UNIVERSITE DE KISANGANI

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE

B.P.2012
KISANGANI

ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET EVALUATION IN VITRO DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES EXTRAITS DE TROIS PLANTES MEDECINALES.

CAS DE : *VERNONIA AMYGDALINA, AGERANTUM CONYZOÏDES ET CONYZA SUMENTRANSIS*

Par

BONGINDA LITUKA Florence

Travail de Fin d'Etude

Présenté en vue de l'obtention de Grade de Licenciée en Sciences.

Option : chimie

Orientation : chimie organique

Directeur : Prof SOLOMO BASILE

Encadreur : CT Faustin ETUTU

ANNEE ACADEMIQUE : 2020-2021

DEDICACES

Je dédie ce travail à ma très chère famille BONGINDA

REMERCIEMENTS

A Dieu Tout Puissant le créateur du ciel et de la terre, le maître de temps et des circonstances. Pour tous les bienfaits qu'il ne cesse de réaliser à notre humble personne, sa bonté et sa miséricorde combien innombrable et inoubliable, et sans lesquels, ce travail n'aura pas vu le jour, nous lui rendons toute la gloire.

Au terme de ce travail nous adressons tout d'abords nos sincères remerciements à notre directeur le Professeur SOLOMO BASILE et à notre encadreur le Chef de Travaux Mr Faustin ETUTU pour leurs précieux conseils et leurs soutiens à tous les instants. Ses grandes qualités scientifiques et humaines ont contribué au bon déroulement de ce travail. Leurs critiques et compétence ont été un solide appui et réconfort.

Nous sommes reconnaissants envers les techniciens de laboratoire de microbiologie de la faculté des Sciences de l'Université de Kisangani. Que Messieurs André TSHITENGE, et Martin ASUMANI qui nous ont guidés lors de notre passage au laboratoire, trouvent ici l'expression de notre profonde gratitude

Merci à ma très chère famille BONGINDA, précisément à Mon père Mr BONGINDA MANGUBU Floribert, à ma mère Mme LINANGOLA BAKONGA Jeannine, à mes sœurs BONGINDA Patience et BONGINDA Nadine, à mes frères BONGINDA Adrien, BONGINDA Yannick, BONGINDA Emmanuel et BONGINDA Esaïe pour leurs amour, conseils et soutient durant ce travail.

Merci à tous nos amis, collègues, connaissances et ainé scientifique pour leurs aides et franches collaboration nous citons : MUHONGYA AMUNDALA, ENESSE Dorcas, NDARALE Junior, TADIMADJA Albert, LOLEKONDA, SUMAHILI Gabriel, BANGATE Emmanuel, BAHIZIRE Josué, MOLISHO Merveil, SHABANI Désiré, et KASITU Gloire.

Merci à tous les enseignants qui ont contribués à notre formation, précisément ceux du département de la chimie ; à tous ceux qui, de près ou de loin ont contribué à notre formation et dont les noms ne sont pas cités ici, nous leur disons également grand merci.

RESUME

Cette étude a eu comme objectif de mettre en évidence la composition phytochimique et d'évaluer l'activité antibactérienne de trois plantes : *Ageratum conyzoides* ; *Vernonia amygdalina et conyza sumentrasis.*

Nous avons procédé par la méthode de screening chimique pour l'identification des groupes phytochimiques ; les extraits totaux éthérés, aqueux et les extraits de tanins sont obtenus par macération.

La sensibilité des souches aux extraits a été étudiée par la méthode de diffusion en gélose spécifique (Müller Hinton) sur boîte de Pétri contenant des disques imbibés des solutions des extraits mesurer par une latte millimétrée.

A l'issu des expériences menées, les résultats suivants ont été obtenus :

L'étude de la sensibilité des souches aux différents extraits révèle que les extraits de tanins sont plus efficaces que les extraits totaux aqueux et éthérés.

Le diamètre d'inhibition le plus élevé étant de l'ordre de 12 mm, ceci a été obtenu avec l'extrait de tanins pour l'espèce de *conyza sumentrasis.* Les extraits éthérés de *Conyza sumentrasis* ont également inhibé la croissance bactérienne avec un diamètre maximum de l'ordre de 10mm. Les souches se sont montrées résistantes aux extraits totaux aqueux de toutes ces trois espèces. Ceci pourrait s'expliquer par la faible concentration des principes actifs dans les solvants utilisés et par conséquent, les extraits ont été moins susceptibles d'exercer une activité inhibitrice efficace sur la croissance des souches de staphylocoques, Escherichia coli et salmonella.

SUMMARY

The objective of this study was to highlight the phytochemical composition and evaluate the antibacterial activity of three plants: Ageratum conyzoides; Vernonia amygdalina and conyza sumentrasis.

We proceeded by the chemical screening method for the identification of phytochemical groups; ethereal, aqueous total extracts and tannin extracts are obtained by maceration.

We proceeded by the chemical screening method for the identification of phytochemical groups; ethereal, aqueous total extracts and tannin extracts are obtained by maceration.

The sensitivity of the strains to the extracts was studied by the method of diffusion in specific agar (Müller Hinton) on a petri dish containing discs soaked in the solutions of the extracts measured by a millimeter slatte. At the end of the experiments conducted, the following results were obtained:

The study of the sensitivity of the strains to the different extracts reveals that tannin extracts are more effective than the total aqueous and ethereal extracts;

The highest inhibition diameter being of the order of 12 mm, this was obtained with the tannin extract for the species of conyza sumentrasis;

The ethereal extracts of Conyza sumentrasis also inhibited bacterial growth with a maximum diameter of around 10mm;

The strains were shown to be resistant to total aqueous extracts of all three species.

This could be explained by the low concentration of the active ingredients in the solvents used and therefore the extracts were less likely to exert effective inhibitory activity on the growth of staphylococcal strains, Escherichia coli and salmonella.

TABLE DES MATIERES

DEDICACES i
REMERCIEMENTS ii
RESUME iii
LISTE DES FIGURES vii
LISTE DES TABLEAUX viii
I. INTRODUCTION 1
1. PROBLEMATIQUES 1
2. HYPOTHESE 2
3. OBJECTIFS GENERAL 2
3. OBJECTIFS SPECIFIQUES 2
4. INTERET 2
5. TRAVAUX INTERIEURS 2
CHAPITRE I : GÉNÉRALITÉ 3
I.1. LES PLANTES MEDECINALES 3
I.2. GROUPES PHYTOCHIMIQUES ET IONS TOXIQUES 5
I.2.1. GROUPES PHYTOCHIMIQUES 5
I.3.2. IONS TOXIQUES 15
1.4 LES ANTIBIOTIQUES 16
1.4.1 Résistance aux antibiotiques 16
1.4.2 Classification 18
1.4.3 Mode d'action des antibiotiques 18
1.4.4 Mesure de l'activité des antibiotiques 19
I.5 L'ANTIBIOGRAMME 19
I.6 DIAMETRES CRITIQUES ET DE REGLES INTERPRETATIVES POUR L'ETUDE DE LA SENSIBILITE DES BACTERIES AUX ANTIBIOTIQUES ..... **Erreur ! Signet non défini.**
II. MATERIELS ET METHODES 21
II.1. MILIEU D'ETUDE ..... **Erreur ! Signet non défini.**
II.2 MATERIELS 22
II.2.1 MATERIEL VEGETAL 22
II.2.2 MATERIEL BIOLOGIQUE 25
II.3 METHODES 25
II.3.1. TAUX D'HUMIDITE 25
II.3.2 CRIBLAGE CHIMIQUE ET DETECTION D'IONS TOXIQUES 26
II.3.2.1 CRIBLAGES CHIMIQUES 26
6. Stéroïdes et Terpenoïdes 28
II.3.3. PREPARATION DES EXTRAITS DES PLANTES (MOKILI, 2014) 30
II.3.4. PREPARATION DES DISQUES 31

II.3.5. PREPARATION DE L'EAU PEPTONEE 32
II.3.6. REALISATION D'UN ANTIBIOGRAMME 32
CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSIONS 35
III.1 RESULATS 35
III.1.1TAUX D'HUMIDITE 35
III.1.2 SCREENING CHIMIQUE 35
III.1.3 IONS TOXIQUES 36
III.1.4 TENEUR EN EXTRAITS TOTAUX DES PLANTES 36
III.1.5. L'ACTIVITE DES EXTRAITS EN FONCTION DE DIAMETRE AVEC CHLORAMPHENICOL COMME TEMOIN 38
III.2 DISCUSSIONS 40
III.2.1 SCREENING CHIMIQUE 40
III.2.2 ACTIVITE ANTIBACTERIENNE 40
CONCLUSION ET SUGGESTION 41
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 43

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Les différentes classes des composes phénoliques
Figure 2 : structure de base d'un flavonoïde
Figure 3 : Structure des tanins hydrolysables
Figure 4 : Structure des tanins condensés
Figure 5 : structure générale des saponines
Figure 6 : Mode d'action des antibiotiques
Figure 7 : les coordonnées géographiques de la ville de Kisangani
Figure 8: *Vernonia amgdalina*
Figure 9: *Ageratum conyzoides*
Figure 10: *conyza sumentrasis*
Figure 11: Escherichia coli
Figure 12: Salmonella
Figure 13 : Staphylocoque
Figure 14 : Taux d'humidité
Figure 15 : Teneur en extrait totaux éthéré
Figure 16 : Teneur en extrait totaux aqueux
Figure17 : Teneur en extrait de tanin
Figure 18 : L'activité des extraits par rapport au chloramphénicol sur Escherichia coli
Figure 19 : L'activité des extraits par rapport au chloramphénicol sur staphylocoque
Figure 20 : L'activité des extraits par rapport au chloramphénicol sur salmonella

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Diamètre de la zone d'inhibition en mm

Tableau 2 : Screening chimique dans les feuilles de trois plantes étudiées

Tableau 3 : Résultats de screening chimique

I. INTRODUCTION

1. PROBLEMATIQUES

La médecine traditionnelle constitue une source majeure du patrimoine culturel auquel les populations ont toujours eu recours dans le domaine de la thérapeutique, de la protection de la santé et de l'éducation depuis l'antiquité, pratiques combattues par la colonisation

En Afrique, devant l'insuffisance de la couverture sanitaire et la carence de la médecine scientifique (dite moderne), la médecine traditionnelle devient un sujet d'actualité d'autant plus que l'OMS estime que 80 % de la population d'Afrique ont fait recourt à la médecine traditionnelle

En République Démocratique du Congo (RDC) comme beaucoup ailleurs, les prix de médicaments importés même empiriques ne cessent de croître.

La situation financière étant critique pour la plupart de la population, l'accès aux soins et aux médicaments de première nécessité demeure un problème majeur dans notre pays.

Les substances naturelles d'origine végétale sont douées de plusieurs activités biologiques, comme l'activité anti malarique (ou antipaludique), anticancéreuse, antioxydante, anti-inflammatoire, antibactérienne…

Les infections bactériennes sont causées par différents micro-organismes et sont la cause des maladies les plus fatales et des épidémies les plus répandues. De nombreux antibiotiques sont développés pour les traiter, cependant leur utilisation abusive est à l'origine de l'apparition de la multi résistance bactérienne.

La maîtrise des infections bactériennes devient complexe du fait que de nombreuses bactéries ont développé une résistance à la plupart des antibiotiques ce qui a constitué un problème de santé important à l'échelle mondiale.

Un nombre croissant d'infections, comme la pneumonie, la tuberculose ou la gonorrhée, la salmonellose, deviennent plus difficiles à traiter, les antibiotiques utilisés pour les soigner perdant leur efficacité (Chardon *et al.*, 2014).

Vu le taux élevé des maladies bactériennes qui frappent la population mondiale, on a voulu apporter une contribution à la population qui y souffre. C'est pour cela, nous avons essayé de mettre notre attention sur la plante qui soigne les maladies bactériennes.

2. HYPOTHESE

Etant donné que les plantes sont douées de plusieurs activités biologiques, nous pensons que :

- Nos plantes contiennent de principes actifs
- Les extraits des plantes montreraient une activité antibactérienne ;

3. OBJECTIF GENERAL

L'objectif général de ce travail est de mettre en évidence la composition phytochimique et d'évaluer l'activité antibactérienne de nos plantes.

3. OBJECTIFS SPECIFIQUES

Les objectifs spécifiques suivant seront visés :

- Effectuer le criblage chimique des plantes sélectionnées et identifier les substances chimiques toxiques qu'elles renfermeraient.
- Procéder à la préparation des extraits totaux ; et Evaluer l'activité antibactérienne de nos plantes.

4. INTERET

Le présent travail contribue à la valorisation des plantes médicinales de notre région en cherchant des substances naturelles actives sur les agents bactériens.

5. TRAVAUX INTERIEURS

- **Etobo** (2012) : a travaillé sur l'étude de l'activité bactérienne des extraits de quelques plantes médicinales sur les souches bactériennes résistantes aux antibiotiques courants à Kisangani (RDC) ;
- **Kumbonyeki** (2019) : a travaillé sur la caractérisation phénotypique des souches de *Salmonella* antibioresistante et sensibilité aux alicaments (*Brassica oleracea; Allium cepa ; Allium schoenoprasum* ; et le Miel) à Kisangani;
- **Dasangba** (2018) : a travaillé sur la caractérisation des entérobactéries antibiorésistantes isolées des voies uro-génitales et sensibilité aux extraits des alicaments (*Allium sativum*, *Allium schoenoprasum*, *Allium cepa et Allium porrum*) à Kisangani ;
- **Musole** (2020) **:** a travaillé sur la caracterisation phenotypique des souches de staphylococues antibioresistantes isolées des voies uro genitales et sensibilité aux alicament à kisangani ;

CHAPITRE I : GÉNÉRALITÉ

I.1. LES PLANTES MEDECINALES

Définition des plantes médicinales :

Une plante médicinale est une plante dont les organes (les feuilles l'écorce ou fruits…etc.) possèdent des vertus curatives et parfois toxiques selon son dosage.

