



## Article Original

## Étude Phytochimique et Évaluation de l'Activité Anti Salmonella Typhi des Extraits de Combretum Micranthum (Combrétaceae)

### *Phytochemical screening and evaluation of anti-salmonella typhi activity of the extracts of Combretum Micrathum (Combretaceae)*

Mogue Ingrid<sup>1</sup>, Bayaga Herve<sup>2</sup>, Estella Tembe Fokunang<sup>1</sup>, Njinkio Nono Borgia<sup>1</sup>, Tamanji Virginia<sup>4</sup>, Tabi Yves Omgba<sup>1</sup>, Ngono Mballa Rose<sup>5</sup>, Gonsu Kamga Hortense<sup>3</sup>, Mbacham Fon Wilfred<sup>4</sup>, Fokunang Ntungwen Charles<sup>1</sup>

#### RÉSUMÉ

<sup>(1)</sup>Laboratoire d'études précliniques sur les animaux et recherche pharmaco toxicologique, Département de Pharmacotoxicologie et Pharmacocinétique, FMSB, Université de Yaoundé 1, Cameroun.

<sup>(2)</sup>Département des Pharmacognosie et chimie pharmaceutique, Faculté des Sciences de la santé, Université de Bamenda, Bamili, Cameroun.

<sup>(3)</sup>Département de Microbiologie, parasitologie, hématologie, immunologie, et maladie infectieuse, FMSB-UYI, Cameroun

<sup>(4)</sup>Pan African University Life and Earth Sciences Institute, (PAULESI), University of Ibadan, Nigeria

<sup>(5)</sup>Département de Biochimie, FMSB-UYI, Cameroun

#### Auteur correspondant

Pr Fokunang Charles Département de pharmacotoxicologie et pharmacocinétique, FMSB, Université de Yaoundé I  
BP: 13386 Yaoundé -Cameroun E-mail: charlesfokunang@yahoo.co.uk Tel: (+237) 670 90 24 46

**Mots clés :** *Combretum micranthum*, screening phytochimique, activité antibactérienne, *Salmonella typhi*.

**Key Words:** *Combretum micranthum*, phytochemical screening, antibacterial activity, *Salmonella typhi*.

**Introduction.** La fièvre typhoïde affecte chaque année près de 21 millions d'individus à travers le monde et dont 222 000 en décèdent. Causée par la bactérie *Salmonella enterica serovar typhi*, son traitement se fait par antibiothérapie. Toutefois, il devient compliqué à cause de l'émergence des souches multi résistantes, des problèmes de disponibilité, du coût élevé de ces médicaments dans certaines régions, notamment dans les pays en développement généralement endémiques. Face à ces problèmes, les populations font recours aux plantes médicinales dont l'utilisation anarchique pose un problème d'efficacité et d'innocuité. **Objectif.** Cette étude visait donc à identifier les classes de composés présentés dans les extraits de *Combretum micranthum* et à évaluer *in vitro* leur activité antibactérienne sur des souches de *S. typhi* afin de prouver scientifiquement l'activité de ceux-ci. **Matériels et Méthodes.** Pour y parvenir, nous avons préparés cinq extraits (infusion aqueuse, décoction, macération aqueuse, hydroéthanolique et éthanolique) et réaliser un screening phytochimique des feuilles sèches de *C. micranthum*. Ceci s'est suivi d'une évaluation de leur activité antibactérienne sur des souches de *S. typhi* par micro dilution. **Résultats.** A l'issue de ces analyses, il a été identifié la présence des composés phénoliques et l'absence des stéroïdes, terpénoïdes et des résines. De plus, une activité bactéricide des extraits a été déterminée à 6,25 et 12,5mg/ml. **Conclusion.** Ces résultats positifs nous ont permis de conclure de l'efficacité des extraits de *C. micranthum* sur les souches de *S. typhi*.

