

Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de la poudre de gousses de *Vachellia nilotica* (L) PJH Hurter et Mabb sur des bactéries multirésistantes, criblage phytochimique et contrôle qualité

Hamidou COMPAORE^{1*}, Samson GUENNE²,
Taofik DIANDE², Adama PARE¹, Hemayoro SAMA²,
Alima BAMBARA³, Hissein RATONGUE⁴,
Lassina TRAORE³, Hagrétou SAWADOGO-LINGANI¹,
Adama HILOU², Martin KIENDREBEOGO²

Résumé

De nos jours, la prolifération des germes résistants aux antibiotiques classiques explique l'urgence de disposer de nouvelles molécules d'antibiotiques. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'activité antibactérienne d'extraits aqueux de huit (8) échantillons de poudres de gousses de *Vachellia nilotica* collectés dans la ville de Ouagadougou sur des bactéries multirésistantes, d'apprécier leur qualité sanitaire et d'étudier la composition phytochimique.

La méthode de diffusion sur disque a été utilisée pour l'étude de l'activité antibactérienne, celle de complexation et spectrophotométrique ont servi à la caractérisation phytochimique. La qualité sanitaire des poudres végétales a été appréciée par la recherche de microorganismes pathogènes.

Tous les échantillons ont présenté des diamètres d'inhibition sur les germes tests. Le diamètre le plus élevé a été obtenu avec l'échantillon de 1200 Logements, de $17,0 \pm 1,7$ mm sur *Shigella dysenteria*, $14,67 \pm 0,50$ mm sur *Salmonella typhimurium*, 14 mm sur *Staphylococcus aureus* et 15 mm sur *Bacillus cereus*. L'étude phytochimique a révélé la présence d'alcaloïdes, de tanins, de glycosides, de stérols et de polyphénols dans les extraits aqueux de la plante. Les résultats des analyses microbiologiques ont montré que les échantillons de poudres étaient de qualité non satisfaisante. Cependant, on remarque une quasi absence de coliformes et d'entérobactéries.

Mots clés : *Vachellia nilotica*, activités antibactériennes, phytochimie, Burkina Faso

Evaluation of antibacterial activity of *Vachellia nilotica* (L) PJH Hurter and Mabb pods powder aqueous extract on multidrug-resistant bacteria, phytochemical screening and quality control

Abstract

Nowadays, the proliferation of germs resistant to classic antibiotics explains the urgency discovery of new antibiotics molecules. The objective of this study was to evaluate the antibacterial activity of aqueous extracts of eight (8) samples of *Vachellia nilotica* pods powders collected in the city of Ouagadougou on multiresistant bacteria, to assess their health quality and study the phytochemical composition.

The disk diffusion method was used for the study of antibacterial activity, that of complexation and spectrophotometric activity were used for phytochemical characterization. The sanitary quality of vegetable powders has been assessed by research into pathogenic microorganisms.

All samples showed diameters of inhibition on test germs. The highest diameter was obtained with the sample of 1200 Logements, 17 ± 1.7 mm on *Shigella dysenteria*, 14.67 ± 0.50 mm on *Salmonella typhimurium*, 14 mm on *Staphylococcus aureus* and 15 mm on *Bacillus cereus*. The phytochemical study revealed the presence of alkaloids,

¹ DTA/IRSAT/CNRST ; 03 BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso, Tel : +226 25 36 37 90

² Laboratoire de Biochimie et Chimie Appliquées (LA.BIO.C.A), Université Joseph KI-ZERBO, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso

³ Laboratoire de Biochimie, Biotechnologie, Technologie Alimentaire et Nutrition (LABIOTAN) ; Département de Biochimie-Microbiologie, Université Joseph KI-ZERBO, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso

⁴ Université Catholique de l'Afrique de l'Ouest, Unité Universitaire à Bobo-Dioulasso (UCAO/UUB), 1052 Bobo-Dioulasso, Burkina Faso, Tél : +226 20 97 23 06

*Auteur correspondant : hamidoucom@yahoo.fr

tannins, glycosides, sterols and polyphenol in the aqueous extracts of the plant. The results of the microbiological analyzes showed that the powder samples were of unsatisfactory quality. However, there is a virtual absence of coliforms and enterobacteria.

Keywords: *Vachellia nilotica*, antibacterial activities, phytochemistry, Burkina Faso

Introduction

De nos jours, les maladies infectieuses constituent un problème de santé publique à cause de leur fréquence et de leur gravité (KOUADIO *et al.*, 2015). En effet, elles sont à l'origine de plus de 17 millions de décès par an dans le monde dont plus de la moitié provient du seul continent africain (OMS, 2006). En plus, ces dernières années ont été marquées par une augmentation inquiétante de la multirésistance de bactéries pathogènes, de la résurgence de maladies infectieuses que l'on croyait parfaitement maîtrisées et à l'émergence de nouveaux pathogènes (COMPAORE *et al.*, 2016). Un nombre croissant d'infections deviennent plus difficiles à traiter, voire impossible parfois, du fait de la perte d'efficacité des antibiotiques. De nouveaux mécanismes de résistance apparaissent et se propagent dans le monde entier, compromettant ainsi notre capacité à traiter les maladies infectieuses (ZAHAR *et al.*, 2016). Cette menace est aggravée par le déclin de l'identification et du développement de nouveaux antibiotiques en ce début de XXI^e siècle (DONADIO *et al.*, 2010; BASSETTI *et al.*, 2013). Ce phénomène d'antibiorésistance associé au coût sans cesse élevé des prix des médicaments disponibles ont suscité un regain d'intérêt pour la pharmacopée traditionnelle (KONAN *et al.*, 2013; AKOUA *et al.*, 2014).

