

Propriétés antimicrobiennes de trois plantes psammophiles du littoral togolais menacées de disparition

par Eyana Amana Kpemissi⁽¹⁾, Komlan Batawila⁽¹⁾, Kouami Kokou⁽¹⁾, Kossi Koumaglo⁽²⁾, Comlan de Souza⁽³⁾, Philippe Bouchet⁽⁴⁾ et Koffi Akpagana⁽¹⁾

(1) *Laboratoire de Botanique et Écologie végétale, Faculté des Sciences, Université de Lomé, B.P. 1515, Lomé, Togo*

(2) *Laboratoire des Extraits végétaux et Arômes naturels, Faculté des Sciences, Université de Lomé, B.P. 1515, Lomé, Togo*

(3) *Laboratoire de Microbiologie, École Supérieure de Techniques biologiques et alimentaires, Université de Lomé, B.P. 1515, Lomé, Togo*

(4) *Laboratoire de Biologie végétale et de Mycologie, UFR de Pharmacie, Université de Reims, 51 rue Cognacq-Jay, F-51096 Reims Cedex*

arrivé le 10 décembre 2001, accepté le 4 avril 2002

Résumé. - Les études pharmacologiques d'extraits de feuilles de trois espèces de plantes menacées de disparition du littoral du Togo (*Conocarpus erectus* L., *Dodonaea viscosa* (L.) Jacq. et *Scaevola plumieri* (L.) Vahl.) ont permis de prouver leurs usages en thérapeutique traditionnelle. L'extrait hydro-éthanolique de feuilles de *D. viscosa* est très actif sur *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et surtout *Candida albicans* avec une concentration minimale inhibitrice de 12,5 mg/ml. Celui de *C. erectus* agit sur *S. aureus* et *P. aeruginosa* alors qu'à la même concentration celui de *S. plumieri* inhibe la croissance de *C. albicans*. Une étude chimique montre que les extraits renferment des tannins, des flavonoïdes et des saponines qui seraient à l'origine de leurs activités.

Mots-clés : Togo - espèces menacées de disparition - propriétés pharmacologiques - chimie.

Abstract. - Pharmacological studies of leaves of three species threatened of the togolese coastal ecosystems (*Conocarpus erectus* L., *Dodonaea viscosa* (L.) Jacq. and *Scaevola plumieri* (L.) Vahl.) prove their utilisation in the local pharmacopoeia. Hydro-ethonolic extract of *D. viscosa* leaves is active on *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* and specially on *C. albicans* at 12.5 mg/ml. The extract of *C. erectus* shows activity on *S. aureus* and *P. aeruginosa* and that of *S. plumieri* on *C. albicans*. These activities should be supported by tanins, flavonoids and saponins found in these extracts.

Key-words : Togo - threatened species - pharmacological studies - chemistry.

I. INTRODUCTION

L'utilisation des plantes par l'Homme est très ancienne. Mais, avec l'introduction du fer et du feu à travers la mécanisation de l'agriculture et la monoculture, on assiste de plus en plus à la dégradation de la nature et la disparition des espèces végétales. Ce phénomène s'accroît de nos jours avec la croissance démographique et l'urbanisation. Les diverses conventions sur la nature et la biodiversité (celle de Tunis en 1981 ainsi que celle de Rio en 1992) mettent l'accent sur le problème et préconisent des solutions appropriées.

En Afrique, la gestion de la diversité biologique, entreprise depuis la colonisation, a permis surtout la mise en place de programmes de conservation *in situ* à travers des aires protégées. Toutefois, la gestion de celles-ci n'a pas atténué les menaces qui pèsent sur la flore comme le prouvent les travaux d'Aké Assi (1988), Akpagana (1992) et Akpagana *et al.* (1998). Ces études dressent un état des lieux pour le littoral et la zone montagneuse du Togo. Ces zones sont sujettes à de fortes pressions anthropiques à travers la réduction des jachères, la récolte de bois-énergie, l'urbanisme, l'érosion côtière, etc. Des études prouvent que, parmi les espèces ainsi menacées de disparition, plusieurs sont utilisées en thérapeutique traditionnelle (Anoma & Aké Assi, 1989 ; Iwu, 1993).

