

Evaluation *In Vitro* De L'activité Antimicrobienne Des Extraits De *Cassia Alata* Linn. (Fabaceae)

Passimna Pissang
Amégninou Agban
Yao Patrick Hoekou
Tchadjobo Tchacondo

Ecole Supérieure des Techniques Biologiques et Alimentaires (ESTBA),
Université de Lomé, Togo

Adodo Yao Sadj
Laboratoire de Bactériologie médicale,
Institut National d'Hygiène (INH), Lomé, Togo

Stéphane Effoe
Simplicie Damintoti Karou
Ecole Supérieure des Techniques Biologiques et Alimentaires (ESTBA),
Université de Lomé, Togo

Komlan Batawila
Laboratoire de Botanique et Ecologie Végétale,
Faculté des Sciences (FDS-UL), Université de Lomé, Togo

doi: 10.19044/esj.2016.v12n21p116 [URL:http://dx.doi.org/10.19044/esj.2016.v12n21p116](http://dx.doi.org/10.19044/esj.2016.v12n21p116)

Abstract

Cassia alata (Linn) is a Togolese flora plant traditionally used in the treatment of skin diseases and diarrhea. The objective of this work was to evaluate the in vitro antimicrobial activity and to highlight certain phytochemical total and fractionated extracts of this plant harvested in southern Togo. These extracts were obtained from polar solvents such as water, ethanol and ethanol / water mixture in equal volume. Microbial strains used consisted of bacteria, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Klebsiella oxytoca* and yeasts, *Candida albicans* and *Candida krusei*. The antimicrobial activity was evaluated by the liquid medium dilution method coupled to spread on solid medium. Highlighting chemical groups was made by a brief qualitative phytochemical analysis from staining tests. The results show that the ethanol leaves crude extract (EBE) was the most active of all the tested microbial strains. This extract completely inhibited the growth of *S. aureus* (MIC = 1.25mg/ ml.); very strongly *C. albicans* (PI = 94.34 %) and *C. krusei* (PI = 90.67%) and strongly *E. coli* (PI = 80%) and *K. oxytoca*

(PI=79.14 %). The other extracts were active in some organisms with percentage inhibition (PI) of between 68 and 97 %. The phytochemical screening of some extracts revealed the presence of flavonoïdes, tannins and saponins. *C. alata* seems to contain compounds that interact to inhibit the growth of yeasts and bacteria. These results in part to justify the use of this plant in the Togolese traditional medicines.

Keywords: Togo, *Cassia alata*, extracts, antimicrobial activity

Résumé

Cassia alata Linn. est une plante de la flore togolaise utilisée traditionnellement dans le traitement des dermatoses et des diarrhées. L'objectif de ce travail a consisté à évaluer l'effet antimicrobien des extraits totaux et fractionnés de cette plante récoltée dans le Sud du Togo. Les extraits ont été obtenus à partir de solvants polaires tels que l'eau, l'éthanol et le mélange hydroéthanolique. Les souches cliniques microbiennes utilisées étaient composées de bactéries (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Klebsiella oxytoca*) et de levures (*Candida albicans* et *Candida krusei*). L'activité antimicrobienne a été évaluée par la méthode de dilution en milieu liquide couplée à l'étalement sur milieu solide. La mise en évidence des groupes chimiques a été faite par une analyse phytochimique qualitative sommaire à partir des tests de coloration. Les résultats montrent que l'extrait brut éthanolique de feuilles (EBE) a été le plus actif sur toutes les souches microbiennes testées. Cet extrait a inhibé totalement la croissance de *S. aureus* (CMI = 1,25 mg/ml.) ; très fortement *C. albicans* (PI= 94,34%) et *C. krusei* (PI = 90,67%) et fortement *E. coli* (PI= 80%) et *K. oxytoca* (PI= 79,14%). Les autres extraits ont été actifs sur certains germes avec des pourcentages d'inhibition (PI) compris entre 68 et 97%. Le criblage phytochimique a permis de révéler la présence des flavonoïdes, des tannins et des saponosides. *C. alata* semble renfermer des composés qui interagissent pour inhiber la croissance des levures et des bactéries. Ces résultats permettent en partie de justifier l'utilisation de cette plante dans la pharmacopée traditionnelle togolaise.