En effet, les plantes contiennent un très grand nombre de molécules pouvant avoir des modes d'action pharmacologiques variés voire synergiques vis-à-vis des microorganismes. De ce fait, le recours à des plantes médicinales apparaît comme l'une des meilleures solutions et c'est ainsi que nous nous sommes intéressés à *V. nilotica* qui est un genre d'arbre et d'arbuste appartenant à la famille des Fabacées (sous-famille des Mimosadées) (SEIGLER *et al.*, 2014). Dans le langage courant, les espèces de ce genre prennent, selon les cas, l'appellation d'*Acacia mimosa* ou encore *Acacia tamarin*. *V. nilotica* est indigène dans les zones sèches d'Afrique tropicale et d'Asie occidentale, et plus à l'Est jusqu'à l'Inde, le Myanmar et le Sri Lanka. En Afrique subsaharienne, il existe une grande variété d'*Acacias* dans les zones sub-montagneuses en passant par les zones arides ou subarides (FAGG et MUGEDO, 2005). Certaines espèces comme *V. nilotica* se trouvent en Afrique sub-saharienne plus précisément au Burkina Faso, au Mali et au Niger ; cet arbre épineux peut atteindre douze mètres de hauteur et possède des feuilles composées (GUINKO, 1997). Ses fleurs en petites boules jaunes d'or donnent des gousses plates contenant des graines. Sur le plan thérapeutique, la décoction de ses gousses sans graines est utilisée dans le traitement des diarrhées chroniques, des affections génito-urinaires, de la gingivite, des ulcères... (DABUR *et al.*, 2007; ALTEMIMI *et al.*, 2017).

Malheureusement, un des problèmes posés par l'utilisation des plantes médicinales dans les soins de santé est le manque de données scientifiques sur l'efficacité et l'innocuité (KOUADIO *et al.*, 2015). En effet, au Burkina Faso, les productrices de la poudre ou décoctions d'organes de la plante utilisées pour les différents soins n'observent pas toujours les Bonnes Pratiques d'Hygiène et de Production (BPH/BPP) dans les différents process. Ce faisant, la consommation de ce médicament traditionnel peut entraîner des intoxications. Le présent travail vise donc à évaluer l'activité antibactérienne des extraits aqueux de la poudre de gousse de *V. nilotica* sur des bactéries multirésistantes isolées de malades du Centre Hospitalier Universitaire Yalgado Ouédraogo (CHU-YO), de réaliser un criblage phytochimique ainsi que de contrôler la qualité sanitaire de ces échantillons de poudre.

I. Matériel et méthodes

1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé pour cette étude se compose uniquement de la poudre de gousses de *V. nilotica* vendue dans la ville de Ouagadougou et utilisée pour soigner certaines maladies. Six (6) échantillons ont été prélevés dans six (6) marchés : Zone 1 (E1), 1200 Logements (E2), Karpala (E3), Patte d'oie (E4), Kalgodin (E5) et Dassasgho (E6).

1.2. Souches bactériennes

Les souches de bactéries pathogènes ayant servi au test d'antibiose ont été gracieusement offertes par le Centre Hospitalier Universitaire Yalgado Ouédraogo (CHU-YO). Ce sont : *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* et *Bacillus cereus*. Il s'agit de souches multirésistantes isolées de malades (*S. dysenteriae* et *S. typhimurium* sont résistants aux macrolides, aux lincosamides et aux sulfamides, *S. aureus* est résistant à la méticilline, aux aminosides et à la vancomycine et *B. cereus* est résistant aux céphalosporines et à la pénicilline G).

1.3. Site de l'étude

L'étude s'est déroulée au Département Technologie Alimentaire de l'Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies (DTA/IRSAT) et au Laboratoire de Biochimie et de Chimie Appliquées (LABIOCA) de l'Université Joseph Ki-ZERBO. Les analyses ont été effectuées dans les laboratoires de microbiologie, physico-chimie et toxicologie des dits instituts. L'étude a été réalisée durant la période allant du mois de Janvier à Avril 2021.

1.4. Méthodes

1.4.1. Détermination de l'activité antibactérienne des extraits de plantes

1.4.1.1. Les souches indicatrices de germes pathogènes et les conditions de cultures

Quatre (4) souches pathogènes dont deux à Gram-positif (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*) et deux à Gram-négatif (*Shigella dysenteriae* et *Salmonella typhimurium*) ont été utilisées pour l'analyse des activités antibactériennes des extraits aqueux des différentes poudres de gousses. Ces souches bactériennes congelées sous forme de stocks de cultures à -80 °C dans un bouillon supplémenté de 20 % de glycérol ont été revivifiées dans du Bouillon Brain Hearth Infusion (BHI) avant leur utilisation.

1.4.1.2. Production de poudres de gousses de *V. nilotica* au laboratoire

Afin de réaliser une étude comparative de la qualité sanitaire des poudres collectées, des gousses de *V. nilotica* ont également été achetées au marché pour produire la poudre au laboratoire du Département Technologie Alimentaire de l'Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies (DTA/IRSAT) en respectant les Bonnes Pratiques d'Hygiène et de Fabrication (BPH/F). Les gousses pourries ou moisies ont été éliminées par triage, ensuite celles retenues ont été bien lavées puis séchées avant d'être broyées dans un mixeur. La poudre obtenue a été divisée en deux parties : l'une a été stérilisée (E8) à l'autoclave à 121 °C pendant 15 mn et l'autre non (E7). Les deux types de poudre obtenus ont été utilisés pour une étude comparative du niveau de contamination des différentes poudres et de la thermo stabilité des composés antibactériens.