Cette étude permet, en se fondant sur leurs usages thérapeutiques locaux, de démontrer les propriétés antimicrobiennes de trois espèces menacées de disparition de la flore togolaise. Elle est ciblée sur *Conocarpus erectus* L. (Combretaceae), *Dodonaea viscosa* (L.) Jacq. (Sapindaceae) et *Scaevola plumieri* (L.) Vahl. (Goodeniaceae) utilisées contre les dermatoses surtout. Toutes ces espèces appartiennent aux écosystèmes littoraux psammosphiles où elles sont très menacées par la dégradation de l'environnement et par la coupe pour le bois de feu.

II. MATÉRIELS ET MÉTHODES

A. Matériel végétal

Des échantillons de plantes ont été récoltés en avril 1998. Leur identification a été faite suivant Brunel *et al.* (1984) et Hutchinson et Dalziel (1954-1972) à l'herbier de l'Université de Lomé où des échantillons de référence ont été déposés.

C. erectus, connue sous les noms vernaculaires "etaklogbe", "ameklogbe", "atimigli" en éwé ou "apoussokpati" en mina, est un arbuste d'environ 3 m de hauteur. Les feuilles sont souvent glabres, alternes et cunéiformes à la base. Les inflorescences sont en tête sphériques de 8 à 10 mm de diamètre et les fruits, triangulaires, sont organisés en cônes ovoïdes.

D. viscosa, localement appelée "xenu-atikesi" en éwé, est aussi un arbuste de 3 à 5 m de hauteur dont les feuilles alternes sont simples, lancéolées et ponctuées de glandes résineuses. L'inflorescence est en grappe composée de fleurs pédicellées. Les fruits, ailés, contiennent des graines ovoïdes.

S. plumieri est un arbuste buissonnant à croissance sympodique et à ramification dichotomique. Il est localement connu en éwé sous les noms de "adikugbe" ou "apumeno". Les feuilles sont simples, charnues et alternes. Les fleurs, blanches, sont solitaires ou réunies en racèmes. Le fruit est une drupe bleu-noir à maturité.

B. Matériel microbien

Les souches microbiennes utilisées proviennent exclusivement de la collection du laboratoire de Microbiologie de l'École supérieure des techniques biologiques et alimentaires (ESTBA) de la même université. Il s'agit de quatre bactéries et d'une levure :

- bactéries Gram- : *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* ;
- bactérie Gram+ : *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* ;
- levure : *Candida albicans*.

C. Méthodes

Préparation des extraits

Après séchage à température ambiante, 200 g de feuilles broyées de chaque plante sont extraits par macération hydro-éthanolique (1/1, alcool à 95°) pendant cinq jours sous agitation magnétique. Le produit obtenu est filtré puis évaporé sous vide.

Tests chimiques

La détermination des grands groupes chimiques (alcaloïdes, flavonoïdes, saponines et tanins) de l'extrait de plante a été faite selon la technique de Harbone (1973).

Préparation des solutions d'extraits

Les solutions d'extraits sont obtenues par dilution d'une solution-mère de 100 mg/ml d'extrait brut de chaque plante. Les dilutions d'extrait de 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 ont été essayées sur les différents agents pathogènes testés.

Préparation des suspensions de germes

Des colonies de bactéries de 24 h et de *C. albicans* sont maintenues en culture respectivement sur milieu trypticase soja (TS) et bouillon de Sabouraud. Une colonie de chaque germe est prélevée puis triturée sur les parois internes d'un tube à essai contenant environ 9 ml de bouillon Eugon stérile. Cinquante microlitres de la suspension homogénéisée sont prélevés et dilués dans 10 ml de bouillon Eugon stérile. La solution obtenue constitue la suspension microbienne utilisée pour les essais.

Test présomptif

Dix microlitres de chaque suspension de germes sont mis en contact avec 0,5 ml d'extraits non dilués des trois plantes dans des tubes à hémolyse et 0,5 ml de bouillon Eugon et de bouillon Sabouraud, respectivement comme témoins pour les bactéries et la levure. L'ensemble des tubes (témoins et essais) est incubé à 37 °C pendant 24 h.

