

Manuscrit reçu le 12 février 2010 et accepté le 21 janvier 2011

Évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne des extraits de *Terminalia glaucescens* planch. sur *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium*

BOLOU G.E.K^{1*}, ATTIOUA B.², N'GUESSAN A.C.³, COULIBALY A.¹,
N'GUESSAN J.D.¹ et DJAMAN A.J.¹

¹ Laboratoire de Pharmacodynamie Biochimique, UFR Biosciences, Université de Cocody, Abidjan Côte d'Ivoire.

² Laboratoire de Chimie Organique Biologique, UFR Sciences des Structures de la Matière et de Technologie, Université de Cocody, Abidjan Côte d'Ivoire.

³ Laboratoire de Physiologie Végétale, UFR Biosciences, Université de Cocody, Abidjan Côte d'Ivoire.

RÉSUMÉ

Terminalia glaucescens est une plante médicinale exotique utilisée en Côte d'Ivoire dans le traitement de maladies infectieuses. Dans cette étude, les extraits aqueux et organiques des feuilles de cette plante ont été testés pour évaluer leur activité sur *Salmonella typhi* et *S. typhimurium* par les méthodes de diffusion en milieu gélosé et de dilution en milieu liquide. Les résultats ont montré que la fraction à l'acétate d'éthyle est la plus active, avec 20 mm de diamètre de zone d'inhibition sur *S. typhimurium* ATCC 14028, à 6 mg. De plus, la Concentration Minimale Inhibitrice et la Concentration Minimale Bactéricide sont respectivement de: 2,5 mg/ml

*

Correspondant: BOLOU Gbouhoury Eric Kevin

E-mail: bgeric3@yahoo.fr

et de 5 mg/ml. Cette activité est stable à des traitements thermiques de 4 °C, 37 °C, 55 °C, 100 °C et 121 °C pendant 1 heure. Un screening phytochimique préliminaire montre que la fraction la plus active contient des terpénoïdes, des dérivés phénoliques et des alcaloïdes.

MOTS CLÉS

Terminalia glaucescens, *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*, activité antibactérienne.

ABSTRACT

Terminalia glaucescens is an exotic medicinal plant used in Côte d'Ivoire for the treatment of infectious diseases. In this study, the aqueous and organic leaves extracts were tested for their activity against *Salmonella typhi* and *S. typhimurium*, using the disc diffusion method. The results showed that ethylacetate extract is the most active with 20 mm of diameter of inhibition zone on *S. typhimurium* ATCC 14028 at 6 mg. The minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration were respectively 2,5 mg/ml and 5 mg/ml. This activity is stable when treated at 4 °C, 37 °C, 55 °C, 100 °C, and 121°C for 1 hour. Preliminary phytochemical screening showed that the most active extract contains : terpenoids, phenols and alkaloids.

KEYWORDS

Terminalia glaucescens, *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*, antibacterial activity.

I- INTRODUCTION

La fièvre typhoïde est une toxi-infection alimentaire grave causée par une bactérie, *Salmonella typhi*, présente dans l'eau et les aliments contaminés par des matières fécales. Cette maladie qui se transmet par voie alimentaire sévit essentiellement dans les régions où les conditions d'hygiène sont précaires.

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime à 12,6 millions le nombre de cas de fièvre typhoïde dont 600000 décès dans le monde chaque année. L'incidence de cette maladie est plus élevée en Asie, suivie de l'Afrique subsaharienne et de l'Amérique Latine (WHO, 2003). Ses

manifestations sont parfois sévères et peuvent entraîner le décès dans 30% des cas de complication en l'absence d'un traitement adéquat (BHUTTA *et al.*, 2006). En Côte d'Ivoire, les récents déplacements massifs de populations ont entraîné une précarité des conditions de vie et d'hygiène dans certaines agglomérations. De plus, au plan national, 54% de la population ne disposent pas d'un système d'assainissement suffisant (WHO, 2007) et seraient exposées à des affections véhiculées par l'eau. La fièvre typhoïde est devenue une maladie en forte recrudescence. Le traitement actuel repose sur les fluoroquinolones de 2^{ème} génération et la ceftriaxone. Mais ces dernières années, on assiste à une émergence de souches multi-résistantes de l'agent causal dans plusieurs régions du monde (CHIN *et al.*, 2002 ; BENOÎT *et al.*, 2003 ; ABDULLAH *et al.*, 2005). 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 (MAGHRANI *et al.*, 2005).

