UNIVERSITÉ DU BURUNDI
GRENIER DU SAVOIR DU BURUNDI
Dépôt institutionnel officiel
https://repository.ub.edu.bi

Effets de deux extraits (aqueux et brut) des feuilles de cassia alata de Kinindo en mairie de Bujumbura sur quelques souches bactériennes diarrhéiques

Niyongabo, Aloys; Sous la direction de: Prof Deo Douglas Niyonzima

2013-12
UB, FS
https://repository.ub.edu.bi/handle/123456789/839

Document téléchargé depuis le **Grenier du Savoir du Burundi** — https://repository.ub.edu.bi

UNIVERSITE DU BURUNDI

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE

EFFETS DE DEUX EXTRAITS (AQUEUX ET BRUT) DES FEUILLES DE *CASSIA ALATA* DE KININDO EN MAIRIE DE BUJUMBURA SUR QUELQUES SOUCHES BACTERIENNES DIARRHEIQUES

Par

NIYONGABO Aloys

Sous la direction de:

Prof Deo Douglas NIYONZIMA

Mémoire présenté et défendu publiquement en vue de l'obtention du Diplôme de Licence en Sciences chimiques

Bujumbura, décembre 2013

DEDICACE

A mon père ;

A ma regrettée mère;

A mes oncles et tantes;

A mes frères et sœurs ;

A mes neveux et nièces ;

A tous mes amis ;

A tous ceux qui me sont chers.

Je dédie ce mémoire.

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, nous exprimons nos vifs remerciements plus particulièrement au professeur NIYONZIMA Deo Douglas, promoteur et directeur de ce mémoire ; sa disponibilité, sa collaboration, ses conseils et remarques nous ont servi de guide. Nos vifs remerciements s'adressent également à tous les professeurs de la Faculté des Sciences en général et en particulier, ceux du Département de Chimie.

Que tous nos enseignants, depuis l'école primaire jusqu'à l'université trouvent dans ce travail le fruit de leurs efforts.

A tout le personnel du laboratoire de service bactériologique de l'INSP, nous leur disons merci grâce pour sa franche collaboration et son encadrement.

Nous voudrions, en plus, exprimer nos sentiments de reconnaissance à notre chère famille pour nous avoir mis sur le banc de l'école.

Que les familles MANIRAKIZA Fidèle et Nayisi Constantin trouvent ici l'expression de notre profonde gratitude.

A nos amis avec qui nous avons partagé joie et peines à l'Université du Burundi, nous leur disons merci.

Que tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réussite de ce travail, trouvent ici le fruit de leurs efforts.

LISTE DES SIGLES ET DES ABREVIATIONS

CAMES : Conseil Africain et Malgache pour l'Enseignement Supérieur

CC : Chromatographie sur Colonne.

CCM : Chromatographie sur Couche Mince.

CEPGL : Communauté Economique des Pays des Grands Lacs.

CRUPHAMET : Centre de Recherche Universitaire en Pharmacopée et Médecine traditionnelle.

D : Réactif de Dragendorff.

Ec : *Escherichia coli*

FAO : Food and Agriculture Organization.

G.S : Gélatine Salée.

INSP : Institut National de la Santé Publique.

M : Réactif de Mayer.

Rf : Rapport frontal

SH : Shigella.

U.B : Université du Burundi.

U.V : UltraViolet.

v/v : volume par volume.

Vc : *Vibrio cholerae*.

W : Réactif de Wagner.

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

Liste de figures

Figure 1 : Photo de la plante *Cassia alata* 4

Figure 2 : Photo de l'appareil de Soxhlet 19

Figure 3 : Chromatogramme sur couche mince de l'extrait brut des tannins dans le système acétate d'éthyle –acide formique-eau (18 :1 :1 v/v) 22

Figure 4 : Chromatogramme des flacons répondant positivement au test des tannins dans le système acétate d'éthyle-acide formique-eau (18 :1 :1 v/v) 24

Figure 5 : Photo des disques imprégnés dans un extrait brut des tannins 26

Figure 6 : Photo de milieu de culture des souches bactériennes dans le cas de sensibilité 28

Figure 7 : Photo de milieu de culture des souches bactériennes dans le cas de non sensibilité 29

Liste des tableaux

Tableau 1 : Résultats du screening phytochimique des feuilles de *Cassia alata* 30

Tableau 2 : Résultats de la chromatographie sur couche mince de l'extrait brut des tannins dans le système d'élution acétate d'éthyle-acide formique-eau (18 :1 :1) 31

Tableau 3 : Résultats de la chromatographie sur couche mince des flacons répondant aux tests positifs des tannins dans le système acétate d'éthyle-acide formique-eau 31

Tableau 4 : Résultats des tests d'activités des différents extraits sur les bactéries 32

RESUME

Notre échantillon a été récolté le 15/11/2012 en mairie de Bujumbura à KININDO et séché dans le laboratoire du CRUPHAMET à l'air libre.

Le screening phytochimique nous a révélée la présence des tannins, des stéroïdes et terpènes et ainsi que les anthraquinones à des proportions différentes. L'extraction des tannins a été faite avec le système acétone-eau (3 :2 v/v) à l'aide de l'appareil de Soxhlet.

La chromatographie sur couche mince et la chromatographie sur colonne avec le système acétate d'éthyle-acide formique-eau (18 :1 :1 v/v) suivi de la cristallisation et l'évaporation ont permis d'obtenir la substance tannique sous une forme poudreuse.

Sa température de fusion comprise entre 192 à 198°C nous a permis de conclure que notre substance n'était pas pure.

Quant au test de sensibilité, parmi les trois souches bactériennes testées, c'est seulement le *Vibrio cholerae* qui a été sensible à des degrés différents face aux deux extraits (aqueux et brut des tannins) de la plante.

TABLE DES MATIERES

DEDICACE i

REMERCIEMENTS ii

LISTE DES SIGLES ET DES ABREVIATIONS iii

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX iv

Liste de figures iv

Liste des tableaux v

RESUME vi

TABLE DES MATIERES vii

CHAPITRE I. INTRODUCTION GENERALE 1

I.1. Problématique 1

I.2. Objectifs, intérêts du sujet 2

I.2.1. Objectifs 2

I.2.2. Intérêt du sujet 3

I.3. Hypothèses de travail 3

I.4. Originalité du sujet 3

I.5. Aperçu sur la plante 4

I.5.1. Description botanique et origine 4

I.5.2. L'usage de la plante en phytothérapie 5

CHAPITRE II. GENERALITES SUR LES TANNINS ET SUR LES BACTERIES TRAITEES 7

II.1. Généralités sur les tannins 7

II.1.1. Définitions des tannins 7

II.1.2. Composition chimique des tannins 8

II.1.3. Rôle des tannins et leur localisation dans la plante 8

II.1.3.1. Rôle des tannins dans la plante 8

II. 1.3.2. Localisation des tannins dans la plante 9

II.1.4. Classification des tannins végétaux 9

II.1.4.1. Les tannins hydrolysables 9

II. 1.4.2. Les tannins condensés 12

II.1.5. Propriétés des tannins 13

II.1.5.1. Propriétés physico-chimiques des tannins 13

II.1.5.2. Propriétés biologiques 13

II.1.5. 3. Propriétés physiologiques des tannins 13

II.1.6. Usages des tannins dans l'industrie 14

II.2. Généralités sur les bactéries diarrhéiques testées 14

II.2.1. *Escherichia coli* 14

II.2.2. *Vibrio cholérae* 15

II.2.3. *Shigella dysenteria* 16

CHAPITRE III : ECHANTILLONNAGE, SCREENING PHYTOCHIMIQUE, EXTRACTION DES TANNINS 17

III.1. Echantillonnage 17

III.1.1. Récolte 17

III.1.2. Séchage 17

III.1.3. Broyage et tamisage 17

III.2. Screening phytochimique 17

III.2.1. Définition 17

III.2.2. Détection des tannins 18

III.2.3. Test de confirmation 18

III.3. Extraction des tannins 18

CHAPITRE IV. ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE ET TESTS BACTERIOLOGIQUES 20

IV.1. Analyse chromatographique des tannins 20

IV.1.1. Chromatographie sur couche mince (CCM) 20

IV.1.2. Chromatographie sur Colonne 23

IV.1. 3. Test de pureté des flacons contenant les tannins 24

IV.1.4. Essai de cristallisation 25

IV.1.5. Détermination de la température de fusion de la substance isolée 25

IV.2. Tests bactériologiques 25

IV.2.1. Préparation de l'extrait aqueux 26

IV.2. Préparation et imprégnation des disques dans l'extrait brut des tannins ... 26

IV.2.3. Préparation du milieu de culture 27

IV.2.4. Détermination de la sensibilité bactérienne 27

CHAPITRE V. PRESENTATION, INTERPRETATION ET DISCUSSION DES RESULTATS 30

V.1. Présentation des résultats 30

V.1.1. Résultats du screening phytochimique des feuilles de *Cassia alata* 30

V.1.2. Résultats de la chromatographie sur couche mince de l'extrait brut des tannins 31

V.1.3. Résultats de la chromatographie sur couche mince des flacons répondant aux tests positifs des tannins 31

V.1.4. Résultats des tests d'activité des différents extraits sur les bactéries 32

V.2. Discussion et interprétation des résultats 32

CONCLUSION GENERALE ET RECOMMANDATIONS 34

Conclusion générale 34

Recommandations 34

BIBLIOGRAPHIE 36

ANNEXE 39

CHAPITRE I. Introduction générale

I.1. Problématique

Le monde entier en général etle Burundi en particulier est handicapé par plusieurs maladies dont les maladies diarrhéiques. La diarrhée est la deuxième cause de mortalité chez l'enfant de moins de 5 ans. Il y a environ 1,7 milliard de cas de diarrhée chaque année dans le monde. Elle est à l'origine de 760.000 décès d'enfants par an (www. Who.int /media centre, fact sheets/fr 330/fr/index html). (oms,2013).