(**MESSAUDI, 2008**)

Il existe une définition officielle des plantes médicinales, c'est ceux qui ont une inscription à la pharmacopée. Selon le code de la santé publique la pharmacopée les considère comme médicaments, leur vente est le monopole des pharmaciens et des herboristes. Donc on appelle une plante médicinale toute plante ayant des propriétés thérapeutiques. Actuellement et grâce aux progrès scientifiques la thérapeutique à beaucoup évoluée et a utilisé la plante comme matière première pour la production des médicaments (**CHEVALLIER, 2001**).

Depuis des milliers d'années, l'homme utilisé les plantes trouvées dans la nature pour traiter et soigner des maladies (**SANAGO, 2006**), L'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne et connait actuellement une région d'intérêt auprès du public, selon l'organisation mondiale de la santé (**O.M.S.,2003**) environ 65- 80% de la population mondiale a recours au médicine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d' accès à la médicine moderne (**MA et *al*., 1997**).

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constitutions des plantes sont utilisées directement comme agent thérapeutique, mais aussi comme matière première pour la synthèse de médicaments ou comme modèle pour les composés pharmaco logiquement actifs (**AMEENAH, 2006).**

Ces plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs ou certains sont issus du métabolisme secondaire. Les plantes produisent déjà 70%de nos médicaments, déjà environ 170 000 molécules bioactives ont été identifiées à partie de plante (**CHAABI, 2008**).

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en voie de développement qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé primaires et leurs substances elles utilisent la plupart des espèces végétales, tant ligneuses qu'herbacées comme médicaments, une croyance bien répondue est que toute plante soigne.

Plus de 80 % des populations africaine ont recours à la médicine et à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de santé, le continent africain regroupe des

plantes médicinales très diversifiées. En effet sur les 300.000 espèces végétales recensées sur la planète, plus de 200.000 espèces vivent dans les pays tropicaux d'Afrique et ont des vertus médicinales.

Les plantes médicinales demeurent encore une source de soins médicaux dans les pays en voie de développement en l'absence d'un système médicinale moderne **(SALHI et *al.*, 2010).**

La phytothérapie :

Le terme phytothérapie provient du grec, il est composé de deux mots : « phyto » signifiant plante et « thérapie » signifiant traitement. L'association des deux mots signifie donc traitement par les plantes (**BABA AISSA, 2000**).

La phytothérapie est la science des plantes médicinales ou la médication par les plantes, c'est l'une des sources de traitement des maladies qui demeurent basé sur l'observation ou l'analyse vient confirmer ce qu'on observe depuis déjà des millénaires (**BELOUD, 2001 ; PROVOST, 1991**).

La phytothérapie ne doit pas évoquer l'exotisme car plus de 50% des médicaments dans toutes les nations occidentales sont à base des plantes.

La recherche en phytothérapie est une réalité active dans de nombreux pays, elle connait depuis quelques années un regain de faveur non pas, dans l'opinion qui malgré les progrès en chimiothérapie lui est toujours resté fidèle pour une grande partie.

L'OMS préconise formellement un renouvellement d'intérêt pour les plantes médicinales et des remèdes traditionnels en proposant aux pays concernés une aide afin de promouvoir des programmes de santé mieux adapté aux réalités socioéconomique (**VALNET, 1983**).

La thérapie par les plantes est une médecine non seulement des anciens mais c'est aussi une médicine moderne, actuelle.

I.2. GROUPES PHYTOCHIMIQUES ET IONS TOXIQUES

I.2.1. GROUPES PHYTOCHIMIQUES

Les groupes phytochimiques sont des substances naturelles qui sont modifiées par des réactions chimiques ou enzymatiques pour élaborer des médicaments, des cosmétiques, des produits phytosanitaires ou des matières plastiques biodégradables (BRUNETON, 2009).

Nous avons déjà évoqué la question de différence de composition chimique de plantes voire même de parties d'une même plante. Nous pouvons alors comprendre que la plante est une véritable usine chimique qui produit diverses substances jouant différentes fonctions et ayant d'activités biologiques différentes.

Les métabolites sont les produits intermédiaires du métabolisme. Le terme métabolite est généralement, par définition, limité à de petites molécules. Les métabolites ont diverses fonctions, y compris l'énergie, la structure, la signalisation, un stimulant et des effets inhibiteurs sur les enzymes.

Chez les plantes, les métabolites secondaires sont importants à la survie et à la propagation de l'espèce. Il joue chez celles-ci différents rôles, comme des phéromones ou des signaux chimiques permettant à la plante de s'adapter à l'environnement**.**

Chez les plantes, il existe deux grandes classes des métabolites :

Les métabolites primaires et Les métabolites secondaires

I.2.1.1 METABOLITES PRIMAIRES

Métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ils sont classés en quatre grandes catégories : les glucides, les lipides, les acides aminés et les acides nucléiques**.**

1.2.1.2. METABOLITES SECONDAIRE

Les métabolites secondaires sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques, abiotiques ou améliorent l'efficacité de reproduction**.**
Ils sont différents dans les différentes espèces

CLASSIFICATION DES METABOLITES SECONDAIRES

On distingue classiquement quatre grandes catégories de métabolites secondaires chez les végétaux :

- Les composés phénoliques
- Les alcaloïdes et composés azotés
- Les composés terpéniques.

1. LES COMPOSES PHENOLIQUES

Les composants phénoliques sont des métabolismes secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec des glucides. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, grains et bois)**.**

Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes simples proanthocyanidins) forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes ; sont des molécules biologiquement actives**.**

Ils sont largement utilisés en thérapeutique comme vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti radicalaires, antimicrobiens.

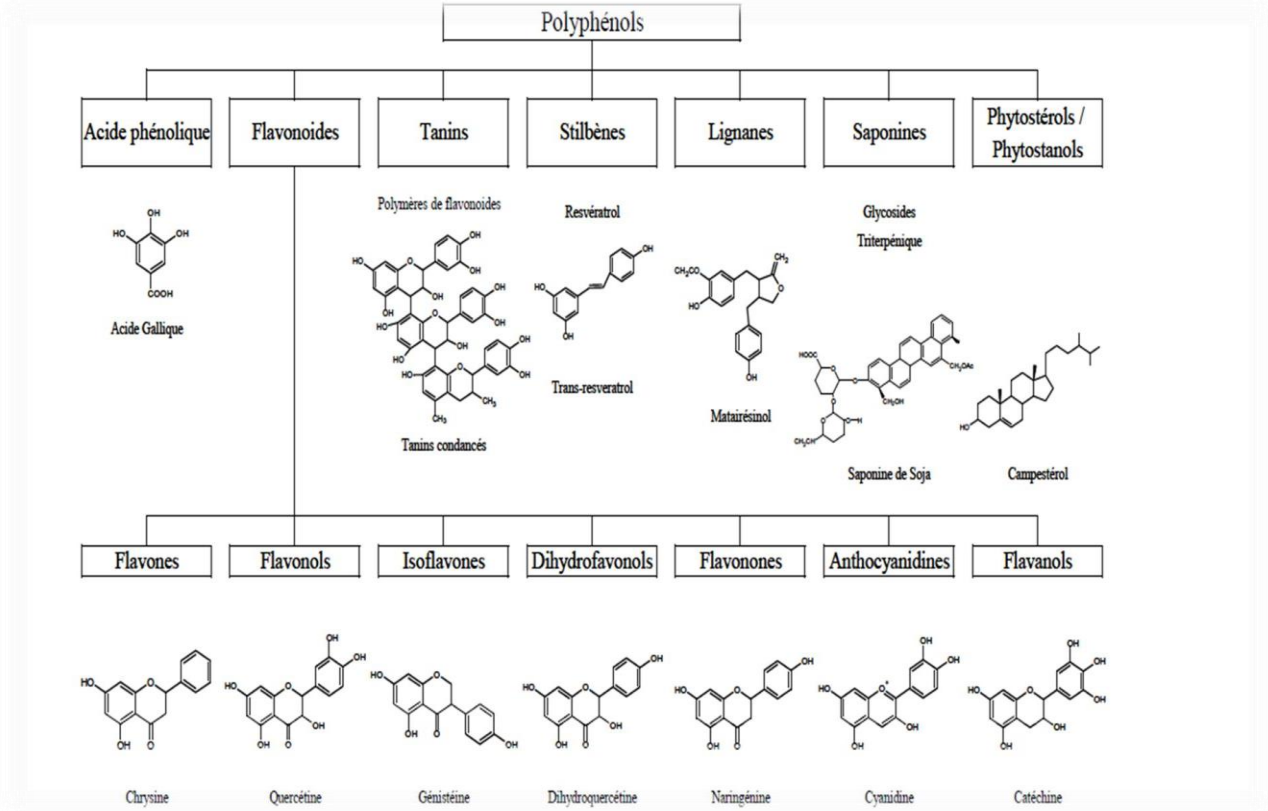


Figure1 : Les différentes classes des composés phénoliques

Parmi les polyphénols on distingue *:*

a. LES FLAVONOÏDES

Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels polyphénoliques. On distingue différents types de noyaux : flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, flavanes, flavan-3-ols, flavylium, chalcones, aurones, isoflavones, isoflavonols, isoflavanes, ptérocarpanes, coumaronochromones, 3arylcoumarines, coumestanes, roténoïdes etc.

Les flavonoïdes sont de composés phénoliques dont beaucoup sont des pigments responsables de la coloration de nombreuses fleurs et de certains fruits. Les colorants végétaux et autres composés naturels dérivant de la chromone ont presque tous les squelettes de la flavine plus ou moins modifié par addition ou soustraction du groupement oxygéné et constituent la famille des flavonoïdes. (LEVISALLES.J et al, 1974).

Les flavonoïdes ont tous une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base de quinze atomes de carbones constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A etB) reliés par une chaîne en C3.

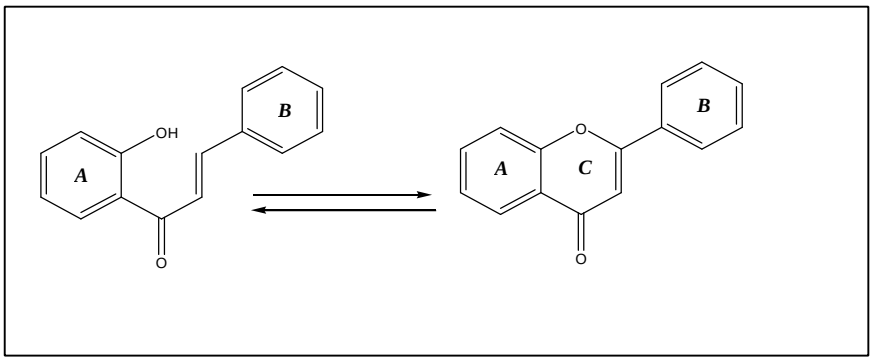


Figure.2 : Structure de base d'un Flavonoïde

Ils sont très présents dans les feuilles, les graines, l'écorce et les fleurs de plante, cette présence est en grande partie influencée par des facteurs génériques et des conditions environnementales.

Activités biologiques et thérapeutiques des flavonoïdes

Activité anti-inflammatoire

De nombreux travaux semblent indiquer que les flavonoides possèdent des propriétés anti-inflammatoires. Sous l'action de la cyclooxygénase (CO) et la lipooxygénase (LO), l'acide arachidonique se métabolise respectivement en prostaglandines, et leucotriènes induisant ainsi des phénomènes inflammatoires. Les flavonoïdes inhibent la synthèse des eicosanoïdes par inhibition de l'activité de LO et CO, aussi ils provoquent l'inhibition de la peroxydation non enzymatique des acides gras poly insaturés nécessaires pour l'activation de ces oxygénases ce qui provoque un effet anti-inflammatoire.

Flavonoïdes comme inhibiteurs enzymatiques

Les flavonoïdes sont des inhibiteurs enzymatiques, ils inhibent plusieurs enzymes intervenant dans divers mécanismes biologiques, ils inhibent l'histidine décarboxylase, l'élastase, la hyaluronidase ce qui permettrait de conserver l'intégrité de la substance fondamentale de la gaine vasculaire. Par ailleurs, les flavonoïdes peuvent inhiber la promotion de tumeur à travers un effet inhibiteur sur la phosphoxylase C et la protéine kinase.