0,5 millilitre de chaque suspension microbienne incubée est étalé sur le milieu de culture dans une boîte de Petri et incubé à 37 °C pendant 24 h. À l'issue de l'incubation, on constate d'abord que le témoin a cultivé des colonies, en charge maximale. Puis, on compte le nombre de colonies dans les différents essais. L'absence totale ou partielle des colonies par rapport au témoin permet d'apprécier l'activité inhibitrice. En effet, s'il y a beaucoup de colonies, il y a survivance à l'extrait et donc peu d'inhibition. On peut alors évaluer le taux de survivance (TS) suivant la formule :

$$TS = (\text{nombre de colonies de l'essai} / \text{nombre de colonies du témoin}) \times 100$$

Cette mesure permet de déduire le taux d'inhibition T_i par la relation $T_i = 100 - TS$.

III. RÉSULTATS ET DISCUSSION

A. Constituants chimiques

L'étude chimique montre la présence de tannins, de flavonoïdes et de saponines et l'absence d'alcaloïdes (Tableau I). Les flavonoïdes et les saponines sont présentes dans les feuilles de *C. erectus* et *S. plumieri*, alors qu'ils sont absents dans celles de *D. viscosa*.

Tableau I.- Constituants chimiques des extraits éthanoliques de *C. erectus*, *D. viscosa* et *S. plumieri*.

Table I.- Chemical constituents of *C. erectus*, *D. viscosa* and *S. plumieri* ethanolic leaves extract.

Groupes chimiques	Extraits		
	<i>C. erectus</i>	<i>D. viscosa</i>	<i>S. plumieri</i>
Alcaloïdes	-	-	-
Flavonoïdes	+++	-	+++
Saponines	++	-	+++
Tannins	+++	+++	+++

B. Activité antimicrobienne des extraits

Les résultats des tests antimicrobiens sont résumés dans le tableau II qui montre que les germes sont inhibés de différentes manières aux différentes concentrations. *E. coli* est inhibé à 40% à 50 mg/ml d'extrait, alors que les autres germes le sont à 99% (*S. aureus*, *P. aeruginosa*) ou à 100% (*B. subtilis*, *C. albicans*) à la même concentration. *S. aureus* a été partiellement inhibé aux différentes concentrations utilisées.

Tableau II.- Pourcentage d'inhibition des extraits de feuilles de *C. erectus*.

Table II.- Inhibition percentage of *C. erectus* leaves extract.

Germes	Activité à différentes concentrations (mg/ml)					
	100	50	25	12,5	6,25	3,125
<i>S. aureus</i>	99,99	99,99	99,94	99,98	0	0
<i>E. coli</i>	100	40	0	0	0	0
<i>P. aeruginosa</i>	100	99,99	99,98	99,98	0	0
<i>B. subtilis</i>	100	100	99,99	0	0	0
<i>C. albicans</i>	100	100	99,99	20	0	0

Les extraits totaux de *C. erectus* ont une activité germicide sur les bactéries et la levure retenues. *E. coli* possède l'aire de survivance la plus étendue et demeure, de ce fait, l'espèce la plus résistante. En effet, à la concentration de 50 mg/ml, son taux de survivance est de 60% alors qu'à 12,5 mg/ml, ce taux est nul pour *S. aureus* et *P. aeruginosa*. Ces germes sont de ce fait les moins résistants à l'extrait total des feuilles de *C. erectus*. Certains individus de *C. albicans* survivent dès que la concentration de l'extrait baisse à 12,5 mg/ml. Son taux de survivance qui était nul à 25 mg/ml passe à 80% à 12,5 mg/ml. La représentation sous forme d'histogramme des résultats de l'action des différentes concentrations de l'extrait des feuilles de cette plante sur les microbes testés est donnée par la figure 1.