Les maladies diarrhéiques font partie des maladies choisies comme maladies cibles dans la Communauté Economique des Pays des Grands Lacs (C.E.P.G.L) et dans les sous-régions d'Afrique Centrale à côté de l'hypertension, de l'hépatite et des mycoses (C.E.P.G.L, 1990).

Selon le rapport annuel d'épidémiologie et statistiques sanitaires (C.E.P.G.L, 1990), dans les pays en voie de développement et plus particulièrement au Burundi, les maladies diarrhéiques sont parmi les principales causes de morbidité et de mortalité dans les hôpitaux.

Cependant, l'être humain recherche dans son environnement avec quoi soulager ses maux, notamment par l'utilisation des plantes (la méthode qui fait partie de la médecine traditionnelle) ou on fait recours à l'utilisation des produits pharmaceutiques de synthèse (méthode qui fait partie de la médecine moderne).

C'est vers la fin du 13ème siècle que la médecine empirique a évolué vers une médecine moderne grâce aux progrès scientifiques réalisés dans divers domaines comme la biochimie, la physiologie, la physique, etc (RWANGABO J.P., 1993).

Malheureusement, ce progrès scientifique n'a pas été observé dans les pays en voie de développement et plus particulièrement en Afrique, raison pour laquelle la population défavorisée ou démunie n'a pas abandonné la médecine traditionnelle eu égard au coût élevé des médicaments importés d'une part, et à la répartition inégale des infrastructures médico-sanitaires d'autre part (RWANGABO J.P, 1993).

Actuellement dans notre pays, bien qu'il y ait eu un progrès de la médecine moderne, la médecine traditionnelle reste encore praticable, d'où la nécessité de l'améliorer. En effet, cette médecine traditionnelle se heurte à plusieurs problèmes à savoir la préparation de ces médicaments, le dosage et la posologie.

I.2. Objectifs et intérêt du sujet

I.2.1. Objectifs

- faire le screening phytochimique à partir des feuilles de *Cassia alata* récoltés dans la commune KININDO;

- préparer les différents extraits à savoir :

  - L'extrait aqueux (infusé) de *Cassia alata.*
  - L'extrait brut des tannins de *Cassia alata.*

- Analyser la sensibilité des différents extraits sur les souches bactériennes à savoir : *Escherichia coli, Vibrio cholerae, Shigella dysenteriae.*

- isoler les tannins par des méthodes chromatographiques (chromatographie sur couche mince et chromatographie sur colonne).

I.2.2. Intérêt du sujet

L'intérêt de notre travail est de valoriser la médecine traditionnelle en vue de l'intégrer dans la médecine moderne afin de promouvoir la santé et prévenir, sinon guérir les maladies compte tenu du coût élevé des produits pharmaceutiques.

I.3. Hypothèses de travail

- L'extrait (infusé) de feuilles de *Cassia alata* peut être sensible aux bactéries diarrhéiques ;
- L'extrait brut des tannins des feuilles de *Cassia alata* peut être sensible aux bactéries diarrhéiques ;
- Les feuilles de *Cassia alata* peuvent contenir des tannins purs.

I.4. Originalité du sujet

Les travaux antérieurs sur les feuilles de *Cassia alata* ont été menés seulement sur les caractérisations des principes actifs. Les études faites par MACUMI D. (2009), NDIKUMANA S. (2008) sur les feuilles de *Cassia alata* prouvent que *Cassia alata* contiennent des quinones, des tannins, des stéroïdes et des terpènes. Jusqu' à présent, aucune recherche visant l'analyse de la sensibilité des différents extraits préparés à partir des feuilles de *Cassia alata* sur les bactéries diarrhéiques n'a été faite.

Dans le présent travail, nous nous intéressons à l'étude des effets de deux extraits (aqueux et brut) des tannins de *Cassia alata* sur les souches bactériennes à savoir : *Escherichia coli, Vibrio cholerae, Shigella dysenteriae.*

I.5. Aperçu sur la plante

I.5.1. Description botanique et origine

Cassia alata est une plante arbuste haut de 1 à 3m, à feuilles paripennées alternes et composées. Ces dernières peuvent atteindre 1m de long et ont plus de 15 paires de folioles ovales.

On trouve la plante dans les jachères herbeuses ou buissonnantes. Sa tige est très ramifiée et les entre-nœuds sont très courts.

Les fleurs sont très nombreuses et très agglomérées. Elles ont une couleur jaune. Les pétales sont pleins de nervures brunâtres très ramifiées. Les fruits sont des gousses plates. Ils atteignent une longueur de 25 cm et renferment chacun au maximum 40 graines unisériées. Cette plante originaire d'Amérique du Sud, a été introduite en Afrique Centrale, Occidentale et Orientale pour ses propriétés médicinales mais aussi pour la beauté de son feuillage (BOKEMO W., 1985).



Figure 1 : Photo de la plante *Cassia alata*

Systématique

Règne	: Végétal
Embranchement	: Spermatophytes
Sous embranchement	: Angiospermes
Sous classe	: Dicotylédones
Ordre	: Rosales
Sous ordre	: Léguminosare
Famille	: Caesalpinacea
Genre	: Cassia
Espèce	: Cassia alata

(BOKEMOW., 1985), confirmée par BIGENDAKO M.J. (2008),citée par NDIKUMANA S. (2008).

I.5.2.Usages de la plante en phytothérapie

Cassia alata est une plante dont les feuilles sont universellement utilisées pour soigner les maux de ventre ou la fièvre bilieuse hémoglobinurique, aussi dans le traitement des maladies de la peau (les mycoses) (BOULARD B., 2001). *Cassia alata* pourrait substituer la griséofulvine (médicament utilisé contre les champignons) dont le coût est très élevé. Les analyses chimiques ont mis en évidence l'acide chrysophanique comme étant responsable de l'action antimycosique et antidermatosique (CAMES, 1976).

Les essais pharmacologiques ont montré des propriétés antibiotiques vis-à-vis de certains bacilles et staphylocoque doré, ce qui justifie son utilisation dans les infections externes de la peau (CAMES, 1976).

Certains travaux ont mis en évidence chez le rat, l'activité bactéricide hypoglycémiante, anti-inflammatoire, analgésique et antihypertensive de cette plante, d'autres lui reconnaissent son action contre les morsures de serpent ainsi que des propriétés anti-helminthiques, purgatives et anti-herpestiques (KEITA A.et al., 1993).

Broyées ou macérées, les feuilles de *Cassia alata* sont utilisées contre la teigne et les plaies syphilitiques. Une forte décoction des feuilles est donnée durant l'accouchement pour hâter la délivrance. Les feuilles pilées sont utilisées pour soigner les abcès aux pieds causés par les épines ou les chiques. Une décoction de racine s'emploie pour le traitement de la blennorragie (BERHAUT J., 1975).

CHAPITRE II. GENERALITES SUR LES TANNINS ET SUR LES BACTERIES TRAITEES

II.1. Généralités sur les tannins

II.1.1. Définitions des tannins

Il n'est pas facile de donner une définition claire et concise des tannins. Cependant, certains auteurs ont tenté de faire cette tâche.

D'après WATERMAN P.G. et MOLE S. (1994), les tannins sont des produits naturels phénoliques qui peuvent précipiter les protéines à partir de leurs solutions aqueuses.Selon PARIS R. et MOYSE H.,(1971), « les tannins peuvent être définis comme des substances non azotées, de structure phénolique, solubles dans l'eau, dans l'alcool, dans l'acétone mais insolubles dans l'éther.» Selon F.A.O, (1962), « les tannins sont des produits organiques ou minéraux qui se fixent sur les protéines de façon irréversible et les transforment en matériau insoluble imputrescible, très résistant et flexible appelé le cuir »

Les tannins sont des substances complexes dont la structure n'est pas bien élucidée, cependant, certains auteurs comme PARIS R. et MOYSE H., (1976) ainsi que BRUNETON J.,(1987) ont classé les tannins en trois groupes principaux :

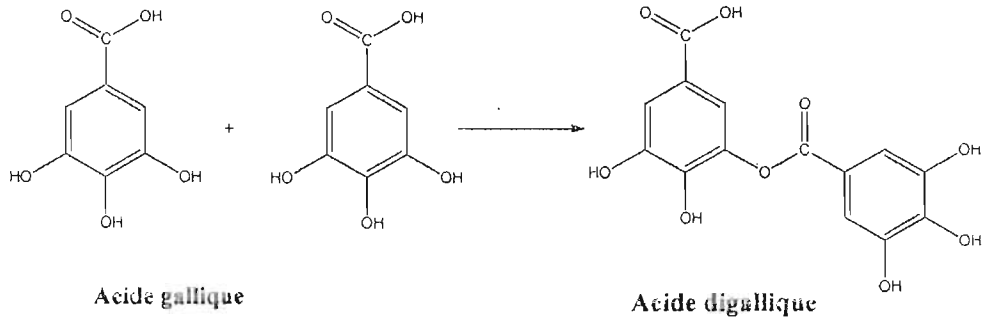
- Les tannins végétaux ;
- Les tannins synthétiques ;
- Les tannins minéraux.