Activités cardiovasculaires

Les flavonoïdes sont des composés veinoactifs, ils sont capables de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renfoncer leur résistance. Cette action est appelée (vita-minique P). En plus les flavonoïdes protègent LDL de l'oxydation et par conséquent empêchent la formation des plaques athérosclerotiques, aussi, ils ont des effets antithrombotiques à travers l'empêchement de l'agrégation plaquettaire**.**

Activité antioxydante

Les flavonoïdes possèdent une forte activité antioxydante qu'est le principe de plusieurs activités biologiques douées par ces molécules. L'activité du piégeage des radicaux libres est l'un des mécanismes importants de l'activité antioxydante, pour les flavonoïdes, ce mécanisme est lié à leur structure et de l'arrangement des groupements hydroxyles**.**

Effet anticancéreux

Certains flavonoïdes possèdent une activité antitumeurale et anticancérogenique significative. Par blocage de la production de la tumeur de la peau, la quercétine peut être considérée effectif dans la prévention du cancer de la peau, l'inhibition de la glyoxylase par la quercétine peut être expliquée son activité anticancerogène**.**

Activité antimicrobienne

Les flavonoïdes possèdent des propriétés antimicrobiennes. Ils sont capables d'agir au niveau de la synthèse des protéines virales. Ils ont également montré une corrélation entre l'effet inhibiteur de certains flavonoïdes sur divers virus d'herpès et leur capacité à augmenter les taux intracellulaires en AMPC dans les cellules infectées, des travaux ont mis en évidence un impact des flavonoïdes sur le rétrovirus HIV responsable du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA), aussi les flavonoïdes se sont avérés de bons inhibiteurs de transcriptase reverse**.**

L'activité antifongique

L'activité antifongique est aussi établie, une étude faite sur Dianthus caryophyllus a monté l'efficacité de ses flavonoïdes sur des souches fongiques

- L'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes.
- Séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels que le fer.
- L'inhibition du métabolisme microbien**.**

LES TANINS

Les tanins sont des mélanges complexes d'esters et d'éthers de glucides. Ils sont aussi classés parmi les composés polyphénoliques hydrosolubles dérivés de l'acide shikimique, (MPIANA, op.cit).

Ils sont d'origine végétale et non azotée, ce sont des composés *polyphénoliques* de structures variées ayant en commun la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les protéines.

Les tanins sont classés en deux groupes selon leur structure chimique.

Tanins hydrolysables

Ce sont des polyesters d'oses et d'acides phénols. Les oses trouvés dans ces tanins sont surtout représentés par le glucose, ces tanins sont de deux types.

- Les tanins galliques qui sont les esters d'oses (glucose) et d'acides galliques.
- Les tanins ellagiques qui sont des esters d'oses et d'acide ellagiques. Dans les deux cas, la fraction osidique est estérifiée par plusieurs molécules d'acide ellagique.

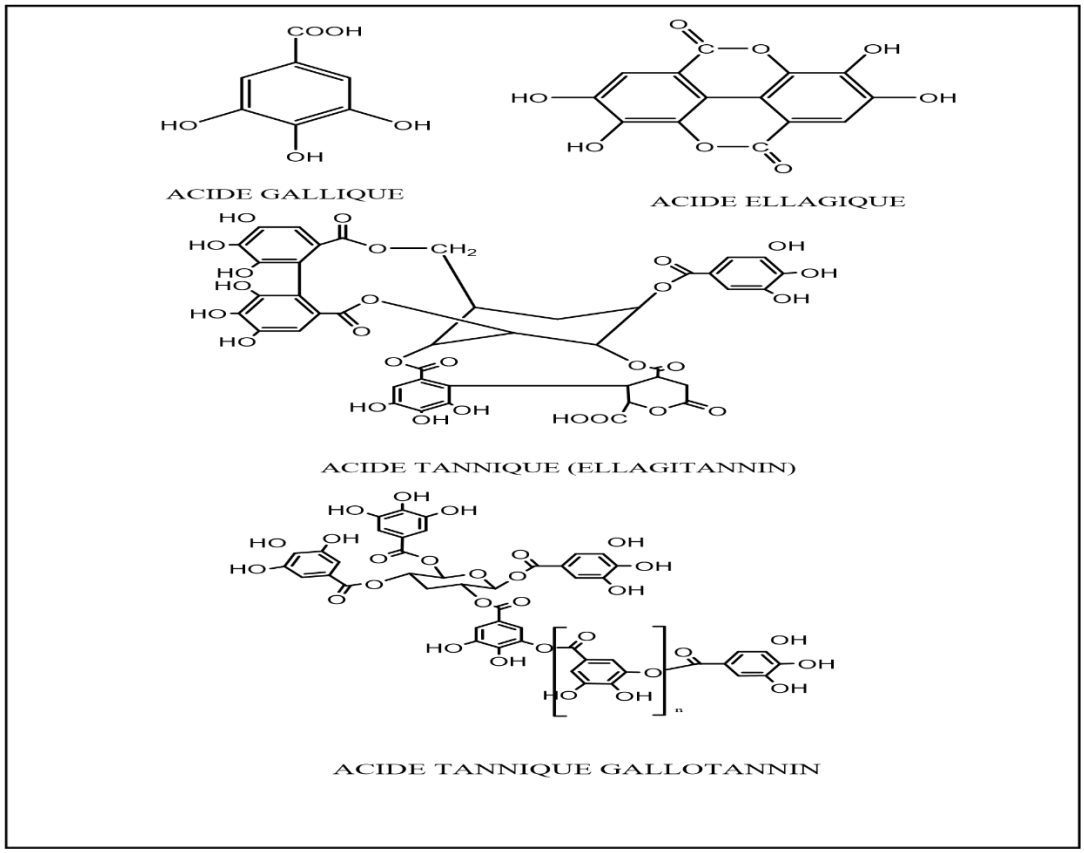


Figure3 : structures des tanins hydrolysables**.**

Tanins condensées

Ils ne renferment pas de sucres dans leur molécule ; ils ne sont hydrolysés ni par les acides, ni par les tannasses mais en présence d'acide forts ou d'agents d'oxydation, ils se transforment en polymères de flavan -3-ols, appelés aussi catéchines et de flavan - 3,4- diols appelés leucoanthocyanidines ou un mélange des deux.

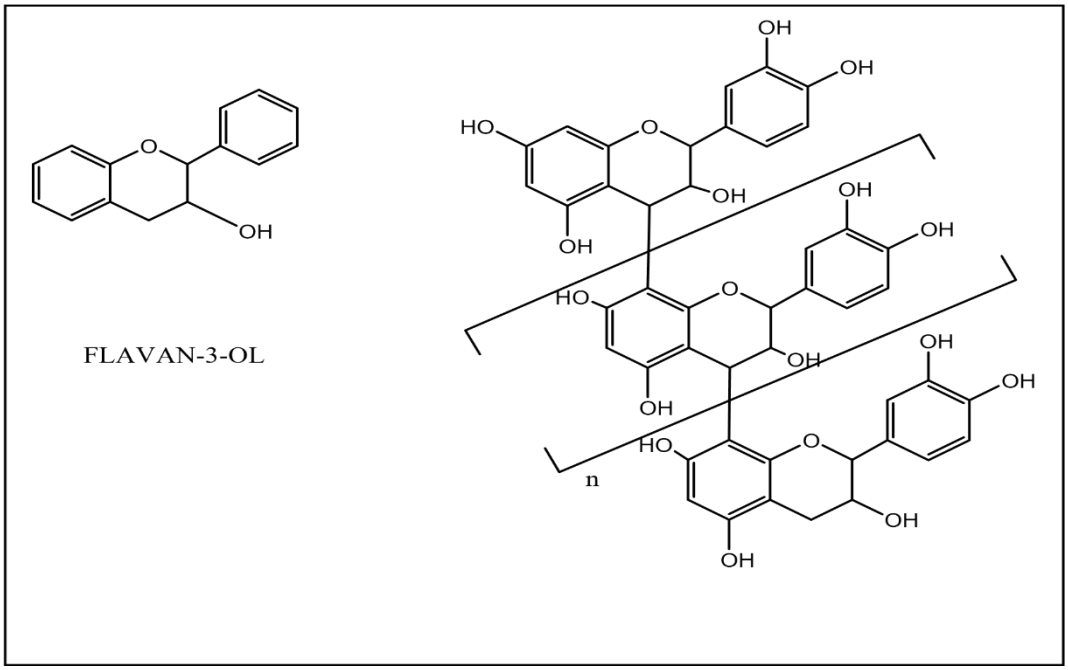


Figure.4 : structures des tanins condensés

Propriétés pharmacologiques des tanins

- Par voie interne, leur application exerce un effet anti diarrhéique et antiseptique ;
- Par voie externe, les tanins imperméabilisent les couches les plus externes de la peau et des muqueuses protégeant ainsi les couches sous-jacentes ;
- Précipitant les protéines, les tanins exercent un effet antimicrobien et antifongique ;
- Étant des hémostatiques et précipitant les alcaloïdes, ils peuvent servir d'antidote en cas d'intoxication. (CRAMD.J,et al, 1968).

b. LES SAPONINES

Les saponines sont des substances abondamment répandues dans le régné végétal et qui doivent leur nom au fait que leur solution aqueuse mousse abondamment. Au point de vue chimique, ce sont des glucides dont les aglycones (saponines) sont soit de structure stéroïdien, soit de structures triterpéniques. (BRUYLANT,A.,et al, 1962).

Les saponines sont des métabolites secondaires hétérosidiques présents dans de nombreuses plantes et quelques organismes marins où ils auraient un rôle de défense contre des agents pathogènes extérieurs comme les champignons, bactéries et autres insectes**.**

Ces hétérosides sont utilisés pendant de nombreuses années comme savon d'où le nom étymologique donné à cette classe de métabolites secondaires (sapo veut dire « savon » en

latin). Ces produits issus du métabolisme secondaire des plantes, sont constitués d'une partie lipophile appelée génine ou aglycone et d'une partie hydrophile osidique**.**

Les saponines possèdent de nombreuses activités biologiques plus ou moins marquées. On citera les activités antimicrobiennes, antifongiques, anti-inflammatoires, antihémorroïdaires et anti-appétantes**.**

Les saponines se classent en deux groupes selon la nature de leur génine qui peut être stéroïdique ou triterpénique**.**

Propriétés pharmacologiques

Les alcaloïdes présentent des propriétés pharmacologiques assez importantes et variées dont les plus connues sont les propriétés : analgésiques et narcotiques, (cardiotoniques), stimulatrices de la respiration, anti malariennes, stimulatrices de l'utérus et anesthésiques. A faible dose, les alcaloïdes présentent des vertus thérapeutiques étonnantes tandis qu'à dose forte, ils sont des poisons redoutables.

Oxygéné et constituent la famille des flavonoïdes. (LEVISALLES.J et al, 1974).

Saponines à génines stéroïdiques

Ils sont presque exclusivement présents chez les angiospermes monocotylédones et possèdent un squelette de 27 atomes de carbone qui comporte habituellement six cycles.

Saponines à génines triterpènes

Ils constituent la majorité des sapogénines des dicotylédones et possèdent un squelette de 30 atomes de carbone qui comporte habituellement cinq cycles**.**

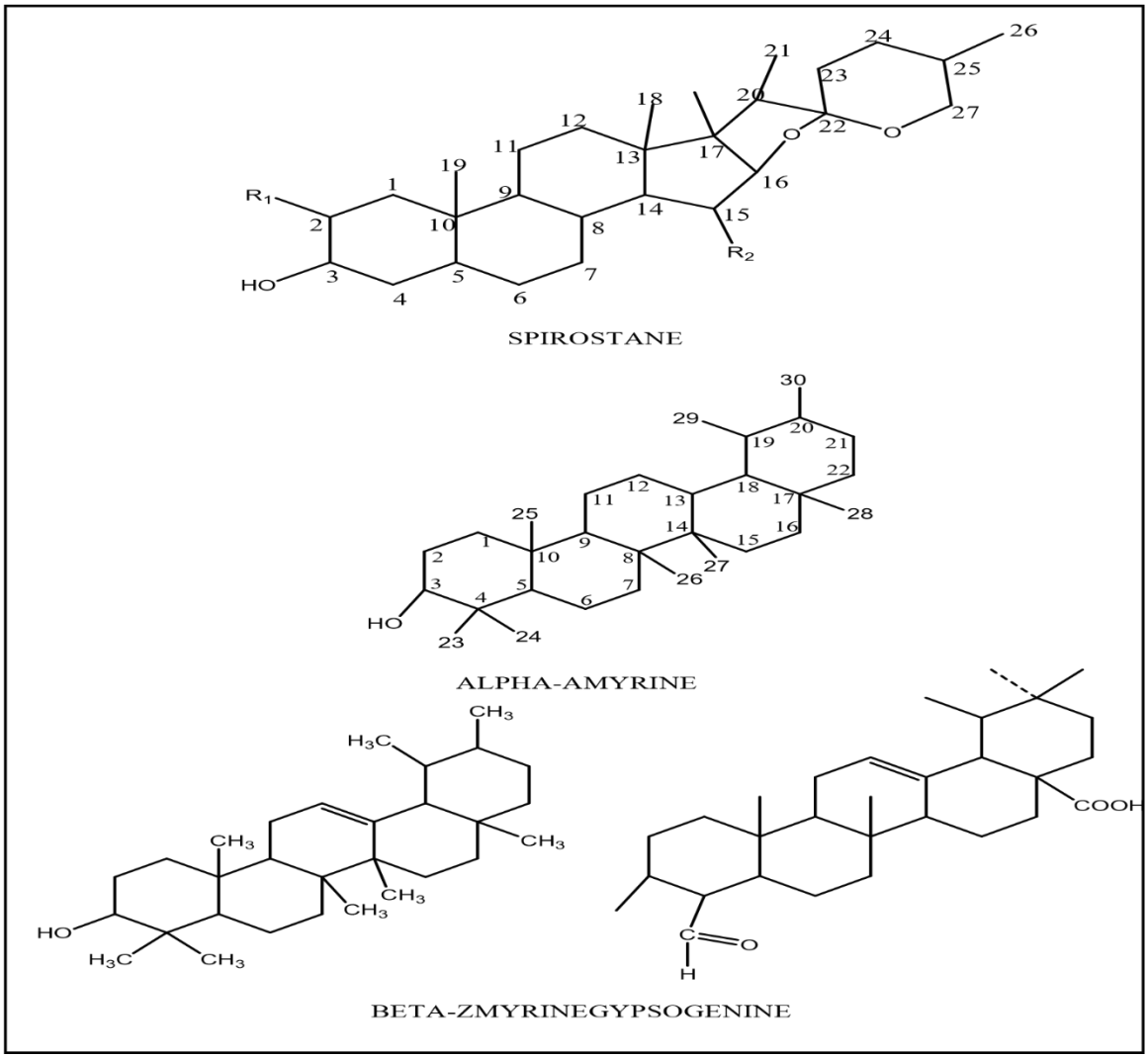


Figure5 : Structure générale des saponines.