1.4.1.3. Préparation des extraits aqueux

Les extraits aqueux ont été obtenus par macération de 25 mg de poudre végétale dans 100 ml d'eau distillée stérile pendant 24 h à 45 °C, après dissolution, le surnageant a été purifié par centrifugation puis filtré avec des filtres millipores de 0,22 µm.

1.4.1.4. Ensemencement des micro-organismes pathogènes

Les microorganismes indicateurs ont été cultivés dans du bouillon BHI pendant une nuit à 37 °C, 100 µl de culture microbienne ont été ensemencées dans la masse avec 10 ml de gélose Muller Hinton dans des boîtes de Pétri, laissées ensuite à solidifier.

1.4.1.5. Préparation des disques

La méthode de diffusion sur disque décrite par KHOLKHAL (2005) a été utilisée. Les disques blancs d'antibiotiques de 5 mm de diamètre ont été chargés par imbibition pendant 15 min dans 150 µl de chaque extrait à tester à une concentration de 25 mg/ml. Après séchage à l'étuve de 45 °C, ils ont été déposés à la surface préalablement ensemencée avec les microorganismes pathogènes. Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés au millimètre près après 24 h d'incubation. Les essais ont été répétés trois fois.

1.4.2. Analyses phytochimiques

1.4.2.1. Extraction des métabolites secondaires

L'extraction des composés phytochimiques a été réalisée par macération aqueuse. 10 g de poudre végétale ont été mis en agitation dans 100 ml d'eau pendant 24 h. Le mélange a ensuite été filtré au papier filtre. Le filtrat a été lyophilisé et gardé dans des sachets de congélation jusqu'à leur utilisation. Les macérés aqueux ont ensuite été utilisés pour le criblage phytochimique des composés bioactifs.

1.4.2.2. Calcul du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction sera calculé selon la formule suivante :

$$R = \frac{\text{Masse de résidu}}{\text{Masse totale}} \times 100$$

1.4.2.3. Criblage phytochimique (CIULEI, 1982)

a) Détection des alcaloïdes par le test de Dragendorff

Un volume de 10 ml d'extrait aqueux a été évaporé à sec. Le résidu a été dissout dans 1,5 ml de HCl 2 % à chaud et divisé à volume égal dans deux tubes à essai : un tube témoin et un deuxième tube auquel on ajoute 3 à 4 gouttes de réactif de Dragendorff (tétra-iodo-bismuthate de potassium). Une opalescence ou un précipité blanc-jaunâtre avec le réactif de Dragendorff indique la présence d'alcaloïdes.

b) Détection des tanins et polyphénols

À 1 ml d'extrait dilué dans 2 ml d'eau ont été ajoutés 2 à 3 gouttes de solution de FeCl₃ 1 % :

- ✓ L'apparition d'une coloration bleue noire a indiqué la présence de tanins galliques
- ✓ L'apparition d'une coloration vert noirâtre a indiqué la présence de tanins catéchiques.

c) Détection des flavonoïdes : réaction de Shibata

Un volume de 3 ml d'extrait aqueux a été évaporé à sec. Le résidu a été dissout dans 1 à 2 ml de méthanol 50 % à chaud. Un ou deux fragments de tournures de magnésium y ont été ajoutés, suivis de 4 à 5 gouttes d'acide chlorhydrique concentrée. L'apparition d'une coloration rouge ou orange indique la présence d'aglycones flavoniques.

d) Détection des stérols et triterpènes : réactif de Liebermann-Burchard

Un volume de 10 ml d'extrait aqueux a été évaporé à sec et le résidu a été dissout dans 0,5 ml d'anhydride acétique et 0,5 ml de chloroforme. En faisant couler délicatement sur la paroi du tube 1 à 2 ml d'acide sulfurique concentré, un anneau rouge-brun ou violet se forme au niveau de la séparation des deux liquides indiquant la présence de stérols et/ou tri-terpènes.

e) Détection des saponosides

Dans un tube à essai, 2 ml d'extrait aqueux diluée (1/1) ont été agités vigoureusement. L'apparition d'une colonne de mousse de 1 cm et persistante pendant 15 mn au moins indique la présence de saponosides.

1.4.2.4. Dosage des composés phénoliques totaux

La teneur en composés phénoliques totaux, de l'extrait aqueux de la poudre de gousse de *V. nilotica* a été évaluée par une méthode standard. Le dosage a été réalisé selon la procédure décrite par Singleton (1999). Elle repose sur la grande oxydabilité des composés phénoliques. Le réactif utilisé est un mélange de phosphomolybdate et de tungstate de sodium qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols en milieu alcalin, en un mélange de bleu de tungstène et de molybdène. Le réactif de Folin-Ciocalteu (FCR) a ses propriétés voir colorimétriques modifiées lorsqu'il est complexé à certaines molécules. Il réagit avec la fonction OH des phénols. Une courbe étalon a d'abord été réalisée en utilisant l'acide gallique (200 mg/l). Ainsi dans chaque tube eppendorf ont été ajoutés, selon les solutions obtenues après dilution, 0,125 ml de solution d'échantillon à doser (acide gallique ou extrait à doser) et 0,625 ml de la solution de FCR (0,2 N). Après 5 min d'incubation à l'obscurité, on y a ajouté 0,5 ml d'une solution de carbonate de sodium (75 g/l). Après agitation, les différentes solutions ont été laissées au repos, à l'abri de la lumière pendant 2 heures. Les lectures ont été faites à une longueur d'onde égale à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible, contre un blanc constitué d'un mélange de 1 ml de FCR et 0,5 ml de carbonate de sodium. Trois lectures ont été réalisées par échantillon d'extrait et les résultats ont été exprimés en mg Equivalent Acide Gallique pour 100 mg d'extrait sec (mg EAG/100 mg de poudre).