II.1.2. Composition chimique des tannins

La composition chimique des tannins est variable. Ce sont des composés aromatiques à nombreuses fonctions phénoliques. Les plus simples sont des gallotannins et en particulier, l'acariose digallique de la noix de galle, qui est formé par condensation de deux molécules d'acide gallique (BRUNETON J., 1987).

Deux acides galliques se combinent pour donner l'acide digallique par estérification.

Equation :



Acide gallique

Acide digallique

II.1.3. Rôle des tannins et leur localisation dans la plante

II.1.3.1. Rôle des tannins dans la plante

Le rôle des tannins dans la plante est mal connu. Les tannins précipitent les enzymes extracellulaires sécrétées par des microorganismes infestants. La précipitation de ces enzymes rend difficile la pénétration par les bactéries et les champignons. Les tannins assurent une action protectrice chez les plantes parasitées (GUIGNARD J.L., 2000).

II. 1.3.2. Localisation des tannins dans la plante

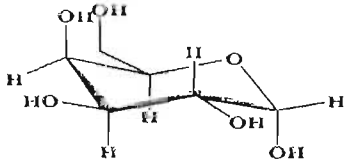
A l'état naturel, il est difficile de préciser où on peut trouver exactement les tannins dans l'organisme végétal suivant les espèces et les diverses catégories de composés. On peut les rencontrer dans différents organes ou au contraire dans certains tissus spécialisés (GRIGNARD V.et al., 1955). On les rencontre dans les vacuoles des cellules, souvent combinés à d'autres substances : alcaloïdes, protéines, oses (tanosides), parfois dans des cellules spécialisées (idioblastes). On les rencontre le plus souvent dans les organes destinés à mourir (feuilles âgées, cœur de bois, péricarpe) (BINET P. et BRUNEL J.P., 1968).

II.1.4. Classification des tannins végétaux

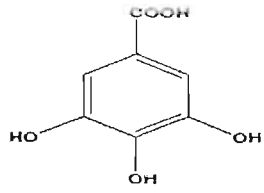
On distingue, chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tannins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique : les tannins hydrolysables et les tannins condensés.

II.1.4.1. Les tannins hydrolysables

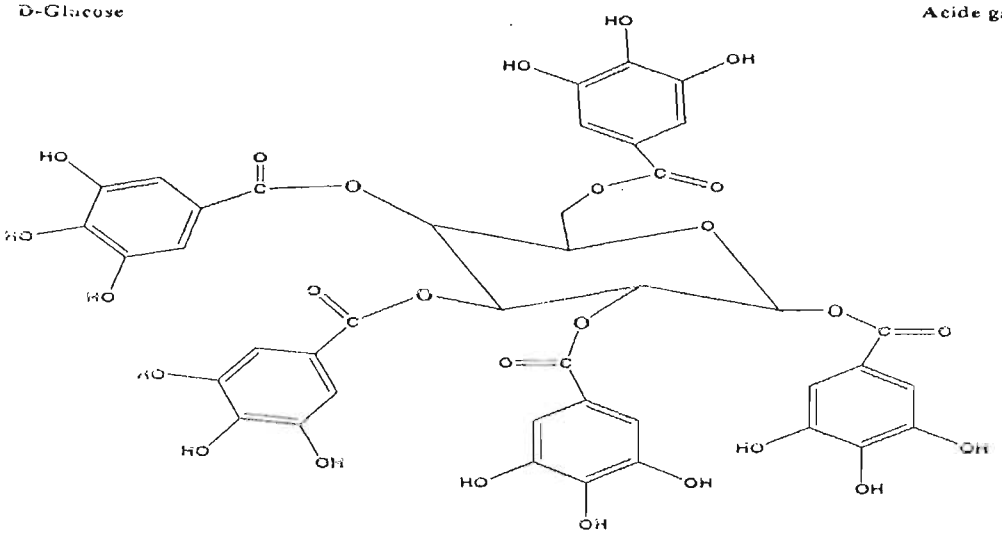
Ce sont des esters des acides phénoliques avec les polyalcools ou les sucres (souvent le glucose). Les tannins proviennent de l'estérification des cinq hydroxyles du glucose par cinq molécules d'acide gallique. On a pu synthétiser un pentagalloyle-glucose (BRUNETON J., 1993).



D-Glucose



Acide gallique



Pentagalloylglucose

Les tannins hydrolysables sont groupés en trois catégories à savoir :

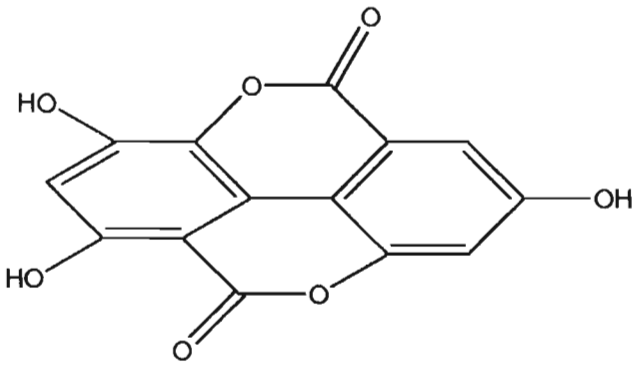
- Les tannins galliques ;
- Les tannins ellagiques ;
- Les depsides.

a. Les tannins galliques

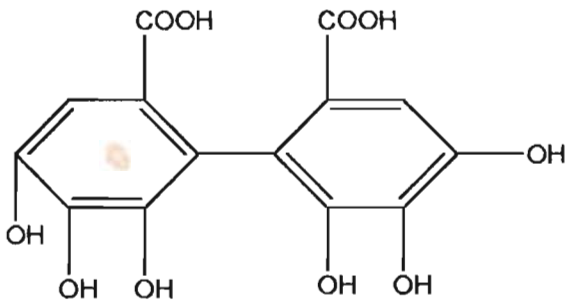
Les tannins galliques sont des esters de l'acide gallique ou de l'acide digallique avec les oses. Si le sucre est le glucose, les cinq groupes fonctionnels hydroxyles (OH) (en position 1,2,3,4 ou 6 sur le glucose) sont estérifiés avec des chaînes latérales comprenant 1 à n monomère(s) d'acide gallique. La biosynthèse de pentagalloyle-glucose s'effectue par substitution des groupements hydroxyles d'une molécule de glucose par cinq molécules d'acide gallique en position1, 2, 3, 4 ou 6 **(BRUNETON J., 1999 ; GUIGNARD J.L., 2000).**

b. Les tannins ellagiques

Les tannins ellagiques sont des substances obtenues par estérification des sucres (généralement le glucose) avec des acides hexahydroxydiphéniques (HHDP) et ses dérivés d'oxydation (dihydrohexahydroxydiphénique=DHHDP, acide chébulique) (BRUNETON J., 1999).



Acide ellagique

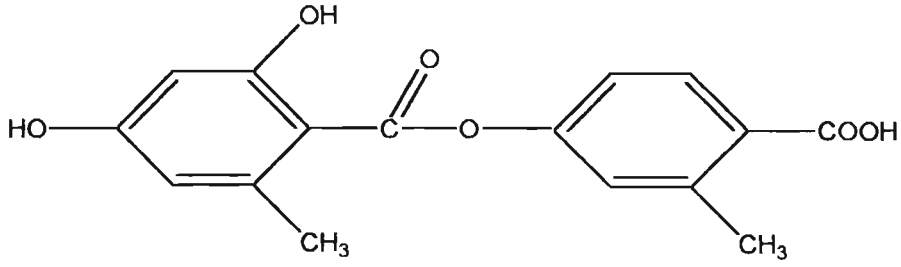


Acide hexahydroxydiphénique

c. Les depsides

Les depsides proviennent de l'estérification naturelle de deux acides phénoliques.