Propriétés pharmacologiques

D'une manière générale, les propriétés détergentes de génines à saponifier ont été exploitées très précocement par l'homme sur tous les continents.

Les saponines présentent les propriétés suivantes :

- Antimicrobiennes et antifongiques ;
- Modifient la tension superficielle de l'eau ;
- Abaissent la tension superficielle de liquide et augmentent la perméabilité des parois et détruisent les hématies par hémolyse (c'est-à-dire les saponines ont des propriétés hémolytiques) ;
- Sont toxiques pour les animaux sans foie surtout les poissons, chez l'homme et les mammifères. Sauf exception, ils n'ont qu'une toxicité assez faible par voie orale mais nettement plus marquée lorsqu'ils sont administrés par voie parentale ;
- Certains sont anti-inflammatoires ;

- La tradition leur attribue la propriété expectorante et antitussive ;
- Ont les emploie pour la fabrication d'émulsions dans lesquelles une substance insoluble est mise en dispersion.
- Dissolvent des graisses et par voies de conséquence, elles sont irritantes pour les muqueuses. (BRUNETON, 2009).

d. LES QUINONES

Les quinones sont des composés correspondant à l'oxydation des composés aromatiques et caractérisés par un motif diceto -1,2 cyclohexadiène -3,5 (ortho quinone). Les quinones naturelles appartiennent à trois groupes principaux : Benzoquinones, Naphta quinones et Anthraquinones.

Propriétés pharmacologiques

- Beaucoup de naphta quinones sont antibactériennes et fongicides, certaines sont toxiques.
- Les anthraquinones sont douées de propriétés tardives de nombreuses Benzoquinones et naphta quinones ont un pouvoir allergique, sont induisant des dermites par sensibilisation.
- Les quinones ont une grande importance technique (colorants) et biochimique (catalyseurs redox dans les cellules). (LEVISALLES, 1974).
- On synthétise les quinones à l'aide de différentes méthodes, selon leurs structures.
- La Benzoquinone s'obtient par oxydation des amines aromatiques ou des phénols. L'oxydation de la naphtaline et des polycycles aromatiques plus volumineux donne directement des quinones. (CRAM et al, op.cit ; DELAUDE, 1969).

2. LES ALCALOÏDES

Les alcaloïdes sont des substances chimiques organiques azotés ayant une action pharmacodynamique. Ce nom dérive du mot alcalin ; à l'origine, le terme a été employé pour décrire n'importe quelle base contenant de l'azote (ou amine). Les alcaloïdes ont la propriété de former des sels et d'être amères. Habituellement les alcaloïdes sont les dérivés des acides aminés. On trouve des alcaloïdes, en tant que des métabolites secondaires, principalement chez les plantes à fleurs, les champignons et quelques groupes animaux peu nombreux. Ils peuvent être extraits à partir de leurs sources naturelles par traitement avec des acides (habituellement acide chlorhydrique ou sulfurique, bien que des acides organiques tels que l'acide maléïque et acide citrique soient parfois employés). Quoique beaucoup d'alcaloïdes soient toxiques (comme la strychnine ou la conine), certains sont

employés dans la médecine comme analgésiques pour soulager la douleur ou anesthésiques (comme la morphine ou la codéine). (MPIANA, 2014).

3. STEROÏDES ET TERPENOIDES

a. STEROÏDES

Les stéroïdes peuvent être considérer comme des triterpènoides ayant perdus au maximum 3 méthyles. Ils constituent une classe importante des composés biologiques tels que : les stérols proprement dit, les hormones corticosurrénales et sexuelles, les aglycones de glucosides cardiotoniques, les saponines et quelques alcaloïdes. Les stéroïdes forment une famille de composés renfermant le squelette du perhydro- 1,2-cyclopentano phénanthrène et font partie de lipides. (DELAUNAY, 1988).

Ces composés se rencontrent fréquemment dans les plantes et les animaux et comptent parmi les plus importants produits naturels. Les stérols possèdent un groupement hydroxyle sur l'atome de carbone 3, une liaison double entre les atomes de carbones 5 et 6 ainsi qu'une chaîne latérale rattachée au sommet du noyau perhydrocyclopentano phénanthrène. (CRAM,et al,op.cit). Le cholestérol est le plus représentatif des stérols ; il donne naissance à la majorité des stéroïdes2).

b. TERPENES

On appelle terpène, une série de constituants des essences végétales odoriférantes obtenus généralement par entraînement à la vapeur. Ce sont des huiles essentielles (C_{10} ou C_{15}) relativement volatiles (essence de menthe, de pin, d'eucalyptus, de rose, de citronnelle). Quelques terpènes servant de médicament étaient déjà connus dans l'antiquité. De nos jours, le camphre et α-pinène sont d'importance commerciale ; le premier sert de plastifiant dans la fabrication du celluloïde et de base aux pellicules photographiques, le second est le principal composant de la térébenthine (diluant peinture). (CRAM, et al, op.cit.).

I.3.2. IONS TOXIQUES

I.3.2.1. OXALATES

L'oxalate en poudre est utilisé comme pesticide dans les élevages apicoles pour combattre les acariens qui parasitent les abeilles. Dans le corps humain, l'acide oxalique se combine avec des cations métalliques divalents comme le calcium **(Ca^{2+})** et/ou le fer (II) **(Fe^{2+})** pour former les cristaux d'oxalates correspondants, qui sont ensuite excrétés dans urine sous forme de petits cristaux

I.3.2.2. CYANURES

Les cyanures peuvent être produits par des bactéries, des moisissures et des algues et sont contenus dans de nombreux aliments et des plantes. Dans les plantes, les cyanures sont normalement liés à des molécules de sucre sous la forme de glycosides cyanogènes et servent aux plantes comme défense contre les herbivores. Le cyanure se fixe sur les atomes de fer contenus dans l'hémoglobine et le cytochrome oxydase **(ion Fe^{2+}/Fe^{3+})**.

Cette dernière est responsable du transport et de l'utilisation du dioxygène dans la chaîne respiratoire mitochondriale. Il est à signaler que, si la fixation de cyanure sur l'hémoglobine déplace la courbe de saturation de l'hémoglobine vers la gauche et diminue de ce fait l'extraction de dioxygène par les tissus, ce mécanisme est modeste dans la mort par intoxication au cyanure.

I.3.2.3. NITRATES

L'azote est un élément vital pour la plupart des organismes (comme le potassium et le magnésium), mais les plantes ne savent pas le capter directement dans l'air. Sous forme de nitrate, il est très soluble dans l'eau et alors « bio-disponible » pour les racines. Les nitrates sont en outre des sels qui en tant que tels facilitent ou « forcent » l'entrée d'eau dans les racines et dans la plante (rééquilibrage osmotique).

I.3.2.4. NITRITES

Les nitrites sont les sels de l'acide nitreux. L'acide nitreux est un acide instable de formule **HNO_2**. Chez l'homme et les mammifères, la présence de nitrites dans le sang empêche l'hémoglobine de fixer convenablement l'oxygène. C'est l'une des causes de la « maladie bleue du nourrisson », plus savamment appelée « méthémoglobinémie »

1.4 LES ANTIBIOTIQUES

En 1942, Waksman définit un antibiotique comme étant un dérivé produit par métabolisme de micro-organisme, possédant une activité antibactérienne à faible concentration et n'ayant pas de toxicité sur l'hôte. Il est aussi défini comme une substance d'origine biologique ou synthétique, agissant spécifiquement sur une étape essentielle du métabolisme des bactéries.

1.4.1 Résistance aux antibiotiques

La résistance aux antimicrobiens est un terme tout à fait relatif. En effet, il existe un grand nombre de définitions pour l'expression « résistance bactérienne aux antibiotiques », qui sont basées sur différents critères (génétiques, biochimiques, microbiologiques et cliniques) et qui ne se recoupent pas forcement. Les définitions les plus fréquemment employées se fondent

sur les critères microbiologiques (résistance *in vitro*) et sur les critères cliniques (résistance *in vivo*).

Selon la définition microbiologique du terme, une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées. Par conséquent, la résistance est une propriété qui ne peut être étudiée que par comparaison d'au moins deux souches, dont l'une de référence souvent appelée souche sauvage et développée en laboratoire à partir des individus prélevés dans la nature, d'une même espèce ou d'un même genre, cultivées dans les mêmes conditions.

Selon la définition clinique, une souche est qualifiée de résistante lorsqu'elle survit à la thérapie antibiotique mise en place. En outre, il est important de signaler, qu'en conditions *in vivo,* la capacité de résistance ou de sensibilité de la souche à la thérapie antimicrobienne mise en place sera dépendante de différents paramètres, tels que la localisation de la bactérie, le dosage et le mode d'administration de l'antibiotique, et l'état du système immunitaire de l'individu traité. Et nombreuses sont les situations où le composé ne pourra pénétrer ou agir au niveau du site infectieux, créant de la sorte un état de résistance clinique : citons pour exemples les abcès fibrotiques ou les conditions de pH ou de pression partielle en oxygène trop faibles (Kumbonyeki, 2019).

Face à l'augmentation des lignées bactériennes qui ont développé une résistance aux antibiotiques, l'industrie pharmaceutique a accéléré la recherche et le développement de nouvelles solutions. Certains résultats de la recherche indiquent que les antibiotiques fonctionnent en déclenchant une réaction chez les bactéries qui conduit à leur propre mort ; cette réaction de suicide est maintenant confirmée. Les bactéries qui ne possèdent pas cette « technique » sont résistantes aux antibiotiques (Dasangba, 2018).

Cependant, il existe deux types de résistances bactériennes ; dont la résistance naturelle d'une part et la résistance acquise d'autre part.

La résistance naturelle est lorsque toutes les souches d'une même espèce bactérienne sont résistantes à un antibiotique donné. Il s'agit en fait de bactéries qui sont insensibles au mode d'action de l'antibiotique. Certaines bactéries sont naturellement résistantes à de nombreuses molécules : c'est le cas du bacille de la tuberculose qui n'est sensible qu'à quelques

antibiotiques bien précis. Ces résistances sont dues, soit à la mutation du patrimoine génétique de la bactérie.

Par ailleurs, quand les bactéries sont soumises à des traitements antibiotiques, elles finissent par développer des résistances contre des antibiotiques auxquelles elles étaient auparavant sensibles : on parle de “résistances acquises”. Ces résistances sont dues, soit à l’acquisition par la bactérie, d’un “plasmide”, matériel porteur de gènes de résistance provenant d’une autre bactérie. Ce dernier mode de résistance acquise est le plus fréquent, il représente plus de 80% des résistances acquises (Dasangba, 2018).

1.4.2 Classification

Le nombre et l’importance des antibiotiques sont tels que de nombreuses tentatives de classification ont été proposé : parmi 4000 antibiotiques actuellement décrits, 70% sont d’origine microbienne.

La classification peut être basée sur plusieurs critères :

Selon l’origine : élaboré par un micro-organisme vivant (bactérie, champignon...) ou produit par synthèse. A l’heure actuelle, il s'agira de molécules, le plus souvent obtenues par hémi synthèse.

- Selon le site d'action : paroi, membrane, acides nucléiques, ...
- Selon le spectre d’activité : à large spectre ou à spectre étroit, antimycosiques, antiviraux, anti protozoaires.

Selon la nature chimique : c’est la classification la plus utilisée, car les antibiotiques sont composé d’unités chimiquement définies dont le nombre est toujours faible (Meyer *et al.*, 2004).

1.4.3 Mode d’action des antibiotiques

Les antibiotiques (du grec : anti, contre et bios, la vie) sont des produits microbiens (ou leur dérivés) capables de tuer les micro-organismes sensibles ou d’inhiber leur croissance. Des substances comme les sulfamidés sont parfois désignées comme des antibiotiques bien qu’il s’agisse d’agents chimio thérapeutiques synthétiques d’origine non microbienne. Un antibiotique a les caractéristiques suivantes :

- Activité antibactérienne ;
- Activité *in vivo* contrairement aux désinfectants et

- Une bonne absorption et bonne diffusion dans l'organisme (Prescott, 2003).

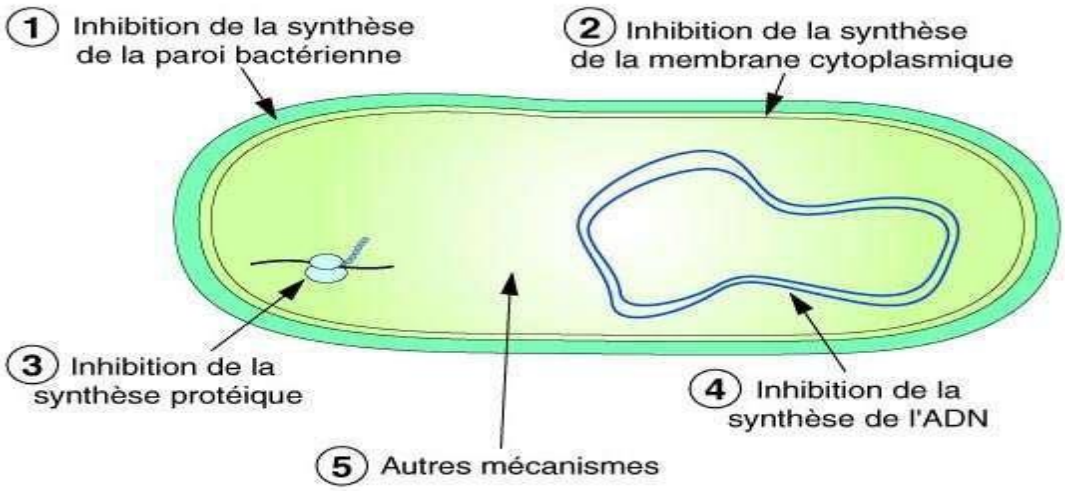


Figure6 : Mode d'action des antibiotiques (Aires-de-Sousa, 2017 in Dasangba, 2018).