Dans le cadre de cette étude, une plante utilisée contre la typhoïde dans la pharmacopée traditionnelle ivoirienne a été identifiée: *Terminalia glaucescens*. Cette plante appartenant à la famille des Combretaceae est également utilisée dans de nombreuses recettes sous forme de décoction, contre le paludisme, la toux asthmatiforme et l'hépatosplénomégalie (ADJANOHOUN *et al.*, 1989). Des études antérieures réalisées sur la plante font état de ses pouvoirs antiplasmodial (MUSTOFA *et al.*, 2000), antifongique (BATAWILA *et al.*, 2005) et antibactérien (NDUKWE *et al.*, 2005). ATTA-UR-RAHMANA *et al.* (2005) ont isolé de cette plante, l'acide glaucinoïque, un nouveau triterpène doué de pouvoir antiglucuronidasique. **Par ailleurs, ZAREEN (2006) y a également mis en évidence la présence d'un nouveau triterpénoïde, l'acide terminolique.** Dans la présente étude, nous avons choisi d'évaluer l'activité antityphoïdique des feuilles de cette plante et d'améliorer cette activité par un fractionnement bioguidé. Pour ce faire, différents extraits et fractions organiques ont subi une analyse phytochimique suivie d'un criblage antibactérien sur la croissance *in vitro* de *S. typhi* et *S. typhimurium*.

II- MATÉRIELS ET MÉTHODES

II-1 Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de feuilles fraîches de *T. glaucescens*. Ces feuilles ont été récoltées dans la région de Guibéroua (centre-ouest de la Côte d'Ivoire) en août 2008. Elles ont été authentifiées au Centre National de Floristique (Université de Cocody) par le Professeur AKE Assi. Le matériel végétal a été ensuite découpé puis séché à l'ombre et à température ambiante (25°C) pendant trois semaines. Enfin, les feuilles sèches ont été pulvérisées au broyeur pour obtenir une poudre fine.

II-2 Souches bactériennes

Le support bactérien est constitué par 3 souches de *Salmonella* :
Une souche de référence : *S. typhimurium* ATCC 14028
et deux souches cliniques isolées de selles humaines : *S. typhi* sensible et *S. typhimurium* résistant aux antibiotiques suivants: nitrofurane, tobramycine, **aztréonam**, **pipéracilline**, **sulfaméthoxazole**, **tétracycline**.

Ces souches ont été fournies par le Laboratoire National de la Santé Publique de Côte d'Ivoire.

II-3 Préparations des extraits végétaux

Différents types d'extrait ont été préparés à partir de la poudre des feuilles de *T. glaucescens*.

II-3-1 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 *T. glaucescens* (TD) qui se présente sous forme d'une poudre marron très hygroscopique.

II-3-2 Macération dans l'eau

Cette extraction a été réalisée selon la méthode décrite par GUÉDÉ-GUINA *et al.* (1993).

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).

II-3-3 Macération dans l'éthanol 70%.

La préparation de cet extrait se fait selon la méthode décrite par Zirihi *et al.* (2003). Cent grammes de poudre végétale sont agités vigoureusement au mixeur dans 1,5 L d'éthanol 70 %, 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 70 % (EE 70%).

II-3-4 Fractionnement de l'extrait éthanolique 70% par séparation liquide-liquide.

Le protocole est inspiré des travaux de SANOGO *et al.* (2006) et N'GUESSAN *et al.* (2007). Vingt cinq grammes de l'extrait éthanolique 70% sont repris dans 200 ml d'eau distillée. La solution aqueuse ainsi obtenue subit une extraction liquide-liquide avec une succession de solvants organiques par ordre de polarité croissante : hexane (Hex), dichlorométhane (DCM), acétate d'éthyle (AcOEt). La solution aqueuse est extraite avec 3 x 200 ml de chaque solvant ; chaque portion de solvant organique restant en contact avec la phase aqueuse sous agitation magnétique pendant 30 minutes. Après décantation, les trois portions de chaque phase organique sont réunies et séchées à l'étuve (40°C). À la fin, la phase aqueuse résiduelle (eauR) est également évaporée à l'étuve (55 °C).

II-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.* (1968), RIZK (1982), SOFOWORA (1993) et utilisées par PARECK *et al.* (2007).

II-5 Étude de l'activité antibactérienne.

II-5-1 Préparation des disques.