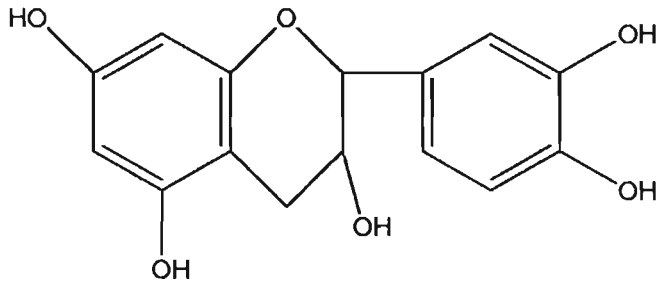
Exemple d'un depside :acide lécanorique



Acide lécanorique

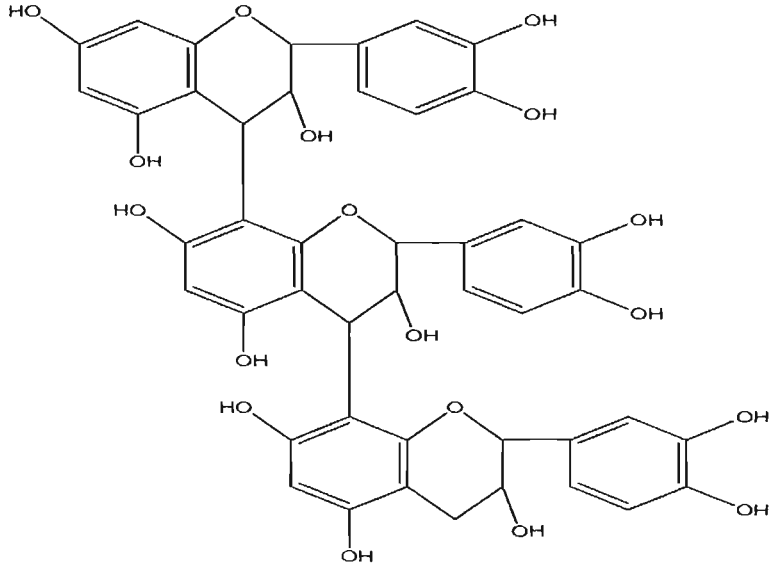
II. 1.4.2. Les tannins condensés

Les tannins condensés ou proanthocyanidols sont des polymères flaviniques. Ils sont constitués d'unités de flavan-3-ol liées entre elles par des liaisons C-C le plus souvent 4→8 ou 4→6 (BRUNETON J., 1999).



Flavan-3-ol

- Structure trimère



Epicatéchol-(4ß→8)-épicatéchol-(4 ß→8)-catéchol

II.1.5. Propriétés des tannins

II.1.5.1. Propriétés physico-chimiques des tannins

Les tannins se dissolvent dans l'eau sous forme de solution colloïdale, mais leur solubilité varie selon le degré de polymérisation (elle diminue lorsque celui-ci augmente). Ils sont solubles dans les alcools et dans l'acétone, peu solubles dans certains solvants organiques et insolubles dans les solvants apolaires (benzène, ether, chloroforme) (BRUNETON J., 1999).

Ces tannins sont précipités de leurs solutions aqueuses par les sels des métaux lourds (Cu, Fe, Zn, Hg, Pb) et par la gélatine. Les tannins condensés donnent des précipités brun-verdâtre, ce qui permet de distinguer les tannins hydrolysables des tannins condensés.

II.1.5.2. Propriétés biologiques

La plupart des propriétés biologiques des tannins sont liées au pouvoir qu'ils ont de former des complexes avec les macromolécules en particulier avec les protéines (enzymes digestives et protéines fongiques ou virales) (BRUNETON J., 1999).

II.1.5. 3. Propriétés physiologiques des tannins

Les applications des drogues à tannins sont assez restreintes et découlent de leur affinité pour les molécules protéiques. Par voie externe, elles imperméabilisent les couches les plus externes de la peau et des muqueuses protégeant ainsi les couches sous-jacentes, elles ont également un effet vasoconstricteur sur les petits vaisseaux superficiels, en limitant la perte des fluides et en empêchant les agressions extérieures, les tannins favorisent la régénératon des tissus en cas de blessure superficielle ou de brûlure.

Par voie interne, ils exercent un effet antidiarrhéique. Quelle que soit la voie d'administration, l'effet antiseptique (antibactérien et antifongique) clairement démontré de ces molécules est intéressant (BRUNETON J., 1993).

II.1.6. Usages des tannins dans l'industrie

- Les tannins peuvent être utilisés dans l'industrie pour la fabrication de l'encre. En effet, l'encre est une solution aqueuse d'acide gallique ou des tannins contenant $FeSO_4$, H_2SO_4 dilué : gomme arabique et un colorant. (BRUNETON J., 1993) ;
- Ces extraits des tannins naturels, indépendamment de leur composition et de leur origine sont employés depuis longtemps dans la conservation des peaux en cuir;
- Les tannins sont utilisés comme inhibiteurs des enzymes. C'est ainsi qu'ils sont utilisés pour la clarification du vin et de la bière (PARIS M. et HURABIELLE M., 1981) ;
- Chez l'homme, les tannins sont employés par voie interne comme astringent hémostatique et antituberculeux (PARIS R.R. et MOYSE H., 1971)

II.2. Généralités sur les bactéries diarrhéiques testées

En ce qui concerne ce point, nous avons pris comme référence FERRON A., (1984).

II.2.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli est un hôte normal de l'intestin de l'homme et d'autres animaux. Cette espèce est présente dans le milieu environnant ou dans les aliments.

Sa présence dans ces différents milieux est un signe d'une contamination fécale récente, car cette espèce ne résiste pas longtemps en dehors de son hôte qui est généralement l'homme.

Escherichia coli, est un bacille à Gram négatif mobile, pouvant se développer en aérobiose comme en anaérobiose. L'*Escherichia coli* représente près de 80% de la flore intestinale aérobie pour l'adulte (flore sous dominante car la flore dominante est représentée à 90% par une flore anaérobie).

Certaines souches de cette espèce peuvent se multiplier dans l'intestin et produire des entérotoxines qui peuvent être à l'origine des gastroentérites L'entérotoxine de cette espèce cause une hypersécrétion des chlorures et de l'eau dans l'intestin grêle. Ce qui fait que le malade émet des selles liquides et à quelques heures survient un syndrome de déshydratation aigue qui, si le sujet n'est pas traité, peut conduire à la mort (FERRON A., 1984).

II.2.2. *Vibrio cholerae*

Vibrio cholerae se trouve dans les selles des malades et de certains sujets (porteurs sains). Il survit dans les eaux polluées ainsi que sur les objets contaminés. *Vibrio cholerae* est un bacille à gram négatif mobile, aérobie-anaérobie facultatif, responsable du choléra.

Comme chez *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* libère une entérotoxine causant une hypersécrétion d'eau et de chlorures dans l'intestin grêle et inhibe la réabsorption du sodium. Ce qui fait que le malade émet des selles liquides occasionnant beaucoup de pertes en eau et en électrolytes, ce qui entraîne la déshydratation aigue qui peut provoquer la mort en absence de traitement(FERRON A., 1984).

II.2.3. *Shigella dysenteriae*

Le *Shigella dysenteriae* est un bacille à gram négatif immobile dont certaines souches peuvent être des agents responsables des maladies diarrhéiques.L'une de ces souches est le *Shigella dysenteriae* qui cause la dysenterie bacillaire.

La contamination se fait par les matières fécales soit directement (maladies des mains sales), soit indirectement par l'intermédiaire d'un aliment ou d'une boisson contaminé par les matières fécales (rôle possible de mouches comme vecteurs).

La dysenterie bacillaire est caractérisée par des émissions nombreuses de glaires sangulonnantes. Dans la forme grave, la déshydratation est aussi évidente.

CHAPITRE III :ECHANTILLONNAGE, SCREENING PHYTOCHIMIQUE, EXTRACTION DES TANNINS

III.1. Echantillonnage

III.1.1. Récolte

Les feuilles de *Cassia alata* sont récoltées le15/11/2012 en Mairie de Bujumbura à Kinindo.

III.1.2. Séchage

Le séchage des feuilles de *Cassia alata* a eu lieu dans le laboratoire du Centre de Recherche Universitaire en Pharmacopée et Médecine Traditionnelle (CRUPHAMET) , à l'Université du Burundi, à l'air libre. Le séchage a duré 20 jours.

III.1.3. Broyage et tamisage

Après avoir séché les feuilles de ladite plante, nous avons procédé au broyage dans un mortier en bois avec un pilon de même nature. Pour obtenir une poudre fine de faible granulométrie, nous avons effectué un tamisage. La fine poudre ainsi obtenue a été conservé pour les analyses ultérieures.

III.2. Screening phytochimique

III.2.1. Définition

Le screening phytochimique ou criblage consiste à effectuer des tests chimiques pour déceler la présence des groupes chimiques (les alcaloïdes, les tannins, les flavonoïdes, les stéroïdes et les terpènes, les leucoanthocyanes, les quinones et les saponosides) appélés principes actifs dans un extrait de la plante (SOFOWORA A., 1996).

La présence des substances d'intérêts pharmacologiques appelées principes actifs se fait à l'aide d'une série de réactions analytiques (réactions de coloration et de précipitation).

III.2.2. Détection des tannins

Nous avons préparé l'infusé à 5% (5g de poudre dans 100ml d'eau chaude). Après avoir effectué la filtration, nous avons ajouté environ 2ml du $FeCl_3$ à 3% à environ 3ml ml du filtrat. Une coloration bleu-noir a été observée. Notons que cette coloration indique la présence des tannins galliques (hydrolysables) tandis qu'une coloration bleu-vert indique la présence des tannins catéchiques (condensés) (SOFOWORA A., 1996).