$$T = \frac{C * D}{C_i}$$

T : teneur en phénoliques totaux en mg EAG/100 mg d'extrait sec

C : concentration de l'échantillon lue sur la courbe étalon

D : facteur de dilution de l'échantillon soumis au dosage

C_i : concentration initiale de la solution échantillon à doser

1.4.2.5. Dosage de la vitamine C

L'extraction de la vitamine C a consisté à macérer 500 mg de poudre de gousses dans 10 ml d'eau distillée pendant 1 min. Le mélange a été ensuite centrifugé à 10 000 rpm pendant 10 min et le surnageant a été récupéré pour le dosage de l'acide ascorbique.

La méthode utilisée pour la quantification de l'acide ascorbique est celle décrite par MEHTA *et al.*, (2018) avec des modifications mineures. Cette méthode se base sur la décoloration du 2,6-dichlorophenolindophenol (DCPIP) par l'acide ascorbique. 500 µl des extraits ont été ajoutés à 1500 µl de DCPIP (0,2 mM). Chaque test a été réalisé en triplicata. L'absorbance a été lue au spectrophotomètre à 515 nm contre un blanc constitué de 1500 µl de DCPIP et 500 µl d'eau distillée. Une courbe d'étalonnage a été tracée avec l'acide ascorbique dans la gamme de concentration 10 µg/ml à 100 µg/ml. Les teneurs en acide ascorbique ont été exprimées en µg Équivalent Acide Ascorbique pour 100 mg de poudre (µg EAA/100 mg de poudre) et ont été calculées en utilisant la formule ci-dessous :

$$T = \frac{C * D * 100}{C_i}$$

T : concentration de l'échantillon en acide ascorbique exprimée en µg EAA/100 mg de poudre

C : concentration de l'échantillon lue en µg EAA/ml

D : facteur de dilution

C_i : concentration initiale de l'échantillon (mg/ml).

1.4.3. Contrôle de la qualité microbiologique des échantillons de poudre de gousses

Les méthodes d'analyses microbiologiques ont concerné le dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FAMT), le dénombrement des levures et des moisissures, le dénombrement de la grande famille des entérobactéries et des coliformes totaux.

Pour ce faire, 10 g de chaque échantillon de poudre de *V. nilotica* ont été placés dans un sachet stomacher stérile dans lequel ont été ajoutés 90 ml d'eau peptonée stérile (5 g de peptone, 8,5 g de NaCl et 1000 ml d'eau distillée, pH 7,0). L'ensemble a été homogénéisé au stomacher (Laboratory Blender, Model stomacher 400, London, England) pendant 2 min à la vitesse normale (230 rpm). A partir de cette suspension mère, une série de dilutions décimales successives a été réalisée pour l'ensemencement dans la gélose (ISO 6887-1, 1999). La flore totale a été dénombrée après incubation à 30 °C pendant 72 h sur la gélose Plate Count Agar (Oxoid, England) selon la norme ISO 4833 (2003). Les coliformes totaux ont été dénombrés selon la norme ISO 4832 (2006) après ensemencement sur la gélose biliée au cristal violet, lactose et au rouge neutre (VRBL) (Liofilchem, Italy) après incubation à 37 °C pendant 24 h. La norme ISO 4833 (2003) a été utilisée pour le dénombrement des levures et moisissures sur la gélose Sabouraud au chloramphenicol (Liofilchem, Italy) après une période d'incubation de 2 à 3 jours à 30 °C. Les entérobactéries ont été dénombrées selon la norme ISO 21528-2 (2015) après ensemencement sur la gélose biliée au cristal violet, glucose et au rouge neutre (VRBG) (Liofilchem, Italy) après incubation à 37 °C pendant 24 h.

1.5. Analyse statistique

Les données ont été analysées avec le logiciel XLSAT Pro 2016 et Excel 2016. L'analyse de la variance (ANOVA) a été réalisée pour la comparaison des moyennes grâce au test de Tukey (HSD) au seuil de signification de $p \leq 0,05$ pour la zone d'inhibition des extraits de poudre sur les souches pathogènes.

II. Résultats

2.1. Activité antibactérienne

Les résultats du test d'antibiose de la poudre de *V. nilotica* sont présentés dans le tableau I et la figure 1. Il apparaît que l'extrait aqueux de tous les échantillons de poudre ont un diamètre d'inhibition au moins de 11 mm sur les quatre bactéries tests après 24 h d'incubation. L'échantillon E8 produit au DTA et stérilisé à 121 °C pendant 15 min a montré des activités antibactériennes de $14 \pm 0,5$ mm sur *S. typhimurium*. Le diamètre le plus élevé qui est de $17 \pm 1,7$ mm a été obtenu avec l'extrait de poudre de 1200 Logements (E1) sur *S. dysenteria*. Les analyses statistiques montrent des différences significatives entre l'activité antibactérienne des huit échantillons de poudres (Six collectées dans les marchés et deux produites au laboratoire).