Les extraits TD, ETA et EE70 ainsi que les fractions DCM, AcOEt et eauR sont repris dans l'eau distillée à raison de 200 mg pour 1 ml. L'extrait hexanique (Hex) n'étant pas soluble dans l'eau, 200 mg sont d'abord solubilisés dans 0,5 ml de diméthylsulfoxyde (DMSO) avant d'y ajouter 0,5 ml d'eau distillée. On a ainsi préparé des solutions mères concentrées à 200 mg/ml qui sont ensuite stérilisées à l'autoclave (121 °C pendant 15 minutes). Des disques de papier buvard de 6 mm de diamètre sont imprégnés avec 30 µL et 15 µL de chaque solution mère, correspondant respectivement à 6 et 3 mg d'extrait par disque. Finalement on prépare des disques imprégnés d'eau distillée stérile et d'autres imprégnés d'un mélange stérile composé d'eau distillée et de DMSO (v/v). Ces deux dernières catégories de disques serviront de contrôle. Tous les disques ainsi préparés sont séchés à l'étuve à 37°C. Des disques de ciprofloxacine (5µg) **ont été** également utilisés comme antibiotique de référence.

II-5-2 Méthode de diffusion en milieu gélosé.

L'activité antibactérienne des différents extraits végétaux est évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé telle que décrite par Bauer *et al.* (1966) et reprise par BARRY *et al.* (1985). 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 estensemencé par inondation sur des boîtes de Pétri contenant la gélose Mueller-Hinton (SFM, 2008).

Les disques imprégnés des différents extraits et fractions sont ensuite délicatement déposés à la surface de la gélose. Il en est de même pour les disques de ciprofloxacine. 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 (ADESOKAN *et al.*, 2007). L'activité antibactérienne est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque (Doughari *et al.*, 2007).

II-5-3 Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB).

Pour chaque extrait et fraction organique, on prépare par la méthode de double dilution, une gamme de concentrations stérile, allant de 80 à 1,25 mg/ml avec l'eau distillée. On prépare également pour chaque souche bactérienne, un inoculum dont la turbidité est ajustée à 0,5 Mc Farland (soit 10^8 ufc/ml) et ramené à 10^6 ufc/ml dans du bouillon Mueller-Hinton deux fois concentré. Ensuite, on ajoute dans des tubes à hémolyse, 1 ml de chaque concentration et 1 ml d'inoculum bactérien. La gamme de concentration de chaque extrait subit alors une dilution de moitié et s'étale comme suit: 40 ; 20 ; 10 ; 5 ; 2,5 ; 1,25 et 0,625 mg/ml. On prépare également un tube témoin de croissance contenant 1 ml d'eau distillée stérile et 1 ml d'inoculum ; puis un tube témoin de stérilité contenant 1 ml d'eau distillée stérile et 1 ml de bouillon stérile. Pour l'étude de la fraction Hex, l'eau distillée est remplacée par le mélange Eau distillée-DMSLa gamme de concentrationensemencée, ainsi que les deux témoins sont incubés à 37 °C pendant 24 heures. Après l'incubation, on examine la croissance bactérienne, dans chaque tube, qui se traduit par une turbidité. La CMI d'un extrait vis-à-vis d'une souche donnée sera la plus petite des concentrations ne montrant aucune croissance visible de germe.

Pour déterminer la CMB, on réalise 24h plus tôt, un témoin de bactéricide en ensemençant en strie sur une gélose en boîte de Pétri, les dilutions 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4} de l'inoculum de départ, correspondant respectivement à 100%, 10%, 1%, 0,1% et 0,01% de survivants. Après la lecture de la CMI, on effectue des repiquages en strie, sur une gélose neuve, des tubes sans croissance visible. Ces repiquages sont ensuite incubés à 37 °C et 24 h après, on compare les stries au témoin de bactéricidie. La CMB sera la plus petite concentration dont le repiquage montre une croissance de germe inférieure ou égale à 0,01% de survivants.

II-5-4 Effet de la température sur l'activité antibactérienne.

On prépare 4 tubes contenant chacun 1 ml de la fraction AcOEt concentrée à 100 mg/ml. Ces 4 tubes sont traités à des températures différentes : 4°C au réfrigérateur 37 °C, 55° C, 100 °C au bain-marie et 121 °C à l'autoclave pendant 1 heure. On étudie ensuite l'activité antibactérienne en imprégnant 30 µl de chaque tube dans des disques de papier buvard (6 mm). L'effet de la température est apprécié après avoir réalisé le test de diffusion en milieu gélosé.