III.2.3. Test de confirmation

Le test de confirmation des tannins a été fait à l'aide de la gélatine salée 1%, l'apparition d'un précipité blanc avec la gélatine salée confirme la présence des tannins. Ce précipité est un complexe formé par les protéines composant la gélatine avec les composants phénoliques multihydroxylés constituant les tannins. Ce dernier flocule d'abord et précipite par après (BRUNETON J., 1999). Les résultats sont consignés dans le tableau 1. Le mode opératoire pour la détection des autres principes actifs est consigné dans les ouvrages de BRUNETON J. (1993) et SOFOWORA A. (1996).

III.3. Extraction des tannins

L'extraction des tannins a été réalisée avec l'appareil de Soxhlet (figure 2) en utilisant le système acétone-eau (3:2 v/v) comme solvant. Avant de commencer l'extraction proprement dite, nous avons procédé d'abord à la délipidation avec l'éther de pétrole.

L'extrait obtenu a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif et conservé dans une bouteille brune bien fermée à l'abri de la lumière et de la chaleur au frigo. Cet extrait va nous servir aux tests bactériologiques et aux analyses chromatographiques.



Figure 2 : Photo de l'appareil de Soxhlet

CHAPITRE IV. ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE ET TESTS BACTERIOLOGIQUES

IV.1. Analyse chromatographique des tannins

Dans notre travail, nous avons utilisé seulement deux types de chromatographies : Chromatographie sur couche sur mince (CCM) et la Chromatographie sur colonne (CC).

UNIVERSITE DU BURUNDI
FACULTE
DES SCIENCES
B.P 2700
BUJUMBURA
BURUNDI

IV.1.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

1° Les objectifs de la CCM

Les objectifs de la CCM sont :

- contrôler la pureté d'un composé organique ;

- rechercher le meilleur solvant avant d'entreprendre une séparation par CC ;

- contrôler une séparation effectuée par la CC (CHAVANNE M., 1991).

2° Préparation de la cuve et de la plaque chromatographique

La cuve chromatographique et son couvercle ont été lavés à l'aide de l'eau distillée puis rincés avec le système de solvant (éluant) utilisé.

Pour la plaque chromatographique, nous avons tracé très légèrement avec un crayon une ligne de dépôt à 2 cm du bord inférieur et à 3 cm du bord supérieur de la plaque et avons marqué les emplacements de dépôts espacés de 2 cm.

Cette plaque a été chauffée dans une étuve pendant 30 minutes à 110°C avant de l'introduire dans la cuve. Nous avons mis dans la cuve le système de solvant utilisé 3 heures avant l'introduction de la plaque contenant l'échantillon en vue de la saturation de la cuve en vapeurs de solvant.

La cuve a été hermétiquement fermée pour assurer l'étanchéité.

Pour notre travail, les différents systèmes de solvants utilisés sont :

- Acétone-eau (28,5 :1,5 v/v) ;

- Acétone n-hexane (28 :15 v/v) ;

- Acétate d'éthyle-acide formique-eau (18 :1 :1 v/v).

3° Dépôt de l'échantillon et développement sur la plaque

Nous avons retiré la plaque chromatographique de l'étuve et puis, avons déposé sur la ligne de dépôt l'extrait brut des tannins à l'aide d'une micropipette sous forme de taches équidistantes de 2 cm. La plaque a été séchée à l'air libre et introduite dans la cuve renfermant le système éluant et nous avons remis directement le couvercle de la cuve et refermé convenablement. Nous avons retiré la plaque au moment où l'éluant a atteint la ligne de front et l'avons séchée à l'air libre.

4° Révélation

Généralement, les colorations sont perceptibles à la lumière visible, en ultra-violet (UV) et en pulvérisant la plaque par l'iode à l'aide d'un atomiseur (BOUNIAS M., 1983).

Pour notre travail, nous avons utilisé la radiation ultraviolette (UV) pour révéler les taches.

Le meilleur système qui est l'acétate d'éthyle-acide formique-eau (18 :1 :1 v/v) a fractionné l'échantillon en 5 taches dont chacune correspond à une valeur propre de R_f. Les résultats sont consignés dans le tableau 2. Le chromatogramme obtenu est visible sur la figure 3.

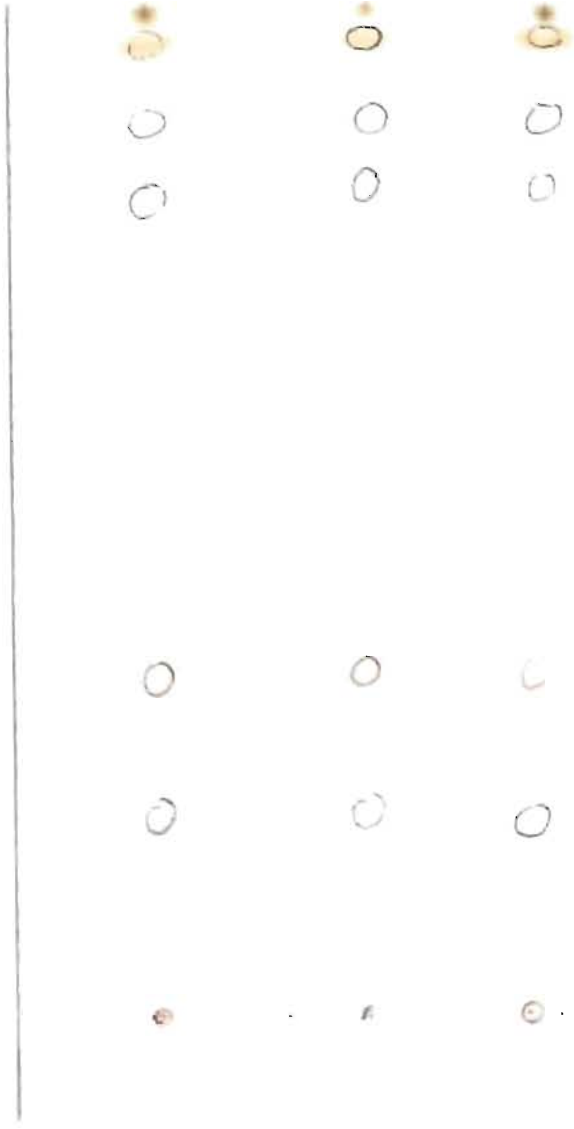


Figure 3 : Chromatogramme sur couche mince de l'extrait brut des tannins dans le système acétate d'éthyle –acide formique-eau (18 :1 :1 v/v)

IV.1.2. Chromatographie sur colonne

La chromatographie sur couche mince prépare la chromatographie sur colonne en fournissant des informations sur les systèmes de solvants à utiliser lors de la séparation effectuée dans cette dernière.

1° Remplissage de la colonne

A défaut d'une colonne préposée à cet effet, nous nous sommes servi d'une burette de 50 cm. Nous avons commencé par l'introduction du tampon d'ouate au fond de la burette et avons superposé à ce tampon une couche de sable de 2 cm d'épaisseur. La bouillie préparée à l'aide de l'éluant et de l'alumine a été versée jusqu'au 3/4 de la hauteur de la burette. Nous l'avons versé dans la colonne par petite portion en vue de permettre son tassement. Au dessus de l'adsorbant bien tassé, nous avons déposé une seconde couche de sable pour éviter toute turbulence au moment de l'introduction de l'échantillon.

2° Introduction de l'échantillon et développement de la colonne

Après le remplissage de la colonne, au moment où l'adsorbant est bien tassé, nous avons introduit l'échantillon dans la burette à l'aide d'une pipette, l'extrait s'infiltre d'abord dans la deuxième couche de sable puis dans l'adsorbant. Le système éluant est versé dans la burette avec précaution, d'abord par des petites portions jusqu'à la décoloration de la deuxième couche de sable ; ensuite, l'éluant est maintenu à une certaine hauteur au dessus de l'adsorbant. Au cours du développement de la colonne, il y a eu l'apparition de plusieurs zones dont les couleurs sont différentes. Par l'intermédiaire du robinet, nous avons recueilli 23 flacons dans lesquels seulement 8 répondent positivement au test des tannins.

IV.1. 3. Test de pureté des flacons contenant les tannins

Parmi les 23 flacons recueillis, seuls les 8 flacons numérotés 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 et 14 ont répondu positivement au test des tannins et ont été soumis au test de pureté à l'aide de la CCM avec le système acétate d'éthyle-acide formique-eau (18 :1 :1 v/v). Chaque flacon a donné une seule tache au même R_f (0.13) sauf 7 et 8 dont leurs révélations n'ont pas été claires. Les flacons qui ont donné une seule tache au même R_f ont été réunis et ont constitué un seul produit. Les résultats sont consignés dans le tableau 3. Le chromatogramme obtenu est donné à la figure 4.