Tableau I : Activité antibactérienne des extraits aqueux de poudres de gousses de *V. nilotica* sur les bactéries pathogènes par la technique de diffusion sur agar

Echantillon	Diamètre des zones d'inhibition (mm)			
	<i>S. dysenteria</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>
	Diamètre d'inhibition (mm)			
E1	14±0,1 ^{ab}	14,67±1,1 ^{cc}	13,67±0,5 ^{cdc}	14±0,1 ^{cdc}
E2	17±1,7 ^{bc}	14,67±0,5 ^{cc}	14±0 ^{dc}	15±0 ^{dd}
E3	12±0,5 ^{aab}	11±1,7 ^{aa}	13±0 ^{bc}	12±0 ^{aa}
E4	13,76±0,5 ^{ab}	12,33±0,5 ^{abc}	12±0 ^{aa}	13±0 ^{abb}
E5	13±0,5 ^{aab}	13,67±0,5 ^{bc}	12,33±0,5 ^{aba}	13±0 ^{abb}
E6	12,67±0,5 ^{aab}	12,33±0,5 ^{abc}	14±0,5 ^{dc}	14,33±0,5 ^{cd}
E7	12±0 ^{aa}	12±0 ^{aba}	12±0 ^{aa}	12±0 ^{aa}
E8	13,67±0,5 ^{ab}	14±0,5 ^{bcc}	13±0 ^{bc}	13,67±0,5 ^{bc}
Pr>r	0,000	0,000	0,000	0,000

± x = Erreur type

Pour chaque colonne et pour chaque bactérie test, les moyennes qui ont en commun une même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Tukey au seuil de probabilité de 5%



Figure 1 : Effet des extraits aqueux des poudres de gousses de *V. nilotica* sur les bactéries pathogènes. **1 :** E1 sur *S. aureus*, **2 :** E3 sur *B. cereus*, **3 :** E6 sur *S. typhimurium*

2.2. Criblage phytochimique

2.2.1. Rendements des extractions

L'échantillon de poudre de *V. nilotica* de 1200 Logements (E2) présente un rendement de 11,42 % et celui produit au DTA non stérilisés (E7), un rendement de 10,45 %. Ils présentent les meilleurs taux de rendements obtenus à partir de l'extraction aqueuse. Le taux le plus bas, 8,36 % a été obtenu avec l'échantillon de Dassasgho (E6) (Tableau II).

Tableau II : Rendements des extractions

Echantillon	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8
Solvant d'extraction	Eau	Eau	Eau	Eau	Eau	Eau	Eau	Eau
Rendement (%)	9,84	11,42	9,51	10,73	10,21	8,36	10,45	9,84

2.2.2. Criblage phytochimique (tests en tube)

Le criblage phytochimique réalisé avec les extraits aqueux de poudres de gousses de *V. nilotica* a permis de détecter certains composés chimiques. La plupart des composés chimiques recherchés tels que les tanins, les polyphénols, les alcaloïdes, les saponines, les stérols et les terpènes ont été testés positifs. L'échantillon E8 stérilisé renferme également ces quatre groupes de composés phytochimiques (Tableau III).

Tableau III : Composés chimiques présents dans les gousses de *V. nilotica*

Composés chimiques	Extraits aqueux d'échantillons de poudre							
	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8
Alcaloïdes	+	+	+	+	+	+	+	+
Saponosides	+	+	+	+	+	+	+	+
Stérols et terpènes	+	+	+	+	+	+	+	+
Tanins	+	+	+	+	+	+	+	+
Polyphénols	+	+	+	+	+	+	+	+

- : Absence ; + : Présent

2.3. Résultats du dosage des polyphénols et de la vitamine C

Les teneurs en polyphénols et en vitamine C des extraits de poudre de gousses de *V. nilotica* sont présentées dans le tableau IV. On remarque que l'échantillon E5, avec une teneur en polyphénol de $11,34 \pm 0,09$ mg EAG/100 mg d'extrait représente la valeur la plus élevée. L'échantillon E7 produit au DTA et non stérilisé à l'autoclave avait la teneur la plus élevée en vitamine C, $5,59 \pm 0,03$ µg EAA/100 mg d'extrait. La teneur en polyphénol et en vitamine C dans l'échantillon E8 stérilisé est supérieure à la teneur moyenne de ces composés dans tous les échantillons.

Tableau IV : Teneurs en polyphénols et en vitamine C des extraits d'échantillons de poudre

Teneurs	Extraits d'échantillons de poudre								Pr > F
	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	
Polyphénols (mg EAG/100 mg)	$7,59 \pm 0,34^{bc}$	$9,69 \pm 0,29^{ad}$	$6,93 \pm 0,18^{cd}$	$8,22 \pm 0,19^{ab}$	$11,34 \pm 0,09^a$	$10,31 \pm 0,24^a$	$10,98 \pm 0,09^{ab}$	$8,89 \pm 0,09^{ab}$	0,00
Vitamine C (µg EAA/100 mg)	$5,14 \pm 0,55^{ab}$	$5,15 \pm 0,10^{ab}$	$4,64 \pm 0,03^b$	$5,15 \pm 0,03^{ab}$	$4,95 \pm 0,07^{ab}$	$5,13 \pm 0,13^{ab}$	$5,59 \pm 0,03^a$	$5,28 \pm 0,30^{ab}$	0,01

$\pm x =$ Erreur type

Pour chaque colonne et pour chaque bactérie test, les moyennes qui ont en commun une même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Tukey au seuil de probabilité de 5%.