#### ABSTRACT

**Background.** Typhoid fever is a real health problem affecting nearly 21 million people globally of which 222,000 death are reported annually. The causative agent is the bacterium *Salmonella enteric serovar typhi*. Treatment is with antibiotic, however, it is becoming increasingly complicated because of the emergence of multi-resistant bacterial strains, the problems of availability and the high cost of these drugs in certain regions, particularly in developing countries generally endemic. In order to escape these problems, these populations resort to medicinal plants whose anarchic use poses a problem of efficacy and safety. **Objective.** This study was therefore to evaluate the antibacterial activity of aqueous, hydro-ethanolic and ethanolic extracts of *C. micranthum* leaves on *S. typhi* strains. **Materials and Methods.** Five extractions (aqueous infusion, decoction, aqueous, hydroethanolic and ethanolic maceration) and phytochemical screening on dry leaves of *C. micranthum* followed evaluation of their antibacterial activity on strains of *S. typhi* isolated in the bacteriological laboratory of the Yaoundé Teaching Hospital Center by microdilution. **Results.** At the end of these analyzes the presence of phenolic compounds and the absence of steroids, terpenoids and resins was observed. A bactericidal activity of the extracts at 6.25 mg/ml for aqueous infusion and ethanolic maceration extract, and 12.5 mg/ml for aqueous maceration, decoction and hydro ethanolic extract. **Conclusion.** These positive results of bactericidal activity permit us to conclude on the efficacy of aqueous and ethanolic extracts of *C. micranthum* on a treatment of typhoid fever.

#### INTRODUCTION

La fièvre typhoïde est une infection systémique mondiale dont la transmission se fait par voie oro-fécale c'est-à-dire par ingestion des aliments ou d'une eau souillée par la bactérie *S. typhi* (OMS, 2017). Une fois dans l'organisme, cette bactérie entraîne une fièvre

prolongée, des céphalées, des douleurs abdominales et généralement des léthargies et bien d'autres symptômes (Qamar, et al., 2015). Le rapport 2014 de l'OMS, fait état de 21 millions de personnes infectées par an dont près de 222 000 vont mourir (OMS, 2015). Cette

prévalence est plus élevée dans les pays en voie de développement à cause des conditions d'hygiène qui y sont précaires. La survenue est estimée à 400 000 cas par an avec une incidence de 50 pour 100 000 personnes (Kariuki, 2008). Environ 10% des cas peuvent très vite se compliquer, et sans traitement, 5-30% des patients peuvent en mourir (House, et al., 2001). Suite à l'émergence des souches bactériennes multi résistantes aux antibiotiques, le traitement est de plus en plus difficile. A cette difficulté viennent se greffer d'autres éléments tels que la disponibilité de ces molécules en termes de coût et de stock (en particulier pour les pays en voie de développement) ainsi que la mauvaise utilisation de celles-ci compliquant le traitement. Pour pallier à ces problèmes, les populations ont le plus souvent recours à la médecine traditionnelle à base de plante. L'OMS estime à près de 80% les populations y faisant recours en Afrique (OMS, 2003). Cette utilisation importante des plantes médicinales suscite de nombreuses questions sur la sécurité, la qualité, l'efficacité et la disponibilité à long terme des médicaments dits traditionnels. Il est donc nécessaire de mener des études sur les plantes médicinales afin d'obtenir de nouveaux médicaments de faibles coûts, joignant efficacité scientifique prouvée et accessibilité. C'est dans cette optique que nous avons évalué l'activité antibactérienne des extraits des feuilles de *C. micranthum* sur les souches de *S. typhi*.

## MATERIEL ET METHODE

### Préparation du matériel végétal

Les feuilles sèches de *C. micranthum* ont été achetées au marché de Dakar au Sénégal et identifiées sous le numéro 900257. Elles ont par la suite été pulvérisées et la poudre obtenue a subi cinq types d'extraction dans le laboratoire d'études précliniques sur les animaux et recherche pharmaco toxicologique, de la Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales de l'Université de Yaoundé 1 (FMSB) suivant le protocole décrit par Trease et Evans en 2009 (Evans, 2009).