1.4.4 Mesure de l'activité des antibiotiques

Au cours du traitement des maladies infectieuses, il est capital de connaitre l'antibiotique le plus efficace, de déterminer les concentrations humorales atteintes après administration, pour définir le taux thérapeutique : la concentration nécessaire et suffisante pour éliminer un agent infectieux d'un organisme malade. L'antibiogramme est la détermination de la sensibilité d'une bactérie aux antibiotiques (Meyer *et al.*, 2004).

Une augmentation du niveau de résistance chez *S. typhimurium* et de la multirésistance (Souches ayant plus d'une résistance) est observée depuis quelques années. *S. typhimurium* possède une fréquence plus élevée de résistance que les autres sérovars. La localisation de gènes de résistance sur des plasmides de conjugaison et sur des transposons permettent une dispersion efficace de ces gènes de résistance chez les *Salmonella*. Le *S. typhimurium* est un lysotype qui est multirésistant aux antimicrobiens (Dasangba, 2018).

I.5 L'ANTIBIOGRAMME

L'antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques supposés ou connus.

Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence d'un ou des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci. On peut par exemple

placer plusieurs pastilles imbibées d'antibiotiques sur une souche bactérienne déposée dans une boîte de pétri.

Il existe trois types d'interprétation selon le diamètre de cercle qui entoure le disque d'antibiotique : souche ou bactérie sensible, intermédiaire ou résistante.

I.6 DIAMETRES CRITIQUES ET DE REGLES INTERPRETATIVES POUR L'ETUDE DE LA SENSIBILITE DES BACTERIES AUX ANTIBIOTIQUES

Tableau 1 : diamètre de la zone d'inhibition en mm (http://www.sfm.asso.fr)

ANTIBIOTIQUE	CHARGE DU DISQUE	RESISTANCE	INTERMEDIARE	SENSIBLE
Ampicilline[a]	10µg	≤13	14-18	≥19
Oxacilline[b]	5µg	≤19	-	≥20
Ceftriaxone[c]	30µg	≤13	14-20	≥21
Chloramphénicol[d]	30µg	≤18	19-22	≥23
Clindamycine[e]	15µg	≤16	17-21	≥22
Erythromycine[f]	15 UI	≤16	17-21	≥22
Gentamicine[g]	10 UI	≤15	16-17	≥18
Nitrofurantoine	300µg	≤13	14-16	≥17
Pénicilline G[h]	10 UI	≤28	-	≥29
Pénicilline G[i]	10µg	≤13	14-18	≥19
Streptomycine	10 UI	≤12	13-14	≥15
Sulfamide	200µg	≤11	12-16	≥17
Tétracycline	30 UI	≤16	17-18	≥19
Triméthoprime-sulfaméthoxazole	1,25µg+25,75µg	≤9	10-15	≥16
Tobramycine	10µg	≤15	16-17	≥18
Vancomycine[j]	30µg	≤16	-	≥17
Vancomycine[k]	30µg	≤16 test par CMI	-	≥17

CHAPITRE II. MILIEU D'ETUDE, MATERIEL ET METHODES

II.1. MILIEU D'ETUDE

La ville de Kisangani est située dans la partie Nord-est de la cuvette congolaise à 0° 31' N et 25° 11' E à une attitude moyenne de 396 m. Elle est le chef-lieu de la Province de la Tshopo. Elle s'étend sur une superficie de 1.910 Km². Son relief est caractérisé les plateaux unis par des faibles pentes et terrasses. La situation de la ville de Kisangani près de l'équateur lui confère un climat équatorial chaud et humide. La température moyenne annuelle se situe autour de 25°C et la pluviosité moyenne atteint 1800 mm. L'Humidité relative varie de 80 à 90% et l'insolation est environ 45%.

Le climat chaud humide dans la Province de la Tshopo est classé comme Af dans la typologie de Koppen.

La précipitation annuelle est de 1800mm et est bien repartie sur toute l'année. Une petite période sèche s'étend entre Janvier-Février et Juin –Juillet, et une période plus pluvieuse se situe de septembre à Novembre et Mars à Avril. La température moyenne de 23,5°C montre une très petite variation intra-annuelle.



Figure7 *: les coordonnées géographiques de la ville de Kisangani*

Notre étude a été menée dans la ville de Kisangani qui est situé près de l'Equateur, à 25°11' longitude Est et 0°31' latitude Nord (NYAKABWA, 1976 Makiso).

.

II.2 MATERIELS

II.2.1 MATERIEL VEGETAL

Le matériel végétal faisant l'objet de notre étude est constitué de trois plantes : *Vernonia amygdalina, Ageratum conyzoïdes et Ageratum conyzoïdes.*). Ces plantes ont été récoltées dans des endroits différents. *Conyza sumentrensis* a été récoltée dans l'île de Mbiye tout près de chute Wagenia dans la commune Kisangani, *Ageratum conyzoïdes* a été récolté sur l'avenue Mongala quartier Plateau Boyoma commune Makiso, et *Vernonia amygdalina* a été récolté derrière la faculté des sciences dans la commune Makiso.

Nos analyses ont été effectuées au laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et au laboratoire de biotechnologie à la Faculté des Sciences de l'Université de Kisangani.

Le matériel végétal a été séché à la température ambiante du laboratoire pendant troissemaines et pulvérisé à l'aide d'un broyeur.



Figure 8 : *Vernonia amygdalina*

Classification APG III (2019)

Règle : Plantae

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae

Genre : Gymnanthemum.S

Nom Binominal : Gymnathemum amygolalinum

Description

Vernonia amygdalina c'est un petit arbuste de 2 à 5m de hauteur poussant en Afrique tropicale. Ses feuilles amères sont de forme elliptique ont jusqu'à 20 cm de long. Son écorce est rugueuse ; ses feuilles sont préparées sous formes de légume dans les soupes ou ragouts dans plusieurs pays d'Afrique équatoriale.

On l'appelle localement : Kilolokondjo en RD Congo, Dolé au Cameroun, Grawa en Amharique, Ewuro en yuruba, Etidot en Ibibio, Oriwo en Tiv, Chusar-doki en Haousse, Mululuza en Engandu, Lobwari en Acholi, Olusia en Luo.



Figure 9 : *Ageratum conyzoïdes*

Nom vulgaire : Herbe aux sorciers, herbe à bouc herbe à pisser

Plante herbacée appartenant à la famille des astéracées. Les feuilles opposées sont douces au toucher. Les fleurs se rassemblent en petits capitules mauve ou bleu pale. La plante froissée dégage une odeur caractéristique.

Description

Cette plante a des racines fasciculées, fibreuses peu profondes. Elle atteint une hauteur de quarante centimètres à plus d'un mètre

Sa tige cylindrique teintée de rouge et velue est plus ou moins dressée. Ses feuilles sont opposées, pétillées et régulièrement dentées ; leurs deux faces couvertes d'un duvet de poils

fins et cours sont douces au toucher, quand on les froisse, elles dégagent un parfum caractéristique qui lui vaut le surnom d'herbe de bouc en français et de hierbadel chicvo en espagnol.

Enquêtes en région Antakarana:

Noms vernaculaires : *Bemaimbo* (Sadjoavato, Joffreville)

Usages : A Sadjoavato, la décoction est bue pour soulager les règles douloureuses et utilisée pour la toilette des organes génitaux externes féminins.

A Joffre ville, la décoction de la plante est employée en mélange avec les feuilles de *rambô* pour laver la femme et l'enfant après l'accouchement. A Ambilobe, selon le tradipraticien Razafy, la décoction est utilisée pour traiter les vomissements et diarrhées (« arakaraka »)

Autres données à Madagascar (Allorge 1998) **:**

Noms vernaculaires : *Hanitrinimpantsaka,fotsivony*

Usages et propriétés : Les tiges et feuilles fermentées sont utilisées dans les éruptions de la peau. Des bains sont pratiqués pour soulager les contusions externes. Les feuilles sont employées en cataplasmes sur les plaies et l'anthrax. La plante passe pour « empêcher » le tétanos. Décoction des racines dans le *tambavy* et décoction froide en lotion dans l'ophtalmie purulente.



Figure 10 : *Conyza sumatrensis*

Le *Conyza sumatrensis* est une herbe dressée, poilue et plus ou moins ramifiée. La tige est hérissée de poils blanchâtres raides. Les feuilles sont étroites, en forme de fer de lance. Elles sont disposées alternativement le long de la tige. Le bord des feuilles est irrégulièrement denté. Le limbe est couvert de poils sur les deux faces, surtout au niveau des nervures. Les

fleurs sont réunies en petites têtes sphériques, blanchâtres et très serrées. Les têtes sont disposées en petites inflorescences lâches à la base des feuilles jusqu'au sommet de la plante formant une grande inflorescence pyramidale. Le fruit est petit, hérissé à son sommet de nombreuses soies blanchâtres.

II.2.2 MATERIEL BIOLOGIQUE

SOUCHES BACTERIENNES

Le critère de choix des souches était porté sur leur disponibilité, dont voici leur liste :

- *Escherichia coli*
- *Salmonella ssp*
- *Staphylocoque aureus*

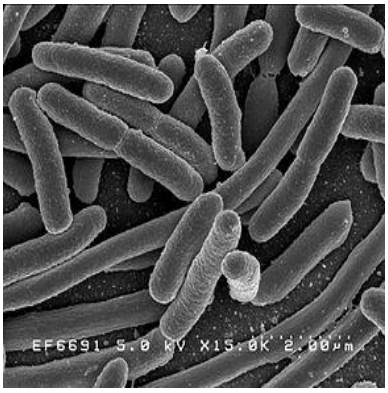


Figure 11 : Escherichia coli



Figure 12 : Salmonella



Figure 13 : Staphylocoque

II.3 METHODES

II.3.1. TAUX D'HUMIDITE

Principe

La matière fraîche de poids connu est séchée dans l'étuve à 105°C jusqu'au poids constant. Par différence de poids entre la matière fraîche et la matière sèche, on déduit l'humidité.

Mode opératoire

Peser 5g de matière végétale contenue dans une capsule en porcelaine de poids connu. Placer la capsule et son contenu à l'étuve et sécher à 105°C pendant environ 3heures. Refroidir dans le dessiccateur et peser. Répéter l'opération jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

Calcul : $H = \frac{Ph}{P1} \times 100$ Avec Ph=P1-P2

Où :

H : humidité ;

Ph : poids humide ;

P1 : poids de l'échantillon avant séchage

P2 : poids de l'échantillon après séchage

II.3.2 CRIBLAGE CHIMIQUE ET DETECTION D'IONS TOXIQUES

II.3.2.1 CRIBLAGES CHIMIQUES

1. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances chimiques organiques azotés ayant une action pharmacodynamique. Ce nom dérive du mot alcalin ; à l'origine, le terme a été employé pour décrire n'importe quelle base contenant de l'azote (ou amine). Les alcaloïdes ont la propriété de former des sels et d'être amères. Habituellement les alcaloïdes sont les dérivés des acides aminés. On trouve des alcaloïdes, en tant que des métabolites secondaires, principalement chez les plantes à fleurs, les champignons et quelques groupes animaux peu nombreux. Ils peuvent être extraits à partir de leurs sources naturelles par traitement avec des acides (habituellement acide chlorhydrique ou sulfurique, bien que des acides organiques tels que l'acide maléique et acide citrique soient parfois employés). Quoique beaucoup d'alcaloïdes soient toxiques (comme la strychnine ou la conine), certains sont employés dans la médecine comme analgésiques pour soulager la douleur ou anesthésiques (comme la morphine ou la codéine). (MPIANA, 2014).

Réactifs : HCl 1%, réactif de Meyer

Matériels : Becher, Tubes à essais, seringues, entonnoir, papier filtre

Mode opératoire

1g de poudre de l'organe végétal est laissé en macération dans 10ml d'une solution de HCl 1% pendant 24heures. Le macéré est filtré ; prendre 1ml de filtrat dans un tube à essais, tester avec 5gouttes de réactif de Meyer, l'apparition d'un précipité blanc montre que le test est positif.

2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont de composés phénoliques dont beaucoup sont des pigments responsables de la coloration de nombreuses fleurs et de certains fruits. Les colorants végétaux et autres composés naturels dérivant de la chromone ont presque tous les squelettes de la flavine plus ou moins modifié par addition ou soustraction du groupement oxygéné et constituent la famille des flavonoïdes. (LEVISALLES.J et al, 1974).

Réactifs: Eau distillée, Ethanol, HCl concentré, Copeaux de Magnesiums, Alcool iso amylique.

Matériels: Tube à essai, Pipettes graduées, Seringue, Becher, Entonnoir, Papier filtre.

