

EVALUATION DE LA QUALITE HYGIENIQUE DE SIX PLANTES MEDICINALES ET DES PHYTOMEDICAMENTS TRADITIONNELS

AGASSOUNON DJIKPO TCHIBOZO, M.¹, ANANI, K. T.², AMEYAPOH, Y.²,
TOUKOUROU, F.¹, de SOUZA, C.², GBEASSOR, M.²

1. Département de Biologie Végétale, FAST, Université Nationale du BENIN - COTONOU
2. Laboratoire de Microbiologie, Centre de Recherche et de Formation sur les Plantes Médicinales, Université de Lomé - Lomé TOGO.

Résumé

Dans le but d'apprécier la qualité hygiénique des organes de six plantes médicinales et de réaliser le contrôle de la qualité microbiologique des phytomédicaments traditionnels, nos travaux ont porté d'une part, sur les plantes médicinales les plus utilisées à Cotonou (BENIN) pour le traitement du paludisme et des maladies d'origine microbienne : *Dialium guineense*, *Pavetta corymbosa*, *Rytigynia canthioides*, *Securinega virosa*, *Sansevieria liberica* et *Uvaria chamae*; et d'autre part, sur leurs macérations et décoctions. Les résultats de l'étude de la qualité hygiénique des plantes indiquent la présence de coliformes totaux (30°C), de coliformes thermotolérants (44°C), de levures et de moisissures (*Aspergillus niger* et *Mucor sp.*). Le nombre des coliformes varie entre 250 et 110 .10³ germes/ml et celui des levures et moisissures est de 3.10³ à 84.10³. Les essais de conservation réalisés à 26°C (température ambiante) et au réfrigérateur (4°C ± 1) pendant quinze jours avec deux macérations constituées d'associations de *Rytigynia canthioides* et de *Securinega virosa* (Rc Sv-2) et de *Dialium guineense*, *Pavetta corymbosa*, *Rytigynia canthioides*, *Sansevieria liberica* et *Uvaria chamae* (DPRSU-5) ont montré la présence de bacilles Gram positifs (catalase + oxydase + ; catalase + oxydase - et catalase - oxydase -) et Gram négatif, de levures et moisissures.

La concentration microbienne initiale des macérations conservées au réfrigérateur (4°C ± 1) a subi un effet microbiostatique.

La conservation des macérations à 26°C a par contre révélé une augmentation de cette flore.

Les décoctions et les macérations filtrées, utilisées comme témoins et conservées dans les mêmes conditions 4°C ± 1 et 26°C) sont demeurées stériles.

Deux phytomédicaments SN-1 et TOLA-1 testés comme contrôle sont contaminés par les mêmes germes que ceux isolés des macérations.

L'utilisation des phytomédicaments traditionnels comporte donc des risques de toxoinfection pour les consommateurs. Les tradithérapeutes et les vendeuses (ou vendeurs)

de plantes médicinales doivent être informés sur les bonnes pratiques d'hygiène, de préparation et de conservation de leurs produits.

Mots clés : *Plantes médicinales – Phytomédicaments – Qualité microbiologique.*

I – INTRODUCTION

Depuis le temps ancestral la population africaine a toujours résolu les problèmes de santé primaire par l'intermédiaire de la médecine traditionnelle.

Ainsi bon nombre de plantes médicinales sont utilisées sous différentes formes pour traiter diverses maladies (angine, paludisme, maux de ventre, la stérilité, la diarrhée, etc.).

De toutes les maladies qui menacent l'Afrique en général et le BENIN en particulier, le paludisme constitue avec les maladies d'origine microbienne les affections les plus fréquentes.

Cette étude a été entreprise dans le but de contrôler la qualité hygiénique des six plantes les plus citées dans le traitement de ces affections à Cotonou et des phytomédicaments traditionnels.

II - MATERIEL ET METHODES

2.1 – Matériel

2.1.1- Plantes médicinales et les associations étudiées

Nos analyses ont porté sur six plantes médicinales citées en associations et couramment utilisées dans le traitement traditionnel du paludisme et des maladies d'origine microbienne à Cotonou au BENIN.

Les associations de plantes concernées sont : Rc Sv-2 composé des feuilles de *Rytigynia canthioides* et de *Securinega virosa* et DPRSU-5 composé des feuilles de *Dialium guineense*, *Pavetta corymbosa*, *Rytigynia canthioides* et des racines de *Sansevieria liberica* et *Uvaria chamae*. Lesdites plantes sont achetées sur les marchés de Dantokpa, Gbêdjromédé et Godomey au BENIN.

L'authentification de ces plantes a été faite par le laboratoire de Biologie végétale de l'Université Nationale du BENIN et le Département de botanique de l'Université de Lomé au TOGO où des échantillons ont été déposés.

2.1.2- Phytomédicaments analysés

Deux phytomédicaments achetés sur les marchés de la ville de Lomé ont été analysés. Il s'agit des phytomédicaments codés SN-1 et TOLA-1.