### Extractions phytochimiques

#### Infusion aqueuse

Nous avons pesé 100g de poudre qu'on a introduit dans un Erlenmeyer contenant 1000 ml d'eau distillée portée à ébullition dans un bain-marie ; le mélange ainsi obtenu a été agité à l'aide d'un agitateur magnétique et laisser infuser jusqu'à refroidissement, puis il a été filtré tout d'abord avec une mousseline et ensuite avec du papier filtre Wattman n°4 fixé sur un entonnoir en plastique. Le filtrat a été mis à l'étuve à 55°C pour évaporation de l'eau pendant environ 3 jours et l'extrait sec ainsi obtenu a été conservé au frais dans un flacon.

#### Macération aqueuse

Nous avons pesé 30g de poudre qui ont été introduit dans un erlenmeyer puis, nous y avons ajouté 225 ml d'eau distillée et le mélange a été agité à l'aide d'un agitateur magnétique jusqu'à homogénéisation complète, puis le volume a été complété à 300 ml avec de l'eau distillée. La solution ainsi préparée a été laissée pendant 24h de macération au bout desquels elle a été filtrée avec

une mousseline puis avec du papier filtre Wattman N°4 fixé sur un entonnoir en plastique. Le filtrat a été mis à l'étuve à 55°C pour évaporation de l'eau pendant environ 3 jours et l'extrait sec ainsi obtenu a été conservé au frais dans un flacon.

#### Décoction

Dans un bécher en aluminium, nous avons pesé 30 g de poudre de plante et y avons ajouté 300 ml d'eau distillée, ce mélange a été agité avec un agitateur magnétique jusqu'à homogénéisation complète, et la solution obtenue portée à ébullition dans un bain-marie et laissée ainsi pendant 20 min au bout desquels le bécher a été retiré du bain-marie et refroidi, avant d'être filtré à l'aide du papier filtre Wattman N°4 fixés sur un entonnoir. Le filtrat a été mis à l'étuve à 55°C pour évaporation complète de l'eau pendant environ 3 jours et l'extrait sec ainsi obtenu a été conservé au frais dans un flacon.

#### Macération hydroéthanolique

Nous avons pesé 30 g de poudre qui ont été introduit dans un erlenmeyer puis, nous y avons ajouté 150 ml d'eau distillée et le mélange a été agité à l'aide d'un agitateur magnétique jusqu'à homogénéisation complète. Par la suite, 150 ml d'éthanol 95°C ont été ajoutés et le mélange a été agité de nouveau. La solution ainsi préparée a été laissée pendant 24 h de macération au bout desquels elle a été filtrée avec une mousseline puis avec du papier filtre Wattman N°4 fixé sur un entonnoir en plastique. Le filtrat a été mis à l'étuve à 55°C pour évaporation des solvants pendant environ 3 jours et l'extrait sec ainsi obtenu a été conservé au frais dans un flacon.

#### Macération éthanolique

Nous avons pesé 30 g de poudre qui ont été introduit dans un erlenmeyer puis, nous y avons ajouté 225 ml d'éthanol 95° et le mélange a été agité à l'aide d'un agitateur magnétique jusqu'à homogénéisation complète. Ensuite, le volume a été complété à 300 ml avec d'éthanol 95°C et la solution ainsi préparée a été laissée pendant 24 h de macération au bout desquels elle a été filtrée avec une mousseline puis avec du papier filtre Wattman N°4 fixé sur un entonnoir en plastique. Le filtrat a été mis à l'étuve à 55°C pour évaporation du solvant pendant environ 3 jours et l'extrait sec ainsi obtenu a été conservé au frais dans un flacon.

#### Calcul du rendement d'extraction

Les extraits ainsi obtenus ont été pesés en vue du calcul du rendement (Rdt) de chaque extraction réalisée suivant la formule :

$$\text{Rdt} = \frac{\text{Masse d'extrait finale}}{\text{Masse de poudre initiale}} \times 100$$

#### Screening phytochimique

Il consiste en un ensemble de réactions chimiques colorimétriques permettant l'identification qualitative des classes de composés organiques naturels présentes dans la plante. Pour le faire nous avons utilisé le protocole décrit par Trease et Evans en 2009 (Evans,

2009). Les principaux composés investigués étaient les alcaloïdes, les polyphénols, les flavonoïdes, les terpénoïdes, les tanins catéchiques et galliques, les quinones, les coumarines, les résines, les mucilages, les saponosides et les stéroïdes.