Mode Opératoire

5g de la matière en morceau ou broyé sont infusés pendant 30 minutes dans 50 ml d'eau bouillante. Apres filtration, à 5ml de filtrat, on ajoute 5ml d'éthanol 95%, 1ml d'eau distillée, 1ml d'acide chlorhydrique cncentré ; 0,5g de copeaux de magnésium et 5gouttes d'alcool iso amylique. L'apparition d'une coloration rose, orange ou rouge violacé dans la couche surnageant d'alcool iso amylique indique la présence d'un flavonoïde.

3. Les tanins

Les tanins sont des mélanges complexes d'esters et d'éthers de glucides. Ils sont aussi classés parmi les composés polyphénoliques hydrosolubles dérivés de l'acide shikimique, (MPIANA,2014 op.cit). On distingue classiquement deux groupes de tanins :

- Les tanins condensés ou proanthocymidols
- Les tanins hydrolysables

Réactifs : $FeCl_3$ 1% (Chlorure Ferrique).

Matériel : Tube à essai, Seringue

Mode Opératoire

5ml de l'infusé obtenu dans le test de la détection des flavonoïdes, on ajoute 5gouttes d'une solution de chlorure ferrique à 1%. L'apparition d'un précipité montre que le test est positif (http : fr.wikipédia.org/wiki/tanins)

4. Détection des saponines

Réactifs : Eau distillé.

Matériel : Tube à essai, Bêcher, Entonnoir, Papier filtre.

Mode opératoire

A 5g de matière végétale grossièrement broyée, on fait une décoction dans 50ml d'eau pendant 15 minutes, on prélève dans un autre tube à essai 10ml de filtrat qu'on agite vigoureusement, on laisse reposer le tube pendant 10 minutes, la persistance de mousse après 10 minutes indique la présence de saponines dans l'échantillon.

5. Les quinones

Les quinones sont des composés correspondant à l'oxydation des composés aromatiques et caractérisés par un motif diceto -1,2 cyclohexadiène -3,5 (ortho quinone). Les quinones naturelles appartiennent à trois groupes principaux : Benzoquinones, Naphta quinones et Anthraquinones.

Réactifs : éthers diethylique, chloroforme, NaOH 0,2N, HCl 0,2 N

Matériels : fiole, pied gradué, pipettes graduées, tube à essais, entonnoir, et papier filtre

Mode opératoire :

5gr de drogue broyée et humectée par quelques gouttes de HCl 0,2 N sont mis en macération pendant 24 heures dans une fiole conique contenant 30 ml de mélange Ether diethylique-chloroforme (1 :1). Après filtration, 2 ml de solvant sont agités avec 2 ml d'une solution de NaOH 0,2 N. On obtient en présence des quinones une coloration allant de rouge au violet.

6. Stéroïdes et Terpenoïdes

a. Terpenoïdes

1. Principe

La détection des terpenoïdes se fait à partir des extraits organiques éthérés. En présence de l'acide acétique anhydre et l'acide sulfurique concentré, l'extrait éthéré contenant des terpènes donne des colorations jaunes ou mauves (Adebayo et Adegoke, 2008; Nsambu *et al*., 2014).

2. Mode opératoire

Dissoudre 5 g de poudre d'une plante dans 63 mL de l'éther de pétrole. Après l'homogénéisation de cette solution organique éthérée ainsi obtenue, procéder à sa macération durant 24 heures. A l'issue de cette étape de la macération, procéder à la filtration afin d'obtenir l'extrait éthéré. Les diterpènes sont identifiés à l'aide du test à l'acétate de cuivre. Pour ce faire, 2 mL de l'extrait éthéré sont traités avec 8 gouttes de la solution de l'acétate de Cu. La formation de la coloration verte indique la présence des diterpènes (Yemoa *et al.*, 2008). Quant aux triterpènes, ils sont identifiés au moyen du test de Salkowski. Ainsi, 2 ml de l'extrait éthéré sont traités avec 10 gouttes de chloroforme auxquels on ajoute 9 gouttes de l'H_2S0_4 concentré. On agite, puis on laisse reposer pendant 5 minutes. La formation de la couleur jaune d'or exprime la présence des triterpènes (Bouchelta *et al*., 2005 ; Nsambu *et al*., 2014).

b. Stéroïdes

1. Principe

En présence de l'acide acétique anhydre et l'acide sulfurique concentré, l'extrait aqueux, organique éthéré ou chloroformique contenant des stéroïdes donne des colorations mauves et vertes (Adebayo et Adegoke,2008 ;Nsambu *et al*., 2014).

2. Mode opératoire

Dissoudre 20 g de poudre d'une plante dans 250 mL de l'eau distillée. Après l'homogénéisation de cette solution aqueuse ainsi obtenue, procéder à sa macération pendant 24 heures. A l'issue de cette étape de la macération, procéder à la filtration afin d'obtenir l'extrait aqueux. Prélever 5 mL de l'extrait aqueux, y ajouter 2 mL des réactifs de Lieberman-Burchar (Acide acétique + H_2S0_4 concentré) (Nsambu *et al*., 2014).

La présence de la coloration mauve et verte témoigne la présence des stéroïdes.

II.3.3.2 DETECTION D'IONS TOXIQUES

a. DETECTION DES NITRATES (NO_3^-)

Matériels : verre de montre, Seringue, Baquette de verre.

Réactifs : Diphénylamine, H_2SO_4 concentré.

Mode opératoire

- Sur un verre de montre, dissoudre quelques cristaux de diphénylamine dans 10 gouttes de H_2SO_4 concentré ;
- Ajouter quelques gouttes de liqueur des anions et agiter à l'aide d'une baquette de verre. En présence des nitrates, le milieu se colore en bleu (FEIGL, 1973 in BAFENGO, 2014)

b. DETECTION DES CYANURES (CN^-)

Réactifs : Soude caustique (NaOH 50%), 3 gouttes de $FeSO_4$ 10%, Chlorure ferrique (FeCl3 5%) et Acide chlorhydrique (HCl concentré)

Matériels : tubes à essai, seringue, pipette graduée et plaque chauffante

Mode opératoire

A 5ml de l'extrait, ajouter 1ml de la soude caustique, 3 gouttes de $FeSO_4$ 10%, **(NaOH 50%)**, 3 gouttes de chlorure ferrique **(FeCl3 5 %)** ; chauffer à ébullition, et refroidir immédiatement. Ajouter l'acide chlorhydrique **(HCl)** concentré goutte à goutte jusqu'à la dissolution de l'hydroxyde de fer III **[$Fe(OH)_3$]**.

L'apparition d'une coloration ou d'un précipité bleu de **$Fe_4[Fe(CN)_6]_3$** indique la présence des cyanures **(CN^-)**.

c. DETECTION DES OXALATES ($C_2O_4^{2-}$)

Réactifs : Diphénylamine

Matériels : Tubes à essai

Mode opératoire

Prendre un peu de poudre à analyser qu'on dépose dans le tube à essai, ajouter la diphénylamine puis chauffer jusqu'à fondre la diphénylamine en présence de l'échantillon. L'apparition de la coloration bleue indique la présence des oxalates **($C_2O_4^{2}$).**

II.3.3. PREPARATION DES EXTRAITS DES PLANTES (MOKILI, 2014)

La préparation de la plante fraiche ou sèche se fait de la manière suivante : 5g du matériel végétal pilé ou broyé sont déposés dans 50ml de solvant et mis en macération pendant 48heures. Les solvants utilisés sont l'éthanol et l'étherdiéthylique. Après filtration, le filtrat contenu dans la boite de pétri est mis en étuve afin d'évaporer le solvant. Enfin, on pèse l'extrait pour déterminer sa teneur (TALULU, 2010, in KAMBALE, 2017).

La teneur en pourcentage de nos échantillons est obtenue suivant la formule :

$$\eta = \frac{P}{PRISE} \times 100 \qquad \text{Avec P=P2-P1}$$

Où :

η : rendement en %

P1 : poids boite de pétri vide

P2 : poids boite de pétri + extraits

a) Extraits totaux éthérés

L'éther diéthylique a servi comme solvant d'extraction.

50ml de solvant sont versés en série dans les bocaux dans lesquels sont chaque fois épuisés 5g de matières végétales sec et broyée. Les mélanges sont macérés pendant 48heures et ensuite filtrés. Les filtrats sont enfin concentrés par évaporation jusqu'à 2ml d'extrait dans chaque tube à essai.

b) **Extraits totaux aqueux**

L'eau a servi comme solvant d'extraction. 50ml de solvant sont versés en série dans les bocaux dans lesquels sont chaque fois épuisés 5g de matières végétales sec et broyée. Les mélanges sont macérés pendant 48heures et ensuite filtrés. Les filtrats sont enfin concentrés par évaporation jusqu'à 2ml d'extrait dans chaque tube à essai.

c) Extraction de tanin

50 gr de l'organe grossièrement pulvérisés sont placés dans une colonne en verre entre deux légers tampons d'ouate. Un mélange de 4% d'éther diéthylique et 1% d'alcool éthylique à 96% dans l'eau distillée. Le contact est effectué pendant au moins 12h. Après ce temps de contact, le liquide est laissé couler goutte à goutte en ajoutant du liquide neuf, au fur et à mesure, dans la colonne jusqu'à ce que les gouttes qui coulent ne se colorent plus que faiblement.

Le liquide d'épuisement est réuni dans un entonnoir à décantation. Un tiers de son volume d'éther diéthylique y est ajouté et le mélange est agité rigoureusement puis mis au repos pendant 30 minutes. Les couches inférieures contenant les tanins sont récupérées et la couche supérieure éthérée contenant les résines, le corps gras est encore une fois agitée avec un tirs de son volume d'eau et l'opération reprend.

Les solutions aqueuses réunies et filtrées sont concentrées sous vide jusqu'au volume de 100 ml environ qui seront à nouveau filtrées et évaporées à sec pour évaluer la quantité des matières extraites (in TSHEFU, 2010).

On obtient le tanin brut.

$$Tanins = \frac{Poidstanins(g)}{Poidséchantillon} * 100$$

II.3.4. PREPARATION DES DISQUES

Les disques pour essai de l'activité antimicrobienne se fabriquent à partir du papier filtre millipore. Ces papiers filtres superposés sont perforés à l'aide d'un perforateur de 7mm de diamètre et 0,5mm d'épaisseur. Ils sont stérilisés à l'autoclave et ensuite trempés aseptiquement dans les extraits concentrés. Ces facteurs contenant les disques ainsi imbibés sont placés à l'étuve à une température allant de 20-30°C pour le séchage complet.

II.3.5. PREPARATION DE L'EAU PEPTONEE

L'eau peptonée est préparée à partir de peptone et d'eau distillée :

- Dissoudre la base de diluant déshydratée dans l'eau purifiée à raison de 20g/1L d'eau ;
- Repartir en tubes ou flacons ;
- Autoclaver 15 minutes à121°C

Calcul : 20g ⟶ 1000ml

Xg ⟶ 10ml

$$\frac{20\times10}{1000} = 0{,}2\ g\ dans\ 10\ ml\ d'eau$$

II.3.6. REALISATION D'UN ANTIBIOGRAMME

Matériels

- Une gélose Mueller-Hinton en boîte de Pétri
- Disques d'antibiotique, ou un distributeur permettant le dépôt standardisé des disques sur la gélose.
- Une souche pure de la bactérie à étudier
- Un râteau ou un écouvillon
- Une anse de platine stérile
- Tube à hémolyse
- Pipette pasteur
- Eau physiologique peptonée...

Étapes

1. **Préparation de l'inoculum**

Un aliquote d'une culture pure prélevée à l'aide d'une anse de platine stérile est émulsionnée dans 5ml d'eau peptonée. L'incubation est effectuée à 37°C à l'étuve jusqu'à l'obtention d'une opacité visible ; celle-ci correspond au début à la solution de $BaSO_4$, au NaCl à 8,5g/l (LOBUNZA, 2008)

2. **Préparation de la gélose**

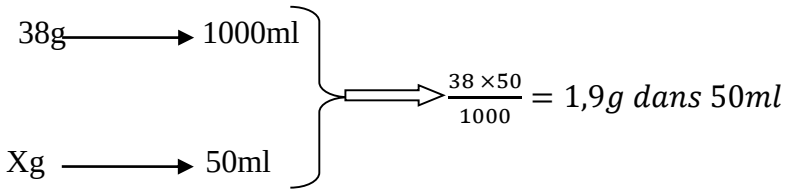
La gélose Mueller-Hinton est une gélose riche pour la réalisation de l'antibiogramme standard.

Elle est composée de :

- L'infusion de viande de bœuf : 17,5g
- Peptone de caséine : 17,5g
- Amidon de maïs : 1,5g
- Agar : 17,0g
- pH : 7,4

Pour préparer ce milieu de culture, il faut :

- Peser 38g de poudre et mélanger dans 1L d'eau distillée ;
- Homogénéiser puis chauffer en agitant ;
- Porter à ébullition pendant environ une minute ;
- Stériliser la gélose à l'autoclave durant 15 minutes à 121°C
- Déposer les disques d'antibiotiques ;
- Incuber 24 h. Calcul :



Cette gélose standardisée est la gélose permettant de tester l'action sur les bactéries. Elle peut être additionnée du sang (pour les streptococcus), d'extrait globulaire (pour Haemophilus), elle doit être coulée en boîte de flacon à obtenir une épaisseur de 4mm.