Mots clés : *Cassia alata*, extraits, pouvoir antimicrobien, Togo

Introduction

L'utilisation de matières végétales pour prévenir et traiter les maladies infectieuses avec succès au cours des années a attiré l'attention du monde scientifique (Falodun *et al.*, 2006). De nombreuses enquêtes ethnobotaniques ont été menées pour collecter les plantes sur la base de renseignements fournis par les populations locales dans le but de trouver de

nouvelles substances bioactives. En effet, une des plantes les plus utilisées dans la localité de collecte pour traiter les infections fongiques superficielles est *Cassia alata* (Figure 1). C'est une plante originaire de l'Asie du sud, des îles Fiji, de l'Australie du Nord, de l'Afrique et d'Amérique latine (Parsons et Cuthbertson, 1992). Elle est connue sous le nom de dartrier en France, casse aillée aux Antilles francophone, ringwor shrub en Jamaïque, bois dartre en Guyane, dartres en Haïti, tchèkètè au sud Togo. Elle appartient à la famille des Fabaceae et est souvent rencontrée dans les jardins et les bords des forêts marécageuses. C'est un arbrisseau de 3 m de hauteur à grandes feuilles composées et pennées. *C. alata* est reconnaissable à ses fleurs jaunes d'or, formant de grands épis dressés très ornementaux. Le fruit est une gousse droite. Les fleurs mélangées aux feuilles sont utilisées aux Antilles contre les dartres. La décoction des racines est utilisée pour le traitement des blennorragies chroniques. Au Sénégal, le jus des folioles fraîchement broyés et ajoutés au citron sert à lutter contre les affections cutanées (Traore *et al.*, 1992). Les enquêtes ethnobotaniques faites auprès des tradipraticiens d'Agbélové au Togo, localité de la cueillette révèlent que *C. alata* est utilisé traditionnellement pour traiter surtout les dermatoses dues aux germes fongiques du genre *Candida*. Ce dernier cause souvent une importante mortalité chez les patients immunodéprimés tels que les patients atteints du sida, les patients cancéreux sous chimiothérapie ou après transplantation de la moelle osseuse (Lagane, 2007). Les tradithérapeutes utilisent également cette plante dans d'autres circonstances comme les diarrhées infantiles qui sont très fréquentes et répandues dans les communautés démunies, malnutries avec un manque d'hygiène accru. Les diarrhées constituent aujourd'hui la deuxième cause de mortalité infantile dans le monde. Elles tuent environ 760000 enfants chaque année selon l'OMS (2011). Au Togo, le taux de mortalité infantile lié aux maladies diarrhéiques est estimé à 15% (OMS, 2011). Les tradithérapeutes d'Agbélové utilisent *C. alata* sur la base des connaissances empiriques. Les plantes utilisées en médecine traditionnelle doivent normalement faire l'objet d'étude botanique, phytochimique et pharmacologique dans le but de s'assurer de leur efficacité afin de justifier leur utilisation. Aujourd'hui, nombreux sont les laboratoires qui se tournent vers les plantes pour la recherche des composés actifs (Pousset, 2006). Il est estimé à environ 25% les prescriptions médicales dérivées directement ou indirectement des plantes (Fowler, 2006).

Un autre aspect de l'intérêt accordé aux substances végétales s'explique par la résistance croissante de certains germes aux antibiotiques classiques. Ce qui suscite la recherche de nouveaux principes actifs à base de plantes comme source de composés antimicrobiens pour faire face aux pathologies infectieuses afin de mettre sous contrôle de nouvelles infections (Akharaiyi and Boboye, 2010). Durant ces deux dernières décennies, les cas

de multi- résistances bactériennes aux antibiotiques se sont multipliés et depuis 2000, l’OMS les a déclaré « problème de santé publique» (OMS, 2002). Les études menées par bon nombre de chercheurs sur cette plante concernent pour la plupart l’étude ethnobotanique Dutta *et al.*, (2012), phytochimique Zhonqquo *et al.*, (2009) et pharmacologique tel que les études de Kaushik *et al.*, (2015). Très peu de chercheurs ont abordé le volet activités antimicrobiennes du moins à notre connaissance.

La présente étude se propose alors comme objectifs d’évaluer les activités antimicrobiennes de cette plante de la flore togolaise sur les souches de *S. aureus*, *E. coli*, *K. oxytoca*, *C. albicans* et *C. Krusei* et de mettre en évidence les composés phytochimiques responsables de cette activité.

Matériel et Méthodes

Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est constitué de feuilles et de racines de *C. alata*. Les organes de plantes ont été collectés en mai 2012 à Agbélouvé dans la région maritime du Togo. Les échantillons ont été identifiés au Laboratoire de Botanique et Ecologie Végétale de la Faculté des Sciences de l’université de Lomé.



Figure 1 : Rameau fleuri et feuillé de *Cassia alata*.