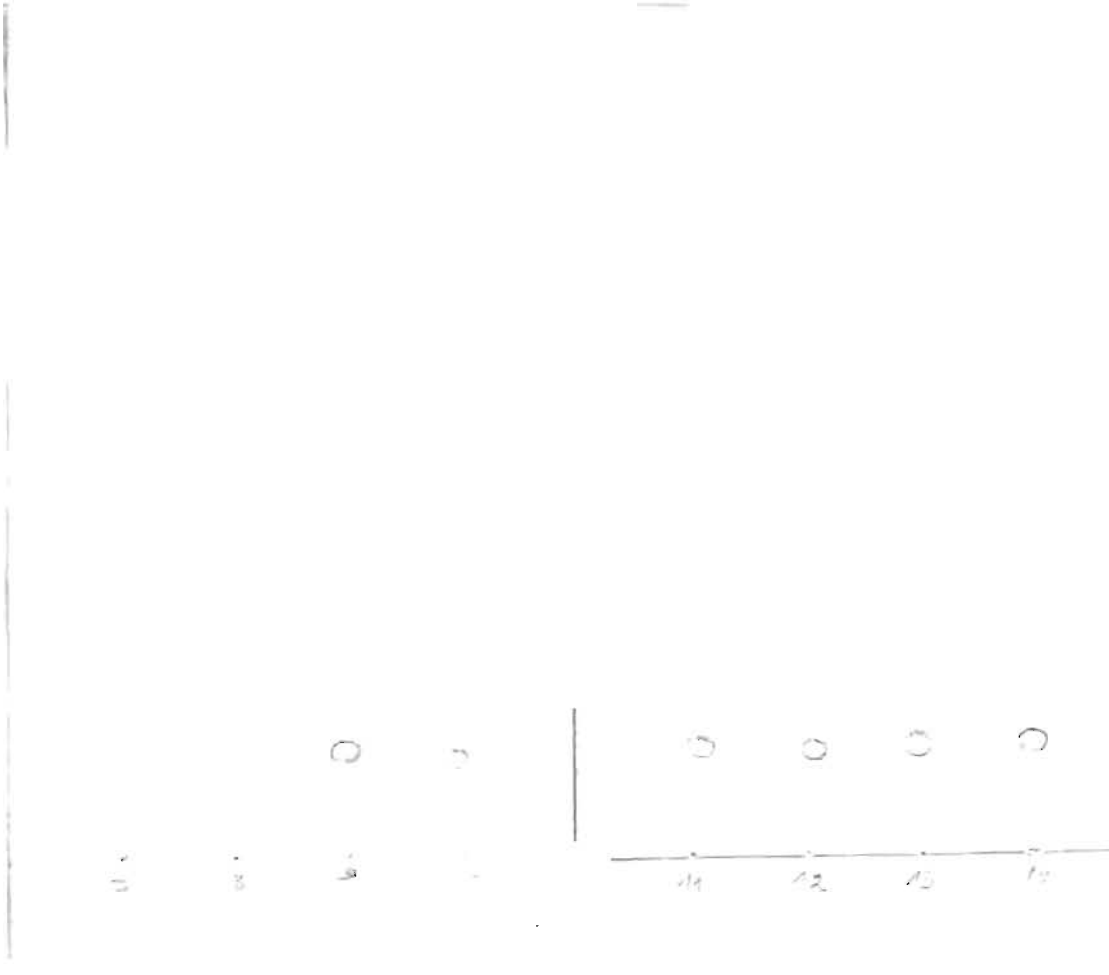


Figure 4 : Chromatogramme des flacons répondant positivement au test des tannins dans le système acétate d'éthyle-acide formique-eau (18 :1 :1 v/v)

IV.1.4. Essai de cristallisation

La cristallisation renseigne aussi sur la pureté d'une substance. Le solvant choisi ne doit réagir avec la substance à purifier et doit dissoudre les impuretés (KLYNE W., 1966).

Après avoir combiné les 6 flacons qui ont eu une seule tache avec le même R_f, nous avons procédé à l'évaporation jusqu'à l'obtention d'une solution concentrée au fond du bécher et y avons versé par la suite de l'acide acétique chauffé jusqu'aux environs de sa température d'ébullition.

Après refroidissement à l'air, nous avons filtré le mélange et avons obtenu la substance sous forme de poudre après avoir séché à l'air libre.

IV.1.5. Détermination de la température de fusion de la substance isolée

La détermination du point de fusion a été réalisée à l'aide de l'appareil de Thiele. La température est une caractéristique physique propre à une substance (BRUNETON J., 1993). Notre substance isolée a commencé à fondre à 192°C et s'est terminé à 198°C, ce qui nous a prouvé que notre substance n'est pas pure.

IV.2. Tests bactériologiques

Notre étude a porté sur les deux extraits des feuilles de *Cassia alata* à savoir l'extrait aqueux et l'extrait brut des tannins sur les trois souches bactériennes (*Vibrio cholerae, Escherichia coli et Shigella dysenteriae*) fournies par l'INSP. Elles ont été isolées dans les selles des malades souffrant de la diarrhée.

U. B.

IV.2.1. Préparation de l'extrait aqueux

L'extrait aqueux doit être très visqueux pour faciliter la tache de l'antibiogramme. Pour notre travail, nous avons dissous 4g de poudre de notre échantillon dans 16 ml d'eau chaude et avons obtenu une solution visqueuse. L'extrait a été conservé dans le frigo pour les analyses bactériologiques.

IV.2. Préparation et imprégnation des disques dans l'extrait brut des tannins

Les disques de papier filtre ont été perforés, stérilisés dans l'étuve à 100°C pendant 8 heures. Nous avons, par la suite, trempé ces disques dans l'extrait brut des tannins pendant 24 heures, retiré et séché à l'étuve pendant 20 minutes. Nous les avons conservés dans des boites de Petri stérilisées et dans le réfrigérateur (DIAGNOSTIC P., 1988). Ce sont ces mêmes disques qui ont été utilisés pour les analyses bactériologiques.



Figure 5 : Photo des disques imprégnés dans un extrait brut des tannins

IV.2.3. Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture utilisé a été préparé à l'INSP. Ce milieu porte le nom de Mueller- Hinton contenant la gélose de composition suivante :

- Infusion de viande de bœuf : 2g/l ;
- Bio-case : 7,5g/l ;
- Amidon : 1,5g/l ;
- Agar : 17,5g/l
- pH : 7,3

La gélose de Mueller-Hinton est le milieu de référence pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques (MARCHAL et al., 1982).

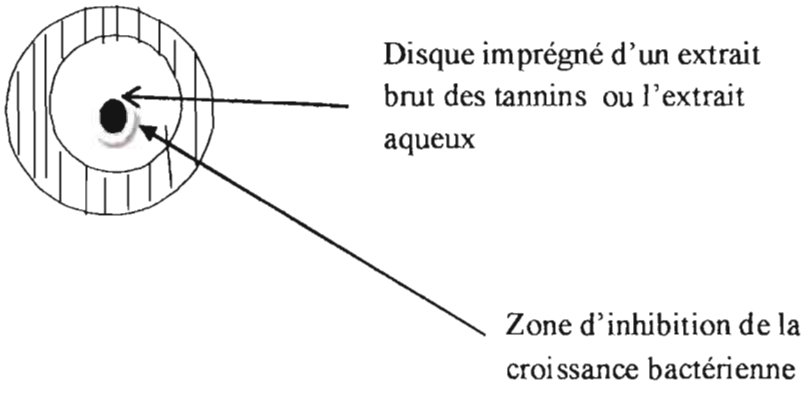
La suspension homogénéisée est autoclavée à 121°C sous pression d'une atmosphère pendant 15 minutes en vue de la stériliser. Elle est ensuite répartie dans des boîtes de Petri qui sont elles aussi préalablement stérilisées afin d'éviter la contamination (RIVIERE J., 1975).

IV.2.4. Détermination de la sensibilité bactérienne

Dans notre étude, les boîtes de Petri contenant la gélose sont ensemencées à l'aide d'un écouvillon des souches bactériennes à étudier. Ensuite, à l'aide d'une pince, l'extrait aqueux et les disques en papier filtre imprégnés d'extrait brut des tannins sont appliqués sur le milieu de culture dans des boîtes de Petri. Après 24 heures d'incubation à 37°C dans l'étuve, nous avons pu observer les résultats.

En cas de sensibilité, une zone d'inhibition est observée autour du disque ou des extraits appliqués sur le milieu de culture. Dans le cas contraire, cette zone n'est pas observée, on observe par contre, un tapis bactérien continu autour du disque ou des extraits utilisés. Les résultats sont consignés dans le tableau 4.

Pour illustrer les photos prises mais qui ne sont pas claires, nous avons jugé bon de montrer ce que devrait être une zone d'inhibition par un schéma.