3. Ensemencement

On introduit un écouvillon stérile dans l'inoculum. L'excès de bouillon est rejeté par pression et rotation de l'écouvillon contre paroi de tube. Ensuite, on étale l'inoculum sur la gélose de Mueller-Hinton en faisant passer l'écouvillon deux ou trois fois sur toute la surface du milieu en tournant chaque fois la boîte de 60° de façon à assurer un ensemencement uniforme. Puis, on laisse sécher les boîtes 15minutes à 37°C (TCHATCHAMBE, 2007)

4. Lecture du test de sensibilité (TCHATCHAMBE, 2007)

L'effet des antibiotiques sur les extraits mis en évidence par l'apparition des zones d'inhibitions. On considère comme zone d'inhibition, le halo clair autour des disques où il y a absence totale de croissance. Ainsi, la sensibilité des bactéries aux antibiotiques est

appréciée en mesurant le diamètre de zone avec un compas ou une latte. La valeur obtenue est comparable à celle du diamètre critique de l'antibiotique :

- Le diamètre de la zone d'inhibition inferieur au diamètre critique : il convient de conclure résistant ;
- Le diamètre de la zone d'inhibition supérieur au diamètre critique : conclusion sensible ;
- Les réponses intermédiaires sont assimilées aux résistants

La moyenne de chaque extrait et témoin pour la totalité des souches étudiées sera estimée par la relation : $m = \frac{\sum d}{n}$

Avec :

- m : moyenne en (mm/souche)
- d : diamètre en mm
- n : nombre total des souches étudiées

5. Lecture critique de l'antibiogramme

Un antibiogramme doit s'interpréter dans la mesure où les résultats *in vitro* ne sont pas toujours reproductibles *in vivo*. Par exemple, si un *Staphylococcus aureus* (Staphylocoque doré) est résistant à l'oxacilline (anciennement méticilline), il faut le considérer résistant à toutes les bêta-lactamines (toutes les pénicillines et toutes les céphalosporines deviennent inutilisables). On appelle une telle bactérie un SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline, MRSA en anglais).

CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

III.1 RESULATS

III.1.1TAUX D'HUMIDITE

Le taux d'humidité dans les feuilles de trois plantes étudiées est consigné dans la figure 14 ci-dessous.

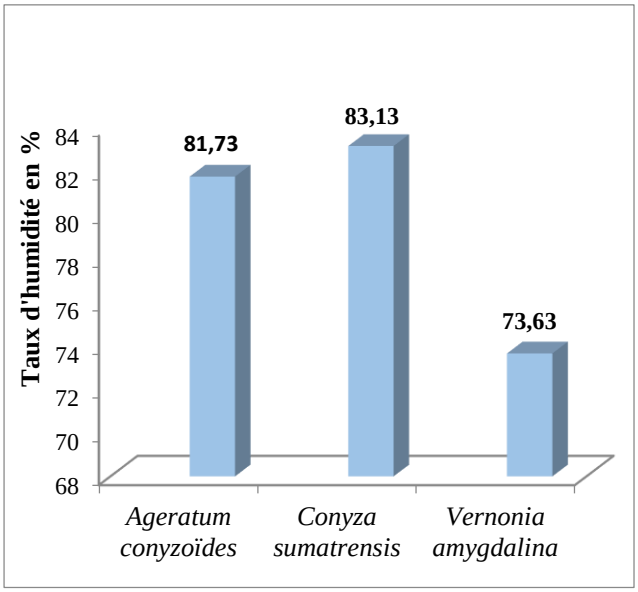


Figure 14 : Taux d'humidité

Cette figure montre que *conyza sumentrasis* a un taux d'humidité élevé que *Vernonia amygdalina* et *Ageratum conyzoïdes ;* cela illustre que les feuilles d'*Ageratum conyzoïdes* contiennent une grande quantité d'eau que les feuilles de deux autres plantes.

III.1.2 SCREENING CHIMIQUE

Les résultats de screening chimique dans les feuilles de trois plantes étudiées sont consignés dans le tableau suivant :

Tableau 1: Screening chimique dans les feuilles de trois plantes étudiées

	Flavonoïdes	Alcaloïdes	Tanins	Saponines	Quinones	Terpenes et sterols
Conyza sumatrensis	+	+	+	+	+	+
Vernonia amygdalina	+	+	+	+	+	+
Ageratum conyzoïdes	-	+	+	+	+	+

Légende :

+ : Présence

- : Absence

L'examen de ce tableau indique qu'il y a une présence de quinones, tanins, saponines, alcaloïdes, flavonoïdes, terpènes et stérols dans les feuilles de trois plantes étudiées et une absence de flavonoïdes pour l'espèce *Ageratum conyzoïdes*.

III.1.3 IONS TOXIQUES

Les résultats de tests qualitatifs des ions toxiques se présentent dans le tableau 2 suivant :

	Nitrate	Cyanure	Oxalate
Conyza sumatrensis	-	-	+
Vernonia amygdalina	-	-	+
Ageratum conyzoïdes	-	-	+

Légende

+ : Présence

- : Absence

Il ressort de ce tableau qu'il y a une présence d'oxalates sous forme de trace dans les feuilles de trois espèces étudiées alors que nous remarquons l'absence de nitrates et de cyanures dans les trois plantes étudiées.

III.1.4 TENEUR EN EXTRAITS TOTAUX DES PLANTES

III.1.4.1 EXTRAIT ETHERE

La teneur en extraits totaux éthérés dans les feuilles de trois plantes analysées est présentée dans la figure 15 ci-dessous :

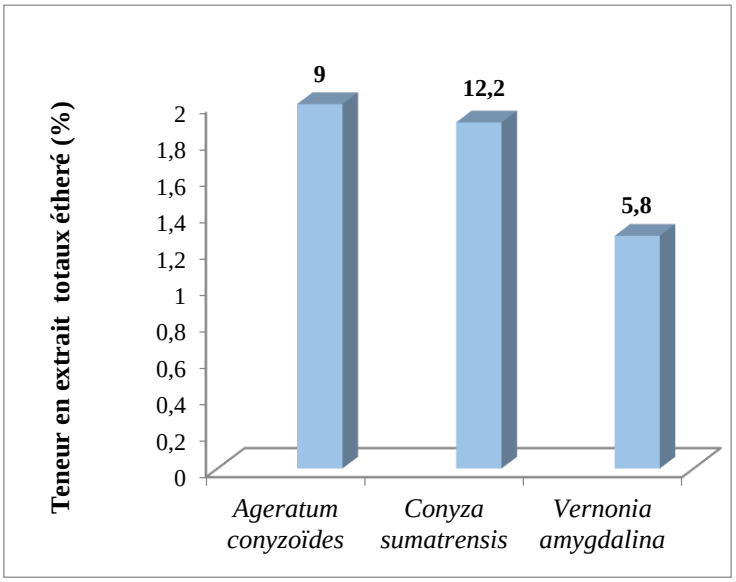
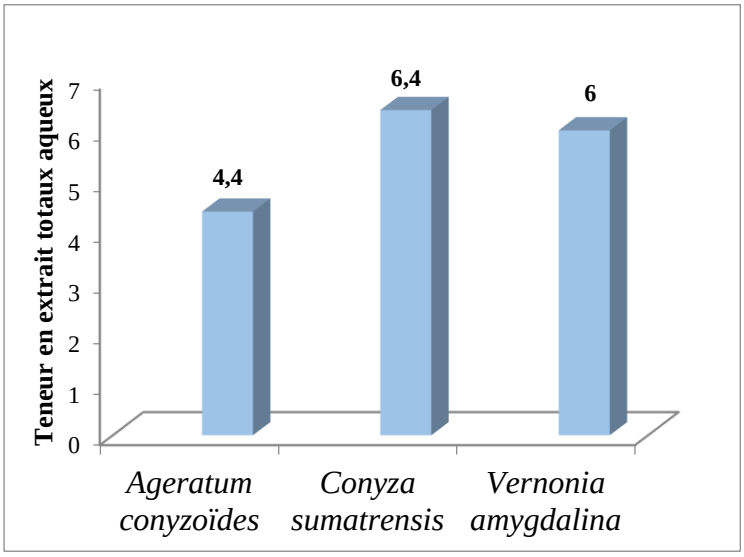


Figure 15 : Teneur en extrait totaux éthéré

Il ressort de cette figure que la teneur en extrait totaux éthéré de *Conyza sumentrasis* est plus élevé par rapport à deux autres plantes.

III.1.4.2 EXRAIT TOTAUX AQUEUX

La teneur en extraits totaux aqueux dans les feuilles de trois plantes analysées est consignée dans la figure 16 suivante :



Il ressort de cette figure que la teneur en extrait totaux aqueux de *Conyza sumentrasis* est plus élevé par rapport à deux autres plantes.

III.1.4.3 RENDEMENT DE TANINS

Le rendement de tanins dans les feuilles de trois plantes étudiées est donné dans la figure 17 ci-dessous :

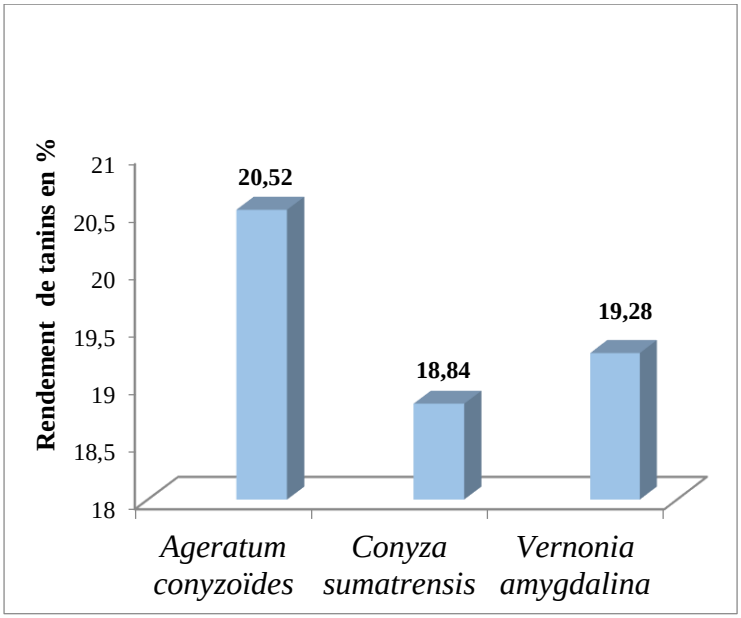


Figure 17 : Teneur en extrait de tanins

Il ressort de cette figure que le rendement en tanin d'*Ageratum conyzoïdes* est plus élevée par rapport à *conyza sumentrasis* et *vernonia amygdalina.*

III.1.5. L'ACTIVITE DES EXTRAITS EN FONCTION DE DIAMETRE AVEC CHLORAMPHENICOL COMME TEMOIN

1. Escherichia coli

L'activité des extraits par rapport au chloramphénicol sur les souches de *Escherichia coli* est consignée dans la figure 18 suivante :

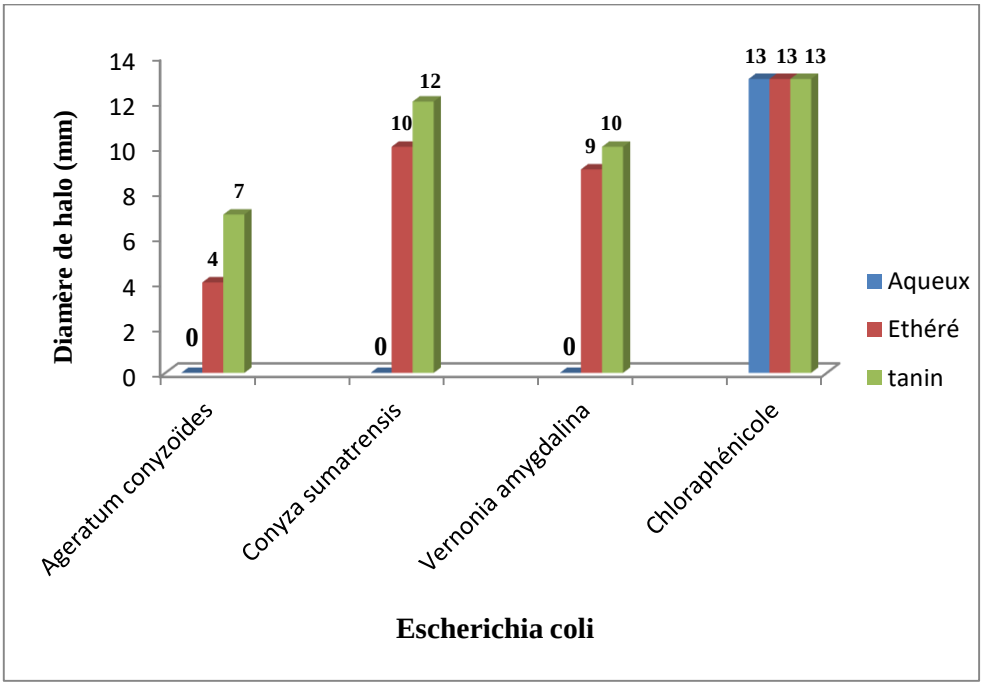


Figure18 : L'activité des extraits par rapport au chloramphénicol sur l'Escherichia coli

L'examen de cette figure indique que les extraits des feuilles de trois plantes étudiées sont tous sont moins actifs que le chloramphénicol (témoin).