Souches microbiennes

Les microorganismes utilisés étaient constitués de deux souches de levures, *C. albicans* et *C. krusei* et trois souches bactériennes, *S. aureus*, *E. coli* et *K. oxytoca*. Ils ont été isolés au laboratoire de bactériologie médicale de l’Institut National d’Hygiène (INH) de Lomé et du CHU Sylvanus Olympio de Lomé. Ces souches microbiennes ont été sélectionnées sur la base de leur sensibilité aux antimicrobiens conventionnels généralement utilisé en pratique courante. Un autre critère de sélection concerne leur fréquence d’isolement des produits biologiques des laboratoires de

bactériologie des centres hospitalo-universitaires et centres de santé du Togo. Les souches de références nous ont faits défaut.

Méthodes

Extractions

Au laboratoire, les deux organes de plante ont été lavés puis découpés en fins morceaux, séchés à la température ambiante à l'abri de la lumière du jour pendant environs 02 semaines. Ces organes de plante sont ensuite pulvérisés à la moulinette de marque RETSCH, type SK 100. Les poudres obtenues ont été conservées dans des flacons opaques. Deux types d'extractions ont été réalisés. Il s'agit de l'extraction brute ou totale et celle obtenue par fractionnement ou extraction séquentielle avec des solvants à polarité croissante.

Extraction brute

Trois extractions brutes on été effectuées avec trois solvants différents: l'eau, l'éthanol et le mélange éthanol : eau. Avec chaque solvant, on a macéré d'abord 100 g de poudre de feuille dans 300 ml de mélange acétone : éther de pétrole pendant 20 à 30 mn pour extraire la chlorophylle et ses dérivés. Sur chaque résidu nous avons ajouté une quantité convenable de solvant d'extraction. Le tout est macéré pendant 48 heures puis filtré sur papier filtre Whatman N° 1. Les filtrats sont concentrés en évaporant totalement le solvant au Rotavapor de type Heidolph 94200. On obtient une gamme d'extrait : extrait brut aqueux de feuilles (EBA), extrait brut éthanolique (EBE) et extrait brut hydroéthanolique (EBHE). Ces extraits énurés ont été testés.

Extraction par fractionnement

La méthode utilisée est celle de l'épuisement par un système de solvant à polarité croissante telle que décrite par (Kaouadji *et al.*, 1986 ; Agban *et al.*, 2012) avec quelques adaptations. Elle consiste à fractionner les composés après élimination de la chlorophylle par le mélange acétone – éther de pétrole. Ainsi, 100 g de poudre de feuilles ou de racines ont été élués sous agitation électrique par le système de solvants ci-après : Acétone : Acétate d'éthyle (AcEth) = 1/3 : 2/3 pendant 30 mn; AcEth =1 (12 h) ; AcEth : CHCl₃ = 1/2 : 1/2 (12 h) ; CHCl₃ = 1 (24 h) ; CHCl₃ : EtOH = 1/2 : 1/2 (12 h) et 1/3 : 2/3 (12 h) ; EtOH = 1 (24 h) ; EtOH : H₂O Δ40°C = 1/2 : 1/2 (12 h) ; H₂O Δ40°C= 1 (24h).

Les filtrats obtenus sont concentrés en faisant évaporer totalement les solvants au Rotavapor type Heidolph 94200 pour obtenir des extraits secs.

Les fractions suivantes ont été testées : la fraction aqueuse de feuilles (FAf), la fraction éthanolique de feuilles (FEf), la fraction hydroéthanolique

de feuilles (FHEf) ; la fraction aqueuse de racines (FAR), la fraction éthanolique de racines (FEr) et la fraction hydroéthanolique de racines (FHEr).

Criblage phytochimique

La mise en évidence des groupes phytochimiques tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tannins et les saponosides a été effectuée par des méthodes qualitatives de coloration selon Harbone (1998).

Tests antimicrobiens

Les tests antimicrobiens ont été réalisés selon la méthode de dilution en milieu liquide couplé à l'étalement sur milieu solide approprié (de Souza *et al.*, 1993 ; Agban *et al.*, 2012).

Préparation de la solution d'extrait

Les solutions d'extrait ont été préparées à la concentration initiale de 20 mg/ml, puis stérilisées par filtration à l'aide de seringues-filtre sur membrane millipore 0,2 µm. La stérilité des solutions d'extrait a été vérifiée en ensemençant des aliquotes de chaque solution d'extrait sur des géloses Muller Hinton (MH) pour les bactéries et Sabouraud Dextrose pour les levures.