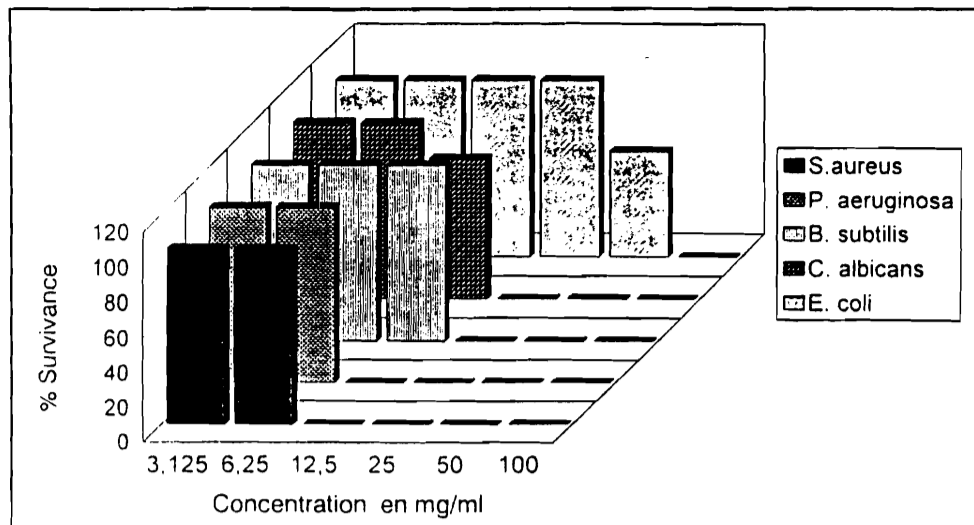


Fig. 1.- Pourcentage de survivance des différents germes à l'extrait de feuilles de *C. erectus*.

Fig. 1.- Survivance percentage of different germs to *C. erectus* leaves extracts.

L'extrait total de feuilles de *C. erectus* a eu des activités différentes sur les deux bactéries Gram-. En effet, *E. coli* s'est montré très tôt résistante à l'action de l'extrait à la concentration de 50 mg/ml, alors que *P. aeruginosa* est inhibé à 99% à la même concentration. À la concentration de 25 mg/ml, tous les individus de *E. coli* survivent alors que ceux de *P. aeruginosa* sont inhibés à 99%. Cette inhibition demeure élevée, même à la concentration de 12,5 mg/ml. Sur les bactéries Gram+, l'activité des extraits varie également selon les différentes concentrations. Alors que *S. aureus* a été partiellement inhibé par la solution de l'extrait brut dans notre manipulation, il est resté paradoxalement inhibé jusqu'à 99% lorsque la concentration a baissé à 12,5 mg/ml. À cette concentration, tous les individus de *B. subtilis* survivent. De tous les germes utilisés, *E. coli* semble le plus résistant : il survit à 60% à une concentration d'extrait de 50 mg/ml. Certains auteurs tels que Berhaut (1967) estiment que l'écorce de cette espèce contiendrait des tanins. Par ailleurs, Baba-Moussa (1999) ainsi que Baba-Moussa *et al.* (1999) ont montré que l'activité antifongique de certaines Combretaceae ouest-africaines serait liée à des tanins et à des flavonoïdes.

L'activité de *D. viscosa* a donné des résultats qui sont présentés dans le tableau III ci-après. Il montre que cet extrait est efficace jusqu'à 25 mg/ml. À cette même concentration, *E. coli* est résistant tandis que *C. albicans* et *S. aureus* demeurent les moins résistants. À la concentration 6,25 mg/ml, ces derniers sont inhibés à 99%. À 3,125 mg/ml, *C. albicans* reste inhibé à 99%. En terme de survivance, ces résultats sont exprimés par la figure 2. Cet extrait semble efficace sur *C. albicans* à toutes les concentrations utilisées. L'activité paraît semblable sur les bactéries Gram+ *S. aureus* et *B. subtilis*. Elle diffère lorsque la concentration de l'extrait est de 6,25 mg/ml. Sur les bactéries Gram-, l'activité germicide paraît significative. À 25 mg/ml, le taux de survie est nul pour *P. aeruginosa*. Il est de 30% pour

Tableau III.- Pourcentage d'inhibition des extraits de feuilles de *D. viscosa*.
 Table III.- Inhibition percentage of *D. viscosa* leaves extract.