#### Évaluation de l'activité anti *Salmonella typhi*

Les souches de *S. typhi* utilisées provenaient des isolements réalisés à partir des échantillons cliniques et nous ont été fournis par le laboratoire de bactériologie du Centre Hospitalier Universitaire de Yaoundé (CHUY) où nous avons effectués nos tests microbiologiques. Avant de passer à l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits, nous avons procédé à une caractérisation des souches mises à notre disposition afin de nous rassurer qu'ils s'agissent effectivement des souches de *S. typhi* suivant les méthodes standards d'identification des *Enterobacteriace* (standards unit, 2014).

#### Évaluation de l'activité anti *Salmonella typhi*

L'évaluation de l'activité antibactérienne de nos extraits s'est faite suivant la méthode de microdilution. Les solutions d'extraits de concentration 25mg/ml ont été préparées à l'aide d'un gramme d'extrait qu'on diluait dans 40ml d'eau distillée. L'inoculum quant à lui s'est préparé suivant les indications du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie(CASFM, 2017). Nous avons prélevé à l'aide d'une anse de platine stérile 2 à 3 colonies de 24 heures de vie et avons réalisé une suspension avec de l'eau physiologique stérile semblable à celle du point 0,5 de l'échelle de Mc Farland, correspondant à la concentration de  $10^8$  Unités Formant Colonies/ml (UFC/ml). Puis, effectuer à partir de cet inoculum une dilution au dixième afin d'obtenir un inoculum de  $10^6$ ufc/ml.

#### Evaluation des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) des extraits

La technique que nous avons utilisée était celle de la microdilution en milieu liquide. Selon le protocole ci-après:

Après avoir introduit 100µl de bouillon Mueller Hinton(BMH) dans des puits d'une microplaque, nous y avons ajouté 100µl d'extrait à 25mg/ml dans le premier puits de la première colonne des 5 premières lignes correspondant aux 5 extraits: infusion, macération aqueuse, décoction, macération hydro éthanolique et macération éthanolique et 100µl d'une solution de ciprofloxacine à 0,5mg/ml (molécule standard) dans la sixième ligne (f). De cette disposition, des dilutions d'ordre 2 ont été effectuées dans le BMH de manière à obtenir une gamme de concentration comprise entre 12,5mg/ml et 0,097mg/ml d'extrait. Enfin, nous y avons ajouté 10 µL d'inoculum bactérien dans chaque puits à l'exception des puits de la ligne (h) réservés pour le témoin négatif (dernière ligne). La plaque a ensuite été incubée à 37°C pendant 24 heures dans un incubateur au bout desquels la présence (pousse microbienne) ou l'absence (absence de pousse) de trouble dans les puits a été observée à l'aide d'une loupe. La CMI correspondait

donc à la plus petite concentration à partir de laquelle aucun trouble apparent n'était observé dans le puits.

#### Evaluation des concentrations minimales bactéricides (CMB) des extraits de plantes

Dans chacun des puits dépourvus de trouble apparent, (croissance non visible non observée) et du témoin positif de la gamme de concentration réalisée pour la détermination de la CMI, nous avons prélevé et ensemencé à l'aide d'une Anse de platine une goutte de préparation par la méthode des cadrans sur gélose Mueller Hinton (GMH) et incubé l'ensemble ensemencé à 37°C pendant 24 heures.

La CMB de chaque extrait a été déduite à partir de la première dilution (concentration) à partir de laquelle aucune pousse n'était observée sur le milieu solide.

#### Rapport CMB/CMI

Ce rapport a permis de déterminer l'effet bactéricide ou bactériostatique d'une substance (extrait). Lorsque ce rapport est inférieur ou égal à 4, on parle de l'effet bactéricide s'il est supérieur à 4, la substance est considérée comme bactériostatique et comme tolérante à la bactérie, si le rapport est égal à 32

## RESULTATS

### Analyses phytochimiques

#### Rendement d'extraction

Après extraction les rendements de chaque extraction ont été calculés et les résultats ont été consignés dans le tableau1. Le meilleur rendement a été obtenu avec l'extraction éthanolique, suivit de l'extraction hydro éthanolique. Et l'extrait ayant le plus faible rendement était celui de la décoction.