Préparation de la suspension microbienne

Une colonie de 24 heures de chaque germe a été prélevée à l'aide d'une anse stérile et inoculée dans 10 ml des bouillons appropriés (bouillon nutritif pour les bactéries et bouillon Sabouraud pour les levures). A partir de cette suspension, des dilutions successives par progression géométrique de raison 10^{-3} ont été effectuées (10^{-3} , 10^{-6} , 10^{-9}). Ces dilutions ont été ensemencées sur milieu MH et Sabouraud pour choisir la dilution (inoculum) qui donne des colonies bien isolées et dénombrables pour la réalisation des tests.

Test présomptif

Le test présomptif consiste à utiliser une seule concentration des extraits pour identifier les extraits actifs. Les solutions d'extraits ont été testées à 20 mg/ml. L'essai a été constitué en introduisant dans un tube à hémolyse stérile, 0,5 ml de l'extrait à tester et 10 µl de la suspension microbienne. Dans le tube témoin, l'extrait a été substitué par 0,5 ml de bouillon nutritif stérile. Un témoin positif a été réalisé dans les mêmes conditions en utilisant la gentamicine (0,015 mg/ml) pour les bactéries et l'amphotéricine B (0,10 mg/ml) pour les levures. Les tubes ainsi constitués sont incubés à 37 °C pendant 24 à 48 heures puis les essais et les témoins

sont étalés sur milieux gélosés appropriés à raison de deux boîtes par tube. Les milieux gélosés sont ensuite incubés à 37 °C pendant 24 à 48 heures. Les colonies sont alors comptées sur chaque boîte et les pourcentages de survivance et d'inhibition sont calculés par rapport au témoin négatif selon la formule : $PI = 100 (1 - X / Y)$

PI : Pourcentage d'inhibition. ; **X** : nombre de colonies du germe dénombré sur la boîte test. **Y** : nombre de colonies du germe dénombré sur la boîte témoin.

Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

Les extraits qui ont donnés un taux d'inhibition supérieur ou égale à 90% ont été utilisés pour la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI). A partir d'une solution mère d'extrait ($C_0 = 20\text{mg/ml}$), une série de dilutions successives par progression géométrique de raison 2 a été effectuée de manière à obtenir une gamme de concentrations finales comprises entre 20 et 0,156 mg/ml. La procédure reste la même que pour le test présomptif. La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été déterminée à l'œil nu, et correspond donc à la plus faible concentration de l'extrait pour laquelle aucune croissance n'est visible.

Résultats et discussion

Ce travail a consisté à l'évaluation des activités antifongiques et antibactériennes de neuf (09) extraits de *C. alata* pour vérifier de façon scientifique les vertus prônées par l'utilisation traditionnelle de cette plante. Les résultats et discussion ont porté sur les extraits bruts (feuilles) et les fractions (feuilles et racines).

Rendements d'extraction

Le tableau 1 illustre les différents extraits, leur aspect, couleur et rendements respectifs.

Tableau 1 : Rendements d'extraction

Extraits	Aspect	Couleur	Rendement (%)
EBA	Gommeux	Marron	7,35
EBE	Friable	Verte	1,74
EBHE	Friable	Marron	4,42
FAf	Friable	Marron	2,18
FEf	Friable	Noir	0,9
FHEf	Gommeux	Marron	0,54
FAR	Friable	Marron	2,76
FEr	Friable	Marron	1,14
FHEr	Friable	Marron	1,74

EBA = extrait brut aqueux de feuilles, EBE= extrait brut éthanolique de feuilles, EBHE= extrait brut hydroéthanolique de feuilles, FAf = fraction aqueuse de feuilles, FEf= fraction éthanolique de feuilles FHEf = fraction hydroéthanolique de feuilles FAR = fraction aqueuse de racines, FEr = fraction éthanolique de racines, FHEr = fraction hydroéthanolique de racines.

La majorité des extraits présente un aspect friable sec alors que la fraction aqueuse de feuille et la fraction hydroéthanolique de feuilles présente un aspect gommeux. Pour la couleur, on a constaté que la plupart des extraits est de couleur marron, la couleur verte ayant disparu presque. Le rendement maximal a été obtenu avec l'extrait brut aqueux soit 7,35%. Le minimum est obtenu avec l'extrait séquentiel hydroéthanolique de feuilles soit 0,54%. L'aspect friable sec des extraits prouve que l'évaporation des solvants d'extraction a été totale. Par contre les extraits d'aspect gommeux signent encore la présence de solvants résiduels. En ce qui concerne la couleur, la majorité des extraits est de couleur marron implique que les chlorophylles et dérivés (carotènes et xanthophylles) ont été entièrement extraits car leur présence pourrait éventuellement masquer ou encombrer l'activité des principes actifs présents dans les extraits. Faruk *et al.*, (2010) ont trouvé par chromatographie deux couleurs majoritaires dans les fractions extraites de la même plante, le marron et le jaune. Le rendement maximal a été obtenu avec l'extrait total aqueux soit 7,35%. Ali-Emmanuel *et al.*, (2002) ont trouvé un rendement d'extraction égale à 5,8%. Faruk *et al.*, (2010) ont trouvé 5,98% pour le même extrait. L'eau étant un composé très polaire permet l'extraction de plusieurs métabolites à la fois notamment ceux qui ont dans leurs formules des groupements cétoniques et énoliques surtout Agban *et al.*, (2012).