2.4. Appréciation de la qualité microbiologique des différentes poudres de gousses

Les résultats des analyses microbiologiques des poudres de gousses de *V. nilotica* sont présentés dans le tableau V et la figure 2. Il est à noter que les résultats du dénombrement ont montré la présence d'une FAMT importante avec une valeur de $9,1 \cdot 10^6$ UFC pour l'échantillon E1. Le dénombrement des levures et moisissures a également montré la valeur la plus élevée qui était de $9,3 \cdot 10^5$ UFC pour l'échantillon E1. Par ailleurs, tous les échantillons de poudres étaient pratiquement exempts de coliformes totaux et d'entérobactéries.

Tableau V : Dénombrement de microorganismes dans les poudres de *V. nilotica* en UFC/g

Echantillons	FAMT	Levures et moisissures	Coliformes totaux	Entérobactéries
E1	$9,1 \cdot 10^6$	$9,3 \cdot 10^5$	<10	<10
E2	$3,5 \cdot 10^5$	$7,3 \cdot 10^4$	<10	<10
E3	$2,5 \cdot 10^6$	$2,2 \cdot 10^5$	<10	<10
E4	$2,0 \cdot 10^8$	$2,3 \cdot 10^5$	<10	<10
E5	$2,4 \cdot 10^5$	$7,1 \cdot 10^5$	<10	<10
E6	$3,5 \cdot 10^7$	$9,7 \cdot 10^5$	<10	<10
E7	$6,7 \cdot 10^5$	$3,3 \cdot 10^5$	<10	<10
E8	<10	<10	<10	<10

UFC Unité Format colonie par gramme



Figure 2 : Qualité microbiologique des échantillons de poudre de gousses de *V. nilotica* **1** : Levures et moisissures dans l'échantillon E1 ; **2** : Levures et moisissures dans l'échantillon E7 ; **3** : Flore Aérobie Mésophile Totale dans l'échantillon E3

III. Discussion

A une concentration de 25 mg/ml, les extraits aqueux de poudre de gousses de *V. nilotica* ont induit une importante zone d'inhibition sur tous les germes tests. L'échantillon de 1200 Logements affiche le diamètre d'inhibition le plus élevé sur les souches testées. Cette variation pourrait s'expliquer par le rendement d'extraction à l'eau qui est tributaire de la finesse de la poudre de gousses utilisée qui peut engendrer une différence d'efficacité thérapeutique d'un échantillon à l'autre (DIANDE, 2021). Le milieu de vie de la plante de *V. nilotica* peut également influencer la teneur en composés chimiques des organes de celles-ci (racine, feuilles, fruits, ...). Nos résultats corroborent ceux obtenus par BANSO (2020) qui avait obtenu des diamètres d'inhibition allant de 10 à 20 mm avec des extraits aqueux de *V. nilotica* à une concentration de 35 mg/ml sur des bactéries pathogènes. Les extraits aqueux affectent aussi

bien la croissance des bactéries Gram+ que celle des bactéries Gram-. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par OMAN *et al.* (1992) avec des extraits aqueux de fruits de *V. nilotica* sur une panoplie de germes pathogènes. KAUR *et al.* (2005) ont également mis en évidence l'effet d'inhibition d'extraits aqueux, chloroformique, acétonique et benzolique de fruits de *V. nilotica* sur deux souches de référence TA98 et TA100 de *S. typhimurium* en Californie.

Le criblage phytochimique a révélé la présence de tanins, d'alcaloïdes, de saponines, de stérols et de terpènes, dont les propriétés antibactériennes sont connues ; les tanins sont réputés pour leur effet inhibiteur sur la croissance des microorganismes dont les bactéries (ALTEMIMI *et al.*, 2017). Ils sont dotés également d'un pouvoir cicatrisant (KOUADIO *et al.*, 2015). Quant aux saponines, elles forment une classe de composés bioactifs aux caractéristiques savonneuses facilitant l'absorption des aliments et des médicaments (BANSO, 2020). De plus, les alcaloïdes ont des vertus thérapeutiques avérées chez l'homme; effets anti tumoraux, antalgiques, spasmolytiques, vasodilatateurs, et ils sont également des agents de traitement de la maladie d'Alzheimer (MCCALLEY, 2002). Il s'avère donc que la plante médicinale étudiée recèle des propriétés antimicrobiennes variées. Les extraits aqueux de poudres de gousses contiennent également de la vitamine C, qui est directement lié aux propriétés pharmaceutiques, car c'est un antioxydant naturel permettant de libérer les radicaux libres ; elle améliore la synthèse du fer, du collagène, détient une vertu cicatrisante et agit sur les infections virales. Le criblage phytochimique ainsi que l'activité antibactérienne expliquent l'utilisation des organes de cette plante au Burkina Faso dans le traitement de nombreuses pathologies telles que les ulcères, les gastroentérites, la gingivite, les hémorroïdes. En effet, KAPER *et al.* (2004) ainsi que KONE (2001) ont mis en évidence le rôle de *Escherichia coli*, *S. dysenteria* et de *S. aureus* dans la surinfection de l'ulcère de burili, la dysenterie, des gastroentérites et des infections urinaires. Par ailleurs, RAHEEL *et al.* (2014) ont révélé les propriétés cytotoxiques, antimutagène, spasmogène, vasoconstricteur, antipyrétique, anti-asthmatique, anti-diabétique, antiplaquettaires, agrégateur, anti-virus de l'hépatite C (VHC), antiplasmodium, molluscicide, anti-Virus de l'Immunodéficience Humain (VIH), antifongique, antispasmodique, antibactérien et antihypertenseur des gousses, des feuilles et de l'écorce de la plante. Toutefois, la présence des tanins et des stérols incite à une utilisation raisonnable de la poudre de gousse de cette plante, car pouvant être toxique à une certaine dose (RAHEEL *et al.*, 2014).