Tableau 1 : Rendement d'extraction

Type d'extraction	Masse de poudre initiale(g)	Volume de solvant (ml)	Masse d'extrait obtenue(g)	Rendement (%)
Infusion aqueuse	100	1000	8,567	8,567
Macération Aqueuse	30	300	2,650	8,83
Décoction	30	300	1,712	5,70
Macération hydro éthanolique	30	300	3,726	12,42
Macération éthanolique	30	300	4,947	16,49

#### Composés phytochimiques testés présents dans les extraits

Le screening phytochimique a permis de mettre en évidence la présence de certains métabolites secondaires dans les extraits. Ont donc été identifiés en majorité les polyphénols avec une abondance de tanins présents dans tous les extraits à l'exception de l'extrait hydro éthanolique, les flavonoïdes, les coumarines et les quinones se retrouvaient dans tous les 5 extraits à des intensités différentes de même que les glycosides cardiaques. Les alcaloïdes quant à eux étaient présents en faible quantité dans l'ensemble des extraits excepté dans l'infusé.

**Tableau II : Résultats du screening phytochimique**

Métabolites	Infusion	Décoction	Macération	Macération hydro éthanologique	Macération éthanologique
Polyphénols	+++	+++	+++	+++	+++
Flavonoïdes	++	+++	+++	+++	+++
Tanins	+++	+++	+++	-	+++
Tanins Catéchiques	+	+++	+++	-	+++
Tannins Galliques	+	+++	+++	-	+++
Quinones	++	+++	+++	+++	+++
Alcaloïdes	-	+	+	+	+
Saponosides	-	+++	-	+	+++
Mucilages	-	+++	-	-	-
Coumarines	+	++	+	+++	+
Stéroïdes	-	-	-	-	-
Terpénoïdes	-	-	-	-	-
Résines	-	-	-	-	-
Glycosides ardiaques	++	+++	+++	+++	+++
	+++ Abondant	++ Moins abondant	+Faible	- Absent	

Les saponosides n’ont été identifiés que dans le décocté et les extraits hydro éthanologiques et éthanologiques ; les mucilages uniquement dans le décocté. Pour ce qui est des stéroïdes, terpénoïdes et résines, ils n’ont été mis en évidence dans aucun des extraits. Ces résultats ont été consignés dans le tableau II.

**Tests microbiologiques**

**Caractérisation de la souche**

*Caractères biochimiques*

**Galerie API-20<sup>E</sup>** : la révélation de la galerie a conduit au numéro de référence : N°4404 50 0 dont la correspondance dans le catalogue a confirmé que cette souche était effectivement *Salmonella typhi* avec un pourcentage d’identification 87,4% portant la mention très bonne identification. Tous ces résultats nous ont permis de nous assurer que la souche utilisée était effectivement *Salmonella enterica serovar typhi*.

**Activité antibactérienne des extraits testés**

La microdilution en milieu liquide a donné les résultats présentés dans le tableau III. Pour tous les extraits, aucun trouble apparent n’a été constaté à la concentration de 6,25mg/ml. Cependant, après subculture sur gélose Mueller Hinton, des pousses ont été observées pour les ensemencements issus des puits de concentrations 6,25mg/ml pour la décoction, la macération aqueuse et hydro éthanologique. Seul l’ensemencement correspondant à la concentration 12,5mg/ml n’a pas présenté de pousse ; tandis que, pour ceux de l’infusion et de la macération éthanologique, aucune pousse n’a été observée pour les concentrations 6,25 et 12,5mg/ml.

Ces résultats ont été utilisés pour le calcul des rapports CMB/CMI qui ont donné les valeurs 1 et 2 conférés donc à nos extraits une activité bactéricide sur les souches de *S. typhi* aux concentrations 6,25mg/ml pour l’infusé et le macéré éthanologique et 12,5 mg/ml pour le décocté, le macéré aqueux et le macéré hydro éthanologique.

Pour ce qui est du standard (CIP), aucun trouble apparent n’a été observé pour toutes les concentrations testées.