II-5-5 Analyse statistique.

Les expériences ont été réalisées avec quatre répétitions (n=4) et les résultats ont été soumis à l'analyse des variances (anova-one-way) selon le test de comparaison multiple de Turkey, $p < 0,05$ est considéré significatif.

III- RÉSULTATS

Les rendements des extractions sont respectivement de 14,2 %, 16,8 %, et 21,9 % pour les décocté (TD), macéré aqueux (ETA) et extrait hydroalcoolique (EE70). La partition liquide-liquide réalisée à partir de l'extrait hydroalcoolique a permis d'extraire 9,9% de fraction hexanique (Hex), 2,9% de fraction dichlorométhanique (DCM) et 14% de fraction acétatique (AcOEt). Cependant, près de la moitié de EE70 est restée soluble dans la fraction aqueuse résiduelle (eauR) soit 49,3%.

Tous ces extraits et fractions ont ensuite subi une analyse phytochimique qualitative dont les résultats sont présentés dans le tableau I. La présence de tous les métabolites recherchés a été détectée au niveau des extraits TD, ETA, EE70 et de la fraction eauR. S'agissant des fractions organiques, la fraction Hex contient essentiellement des terpénoïdes tandis que la fraction DCM contient à la fois des terpénoïdes et des saponosides. L'analyse de la fraction AcOEt donne des résultats positifs aux tests des terpénoïdes, des polyphénols, des quinones et des alcaloïdes.

Les résultats des tests antibactériens sont présentés dans les tableaux II et III. Ces tableaux montrent que les extraits aqueux TD et ETA et la fraction aqueuse (eauR) donnent des diamètres d'inhibition compris entre $8,50 \pm 0,41$ mm et $10,50 \pm 1,29$ mm, autour des disques de 3 mg, alors qu'autour des disques de 6 mg, ces diamètres varient entre $10,50 \pm 1,73$ mm et $11,75 \pm 1,19$ mm.

Pour ces trois extraits, les diamètres d'inhibition obtenus ne présentent pas de différences significatives ($p > 0,05$). S'agissant des autres paramètres antimicrobiens, ces mêmes extraits végétaux exhibent des CMI variant entre 5 et 20 mg/ml et des CMB variant entre 10 et 20 mg/ml sur les germes étudiés. L'étude de l'activité de l'extrait EE70 sur les cultures bactériennes montre des zones d'inhibition dont les diamètres se situent entre $10,25 \pm 1,75$ mm et $11,37 \pm 1,37$ mm avec une dose de 3 mg, puis entre $11,25 \pm 0,95$ mm et $13,25 \pm 0,64$ mm avec une dose de 6 mg. **Toute fois pour cet extrait, les deux doses utilisées produisent des diamètres d'inhibition qui**

sont statistiquement différents ($p < 0,05$). La CMI et la CMB sont respectivement 10 mg/ml et 20 mg/ml sur *S. typhimurium* (souche clinique) tandis que sur les deux autres souches bactériennes, *S. typhimurium* (souche de collection) et *S.typhi* (souche clinique), la CMI est de 5 mg/ml et la CMB est de 10 mg/ml. En ce qui concerne les fractions Hex et DCM, les disques de 3 mg et 6 mg ne produisent aucune zone d'inhibition sur les cultures bactériennes. Leurs CMI et CMB sont supérieures ou égales à 40 mg/ml sur les germes étudiés. Pour la fraction AcOEt en revanche, les diamètres d'inhibition atteignent des valeurs comprises entre $17,00 \pm 2,04$ mm et $17,75 \pm 1,89$ mm avec la dose de 3 mg et des valeurs comprises entre $18,37 \pm 1,10$ mm et $20,00 \pm 0,40$ mm avec la dose de 6 mg. **La comparaison des deux doses montre que pour cet extrait également, les diamètres d'inhibition produits présentent des différences assez significatives ($p < 0,01$).** La CMI de cette fraction est de 2,5 mg/ml tandis que la CMB varie entre 5 et 10 mg/ml sur les trois souches bactériennes. **L'analyse statistique montre également que les deux extraits végétaux pour lesquels les deux doses diffèrent, c'est-à-dire EE70 et AcOEt, produisent les diamètres d'inhibition les plus importants et leurs valeurs se démarquent significativement de celles des autres extraits et fractions étudiés. En effet, AcOEt produit les plus grands diamètres d'inhibition ($p < 0,001$), puis EE70 suit avec $p < 0,05$.** L'antibiotique de référence, la ciprofloxacine donne des diamètres d'inhibition très élevés à une dose 5 μ g. Ces diamètres sont très différents et largement supérieurs à ceux de tous les extraits et fractions étudiés ($p < 0,001$).