Les résultats des analyses microbiologiques effectuées sur les échantillons de poudres ont donné en UFC/g des valeurs pour la FAMT et les levures et moisissures supérieures à la limite recommandée par les spécifications de la norme burkinabè NBF 01-215 : 2019. En effet, cette norme fixe respectivement une limite maximale de 10^5 UFC/g et 10^3 UFC/g pour la flore aérobie mésophile totale (FAMT) et les levures et moisissures. Par ailleurs, pour ces deux grands groupes de microorganismes, l'échantillon E7 produit au DTA dans le respect des Bonnes Pratiques d'Hygiène et de Production, mais non stérilisé est aussi non conforme aux dites normes. Ces résultats soutiennent la thèse selon laquelle, les graines de *V. nilotica* ont été sujettes à une contamination initiale élevée, ce qui la rend impropre à la consommation humaine puisque consommée dans cet état la poudre issue peut provoquer d'autres infections. La FAMT est un indicateur de mauvaise conservation (DIANDE, 2021). Nous avons aussi constaté lors de l'échantillonnage que l'environnement dans lequel les produits sont exposés était insalubre. En outre ces résultats pourraient également s'expliquer par le fait que ces poudres vendues dans la ville de Ouagadougou à but thérapeutique n'ont subi aucun traitement thermique pour réduire la charge bactérienne et fongiques. Ces germes pourraient donc provenir du local, du manipulateur ou de la matière première. Les échantillons E1 et E6 sont les plus contaminés en levures et moisissures, le taux de contamination varie en fonction de l'origine des échantillons. La contamination élevée de ces échantillons pourrait provenir des eaux, du vent, et même des sols du fait que les graines sont ramassées par terre, ou pourrait provenir également de la manutention pendant le procédé de fabrication où le respect des bonnes pratiques fait défaut.

En effet, aux marchés de Zone I et de Dassasgho, les poudres et les graines de *V. nilotica* sont déposées à même le sol, sans dispositif de protection contre la poussière alors que dans les autres marchés, elles sont dans des sacs. La stérilisation de l'échantillon E8 produit au laboratoire du DTA n'a pas affecté les composés chimiques responsables de l'activité antibactérienne de la poudre de gousse de *V. nilotica*. Cet échantillon ne renferme pratiquement pas de microorganismes pathogènes, ce qui veut dire que les vendeuses de ces poudres pourraient aussi inclure une étape de chauffage afin de s'assurer de l'innocuité de leur produit. En revanche, malgré le non-respect des bonnes pratiques, tous les échantillons ne contenaient pratiquement pas de coliformes totaux ni d'entérobactéries. L'absence de ces microorganismes d'origine fécale pourrait expliquer l'efficacité de la poudre à inhiber leur développement.

Conclusion

Cette étude a permis de mettre en évidence l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de la poudre de gousses de *V. nilotica* sur des bactéries multirésistantes isolées de malades au Centre Hospitalier Universitaire Yalgado Ouédraogo (CHU-YO). La recherche des composés bioactifs ainsi que la qualité microbiologique de la poudre vendue dans la ville de Ouagadougou ont également été réalisées. Les tests de caractérisation chimique nous ont permis de mettre en évidence la présence de tanins, de polyphénols, de saponines, de glycosides et d'alcaloïdes dans les extraits aqueux des huit (8) échantillons ainsi que le dosage de composés phénoliques et de la vitamine C. Il ressort donc que cette plante contient des composés chimiques importants, ce qui a expliqué son efficacité à inhiber la croissance de tous les germes tests. Les échantillons analysés présentent une charge de la flore aérobie mésophile totale ainsi que les levures et moisissures supérieures à la norme en vigueur au Burkina Faso. La qualité du produit est donc non satisfaisante aux différents paramètres microbiologiques, excepté pour les coliformes totaux et les entérobactéries. Cette forte contamination pourrait être imputable soit aux mauvaises conditions de production et de manipulation, soit à la matière première elle-même. En tout état de cause, il conviendrait de stériliser la poudre avant utilisation, d'autant plus que le criblage phytochimique a révélé la nature thermostable des composés responsables de cette activité antibactérienne. Ces résultats nous montrent que la poudre de *V. nilotica* peut être efficace pour soigner certaines maladies, mais qu'elle doit être fabriquée dans de bonnes conditions pour ne pas qu'elle soit, a contrario, l'origine de certaines infections à la consommation.

Références bibliographiques

- AKOUA KC., GUESSEND N., GBONON V., FAYEKETTE AYH., DOSSO M. 2014. Methicillin-resistant of *S. aureus* activity in Abidjan (1998-2001): A new hospital problem. *Médecines Maladies Infectieuses*. *Médecines Maladies Infectieuses*, 34 (3): 132-136.
- ALTEMIMI A., LAKHSSASSI N., BAHARLOUEI A., WATSON DG., LIGHTFOOT DA. 2017. Phytochemicals: Extraction, isolation and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Plants*, 6 (42): 1-23. DOI: 10.3390/plants6040042
- BANSO A. 2020. Phytochemical and antibacterial investigation of bark extracts of *Acacia nilotica*. *International Journal of Medicinal Plants Research*, 9 (11): 1-4.
- BASSETTI M., MERELLI M., TEMPERONI C., ASTILEAN A. 2013. New antibiotics for bad bugs: where are we? . *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 12 (1-22). DOI: doi:10.1186/1476-0711-12-22
- CIULEI. 1982. Practical manuals on the industrial utilization of chemical and aromatic plants. Methodology for analysis of vegetable drugs. ed. Ministry of chemical industry, Bucharest. 67 p.