Germe	Activité à différentes concentrations (mg/ml)					
	100	50	25	12,5	6,25	3,125
<i>S. aureus</i>	100	100	99,85	80	99,90	0
<i>E. coli</i>	100	99,99	70	0	0	0
<i>P. aeruginosa</i>	100	99,99	99,99	97,60	0	0
<i>B. subtilis</i>	100	99,99	99,99	99,99	0	0
<i>C. albicans</i>	100	100	99,99	99,99	99,98	99,91

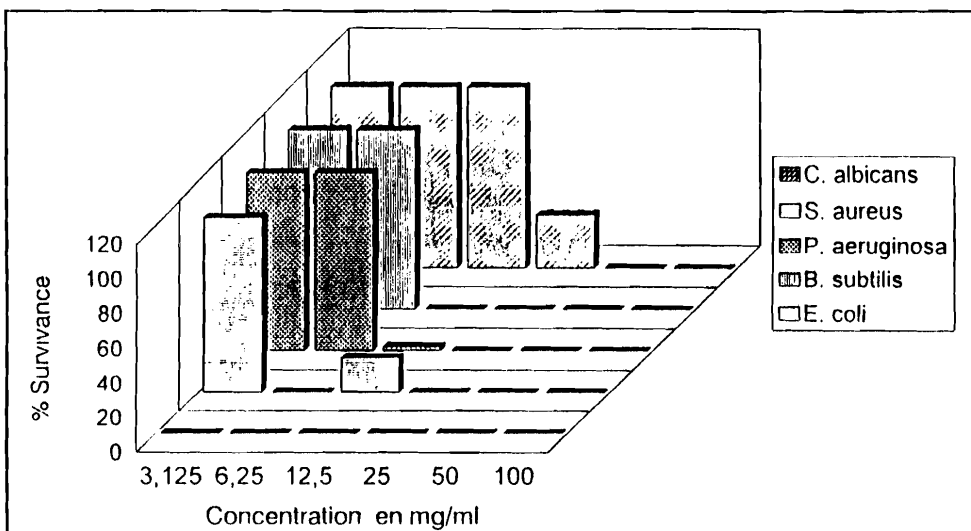


Fig. 2.- Pourcentage de survivance des différents germes à l'extrait de feuilles de *D. viscosa*.

Fig. 2.- Survivance percentage of different germs to *D. viscosa* leaves extracts.

E. coli ; alors qu'à 12,5 mg/ml, la survivance est totale pour *E. coli*, elle est pratiquement inférieure à 3% pour *P. aeruginosa*.

Des travaux antérieurs ont révélé que les feuilles de *D. viscosa* contenaient des huiles essentielles, des flavonoïdes, des diterpénoïdes, des stérols et des sapogénines (Belachew, 1993 ; Ahmad *et al.*, 1987 ; Ahmad *et al.*, 1994 ; Mata *et al.*, 1991, cités par Baba Moussa, 1999). Ces mêmes auteurs montrent que certains de ces composés secondaires sont efficaces sur les bactéries Gram+ (*B. subtilis*, *B. bronchiseptica* et *S. aureus*), les bactéries Gram- (*E. coli* et *P. aeruginosa*).

À différentes concentrations, l'activité d'extrait de feuilles de *S. plumieri* a donné les résultats présentés dans le tableau IV.

Tableau IV.- Pourcentage d'inhibition des extraits de feuilles de *S. plumieri*.
Table IV.- Inhibition percentage of *S. plumieri* leaves extract.

Germe	Activité à différentes concentrations (mg/ml)					
	100	50	25	12,5	6,25	3,125
<i>S. aureus</i>	99,96	99,96	99,86	20	0	0
<i>E. coli</i>	100	98,12	40	0	0	0
<i>P. aeruginosa</i>	100	100	99,99	20	0	0
<i>B. subtilis</i>	100	99,99	99,98	0	0	0
<i>C. albicans</i>	100	99,99	99,99	98,97	98,00	40

Ces résultats montrent que les extraits de feuilles de cette espèce ont une activité inhibitrice sur tous les germes utilisés. Cependant, *E. coli* se révèle résistante car son taux d'inhibition n'est que de 40% à la concentration de 25 mg/ml alors que tous les autres germes sont inhibés à 99% à cette même concentration. *C. albicans* demeure l'espèce la moins résistante à l'extrait. Il convient de souligner que *S. aureus* n'a été que partiellement inhibé au cours des différents essais. La figure 3 exprime, en terme de survivance, ces résultats. L'extrait total de cette espèce est d'une faible efficacité tant sur les bactéries Gram- que sur les bactéries Gram+. L'activité est semblable tant pour *S. aureus* que pour *P. aeruginosa*. On peut faire le même rapprochement entre *E. coli* et *B. subtilis*. Néanmoins, *E. coli* est plus résistante à l'action de l'extrait de cette plante. Vis-à-vis de *C. albicans*, cet extrait est très efficace. En effet, à la concentration de 6,25 mg/ml, 98% des individus tes-