**Tableau III: Résultats des tests microbiologiques**

Extraits	CMI	CMB	Rapport CMB/CMI
Infusion aqueuse	6,25	6,25	1
Macération aqueuse	6,25	12,5	2
Décoction	6,25	12,5	2
Macération hydroéthanologique	6,25	12,5	2
Macération éthanologique	6,25	6,25	1
Ciprofloxacine 500mg	-	-	-

**DISCUSSION**

Les analyses phytochimiques réalisées nous ont permis d’identifier la présence de nombreux métabolites secondaires pouvant être à l’origine d’une activité bactéricide ou bactériostatique de notre plante ; notamment des tanins, flavonoïdes, alcaloïdes et autres.

La macération aqueuse, a donné un rendement d’extraction de 8,83% avec comme métabolites secondaires les tanins catéchiques et galliques, les flavonoïdes, les quinones en forte proportion, les coumarines et les alcaloïdes en moindre quantité et une absence de saponosides, de mucilages, de stéroïdes, de terpénoïdes et de résines. Ces résultats diffèrent de ceux obtenus par Osonwa et al(Osonwa, et al., 2012)qui ont eu un rendement de 19,5% et ont identifié en quantité moyenne les tanins, en faible quantité les glycosides cardiaques, les saponosides et stéroïdes avec absence d’alcaloïdes, de flavonoïdes dans les extraits aqueux de *C. micranthum* récoltée au Nigéria et de Sanogo et al(Sanogo, et al., 2016) qui ont mis en exègue la présence des saponosides, des polyterpènes et des anthocyanes en plus des tanins cathéchiques et galliques, des polyphénols, des flavonoïdes dans la macération aqueuse de *Anogeissus leiocarpus (Combretaceae)* récolté en Côte d’Ivoire.

Pour la macération hydroéthanolique, nous avons eu un rendement de 12,42%, et le screening phytochimique, a dénoté une abondance en flavonoïdes, coumarines, quinones, glycosides cardiaques, une faible présence d'alcaloïdes et de mucilage et une absence de tanins (catéchiques et galliques), de stéroïdes, de saponosides, terpénoïdes et de résines. Ces résultats proches en ce qui concerne le rendement obtenu par Zekeri (Zekeri, 2014) sur la plante récoltée au Nigéria, sont cependant différents de la composition en métabolites secondaires déterminée par celui-ci. En effet, dans ses travaux, il a obtenu un rendement d'extraction de 12,92% et a observé la présence des tanins, stéroïdes et terpénoïdes.

Pour la macération éthanolique, le rendement d'extraction a donné 16,49% avec la présence abondante de tanins catéchiques, flavonoïdes, quinones, glycosides cardiaques, saponosides, une moindre présence de coumarines et d'alcaloïdes et une absence de tanins galliques, stéroïdes, et résines. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Koevi et al (Koevi, et al., 2015) qui ont identifiés la présence des tanins, des composés phénoliques et des saponosides dans l'extrait éthanolique de *Combretum molle* (*Combretaceae*) récolté au Burkina Faso. Contrairement à ces résultats, Martial et collaborateurs (Martial, et al., 2016) ont plutôt identifié les tanins galliques, les stéroïdes, les mucilages en abondance et une quantité appréciable de terpénoïdes.

La décoction a eu un rendement de 5,70% et nous y avons identifié en majorité les tanins galliques et catéchiques, les flavonoïdes, les quinones, les glycosides cardiaques les saponosides et les mucilages, avec une teneur moindre en coumarines et faible en alcaloïdes et une absence de stéroïdes, terpénoïdes et de résines. Ces résultats diffèrent de ceux obtenus par Zahoui et al (Zahoui, et al., 2017) qui ont mis en évidence la présence des stéroïdes, polyterpènes en plus des autres. Cette différence de composition serait due à la différence géographique entre les zones de récolte (Sénégal et Côte d'Ivoire).