Activités antimicrobiennes

Le tableau 2 présente l'activité des extraits sur les germes soumis aux tests.

Tableau 2 : Activités inhibitrices des extraits en pourcentages d'inhibition (%).

Extraits	Souches microbiennes				
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. oxytoca</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. krusei</i>
EBA	81,45	0	0	97,67	94,85
EBE	100	80,3	79,14	94,34	90,67
EBHE	100	75,55	69,45	95,56	90,67
FAf	77,86	0	0	27,3	29,74
FEf	81,17	70,56	68,78	15,26	22,13
FHEf	85,54	80,84	82,45	0	0
FAR	90,46	0	0	45,67	39,82
FEr	97,78	91,13	93,57	84,67	89,87
FHEr	34,12	10,43	20,13	27,12	28,57
Genta 15	100	100	100	NT	NT
Ampho B100	NT	NT	NT	100	100

EBA = extrait brut aqueux de feuilles, **EBE**= extrait brut éthanolique de feuilles, **EBHE**= extrait brut hydroéthanolique de feuilles, **FAf** = fraction aqueuse de feuilles, **FEf** = fraction éthanolique de feuilles **FHEf** = fraction hydroéthanolique de feuilles **FAR** = fraction aqueuse de feuilles, **FEr** = fraction éthanolique de racines, **FHEr** = fraction hydroéthanolique de racine, **Genta15**= gentamicine 15µg/ml, **Ampho B100** = Amphotéricine B 100 µg/ml, NT = non testé.

L'extrait est dit actif si et seulement si le PI (pourcentage d'inhibition) est $\geq 50\%$. L'activité est totale si $PI = 100\%$. L'extrait est dit très actif si $PI \geq 90\%$ et actif si $PI \geq 70\%$. L'extrait est dit moyennement actif si $50 \leq PI \leq 70\%$, (Agban *et al.*, 2012).

Dans la gamme des extraits bruts, l'extrait brut éthanolique a donné des pourcentages d'inhibition les plus élevés. En effet cet extrait a inhibé totalement *S. aureus* avec $PI = 100\%$, et très fortement *C. albicans* avec $PI = 97,67\%$ et *C. krusei* avec $PI = 94,85\%$. L'inhibition a été forte avec *E. coli* : $PI = 80,30\%$ et *K. oxytoca* : $PI = 79,14\%$. L'extrait brut aqueux a été inactif sur les entérobactéries. Pour ce qui est des fractions, la fraction éthanolique de racines a donné les meilleurs pourcentages d'inhibition sur toutes les souches testées. Les fractions éthanolique et hydroéthanolique de feuilles ont donné des pourcentages d'inhibition élevés avec $PI > 68\%$ sur les bactéries mais ont été inactifs sur les levures avec $PI < 50\%$ voire nul. De tous les extraits utilisés la fraction hydroéthanolique de racines a été inactive sur toutes les souches testées. Parallèlement aux comportements des bactéries vis-à-vis des différents extraits mis en contact en terme de sensibilité ou de résistance, une remarque a été faite concernant les deux entérobactéries utilisées à savoir *E. coli* et *K. oxytoca* et levures, *C. albicans* et *C. krusei* lors de nos essais. Les deux germes sont soit sensibles à l'extrait utilisé avec des pourcentages d'inhibition égaux, $PI = 100\%$ ou très proche ; les deux sont résistants en même temps avec toujours des PI égale $PI = 0\%$ ou très voisine. On n'a pas observé un cas où *E. coli* est sensible et *K. oxytoca* résistant ou *C. albicans* est sensible et *C. krusei* résistant aux extraits et vis versa. L'analyse des résultats du tableau 2 montre que la plupart des extraits a été actifs sur la majorité des souches microbiennes étudiées sauf la fraction hydroéthanolique de racine qui a été inactive sur toutes les souches. Ces résultats confirment ceux de la littérature (Selvi *et al.*, 2012; Timothy *et al.*, 2012). D'autre part, Somchit *et al.*, (2003) ont montré que les extraits aqueux et éthanoliques ont donné des diamètres d'inhibition respectivement 16 mm et 14 mm sur *C. albicans* et 14 mm et 11 mm sur *S. aureus*. Ces auteurs ont également montré qu'*E. coli* était totalement résistant à ces extraits. Selvi *et al.*, (2012), par contre, ont montré une grande activité des extraits alcooliques sur *Escherichia coli* avec un diamètre d'inhibition atteignant 20 mm pour $100 \mu\text{g.ml}^{-1}$ d'extrait. Timothy *et al.*, (2012) ont trouvé de leur côté que les extraits aqueux et éthanoliques des feuilles de *C. alata* inhibaient la croissance de *C. albicans* avec respectivement $26,90 \text{ mg.ml}^{-1}$ et $5,60 \text{ mg.ml}^{-1}$ en termes de CMI. El-Mahmood *et al.*, (2008) ont trouvé que l'extrait méthanolique a donné des diamètres d'inhibition égales respectivement à 15 mm et 17 mm sur *S. aureus* et *E. coli* pour 200 mg.ml^{-1} d'extrait. La forte activité observée avec les extraits totaux peut s'expliquer par le fait que, ces extraits renfermeraient plusieurs composés d'activité synergique. Cette