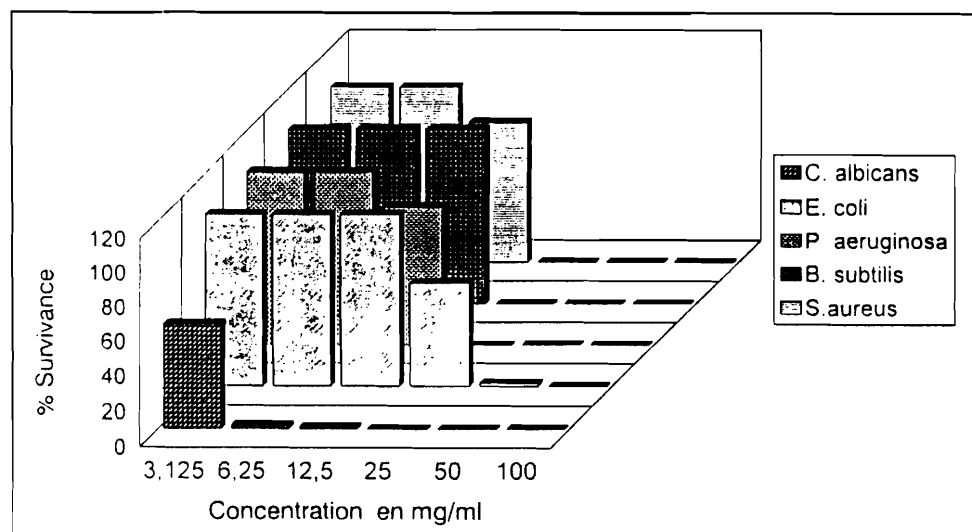


Fig. 3.- Pourcentage de survivance des différents germes à l'extrait de feuilles de *S. plumieri*.

Fig. 3.- Survivance percentage of different germs to *S. plumieri* leaves extracts.

Tableau V.- Pourcentage d'inhibition comparé des différents extraits à 12,5 mg/ml.
Table V.- Compared Inhibition percentage of different extracts at 12.5 mg/ml.

Germe	Pourcentage d'inhibition		
	<i>C. erectus</i>	<i>D. viscosa</i>	<i>S. plumieri</i>
<i>S. aureus</i>	99,98	99,90	20
<i>B. subtilis</i>	0	99,99	0
<i>E. coli</i>	0	0	0
<i>P. aeruginosa</i>	99,98	97,60	20
<i>C. albicans</i>	20	99,99	98,97

tés sont inhibés. Il apparaît donc que l'extrait de feuilles de *S. plumieri* présente un intérêt, à de faibles concentrations, sur cette levure.

Des études antérieures, notamment celles de Skaltsounis, Tellequin *et al.* (1989) et de Skaltsounis, Sbahi *et al.* (1989) sur d'autres espèces du genre *Scaevola* indiquent la présence d'iridoïdes (le loganoside, l'acide loganique, le sylvestroside III, l'acétal méthylique du sylvestroside III, le cantleyoside, l'acétal méthylique du cantleyoside et le scaevoloside) qui seraient à la base de cette activité.

Synthétiquement, il est possible de rassembler pour établir un tableau comparatif de l'activité des différents extraits à 12,5 mg/ml sous la forme du tableau V. Il montre que *S. aureus* est inhibé par les extraits de *C. erectus* et *D. viscosa* et dans une moindre mesure par l'extrait de *S. plumieri*. *B. subtilis* est inhibé seulement par celui de *D. viscosa*. *E. coli* est insensible à tous les extraits des trois plantes. *P. aeruginosa* est inhibé à la même échelle que *S. aureus*. *C. albicans* est inhibé par les extraits de *D. viscosa* et *S. plumieri* et accessoirement par l'extrait de *C. erectus*.