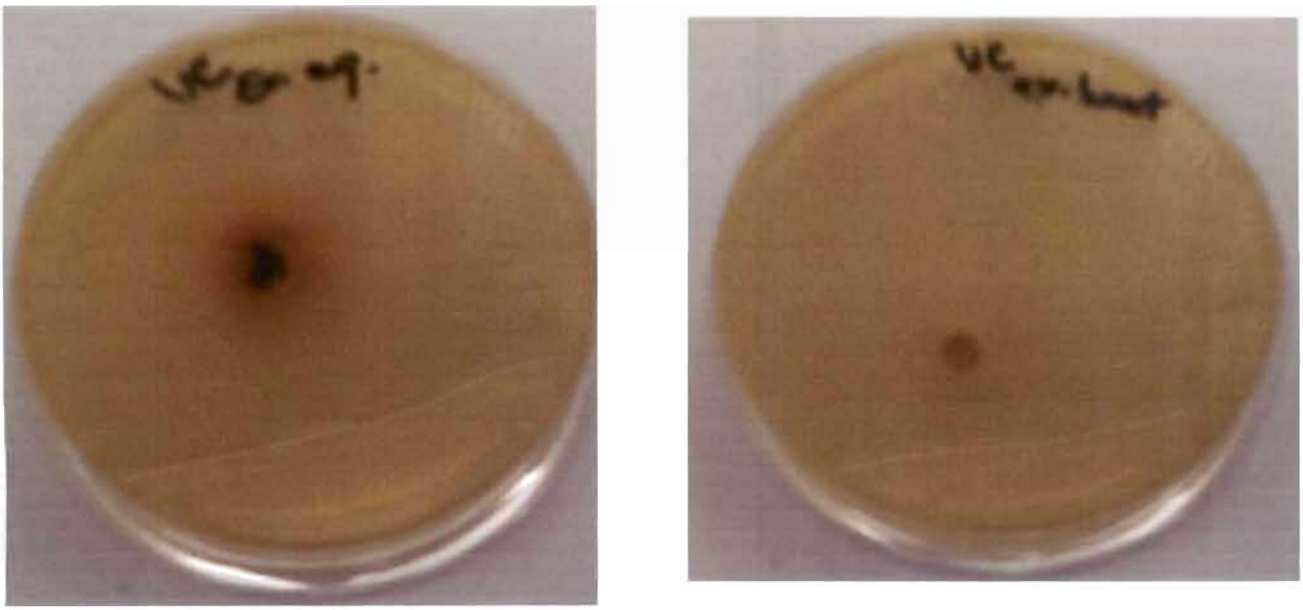


Figure 6 : Photo de milieu de culture des souches bactériennes dans le cas de sensibilité

Légende :

Vc : *Vibrio cholerae*

Ex aq : extrait aqueux

Ex brut : extrait brut

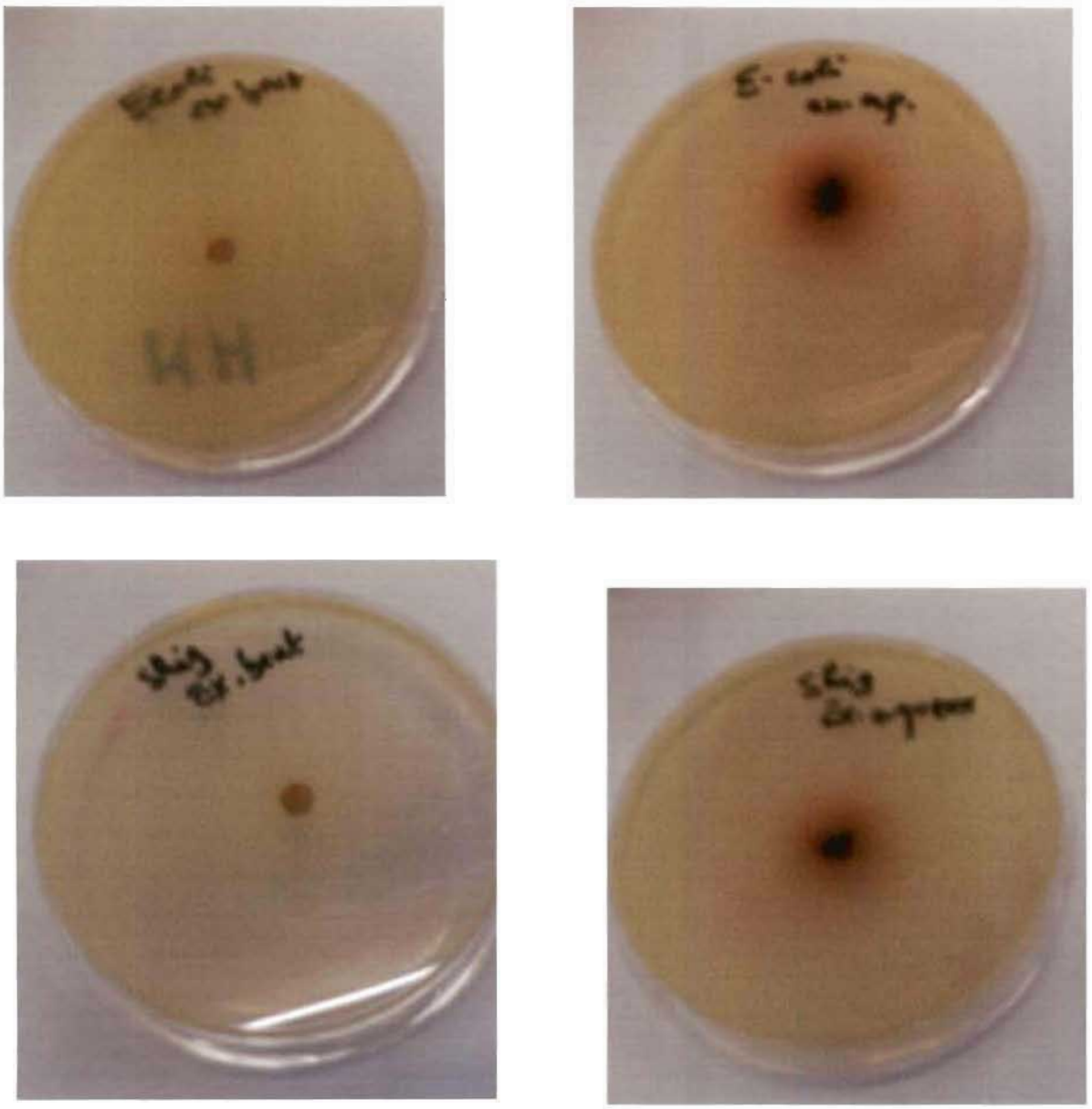


Figure 7 : Photo de milieu de culture des souches bactériennes dans le cas de non sensibilité

Légende :

E.coli : *Escherichia coli*

Shig : *Shigella dysenteriae*

CHAPITRE V. PRESENTATION, INTERPRETATION ET DISCUSSION DES RESULTATS

V.1. Présentation des résultats

V.1.1. Résultats du screening phytochimique des feuilles de *Cassia alata*

Le screening phytochimique a porté sur les feulles de *Cassia alata* récoltées à Kinindo en Mairie de Bujumbura. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Résultats du screening phytochimique des feuilles de *Cassia alata*

Principes actifs recherchés	Résultats	
Tannins	$FeCl_3$	+++
	G.S	+++
Alcaloïdes	M	-
	D	-
	W	-
Anthraquinones		+
Leucoanthocyanes		-
Flavonoïdes		-
Stéroïdes et terpènes		++
Saponosides		-

Légende :

G.S : Gélatine Salée

M : Réactif de Mayer

D : Réactif de Dragendorff

W :Réactif de Wagner

Barèmes utilisés (SOFOWORA A., 1996):

- : absence du principe actif

+ : présence en faible quantité

++ : présence en quantité moyenne

+++ : présence en grande quantité

V.1.2. Résultats de la chromatographie sur couche mince de l'extrait brut des tannins

Les résultats de la chromatographie sur couche mince de l'extrait brut des tannins sont consignés dans le tableau 2. Signalons que la distance parcourue par le solvant était de 15 cm.

Tableau 2 : Résultats de la chromatographie sur couche mince de l'extrait brut des tannins dans le système d'élution acétate d'éthyle-acide formique-eau (18 :1 :1v/v)

N° de la tache	Distance parcourue par la substance en cm	R_f
1	3	0,20
2	5,2	0,34
3	1,8	0,78
4	13,1	0,87
5	14,2	0,94

V.1.3. Résultats de la chromatographie sur couche mince des flacons répondant aux tests positifs des tannins

Les résultats de la chromatographie sur couche mince des flacons répondant aux tests positifs des tannins sont consignés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Résultats de la chromatographie sur couche mince des flacons répondant aux tests positifs des tannins dans le système acétate d'éthyle-acide formique-eau (18 :1 :1 v/v)

N° du flacon	Distance parcourue par la substance en cm	R_f
9 10 11 12 13	2	0,13

V.1.4. Résultats des tests d'activité des différents extraits sur les bactéries

Les résultats des tests d'activité des différents extraits sur les bactéries sont consignés dans le tableau 4.

Tableau 4 : Résultats des tests d'activités des différents extraits sur les bactéries

Nom de la plante	Partie de la plante	Extraits	Vc	Ec	SH
Cassia alata	Feuilles	aqueux	++(3 mm)	-(0mm)	-(0mm)
		brut des tannins	+ (2mm)	-(0mm)	-(0mm)

Légende

- Vc :*Vibrio cholerae*
- Ec :*Escherichia coli*
- SH: *Shigella dysenteriae*

Barème utilisé

-: résistance de la souche à l'extrait

+ : sensibilité de la souche à l'extrait

++ : forte sensibilité de la souche à l'extrait

V.2. Discussion et interprétation des résultats

Le screening phytochimique des feuilles de *Cassia alata* nous a révélé :

- la présence en grande quantité des tannins ;
- la présence en quantité moyenne des stéroïdes et terpènes ;
- la présence en faible quantité des anthraquinones ;
- l'absence des alcaloïdes, leucoanthocyanes et saponosides dans les feuilles de ladite plante.