synergie a donné une capacité d'inhibition beaucoup plus forte à l'extrait. Contrairement aux fractions, obtenues à partir d'un système de solvants ou mélange de solvant à polarité croissante. Les fractions étant purifiés ou semi-purifiés avec une distribution relative d'un nombre restreint de principes actifs ce qui donne alors une activité inhibitrice moindre que dans le premier cas, Agban *et al.*, (2012). D'autres part, la fraction éthanologique de racines agit de manière très forte sur toutes les souches, les autres extraits à partir des racines ont été inactifs. En effet ce résultat confirme en partie les considérations obtenues auprès des tradithérapeutes d'Agbélouwé qui utilisent la décoction des racines pour traiter les diarrhées. D'autres auteurs ont montré par ailleurs qu'aucun composé biologiquement actif n'a été retrouvé dans les racines de cette plante, Fuzelier *et al.*, (1982). L'extrait brut aqueux a été actif sur *S. aureus* et très actif sur les levures mais totalement inefficace sur les entérobactéries en occurrence *E. coli* et *K. oxytoca* or la plupart des diarrhées enthéropathogènes chez les petits enfants est causée par *E. coli*. L'extrait à partir de l'éthanol a donné un meilleur résultat sur les entérobactéries, donc ce solvant est alors le mieux adapté pour réaliser les recettes dans le traitement des diarrhées infantiles en pratique traditionnelle dans la communauté d'étude.

Concentrations minimales inhibitrices

Les résultats du tableau 3 montrent l'évolution de la sensibilité des souches aux différentes dilutions d'extraits.

Tableau 3 : Détermination des concentrations minimales inhibitrices.

Extraits	Concentrations d'extraits								
	0,156	0,312	0,625	1,25	2,50	5	10	20	CMI
EBE	20	42	85	100	100	100	100	100	1,25
EBHE	14	34	56	78	100	100	100	100	2,50
EBA	24	43	100	100	100	100	100	100	0,62

EBA (actif sur *C. albicans*, CMI=0,62mg/ml) = extrait brut aqueux de feuilles, **EBE** (actif sur *S. aureus*, CMI=1,25mg/ml) = extrait brut éthanologique de feuilles, **EBHE** (actif sur *E. coli*, CMI=2,5mg/ml) = extrait brut hydroéthanologique de feuilles.

Les résultats du tableau 3, montrent les concentrations minimales inhibitrices des différentes dilutions de quelques extraits ayant donné une inhibition totale ou très forte. L'extrait brut éthanologique a donné une CMI = 1,25 mg.ml⁻¹ sur *S. aureus*. L'extrait brut hydroéthanologique a donné une CMI = 2,5 mg.ml⁻¹ sur *E. coli* et l'extrait brut aqueux a donné une CMI = 0,625 mg.ml⁻¹ sur *C. albicans*. Timothy *et al.*, (2012) ont trouvé pour l'extrait brut aqueux une CMI = 26,90 mg/ml et 5,60 mg/ml pour l'extrait brut éthanologique. Cette nette différence pourrait dépendre en partie des conditions expérimentales.

Composés phytochimiques

Les résultats des tests phytochimiques sont présentés au tableau 3.

