.
- [18] M. Dubois, K.A Gilles, P.A Hamilton, A.Ruberg, et F.Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*. 28.3. pp. 350-356.

- [19] Lega, I., 2010 : « Evaluation des propriétés antibactériennes, in vitro, d'extraits de feuilles d'*argemonemexicana* L. (*papaveraceae*) Thèse inéd. université de Ouagadougou, 76P
- [20] Etobo., K. 2012. Etude de l'activité antibactérienne des extraits de quelques plantes médicinales sur les souches bactériennes résistantes aux antibiotiques courants à Kisangani (RDC) , thèse inéd. UNIKIS, 142 P.
- [21] M. Tourdjman, S. Le Hello, C. Gossner, G. Delmas, S. Tubiana, L. Fabre, A. Kerléguer, A. Tarantola, A. Fruth, I. Friesema, L. Thorstensen Branda, J. Lawrence, I. Fisher, M. Dufour, F. X. Weill, H. de Valk. 2013 « Unusual increase in reported cases of Paratyphoid A fever among travellers returning from Cambodia, *Eurosurveillance*, vol. 18, n° 39
- [22] Larpent. J.P, Larpent.M.G. 1970. Microbiologie pratique. Herman. Paris, 203P
- [23] Lambert R., 1989. Microbiologie des aliments. Université Catholique Louvain la Neuve, 196P
- [24] Monica. C. 2000. District laboratory practice in tropical countries part 2. Ed. Cambridge university press 435P.
- [25] Monica. C. 2006. District laboratory practice in tropical countries Second Edition. part 2. Ed. Cambridge university press 442P.
- [26] Monica. C. 2006. District laboratory practice in tropical countries Second Edition. part 1. Ed. Cambridge university press, 462P.
- [27] Singleton, P., 2004 : Bactériologie, Dunod, paris ; 542P.
- [28] Sneath, PH. Mair, N.S. Sharpe, M.E., J.C., 1986. Bergey's manual of systematic bacteriology. Willians and Wilkins, London.
- [29] Guede-Guina F., Vangah-Manda M., Harouna.D., and Bahi C. 1993. Potencies of MISCA, a plant source concentrate against fungi, *Journal of Ethnopharmacology*, 14, p. 45 - 53
- [30] Zirihi G., Kra a.K.M., and Guede-Guina F.2003. Évaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* (Lamarck) O.Kantze (Astéracée) « PYMI » sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*, *Revue de Médecine et pharmacie Afrique*, 17, p. 11 - 18.
- [31] Riberau-Gayon J. et Peynaud E. 1968. Les composés phénoliques des végétaux, *Traité d'oenologie*, Dunod éd., Paris, 254p.
- [32] Rizk a.M. 1982. Constituents of plants growing in Qatar, *Fitoterapia*, 52 (2), p. 35 - 42.
- [33] Sofowora A.1993. Medecinal plant and traditional medicine in Africa, *Spectrum Books Ltd*, Ibadan, Nigeria, p. 270 - 289.
- [34] Pareck J. and Chanda S.V.2007. In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plants, *Turkish Journal of Biology*, 31, p. 53 - 58.
- [35] A. Fouassin et A. Noirfalise. 1981. Méthode d'analyse des substances alimentaires, Université de liège, Faculté de Médecine, presse Universitaires, 4^{ème} éd.
- [36] Williams S.,1984. Moisture Official Methods of Analysis, AOAC.
- [37] Ranst E.V, Verloo M., Demeyer A, and. Pauwels J.M.1999. Manual for the soil Chemistry and Fertility Laboratory Analytical Methods for soils and plants Equipement and Management of Consumables, University of Gent, 243p.
- [38] Weast and Robert.1970. Hand book of chemistry and physics ; 50th éd. Chemical rubber. Company gram wold par way. Cheverlard ohio
- [39] Griveti L.E, Ogle B.M, 2000. Value of traditional food in meetingmacro and micronutrient needs. The wild plant connection. *Nutrition Research Review*, 13, pp 31-46.
- [40] Feigl F.V., Augure R.E et Desper. 1966. Sport tests in organic analysis 7th. éd. New York, Elsevier Publishing Company, New York.
- [41] Dessart P.,Jodogne J et Paul. 1973. Chimie Analytique, 10^{ème} éd. De Boeck, Bruxelles, pp 164-165.
- [42] Fri F. tz and Vinzens A..1966. Spot tests in organic analysis, 7th. éd. Elsevier Publishing Company, London.
- [43] Fournet A.. 1979 : « Plantes médicinales congolaises, *Meiocarpidium*, *limaciopsis*...Travet doc de l'ORSTOM, Paris ».
- [44] Bauer A.W., Kirby W.M.M., Sherris T.C., and Truck M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method, *American Journal of Clinical Pathology*, 45, p. 493 - 496.
- [45] Adesokan A. A., Akanji M.A., and Yakubu M.T.2007. Antibacterial potentials of aqueous extract of *Enantia chlorantha* stem bark, *African Journal of Biotechnology*, 6 (22), p. 2502 - 2505.
- [46] Deeni Y.Y., Sadiq N.M., 2003. Antimicrobial properties and phytochemical constituents of the leaves of African misteloe (*Tapinanthus dodoneifolius* (DC) Danser) (Loranthaceae): and ethno medicinal plant of Hansland, Northern Nigeria. *Journal of Ethno pharmacology* 83: 235-240.
- [47] Doughari J.H., Pukuma M.S., and De n. 2007. Antibacterial effects of *Balanites aegyptiaca* L. Drel. and *Moringa oleifera* Lam. on *Salmonella typhi*, *African Journal of biotechnology*, 6 (19), p. 2212 - 2215.
- [48] Kwembe, K., 2007 : « Contribution à l'analyse physico-chimique du vin de *Rafia gilleti* (Arecaceae) consommé dans la ville de Kisangani (R.D.Congo) ». p14-18
- [49] Solomo, E, 2007 : Valeurs nutritionnelles et toxicologiques de quelques plantes alimentaires sauvages. Dissertation inédite DEA, Faculté des Sciences, Unikis. 97p.

- [50] Ennadir J., R. Hassikou, F. Bouazza, M. Arahou, G. Al Askari, K. Khedid . 2014, *Phytothérapie* Volume 12, Issue 5, pp 302–308
- [51] Etutu, K.F., (2007) : Extraction de quelques principes actifs majeurs des plantes médicinales de la famille de *rubiacea*. DEA, Département de chimie, Faculté des Sciences, Unikis. P. 17-19
- [52] Bassène S.1991. Contribution à l'étude de la pharmacologie traditionnelle Diola. Thèse pharm. Dakar, No 65. 191p.