IV. CONCLUSION

Chacune des trois plantes étudiées a montré une activité antibactérienne et antifongique variable selon la concentration des extraits. Il ressort de cette étude que :

- *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *C. albicans* ont été les germes les plus sensibles ; rappelons que *P. aeruginosa* est un germe généralement très résistant ;
- l'extrait de *D. viscosa* a été le plus efficace ; il présente donc plus d'intérêt du point de vue de l'activité antimicrobienne ; l'activité de cette espèce est suivie de celles de *C. erectus* et de *S. plumieri*.

L'extrait de *D. viscosa* étant très actif sur *C. albicans*, il convient de lui prêter une attention particulière car cette activité constitue une piste sérieuse de recherche contre cette souche fongique pathogène, souvent difficile à combattre.

Il résulte de tout ce qui précède que ces trois espèces végétales, actuellement menacées de disparition, doivent être conservées. Cette conservation passe par une gestion durable à travers :

- la multiplication par germination de graine ou par bouturage ;

- la constitution de réserves de plants en vue de l'introduction d'individus au jardin botanique et dans leurs sites naturels dans une approche participative intégrant les populations locales ;
- la poursuite des études pharmacologiques en mettant l'accent sur la chimie afin d'identifier la fraction active.

BIBLIOGRAPHIE

- Ahmad I., M. Ahmad & A. Ahmad, 1994.- Antimicrobial activity of *Dodonaea viscosa* oil. *Fitoterapia*, **65** (2), 167-168.
- Ahmad V.U., I. Fatima & A. Fatima, 1987.- The sapogenins from *Dodonaea viscosa*. *Fitoterapia*, **58** (5), 361-362.
- Akpagana K., 1992.- Quelques espèces rares ou menacées de disparition du Togo. 1 - Le cordon littoral. *Ann. Univ. Bénin, sér. Sci.*, **10**, 33-36.
- Akpagana K., J.T. Arnason, A. Akoégninou & P. Bouchet, 1998.- La disparition des espèces végétales en Afrique tropicale. Cas du Togo et du Bénin en Afrique de l'Ouest. *Le Monde des Plantes*, **463**, 18-20.
- Anoma G. & L. Aké Assi, 1989.- Flore de Côte d'Ivoire. Disparition de nombreuses espèces due à la destruction inconsidérée de l'espace naturel, le cas d'une plante médicinale : *Monanthes capsa* (E. G. & A. Camus) Verdc. (Annonaceae). *Bull. Méd. Trad. Pharm.*, **3** (2) 153-158
- Baba-Moussa F., 1999.- *Recherches sur les propriétés antifongiques de plantes utilisées en médecine traditionnelle au Bénin et au Togo*. Thèse doctorat d'État. Université de Reims, 157 p.
- Baba-Moussa F., K. Akpagana & P. Bouchet, 1999 - Antifungal activities of seven West African Combretaceae used in traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, **66**, 335-338.
- Belachew D. 1993.- Ethiopian traditional herbal drugs. Part II : Antimicrobial activity of 63 medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, **39**, 129-139.
- Brunel J.F., P. Hiekpo & H. Scholz, 1984.- *Flore analytique du Togo : Phanérogames*. GTZ éd., Eschborn, 751 p.
- Harbone J.B., 1973.- *Phytochemical methods*. Chapman and Hall eds., New York, 354 p.
- Hutchinson J. & J.M. Dalziel, 1954-1972.- *Flora of West Tropical Africa*, 2nd ed. revised by Keay & Hepper, 3 vol.
- Iwu M. M., 1993.- *Handbook of African Medicinal Plants*. CRC Press, Inc., Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, 1-7.
- Mata R., J.L. Contreras, D. Cnsanto, R. Pereda-Miranda & P. Castaneda, 1991.- Chemical studies on Mexican plants used in traditional medicine. XVIII - New secondary metabolites from *Dodonaea viscosa*. *Journal of Natural Products*, **54** (3), 913-917.
- Skallsounis A.L., S. Sbahi, C. Demetzos & J. Pousset, 1989.- Plantes de Nouvelle-Calédonie. Iridoïdes de *Scaevola montana* Labill. *Ann. Pharm. Fr.*, **47** (4), 249-254
- Skallsounis A.L., F. Tellequin, M. Koch, J. Pousset & G. Chauvière, 1989.- Iridoids from *Scaevola racemifera*. *Planta Medica*, **55**, 191-192.