L'analyse des résultats de l'étude de l'effet de la température sur la fraction AcOEt (tableau IV) montre que les traitements thermiques ont peu d'effet sur les diamètres des zones d'inhibition produites par cette fraction ($p = 0,2962$).

IV- DISCUSSION

Dans cette étude, l'évaluation de l'activité antibactérienne de *T. glaucescens* sur des germes responsables de la fièvre typhoïde est d'abord réalisée à partir des extraits aqueux et hydroalcoolique de cette plante. Les résultats montrent que ces extraits sont actifs sur les souches de *Salmonella* étudiées. Cependant, les diamètres des zones d'inhibition produits par EE70 sont supérieurs à ceux obtenus avec les extraits aqueux (Tableau II). Ces résultats corroborent ceux de

BATAWILA *et al.* (2005) qui ont montré que l'extrait hydroalcoolique de *T. glaucescens* inhibe la croissance *in vitro* de diverses souches bactériennes. L'extrait hydroalcoolique est alors plus actif et concentrerait mieux les principes actifs antibactériens contenus dans la plante que les extraits aqueux.

Les résultats obtenus avec les fractions issues de EE70 montrent que les fractions Hex et DCM aux doses de 3 et 6 mg n'ont aucune activité antibactérienne sur les souches testées. Par contre, la fraction AcOEt aux mêmes doses (3 et 6 mg), génère les diamètres d'inhibition les plus élevés comparativement à la fraction eauR et à l'extrait EE70 de départ. Ces résultats indiquent également que la CMI de la fraction AcOEt est inférieure à celle des autres fractions et de l'extrait EE70. **Cela signifie que AcOEt est la fraction la plus active. Son activité antibactérienne est la plus importante de tous les extraits et fractions de *T. glaucescens* étudiés à ce stade.** Les rapports d'activité (CMB/CMI) de cette fraction sont supérieurs ou égaux à 4. Selon MARMONIER (1988), cette fraction a une activité bactéricide à l'égard des germes testés. La différence d'activité entre ces fractions pourrait s'expliquer par la nature des molécules contenues dans chacune d'elles. En effet, il existe des différences de capacité de solubilisation et d'extraction des solvants, à l'égard des phytochimiques. Selon COWAN (1999), au cours de l'extraction liquide-liquide, les phytochimiques sont réparties entre les solvants en fonction de leur polarité et leur solubilité. On pourrait en déduire que les substances antibactériennes contenues dans *T. glaucescens* sont plus solubles dans l'acétate d'éthyle que dans les autres solvants utilisés. L'acétate d'éthyle concentrerait alors mieux le principe actif.

Par ailleurs, le tri phytochimique a révélé des résultats en accord avec les travaux de INGABIRE *et al.* (2007). Il indique que l'activité antibactérienne de la fraction AcOEt reposerait sur la présence des phytochimiques de la classe triterpénoides, des polyphénols, des quinones et des alcaloïdes. Mais pour LEREN *et al.* (1979), DIDRY *et al.* (1982), RECIO *et al.* (1995), SIMOES *et al.* (1999) et JAVANMARDI *et al.* (2002), l'activité antibactérienne des extraits végétaux serait attribuée à des métabolites secondaires tels que les polyphénols et les triterpénoides. Les travaux de ZAREEN (2006) montrent également que la fraction acétatique de *T. glaucescens* est riche en terpénoïdes (acide terminolique, arjunoglucoside, sericoside, sitostérols) et en polyphénols (dérivés de l'acide ellagique), ce qui justifierait l'importante activité de AcOEt. Toutefois il faut indiquer que la différence d'activité entre ces extraits et fractions est également liée à la concentration du

principe actif. Ceci permet de comprendre que la fraction eauR bien qu'elle contienne plus de composés que la fraction AcOEt, demeure moins concentrée en principe actif et donc moins active que AcOEt.