Tableau 4: Criblage phytochimique de quelques extraits

Extraits	Alcaloïdes	Flavonoïdes	Saponosides	Tanins
EBE	-	+++	++	+
EBHE	-	++	-	+
FEr	-	++	-	+

+ = Présence, - = Absence ; +++ = coloration très intense, ++ = coloration intense, **EBE**= extrait brut éthanologique de feuilles, **EBHE**= extrait brut hydroéthanologique de feuilles, **FEr** = Fraction éthanologique de racine

Les résultats du tableau 4 présentent les différents composés recherchés. L'extrait brut éthanologique renferme trois composés tels que les flavonoïdes, les tanins et les saponosides. L'extrait brut hydroéthanologique et la fraction éthanologique racinaire renferme les flavonoïdes et les tanins. Les trois extraits ne renferment pas d'alcaloïdes. L'extrait éthanologique à lui seul renferme trois composés.

Au terme de l'analyse phytochimique de ces extraits bruts et fractions ; les flavonoïdes, tannins et saponosides ont été détectés. L'activité antimicrobienne de plusieurs molécules appartenant à ces différents groupes a par ailleurs déjà été signalée par plusieurs auteurs (Bruneton, 1999 ; Cowan, 1999). La présence de plusieurs de ces groupes chimiques est en accord avec les travaux effectués par d'autres auteurs, en occurrence les travaux de El-Mahmood et Doughari, (2008) qui ont révélé la présence des flavonoïdes, des tanins, des phénols, des alcaloïdes, des saponines et des anthraquinones dans les extraits de cette plante. Faruk *et al.*, (2010) ont révélé uniquement la présence des stéroïdes dans une fraction active. Ces différents composés pourraient expliquer la forte activité antibactérienne observée au cours de cette étude, surtout l'extrait brut éthanologique qui contient à lui seul trois composés qui combineraient leur action pour donner les résultats observés. En plus, la similitude d'activité, sensibilité ou de résistance observée avec les deux bactéries, *E. coli* et *K. oxytoca* appartenant à la famille des Enterobacteriaceae et des levures, *C. albicans* et *C. krusei* vis-à-vis des extraits serait liée probablement à la similitude de structure chimique au niveau des sites réactifs tels que la paroi, la membrane nucléaire des cellules microbiennes (Pierre-Yves, 2008).

Conclusion

La présente étude a permis d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de feuilles et racine de *C. alata* sur *E. coli*, *K. oxytoca*, *S. aureus*, *C. albicans* et *C. krusei*. Les résultats montrent que les extraits testés inhibent diversement la croissance des germes utilisés. L'extrait brut éthanologique a été

le plus actif. Le criblage phytochimique sur ces extraits testés a permis d'identifier des flavonoïdes, de saponosides et des tanins qui seraient à l'origine des activités observées. Ces résultats permettent de valider en partie l'utilisation de la plante dans le traitement des infections dues aux microorganismes testés et contribuent à la justification scientifique des divers usages de cette plante dans la pharmacopée traditionnelle togolaise. Toutefois, il serait important de faire des études phytochimique et toxicologique sur les extraits de la plante en vue d'isoler la molécule active.

References:

- Agban A., Karou D.S., Tchacondo T., Atchou K., Batawila K. Evaluation de l'activité antifongique des extraits de *Cassia alata* L. et de *Piliostigma thonningii* (Schum) Milne Redhead. Rev. CAMES-Série A, 13(1), (2012).
- Akharaiyi F.C., Boboye B. Antibacterial and phytochemical evaluation of three medicinal plants. Journal of Natural Product, 3: 27-34, (2010).
- Ali-Emmanuel N., Moudachirou M., Akakpo A.J., Quetin-Leclercq J. Activités antibactériennes in vitro de *Cassia alata*, *Lantana camara* et *Mitracarpus scaber* sur *Dermatophylus congolensis* isolé au Bénin. Revue Élev. Méd. Vét. Pays trop., 55(3) : 183-187, (2002)
- Bruneton J. Pharmacognosie – phytochimie plantes médicinales, 3^e Edition. Edition Tec & Doc et médicinales internationales 94234 Cachan, Paris (France) ; 1120pp, (1999).
- Cowan M.M. Plants Products as antimicrobials agents. Clin. Microbiol. Rev. 12 : 564-582, (1999).
- De Souza C., Ameganvi K.K., Koumaglo K., Gbeassor M. Etude de l'activité antimicrobienne des extraits aqueux totaux de dix plantes médicinales. Revue de médecine et pharmacopées africaines, 2(7) : 107-115, (1993).
- Chatterjee S., Chatterjee S., and Dutta S *. An overview on the Ethnophytopathological studies of cassia alata- an Important Medicinal plant and the effect of VAM Growth and Productivity. International journal of Research in Botany, 17p, (2012).
- El- Mahmood A.M. and Doughari J.H. Phytochemical screening and antibacterial evaluation of the leaf and root extracts of *Cassia alata* Linn. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2(7): 124-129, (2008).
- Falodun A., Okenroba L.O., Uzoamaka N.,. Phytochemical screening and anti-inflammatory evaluation of methanolic and aqueous extracts of *Euphorbia heterophylla* Linn (Euphorbiaceae). Afr. J. Biotechnol. 5 (6): 529-531, (2006).
- Faruk Z.U., Rahman U.A., Bello M., Obianke M. and Atiku F.A. Antimicrobial activity of the active component of *Cassia alata* (Linn) leaves. Nigeria Journal of Basic and Applied Science 18(1): 97-100, (2010).
- Fowler Z.L., Baron C.M., Panepinto J.C., and Koffas M.A.G. Melanization