Toutes ces différences du point de vue de la composition en métabolites secondaires de cette plante trouvent une explication dans la différence environnementale, géographique et écologique des lieux de récolte. En effet, d'après les directives de l'OMS sur les bonnes pratiques agricoles et les bonnes pratiques de récolte relatives aux plantes médicinales, une même plante récoltée à des sites différents, peut présenter une différence de composition en raison des conditions climatiques, géographiques qui diffèrent selon les sites et la période de récolte, de la composition différentes des sols ainsi que de l'environnement (OMS, 2003).

Les tests microbiologiques d'efficacité réalisés sur des souches de *S. typhi* ont démontré une activité bactéricide à différentes concentrations en fonction de l'extrait. Les extraits aqueux (décoction et macération) et hydroéthanoliques ont montré un effet bactéricide à la concentration de 12,5mg/ml à la différence de ceux obtenus par Aoudou et al (Yaouba, et al., 2012) qui n'ont eu aucun effet de ces extraits sur *Salmonella entericaspp*. Par contre, dans ses travaux, Zekeri a prouvé une activité bactéricide des extraits hydroéthanoliques des feuilles *C. micranthum* sur les souches de *S. typhi* (Zekeri, 2014); la

raison de ces différences serait due au fait que les souches de *S. enterica* utilisées par Yaouba et al n'étaient pas *S. typhi* car une étude de Karou et al (Karou, et al., 2005) a également démontré une activité bactéricide des polyphénols totaux contenus dans les feuilles de *C. micranthum* sur des souches de *S. typhi*.

Pour l'extrait éthanolique et l'infusion, la concentration bactéricide est de 6,25mg/ml ; ce résultat corrobore ceux de Gbogbo et al (Gbogbo, et al., 2013) qui ont montrés l'activité inhibitrice des extraits aqueux, éthanolique des tiges de *Pteleopsis suberosa* (*combretaceae*) sur les souches de *Salmonella* spp.

Tous ces résultats justifieraient donc l'utilisation de *Combretum micranthum* pour le traitement de la fièvre typhoïde.

## CONCLUSION

Le screening phytochimique des extraits de *C. micranthum* nous a permis de mettre en évidence quelques métabolites secondaires tels que les polyphénols, les tanins galliques et catéchiques, les flavonoïdes, les coumarines, les quinones, les glycosides cardiaques, les mucilages avec une absence de stéroïdes, des stéroïdes, et des résines dans tous les extraits. De plus, une activité bactéricide des différents extraits a été démontrée avec une CMI égale à 6,25mg/ml pour tous les extraits, et une CMB de 6,25 mg/ml pour l'infusion aqueuse et la macération éthanolique et à 12,5mg/ml pour la macération aqueuse, hydroéthanolique et la décoction.

## Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent qu'ils n'ont aucun conflit d'intérêts.

## Remerciements

Nous remercions M. NJINKIO NONO Borgia Legrand qui nous a accompagné et guidé le long des analyses phytochimiques au laboratoire de pharmacotoxicologies de la FMSB de l'Université de Yaoundé I. De même que M. le Directeur du CHU de Yaoundé ainsi que tout le staff du laboratoire de bactériologie pour leur accompagnement pendant la réalisation des tests microbiologiques et particulièrement la major Mme CHAFFA Anicette.

## Contributions des auteurs

MI, FCN, Conception, désigne et opération modèle d'expérimentation d'étude. ETF, GKH, MWF et BH gestion des données de protocole des recherché et méthodologie. NNB, NBR, TYO, TV coordination techniques des expérimentation, l'analyse des données. Tous les auteurs ont lu et approuver la copie finale de manuscrits pour la publication.

## REFERENCES

- 1.OMS, «Directives de l'OMS sur les bonnes pratiques agricoles et les bonnes pratiques de récoltes (BPAR) relatives aux plantes médicinales.» 2003.
2. Nkongmeneck BA, Kemeuze VA, Mapongmetsem PM, Ibrahim R et Jiofack, RBT «distribution des *Combretum* en rapport avec l'aridité du Cameroun.» International Journal of Environmental Studies, 2010;. 41-50.
- 3 Ngene JP, Ngoule CC., Pouka PM, Kidic PB., Mvogo Ottou RC, Ndjib S, Dibong SD et Mpondo ME, «Importance dans la pharmacopée traditionnelle des plantes à flavonoïdes vendues