COMPAORE H., SAWADOGO/LINGANI H., SAVADOGO A., DIANOU D., TRAORE SA. 2016. Isolation and morphological characterization of fungi producing antibacterial substances from local food in Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Science*, 10 (1): 198-210. DOI : <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v10i1.15>

DABUR R., GUPTA A., MANDAL TK., SINGH DD., BAJPAI V., GURAV AM., LAVEKAR GS. 2007. Antimicrobial activity of some indian medicinal plants. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 4 (3): 313-318. DOI: 10.4314/ajtcam.v4i3.31225

DIANDE T. 2021. Contrôle qualité phytosanitaire de la poudre de gousses de *Vachellia nilotica* (L) PJH Hurter et Mabb, vendue dans la ville de Ouagadougou pour ses propriétés thérapeutiques. Mémoire de Licence, Université Pr Joseph Ki-zerbo, 65 p.

DONADIO S., MAFFIOLI S., MONCIARDINI P., SOSIO M., JABES D. 2010. Antibiotic discovery in the twenty-first century: current trends and future perspectives. *The Journal of Antibiotics*, 63 (8): 423-430. DOI: 10.1038/ja.2010.62

FAGG CW., MUGEDO JZA (2005). *Acacia nilotica* (L.) Willd. ex Delile. In: Jansen, P.C.M. & Cardon, D. (Editors). PROTA (Plant Resources of Tropical Africa / Ressources végétales de l'Afrique tropicale), Wageningen, Netherlands. Consulté le 30 juin 2021.

GUINKO S. 1997. Au Burkina Faso et au Niger, Afrique de l'Ouest. L'Homme et le milieu végétal dans le bassin du lac Tchad : Séminaire du Réseau Méga-Tchad, Sèvres, du 18 au 20 Septembre 1991. 35p.

KAPER JB., NATARO JP., MOBLEY HLT. 2004. "Pathogenic *Escherichia coli*". *Nature Reviews Microbiology*, 2: 123-144.

KAUR K., MICHAEL H., ARORA S., HÄRKÖNEN P., KUMAR S. 2005. In vitro bioactivity-guided fractionation and characterization of polyphenolic inhibitory fractions from *Acacia nilotica* (L.) Willd. ex Del. *Journal of ethnopharmacology*, 99 (3): 353-360. DOI: 10.1016/j.jep.2005.01.040. PMID: 15908150

KHOLKHAL W. 2005. Recherche de nouvelles souches fongiques productrices d'antibiotiques à partir du sol et des concrétions sédimentaires des grottes de Ain Fezza. Mémoire de Magister, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, 85 p.

KONAN KF., GUESSENND KN., OUSSOU KR., BAHIC., COULIBALY A., DJAMAN AJ., DOSSO M. 2013. Effet antibactérien de l'extrait aqueux de l'écorce de *Terminalia glaucescens* Planch ex Benth (Combretaceae) sur la croissance in vitro des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (EBLSE) *International Journal of Biological and Chemical Science*, 8 (3): 1192-1201.

KONE M. 2001. Evaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne de *Chromolaena odorata* L. sur des germes de surinfection de l'ulcère de Burili. Mémoire de Diplôme d'Etudes Approfondies, Université d'Abobo-Adjamé, Abidjan, 49 p.

KOUADIO NJ., GUESSENND NK., KONE MW., MOUSSA B., KOFFI YM., GUEDE KB., YAO K., BAKAYOKO A., TRABI HF., DOSSO M. 2015. Evaluation de l'activité des feuilles de *Mallotus oppositifolius* (Geisel.) Müll.-Arg (Euphorbiaceae) sur des bactéries multirésistantes et criblage phytochimique. *int. J. Biol. Chem. Sci.*, 9 (3): 1252-1262. DOI : <http://ajol.info/index.php/ijbcs>

MCCALLEY DV. 2002. Analysis of the *Cinchona* alkaloids by high-performance liquid chromatography and other separation techniques. *Review. Journal of Chromatography A*, 976: 1-19.

OMAN M., ABD EN., EMIL CR., FRANZ FR., FRANZ S., UTE E., GUENTER JK. 1992. Antimicrobial activity of *Acacia nilotica* (L.) Willd. ex Del. var. *nilotica* (Mimosaceae). Journal of Ethnopharmacology, 37: 77-79.

OMS. 2006. Maladies infectieuses en Afrique. Situation et perspectives d'action. 7ème Réunion du forum pour le partenariat avec l'Afrique. Moscou, Russie. p.19.

RAHEEL R., ASLAM MS., ASGHAR S., ASHRAF M. 2014. Phytochemical, ethnopharmacological review of *Acacia nilotica* (Desi Kikar) and taxo-pharmacology of genus *Acacia*. Indian Research Journal of Pharmacy and Science, 2: 65-72.

SEIGLER D., EBINGER JE., AUPIC C., NOVON AGG. 2014. BioOne Lectotypification chez les espèces d'*Acacias* américains (Fabaceae Mimosoideae), avec clarification des types au Muséum National d'Histoire Naturelle.

ZAHAR JR., WEISS E., TABAH A. 2016. Quelle définition et quelle stratification de la désescalade antibiotique ? How can antibiotic de-escalation be defined and stratified? Réanimation, 25: 263-265. DOI: 10.1007/s13546-015-1165-4