- of flavonoids fungal and bacterial laccases. *Yeast*, 28 (3): 181-188, (2011).
- Fuzelier M.C., Mortier F., Lectard D.P. Activité antifongique de *Cassia alata*. *Ann. phar. franc.*: 357-363, (1982).
- Harborne J.B. *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis*. 3rd ed. London: *Chapman & Hall*. ISBN: 0-412-57270-2, 302 p, (1998).
- Kaouadji M., Agban A., Mariotte A.M., Tissut M. Lonchocarpin, a Stilbene and Lonchocarpusone, an isoflavone: two new pyranopolyphenols from lonchocarpus nicou roots. *Journal of Natural Product*, 49(2): 281-285, (1986).
- Kaushik NK, Bagavan A, Rahuman AA, Zahir AA, Kamaraj C, Elango G, Jayaseelan C, Kirthi AV, Santhoshkumar T, Marimuthu S, Rajakumar G, Tiwari SK, Sahal D. Evaluation of antiplasmodial activity of medicinal plants from North Indian Buchpora and south Indian
- Liu A., Xu L., Zou Z., Yang S. Studies on chemical constituents from leaves of *Cassia alata*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, April, 34(7): 861-3, (2009).
- Eastern Ghats. *Malaria Journal*; 14:65, (2015).
- Lagane C. Rôle de l'IL-13 et des ligands de PPAR- gamma dans la réponse anti-inflammatoire des macrophages murins et des monocytes humains vis-à-vis de *Candida albicans*. Implication de PPAR-gamma. Thèse d'U.F.R. des sciences de la vie et de la santé, Université de Toulouse III-Paul Sabatier, Toulouse, p.6-14, (2007).
- OMS. Quelques données sur la médecine traditionnelle et la pharmacopée africaine. [http:// www.placesante.Com/](http://www.placesante.Com/). Consulté ce 01/03/2013. (2011).
- OMS. *Statistiques sanitaires mondiales*. OMS, 171p, (2011).
- OMS. *Stratégie de l'OMS pour la Médecine Traditionnelle pour 2002-2005*, OMS/WHO éd. Genève, 65p. (2002).
- Parsons W.T., Cuthbertson E.G. Noxious weeds of Antralia. *Indata Press*, Melbourne, pp. 455 – 456, (1992).
- Pierre -Yves S. *Caractérisation structurale et dynamique de la beta-lactamase TEM-1 de la bactérie Escherichia coli* par RMN liquid. Collection mémoires et thèse électronique, université de Laval. (2008).
- Pousset J.L. Politiques nationales : place des médicaments traditionnels en Afrique. *Méd. Trop.*, (66): 606, (2006).
- Selvi V.I., Isaivani and karpagam S. Studies on antimicrobial activities from flower extract of *Cassia alata* Linn. *INT J CURR SCI* 2012, 299-303, (2012).
- Somchit M.N., Reezal I., Elysha N.I and Mutalib A.R. *In vitro* antimicrobial activity of ethanol and water extracts of *Cassia alata*, *J. Ethnopharmacol.*, 84: 1 – 4, (2003).
- Timothy S.Y., Wazis C.H., Adati R.G and Maspalma I.D. Antifungal activity of aqueous and ethanolic leaf extracts of *Cassia alata* Linn. *Journal of*

Applied Pharmaceutical Science 02(07): 182 – 185, (2012).

Traore M. Contribution à l'étude des activités cholérétique et purgative de *Cassia alata* Lnn. (Caesalpiniaceae). Thèse Doct. Vétérinaire, Univ. Cheikh Anta Diop Dakar, Sénégal, 121p, (1992).