- dans les marchés de Douala est (Cameroun),» African Journal Online, 2015; 8194-8210.
4. Bent S, «Herbal Medicine in the United States: Review of Efficacy, Safety, and Regularisation,» Journal of General Internal Medicine, 2008; pp. 854-859.
5. Evans E, Trease E' pharmacology 16th edition, Saunders Ltd, 2009.
6. OCDE, OECD guideline for testing of chemical, 2001 pp301.
7. Guerin D, la granulation humide dans l'industrie pharmaceutique: revue bibliographique sur les matériels, les méthodes et les paramètres de mise au point du procédé de granulation humide, Nantes, 2006.
8. Guerin C. validation d'une méthode de fabrication des gélules, Lyon, 2014.
9. Zekeri MN, effect of aqueous ethanol leaf of *Combretum micranthum* (Combretaceae) on some systemic inflammatory immune response syndromes in mice and rat, 2014.
10. Muttaka, LJ, Abdullahi J et Sule MS. «toxicological studies of the aqueous leaves extracts of *Combretum micranthum* on rats,» international journal of biotechnology and biochemistry; 2016, 12 (12): pp. 167-171.
- 11-Evans, W... *Trease and Evans' pharmacology 16th edition*. s.l.: 2009, P.211, Saunders Ltd.
- 12 Kariuki, S., 2008. typhoid fever in subsaharan africa: challenges of diagnosis and management of infection in developing countries. *The Journal of Infection in Developing Countries*, décembre, 2(06), pp. 443-447.
- 13-Karou, D., Mamoudou H., D., Simpore, J. & Traore, A. S., 2005. Antioxydant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedical plants from Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology*, Août, 4(8), pp. 823-828.
- 14-Martial, NS. Smith S., Nike BG, Green BB, et al., 2016. antimicrobial activities of *Combretum micranthum* extracts on *Staphylococcus aureus* strains isolated from skin infections and some reference strains. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 6(4), pp. 40-47.
- 15-OMS, *Directives de l'OMS sur les bonnes pratiques agricoles et les bonnes pratiques de récoltes (BPAR) relatives aux plantes médicinales*, s.l.: s.n.
- 16-OMS.. *OMS/médecine traditionnelle*. [En ligne] available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/2003/fs134/fr>
- 17-OMS, . [En ligne] Available at: <http://www.who.int/immunization/diseases/typhoid/en>
- OMS, 2017. *WHO/Typhoid fever*. [En ligne] 18-Available at: <http://www.who.int/diseases/typhoidfever/en>
- 18-Osonwa, U Alima P, Smith CE. et al., Stability studies on the aqueous extract of the fresh leaves of *Combretum micranthum* G. Don Used as antibacterial agent. *Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, janvier, 2012; 6(5), pp. 417-424.
- 19-Qamar, FN., Azmatullah, A., Butta, ZA., challenges in measuring and death due to invasive salmonella infections. *PubMed*, 2015, Juin, Volume 33, pp. C16-C20.
- 20-Sanogo, Y., Amin G, Aforo P, Najish A et al., 2016. Evaluation in vitro de l'activité des écorces de tige de *Anogeissus leiocarpus* (DC) Guill. et Perr. (Combretaceae) sur des bactéries responsables de maladies courantes en Afrique et criblage phytochimique. *International Journal of Biological and Chemical sciences*, juin, 2016, 10(3), pp. 1139-1152.
- 21-Yaouba, A., Tchikoua, R. & Tatsadjeu Ngoune, L... antibacterial effect of plant extracts against some pathologic bacteria. *International Journal of Natural Products Research*, Novembre, 2012; 1(4), pp. 83-87.
- 22-Zahoui, O S, Akim BB, Nwosu R, Ademola CB. et al., 2017. Effet hypotenseur d'un extrait aqueux de *Combretum micranthum* G. Don (Combretaceae). *Phytothérapie*, 2017; 15(3), pp. 138-146.
- 22-Zekeri, MA., *Effect of aqueous ethanol leaf extract of Combretum micranthum G.don(Combretaceae) on some induced systemic inflammatory immune response syndromes in mices and rats*. 2017, Zaria: s.n