L'étude de l'influence de la température montre que l'activité antibactérienne de la fraction AcOEt n'est pas affectée par des traitements thermiques allant de 4 °C à 121 °C

($p > 0,05$). Cela révélerait le caractère thermostable des molécules anti-infectieuses de cette plante et justifierait également le choix d'une décoction dans l'usage traditionnel (ADJANOHOUN *et al.*, 1989 ; MAGASSOUBA *et al.*, 2007). Dans la littérature, plusieurs travaux corroborent également l'activité anti-infectieuse de *T. glaucesens*. En effet, pour SOTÉ *et al.* (1995), TAIWO *et al.* (1999), NDUKWE *et al.* (2005) et MAGASSOUBA *et al.* (2007), cette plante possède une activité antibactérienne à spectre étendu. De plus comme plusieurs autres espèces de la même famille, cette combrétacée possède également un pouvoir antifongique non négligeable (Batawila *et al.*, 2005). Mais toute fois, aucune étude antérieure ne révèle l'identité chimique du principe actif anti-infectieux. Dans notre étude, par contre les résultats montrent comment l'activité antityphoïdique de cette plante est améliorée par l'acétate d'éthyle et permet d'envisager un principe actif plus soluble dans ce solvant que dans l'eau, l'hexane et le dichlorométhane.

Tableau I : Analyse phytochimique préliminaire des extraits et fractions de *T. glaucescens*.

	Tanins						Alcaloïdes		
	Cat.		Gal.		Drag.	Bouch.			
TD	+	+	+	+	-	+	+	+	+
ETA	+	+	+	+	-	+	+	+	+
EE 70	+	+	+	+	-	+	+	+	+
HEX	+	-	-	-	-	-	-	-	-
DCM	+	-	-	-	-	+	-	-	-
AcOEt	+	+	+	+	-	-	+	+	-
eau R	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Où :

* TD : Décocté ; ETA : Macéré aqueux ; EE 70 : Extrait éthanolique 70 % ;
 HEX : Fraction hexanique ; DCM : Fraction Dichlorométhanique ;
 AcOEt : Fraction acétatique ; eau R : Fraction aqueux résiduelle.

Cat. : Catéchiques ; Gal. : Galliques ; Drag. : Dragendorff ; Bouch. : Bouchardat.

+ : Présence du composé

- : Absence du composé.

Tableau II : Activité antibactérienne des extraits de feuilles de *T. Glaucescens*

Extraits végétaux/ Antibiotique		Diamètres de zone d'inhibition (mm)		
		<i>S. typhimurium</i> (Souche clinique)	<i>S. typhimurium</i> (ATCC 14028)	<i>S. typhi</i> (souche clinique)
DEC	6mg	10,50 ±2,04 a	11,75 ±1,19 a	11,12 ±0,85 a
	3mg	8,50 ±0,41 a	10,50 ±1,29 a	9,87 ±1,03 a
ETA	6mg	10,50 ±1,73 a	10,62 ±2,13 a	11,25 ±0,95 a
	3mg	8,75 ±1,25 a	10,00 ±1,47 a	9,62 ±1,79 a
EE70	6mg	11,25 ±0,95 b	13,25 ±0,64 b	12,50 ±1,08 b
	3mg	10,25 ±1,75 a	11,50 ±1,25 a	11,37 ±1,37 a
Hex	6mg			
	3mg	-	-	-
DCM	6mg			
	3mg	-	-	-
AcOEt	6mg	18,37 ±1,10 d	20,00 ±0,40 d	19,62 ±0,47 d
	3mg	17,00 ±2,04 c	17,75 ±1,89 c	17,25 ±0,86 c
eau R	6mg	10,25 ±1,55 a	11,25 ±1,19 a	11,25 ±0,50 a
	3mg	8,75 ±1,70 a	10,87 ±1,18 a	9,62 ±0,47 a
Ciprofloxacine	5µg	30±1,41 e	32±0,82 e	32±1,08 e

Chaque valeur représente la moyenne ± écart-type.

- : Absence de zone d'inhibition.

a, b, c, d et **e** sont des lettres portées en indice des moyennes pour le test de comparaison. Elles sont issues du test statistique appliqué. Ainsi, dans chaque colonne, les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas de différences significatives au seuil 5%.

Tableau III : CMI et CMB des Extrait de *T. glaucescens*.