2. Staphylocoque

L'activité des extraits par rapport au chloramphénicol sur les souches de *Staphylococcus aureus* est consignée dans la figure 19 suivante :

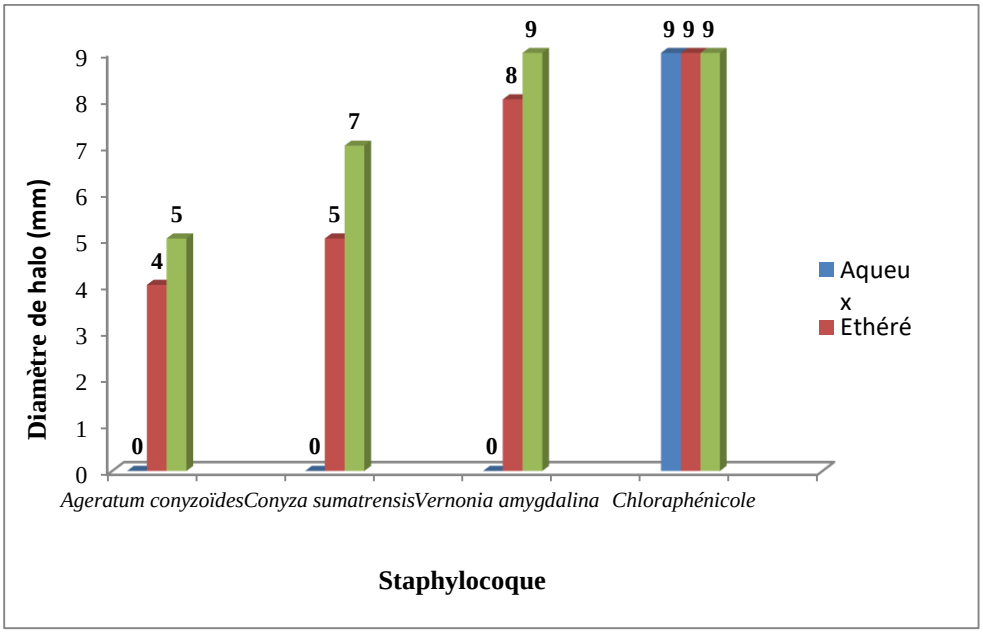


Figure19 : L'activité des extraits par rapport au chloramphénicol sur Staphylocoque

: de tanin) sont moins actifs que le chloramphénicol (témoin).

3. Salmonella

L'activité des extraits par rapport au chloramphénicol sur les souches de *Salmonella* est consignée dans la figure 20 suivante :

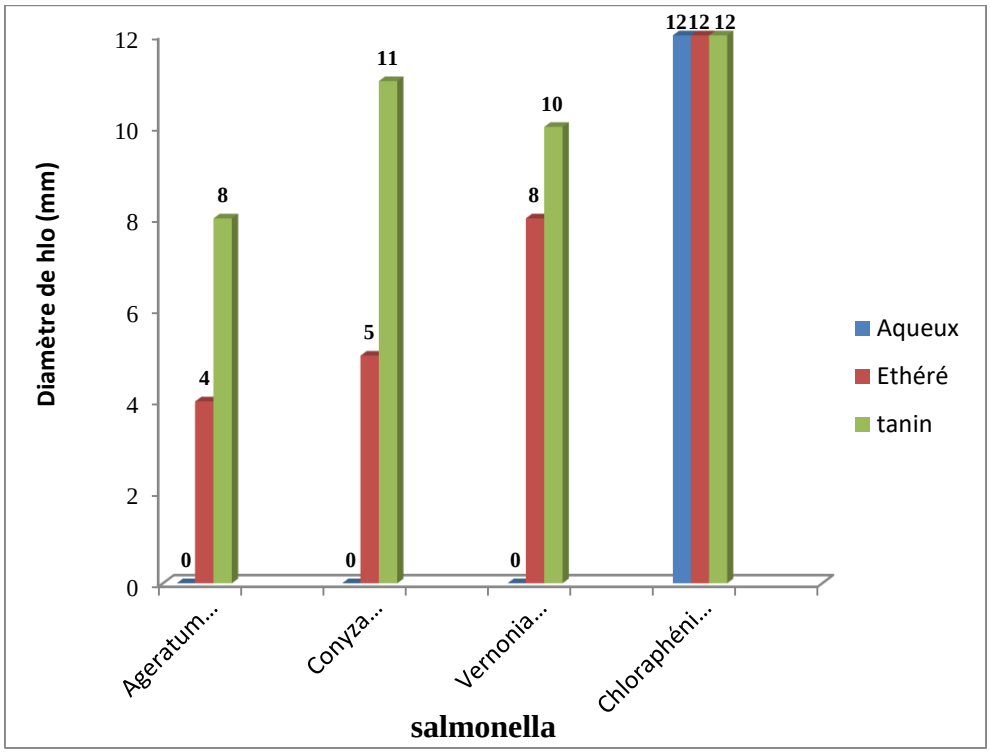


Figure20 : L'activité des extraits par rapport au chloramphénicol sur salmonella

Cette figure montre que le chloramphénicol a une activité plus élevé que nos extraits (extrait aqueux, éthéré et extrait de tanin).

III.2 DISCUSSIONS

III.2.1 SCREENING CHIMIQUE

Le screening chimique des 3 espèces étudiées a révélé une absence de flavonoides dans *Agerantum conyzoides* et une présence de flavonoïdes *dans conyza sumentrasis* et *vernonia amygdalina.* Il a également révélé une présence significative de tanins, saponines, alcaloïdes, quinones et de terpènes et stérols dans ces trois espèces. Ce qui confirme notre première hypothèse évoquée précédemment. L'identification des ions toxiques a montré une présence d'oxalate dans les trois espèces et une absence totale de nitrate et cyanure dans ces espèces.

III.2.2 ACTIVITE ANTIBACTERIENNE

Les tests de l'activité antibactérienne de nos 3 extraits illustrés dans la figure 17,18.19 nous montrent que les extraits aqueux de trois espèces étudiés n'ont pas réagi sur les trois souches ; les extraits de tanins et les extraits éthérés de ces espèces ont réagi sur les trois souches. Ce qui confirme notre deuxième hypothèse évoquée précédemment

Une comparaison de ces différents extraits montre que l'activité est élevée pour les extraits de tanins que les extraits éthérés.

La résistance bactérienne pour les extraits aqueux pourrait s'expliquer par le fait de n'est pas concentré les extraits à 80 %.

CONCLUSION ET SUGGESTION

Nous voici au terme de notre étude, qui était de vérifié la composition phytochimique et d'évaluer l'activité antibactérienne de trois espèces.

Les objectifs poursuivis dans cette étude étaient de :

- Effectuer le criblage phytochimique des plantes sélectionnées et identifier les substances chimiques toxiques qu'elles renfermeraient.
- Procéder à la préparation des extraits totaux ; et Evaluer l'activité antibactérienne de nos plantes

Nos hypothèses étaient de savoir :

- Nos plantes contiennent de principes actifs
- Les extraits des plantes montreraient une activité antibactérienne ;

Les extraits éthérés et aqueux ont été obtenus respectivement par la méthode de macération où nous avons utilisé de l'éther diéthylique pour avoir de l'extrait éthéré et de l'eau pour avoir de l'extrait aqueux. L'étude de la sensibilité des souches aux extraits a été faite par la méthode de diffusion en gélose spécifique (Müller Hinton) sur boîte de pétri contenant des disques imbibés des solutions des extraits.

L'étude de la sensibilité des souches aux différents extraits révèle que les extraits de tanins sont plus efficaces que les extraits éthérés et extraits aqueux. Les extraits de tanins et éthéré ont montré une activité antibactérienne sur les trois souches testées et les extraits aqueux n'ont pas réagi sur ces souches.

Le diamètre d'inhibition le plus élevé étant de l'ordre de 12 mm, ceci a été obtenu avec l'extrait de tanin de *conyza sumentrasis.* Les extraits éthérés de *conyza sumentrasis* ont également inhibé la croissance bactérienne avec un diamètre maximum de l'ordre de 10mm. Les souches se sont montrées résistantes aux extraits aqueux de nos trois espèces.

Ceci pourrait s'expliquer par la faible concentration des principes actifs dans le solvant aqueux utilisés et par conséquent, les extraits ont été moins susceptibles d'exercer une activité inhibitrice efficace sur la croissance de ces trois souches.

Pour la continuité de cette étude, nous suggérons ce qui suit :

Aux chercheurs :

- De Concentrer les extraits aqueux à 80% et vérifier l'activité antibactérienne ;
- De procéder à une extraction d'un autre métabolite secondaire entre autre l'extraction des huiles essentielles.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adebayo T., et Adegoke A., 2008. “Phytochemical and microbial screening of herbal remedies in AkwaIbom State, South Southern Nigeria”, Journal of Medicinal Plants Research, 2, 11, Pp.306-310.
- AIRES-DE-SOUSA M., 2017: Methicillin-Resistant Staphylococcusaureus among Animals: Current Overview.” Clinical Microbiology and Infection; vol 23, no 6, p. 373–38
- BAFENGO, T., 2014 : Détection et extraction des principes phytochimiques soignant la mycose à Kisangani et ses environs, monographie ; Fac. ; UNIKIS
- BRUNETON, J, 2009S : Elément de Phytochimique et de pharmacognosie, éd. Tec et doc, Lavoisier
- CRAM D.J., HAMMOND G.S., L’ECUYER P., 1968 : Chimie organique ; éd. Gauthiersvillars, Paris les presses de l’université es naturelles

- Dasangba Mboliaka, 2018 : Caractérisation des entérobactéries antibiorésistantes isolées des voies uro-génitales et sensibilité aux extraits des alicaments (*Allium sativum, Allium schoenoprasum, Allium cepa* et *Allium porrum*) à Kisangani Monographie inédit, Unikis, Fac. des sciences, 43p.

- DELAVEAU.P, 1988 : Histoire et renouveau des plantes médicinales, éd. Albin Michel, ParisDasangba Mboliaka, 2018 : Caractérisation des entérobactéries antibiorésistantes isolées des voies uro-génitales et sensibilité aux extraits des alicaments (Allium sativum, Allium schoenoprasum, Allium cepa et Allium porrum) à Kisangani Monographie inédit, Unikis, Fac. des sciences, 43p.

.

- ETOBO K., 2012 : L’étude de l’activité bactérienne des extraits de quelques plantes médicinales sur les souches bactériennes résistantes aux antibiotiques courants à Kisangani (RDC) ;
- FOLO L., 2017 : screening chimique, extraction et caractérisation des groupes photochimiques des plantes traitant les maladies cutanées dans la région de la Tshopo cas de *Carica papaya, Nicotiana tabacum, Vermoniasenegalensis*et *Rauwolfia vormitoria,* mémoire inédit, Fac. Sc., UNIKIS

- HABIB G 2019 : Activité antibactérienne de l'extrait éthanolique et des fractions de *Anogeissus leiocarpa* (DC) Guil. Et Perr. (combetaceae) ; Article

- KAMBALE M., 2017 : Identification et screening chimique de quelques plantes vendues sur le marché central de Kisangani/Tshopo en RD Congo, monographie., Fac. Sc., UNIKIS
- KUMBONYEKI IDOKO, 2019 : Caractérisation phénotypique des souches de salmonella antibioresistante et sensibilité aux alicaments (*Brassica oleracea*; *Allium cepa* ; *Allium schoenoprasum* ; et le Miel) A KISANGANI; Mémoire inédit, Unikis, Fac. des sciences, 56 p.
- LEVISALLES J., et JOZEFOWICZ, M., 1974 : Chimie organique, composés organiques complexes ; Flammarion, paris, 308p.
- LOBUNZA N., 2008 : étude de l'activité antibactérienne des extraits bruts concentrés de quelques plantes médicinales sur les souches résistantes aux antibiotiques courants à Kisangani (RD Congo), monographie inédit, Fac. Sc., UNIKIS
- MPIANA T., L., (2014) : Cours de chimie de substance
- LOLEKONDA S. ; 2020 : screening chimique et étude de l'activité antibactérienne de *vetiveria zizanioides*, plante aromatique rencontrée à Kisangani, monographie ; Fac.Sc. ; UNIKIS
- MOKILI B., 2014 : évaluation de la sensibilité des souches de *Mycosparllafijiensisaux* extraits des plantes médicinales (cas de *tetrademia riparia* et d*'Euphorhiahirta*) dans la région de Kisangani, monographie inédit, Fac. Sc.; UNIKIS
- Meyer A., Deiana J., Bernard A, 2004 : Cours de microbiologie générale avec cours et exercices corrigés. Ed. Doin, Paris. p 329–335
- MUSOLE L. ; 2020 : Caractérisation phénotypique des souches de staphylocoques antibiorésistantes isolées des voies uro-génitales et sensibilité aux alicaments à Kisangani, monographie ; Fac. Sc. ; UNIKIS
- Nsambu M.P., Muhigwa, B- J.B., Rubabura, K., Bagalwa, M., etBashwira, S., 2014. Evaluation in vitro de l'activité insecticide des alcaloïdes, saponines, terpenoïdes et stéroïdes extraits de *Capscicum frutescens*. (solanacée) contre *Antestiopsis orbitalisghesquierei*, insectes ravageurs des caféiers, International Journal of Innovation an Applied Studies, Vol.8, Pp.1231-1243.

- OKOU et al. ; J. Appl. BIOSCI. 2018 : Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de feuilles de *solanum torvum swartz*(solanaceae)sur la croissance in vitro de trois souches d'entérobactéries, Article

- PRESCOTT L., Harley J., Klein D, 2003 : Microbiologie. Ed. De Boek université, 174p
- TCHATCHAMBE N., 2007: caractérisation et sensibilité aux antibiotiques des germes isolés des poissons salés vendus au marché central de Kisangani, monographie inédit, Fac. Sc., UNIKIS
- TAHOUO S. ; 2016 : Procédure d'extraction globale des composés phytochimiques pour l'évaluation analytique des médicaments à base de plantes. Thèse de doctorat ; ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

WEBOGRAPHIE

http://www.sfm.asso.fr

http: fr wikipedia.org/wiki/tanins