Ces résultats sont proches de ceux trouvés par MACUMI D.(2009) et NDIKUMANA S. (2008).

La petite différence observée peut s'expliquer par le fait que la présence en quantité abondante ou moyenne et l'absence d'un principe actif dans une plante dépend de plusieurs facteurs à savoir : le climat, l'âge de la plante, la nature du sol, les conditions de séchage et de conservation,...(RWANGABO P.C., 1986).

Pour la chromatographie sur couche mince, nous avons utilisé 4 systèmes de solvants à savoir acétone-eau (28,5 :1,5 (v/v)), acétone –n-hexane (28 :15 (v/v)), acétate d'éthyle-acétone-eau (3 :2 :1 (v/v)), acétate d'éthyle-acide formique-eau (18 :1 :1 (v/v)). Mais le système qui nous a paru meilleur est l'acétate d'éthyle-acide formique-eau (18 :1 :1 (v/v)) qui a fractionné notre échantillon en 5 taches à des valeurs différentes de R_f (figure 3 et tableau2).

Pour la chromatographie sur colonne avec le système acétate d'éthyle-acide formique-eau (18 :1 :1 (v/v)), nous avons recueilli 8 flacons répondant aux tests positifs des tannins. Après avoir soumis ces flacons au test de pureté, nous avons cristallisé leur contenu et nous avons obtenu une substance sous forme de poudre. Cette substance a été soumise au test de pureté par détermination de sa température de fusion et nous avons obtenu une température de fusion comprise entre 192 à 198°C. Cet écart entre les deux températures est énorme ; d'où la substance n'est pas pure.

Les résultats obtenus au laboratoire de l'INSP concernant les tests bactériologiques ont montré que seul le *Vibrio cholerae* est sensible aux deux extraits (aqueux et brut des tannins) à des degrés différents (tableau 4) tandis que l'*Escherichia coli* et la *Shigella dysenteriae* ont résisté aux deux extraits utilisés.

CONCLUSION GENERALE ET RECOMMANADATIONS

Conclusion générale

Les résultats du screening phytochimique nous ont permis de conclure que notre plante contient des principes actifs ou bioactifs pouvant expliquer son usage en médecine traditionnelle.

La chromatographie sur couche mince et la chromatographie sur colonne nous ont permis d'isoler les tannins sous forme d'une substance poudreuse de température de fusion comprise entre 192 et 198°C, nous en avons conclu que la substance n'est pas pure.

Quant aux tests bactériologiques, le *Vibrio cholerae* (agent causal du choléra) a été sensible aux deux extraits (aqueux et brut des tannins) utilisés alors que les autres souches ont manifesté la résistance à ces derniers.

Ces résultats peuvent confirmer l'utilisation de ladite plante pour le traitement des maladies diarrhéiques.

Recommandations

Vu que notre objectif a été atteint partiellement et en considérant les conditions dans lesquelles nous avons travaillé, nous aimerions émettre quelques recommandations :

- A l'Etat :
  - de mettre en place une loi régissant la médecine traditionnelle ;
  - de favoriser la collaboration entre la médecine traditionnelle et la médecine moderne ;
  - de rehausser le budget réservé à l'Université du Burundi dans le cadre de la recherche ;

- A l'Université du Burundi : de soutenir les travaux de recherches en équipant convenablement les laboratoires en matériels et en produits chimiques.
- A la population : de protéger l'environnement afin d'éviter la disparition continuelle des différentes espèces de plante pouvant servir la médecine traditionnelle.
- Aux futurs chercheurs :
  - de mener une étude approfondie sur la plante *Cassia alata* :
  - d'isoler les principes actifs présents dans cette plante et déterminer leur nature et leur structure moléculaire ;
  - de déterminer la concentration minimale d'un principe actif nécessaire à l'inhibition de la croissance bactérienne ;
  - de déterminer la dose maximale nécessaire pour un malade en respectant la posologie.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BERHAUT J., 1975 : *Flore illustrée du Sénégal ,tome* 3, Dakar,634p.
- BOKEMO W., 1985 : *Recherche pharmacognosique sur les plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle à Kisangani* (haut Zaïre), ULB, Bruxelles.
- BOULARD B., 2001 : *Plantes médicinales, croyances et réalités : Dictionnaire,* Ed. Estem, Paris.
- BOUNIAS M., 1983 : *Analyse biochimique quantitative par nanochromatographie en couche mince,* Masson, Paris.
- BRUNETON J., 1987 : *Eléments de phytochimie et de pharmacognosie,* Masson, Paris.
- BRUNETON J., 1999 : *Pharmacongnosie, phytochimie, plantes médicinales,* 3^{éme} édition, Paris.
- BUNET P.et BRUNER J.P., 1968 : *Physiologie végétale II*, Paris.
- C.E.P.G.L, 1990 : *Troisièmé réunion de mise en place des réseaux thématiques de recherche de la C.E.P.G.L : Rapport de la réunion des représentants des pays de la sous- région d'Afrique centrale* (Document travail) Inédit.
- CHAVANNE M., 1991 : *Chimie Organique expérimentale*, Masson, Paris.
- Colloque du CAMES, 1976 : *Médecine traditionnelle et pharmacopée africaines,* Lomé.
- DEPARTEMENT D'EPIDEMIOLOGIE ET STASTIQUES SANITAIRES DU MINISTERE DE LA SANTE PUBLIQUE DU BURUNDI, 1990 : *Rapport annuel,* Bujumbura.
- DIAGNOSTIC P., 1988, *Antibiogramme pasteur, Biochimie*, 8p.
- F.A.O, 1962 : *Méthodes artisanales de tannage,* préparé par la sous division du génie rural, division de la mise en valeur des terres et des eaux à l'aide d'une documentation fourniepar M.I Mann, Rome.

- FERRON A., 1984 : *Bactériologie médicale,* 12éme édition, Faid herbe.la Madeleine.
- GRIGNARD V., DUPONT C. et LOCQUIN R., 1955 : *Traité de chimie organique,* Tome V, Mason et Cie, Paris.
- GUINARD J.L., 2000 : *Abrégé de biochimie végétale,* 2éme édition, Dunod, Paris.
- KEITA A., KALACHAND D., KOUMARE M., KANOUTE G. et DOUMBIA O., 1993 : *Santé pour tous,* bulletin semestriel du centre national du Mali, Bamako.
- KLYNE W., 1966 : *La chimie des stéroïdes,* Villard, G., autier, Paris.
- MACUMI D., 2009 : *Isolation et purification des quinones des feuilles de Cassia alata de Kabondo en Mairie de Bujumbura,* mémoire , Faculté des Sciences, U.B, Bujumbura.
- MARCHARD N, BOURDDON J.L. et RICHARD C., 1982 : *Les milieus de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries,* Doin, éditeur.
- MAURICE R., 1988 : *Phytochimie, phytothérapie*, M asson, Paris.
- NDIKUMANA S., 2008 : *Essai de purofication des stéroïdes/terpénoides des feuilles de Cassia alata de Kabondo, commune Rohero, Bujumbura-Mairie,* Mémoire, Faculté des Sciences, U.B, Bujumbura.
- PARIS M. et HURABIELLE M., 1981 : *Abrégé de la matière médicale,* Tome 1, Masson, Paris.
- PARIS R. et MOYSE H., 1976 : *Matières médicales,* Tomes 1, 2éme édition,Masson, Paris.
- PARIS R.R. et MOYSE H., 1971 : *Matière médicale,* Tome 3, 2éme édition, Masson, Paris.
- RIVIERE J., 1975 : *Les applications industrielles de la microbiologie,* Masson et Cie, éditeur 203.

- RWANGABO P.C., 1993 : *La médecine traditionnelle au Rwanda,* ACCT, Karthala, Paris.
- SOFOWORA A., 1996 : *Planté médicinale et médecine traditionnelle d'Afrique,* édition Karthala, Paris.
- WATERMAN P.G. et MOLE S., 1994: *Analysis of phenolic plant metabolites,* Black Well Scientific Publication, Oxford.

Référence en ligne

www.who.int/média centre, factsheets/fr330/fr/indexhtml, visité le 12 avril 2013

ANNEXE

Résultats comparés aux résultats du screening phytochimique des feuilles de *Cassia alata.*

Résultats du screening phytochimique des feuilles de *Cassia alata*trouvés par MACUMI D. (2009)

Principes actifs recherchés	Résultats	
Tannins		++
Alcaloïdes	M	-
	D	-
	W	-
Anthraquinones		++
Leucoanthocyanes		-
Flavonoïdes		+
Stéroïdes et terpènes		+++
Saponosides		-

Résultats du screening phytochimique des feuilles de *Cassia alata* trouvés par NDIKUMANA S. (2008)

Principes actifs recherchés	Résultats	
Tannins		+++
Alcaloïdes	M	-
	D	-
	W	-
Anthraquinones		-
Leucoanthocyanes		-
Flavonoïdes		+
Stéroïdes et terpènes		+++
Saponosides		-