	<i>Salmonella typhimurium</i> (Souche clinique)		<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028		<i>Salmonella typhi</i> (souche clinique)	
	CMI (mg/ml)	CMB (mg/ml)	CMI (mg/ml)	CMB (mg/ml)	CMI (mg/ml)	CMB (mg/ml)
DEC	20	20	10	20	10	10
ETA	10	20	10	20	10	10
EE70	10	20	5	10	5	10
Hex	>40	>40	>40	>40	>40	>40
DCM	40	40	20	40	40	40
AcOEt	2,5	10	2,5	5	2,5	5
eau R	10	20	10	20	5	20

Tableau IV : Effet de la température sur l'activité antibactérienne de la fraction AcOEt vis à vis de *S.typhi* (souche clinique).

Traitements	Fraction ACOET (3mg)				
	4°C	37°C	55°C	100°C	121°C Autoclavage
Diamètre de zone d'inhibition (mm)	16±2,12c	18±1,47	16,5±1,22c	17,5±0,58c	17,25 ±0,87c

Ces valeurs représentent la moyenne ± écart-type. Les valeurs suivies de la lettre c ne présentent pas de différences significatives au seuil 5%.

V- CONCLUSION

T. glaucescens peut être utilisé dans une préparation thérapeutique et la fraction acétate d'éthyle en est une parfaite illustration au regard de son activité antibactérienne *in vitro*. En effet, ce solvant concentre mieux le principe actif que tous ceux utilisés au cours de cette étude et donne l'espoir qu'une purification plus poussée placerait ce principe actif à la hauteur des spécialités pharmaceutiques couramment utilisées. Cette étude, au delà de ses objectifs à terme qui consistent à révéler de nouvelles molécules anti-infectieuses est avant tout une validation de l'usage traditionnelle de la plante à des fins antityphoïdiques.

REMERCIEMENTS

Nos remerciements vont à l'endroit de Monsieur KOUAME Désiré, pour sa contribution en microbiologie. Nous sommes également reconnaissants à l'égard de monsieur ZIRIHI GUEDE pour son intervention dans le volet phytochimique.

RÉFÉRENCES

- 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.
- 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.
- ADJANOHOON E.J., ADJAKIDJE V., AHYI M.R.A., AKE ASSI L., AKOEGNINOU A., D'ALMAIDA J., APOVO F., BOUKER K., CHADARE M., CUSSET G. *et al.* (1989), Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en république populaire du Benin, Médecine traditionnelle et pharmacopée. Paris, agence de coopération culturelle et technique (ACCT), 894p.
- ATTA-UR-RAHMANA, ZAREEN S., CHOUDHARYA M. I., AKHATA M.N., SHUJAATA S., and NGOUNOUB F. N., (2005), Some Chemical Constituents of *Terminalia glaucescens* and their Enzymes Inhibition Activity, *Z. Naturforsch*, 60b, p. 347 - 350.
- BARRY A.L. and THORNSBERRY C., (1985), Susceptibility test, diffusion test procedure, *American Journal of Clinical Pathology*, **19**, p. 492 - 500.
- BATAWILA K., KOKOU K., KOUMAGLO K., GBÉASSOR M., DE FOUCAULT B., BOUCHET P., and AKAPANAGA K. (2005), Antifungal activities of five *Combretaceae* in Togolese traditional medicine, *Fitoterapia*, **76** (2), p. 264 - 268.
- 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.
- 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.
- BHUTTA Z.A. and DEWRAJ H.L., (2006), Current concepts in the diagnosis and treatment of typhoid fever, *British Medical Journal*, **333**, p. 78-82.

- 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.
- COWAN M.M., (1999), Plant products as antimicrobial agents, *Clinical Microbiology Reviews*, **12**(4), p. 564 - 582.
- DIDRY N., PINKAS M. et TORCK M., (1982), Sur la composition chimique et l'activité antibactérienne des feuilles de diverses espèces de *Grindelia*, *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, **XVI**, p. 7 - 15.
- 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.
- GUEDE-GUINA F., VANGAH-MANDA M., HAROUNA.D., and BAHY C. (1993), Potencies of MISCA, a plant source concentrate against fungi, *Journal of Ethnopharmacology*, **14**, p. 45 - 53
- INGABIRE G., KOUMAGLO H.K., DESOUZA C., DOTSE C.K., ANANI K., KABERA J. and al. (2007), Antimicrobial activity and preliminary phytochemical screening of *Turraea heterophylla* and *Terminalia glaucescens* used in Togo ethnomedicine to treat common infections, *Planta medica*, **73** (09). DOI: 055/s. 2007-986996.
- JAVANMARDI J., KHALIGHI A., BAIS H.P. and VIVANCO J.M., (2002), Chemical characterization of basil (*Osmium basilium* L.) found in local occasion and used in traditional medicine in Iran, *Journal of Agricultural and food chemistry*, **50**, p. 5878 - 5883.
- LEREN M., VANDEN BERGHE D.A., MERTENS F., VICTINCK A., and LAMMEUS E., (1979), Screening of higher plants for biological activity, antimicrobial activity, *Plant Medicine*, **36**, p. 311 - 321.
- MAGASSOUBA F.B., DIALLO A., KOUYATE M., MARA F., MARA O., BANGOURA O., CAMARA A., TRAORE S., DIALLO A.K., ZAORO M., et al. (2007), Ethnobotanical survey and antibacterial activity of some plants used in guinean traditional medicine, *Journal of Ethnopharmacology*, **8**, **144**(1), p. 44 - 53.
- 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.

- MARMONIER A.A., (1988), Introduction aux techniques d'études des antibiotiques. *In* : CARBONNELLE B., DENIS F., MARMONIER A.A., PINON G., VARGUES R., Bactériologie médicale : Techniques usuelles, Simep, p. 227 - 234.
- MUSTOFA, VALENTIN A., BENOIT-VICAL F., PÉLISSIER Y., KONÉ-BAMBA D., and MALLIE M., (2005), Antiplasmodial activity of plant extracts used in west African traditional medicines, *Journal of Ethnopharmacology*, **73** (1-2), p. 145 - 151.
- N'DUKWE K.C., OKEKE I.N., LAMIKANRA A., ADESINA S.A., and ABODERIN O., (2005), Antibacterial activity of aqueous extracts of selected chewing sticks, *Journal of Contemporary Dental Practice*, **15**; 6(3), p. 86 - 94.
- N'GUESSAN J.D., BIDIE A.P., LENTA B.N., WENIGER B., ANDRE P., and GUEDE GUINA F., (2007), *In vitro* assays for bioactivity-guided isolation of antisalmonella and antioxidant compounds in *Thonningia sanguinea* flowers, *African journal of biotechnology*, **6** (14), p. 1685 - 1689.
- 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.
- RECIO N., GINER R.M., MANES S., and RIOS J.L. (1995), Structural requirements for the anti-inflammatory activity of natural triterpenoid, *Planta Med.*, **61**, p. 182 - 185.
- RIBERAU-GAYON J. et PEYNAUD E., (1968), Les composés phénoliques des végétaux, *Traité d'oenologie*, Dunod éd., Paris, 254p.
- RIZK A.M. (1982), Constituents of plants growing in Qatar, *Fitoterapia*, **52** (2), p. 35 - 42.
- SANOGO R., DIALLO D., DIARRA S., EKOUMOU C., and BOUGOUDOGO, (2006), Activité antibactérienne et antalgique de deux recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et la cystite au Mali, *Mali Médical*, **XXI**, (1), p. 18 - 24.
- SFM (2008), Société Française de Microbiologie, Recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, Janvier 2008, 49p.
- SIMÕES C.M., AAMOROS M. and GIRRE L.,(1999), Mechanism of antiviral activity of triterpenoid saponins, *Phytother. Res.*, **13**, p. 323 - 328.
- SOFOWORA A., (1993), *Medecinal plant and traditional medicine in Africa*, Spectrum Books Ltd, Ibadan, Nigeria, p. 270 - 289.

SOTE E.O. and WILSON M., (1995) *In-vitro* antibacterial effects of extracts of Nigerian tooth-cleaning sticks on periodontopathic bacteria, *African Dental Journal*, **9**, p. 15 - 19.

TAIWO O., XU H.X., and LEE S.F., (1999), Antibacterial activities of extracts from Nigerian chewing sticks, *Phytotherapy Research*, **13** (8) 675-679.

WHO (2007), Intervention sanitaire en cas de crise. Côte d'Ivoire, Rapport du comité des agences parainantes (CAP). 3p.

WHO (2003), Manual for the laboratory identification and antimicrobial susceptibility testing of bacterial pathogens of public health importance in the developing world, p. 103 - 162.

ZAREEN S., (2006), Phytochemical studies on *Terminalia glaucescens*, *Pteleopsis hylodendron* and related medicinal plants, PhD thesis, H.E.J. Research Institute of Chemistry, International Center for Chemical Sciences, University of Karachi, Karachi-75270, Pakistan, 204 p.

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.