2.1.3- Milieux de cultures

Les bouillons lactosés au bromocrésol pourpre et au vert brillant, la gélose Sabouraud chloramphénicol, la gélose Plate Count Agar (PCA), le tryptone-sel et le milieu Chapman ont été utilisés

2.2- Méthodes

2.2.1- Préparation des macérations et des décoctions codées RcSv-2 et DPRSU-5.

La méthode de préparation de ces formes galéniques est une modification de celle déjà rapportée (6 ; 7).

La macération RcSv-2 est un mélange à 50% (p/p) des poudres de feuilles de *Rytigynia canthioides* et de *Securinega virosa*. Celle de DPRSU-5 est constituée des poudres de feuilles de *Dialium guineense*, *Pavetta corymbosa*, *Rytigynia canthioides* et de racines de *Sansevieria liberica* et de *Uvaria chamae* à part égale.

Une suspension de 100 mg/ml de chaque association a été préparée avec l'eau de robinet stérile. Chacune des suspensions a été divisée en trois lots : le lot N°1 constituant la macération est laissé pendant 15mn à 26°C puis décanter ;

le lot N°2 est stérilisé par filtration sur membrane millipores 0,45µm ;

et le lot N°3, la décoction, portée à une température de 80°C pendant 15mn.

2.2.2 – Evaluation de la qualité hygiénique des plantes, des macérations et décoctions

Nous avons utilisé la technique de dénombrement en milieu liquide associée à l'étalement sur milieu solide approprié (VALLEMONT et coll., 1981 ; BOURGEOIS et LEVEAU, 1980 ; GUIRAUD et GALZY, 1980).

Dix grammes (10g) de chaque poudre de plante et 10 ml de chaque phytomédicament ont été dilués dans 90 ml de Tryptone-Sel.

Les germes totaux ainsi que les levures et moisissures ont été dénombrés respectivement sur les géloses Plate Count Agar (PCA) et Sabouraud Chloramphénicol tandis que les coliformes totaux et thermotolérants (44°C) ont été recherchés et dénombrés par la technique du Nombre le Plus Probable (NPP) dans les bouillons lactosés au bromocrésol pourpre et au vert brillant.

2.2.3 – Evaluation de la qualité hygiénique des phytomédicaments

Dans les phytomédicaments sélectionnés, les germes anaérobies sulfite-réducteurs ont été recherchés et dénombrés sur le milieu tryptone- sulfite-néomycine (TSN) en plus des germes recherchés dans les décoctions et macérations par la même méthode décrite précédemment.

2.2.3-Essais de conservation des décoctions et macérations

Les macérations et les décoctions ont été conservées à 26°C (Température ambiante) et à 4°C ± 1 (au réfrigérateur) pendant 15 jours.

La qualité hygiénique de ces formes galéniques a été appréciée toutes les 72 heures par la technique de dilution couplée à l'étalement sur des milieux gélosés appropriés (3 ; 5).

Une aliquote de macération filtrée sur membrane millipore 0,45µm a été utilisée comme témoin.

III - RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Evaluation de la qualité hygiénique

3.1.1-Les plantes étudiées

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau n°1.

Ces résultats indiquent que les organes des plantes étudiés sont contaminés à des degrés divers par les coliformes totaux, les coliformes thermotolérants (44°C), les levures et les moisissures.

Par rapport à ces trois catégories de germes, les racines de *Rytigynia canthioides* (Rubiaceae) sont les plus contaminées (Coliformes totaux et thermotolérants (44°C) : $110.10^3/g$; levures et moisissures : $82.10^3/g$).

3.1.2-Les décoctions et macérations

3.1.2.1. Décoctions

Les décoctions *RcSv-2* et DPRSU-5 analysées ne renferment aucun des germes recherchés. Ils sont donc de bonne qualité hygiénique.

3.1.2.2 – Macérations *RcSv-2* et DPRSU-5

Les tableaux N°2 et N°3 illustrent les résultats obtenus.

La flore totale initiale dénombrée dans les macération *RcSv-2* et DPRSU-5 est respectivement de 320.10^3 germes/ml et 322.10^5 germes/ml.

• **Macération *RcSv-2***

Les résultats au cours de la conservation à 26°C de la macération *RcSv-2* indiquent une augmentation de la flore mésophile totale (30°C) jusqu'au neuvième jour où elle atteint 229.10^9 germes/ml suivie d'une régression à 325.10^3 germes/ml au 15^{ème} jour.

La flore fongique, 84.10^3 germes/ml au début, a connu une augmentation au cours de la conservation (312.10^{13} germes/ml après 15 jours).

Tandis qu'à 4°C, les flores mésophile totale et fongique ont diminué de manière significative.

- **Macération DPRSU-5**

A 26°C, la flore mésophile totale (30°C) qui est de 322.10^5 germes/ml au début, a subi une augmentation au cours de la conservation et est de l'ordre de 55.10^{11} germes/ml après 15 jours.

A la même température la flore fongique qui n'est apparue qu'au 3^e jour a atteint 54.10^{11} germes/ml à la fin de la conservation.

On note une diminution de la flore mésophile totale (30°C) à 4°C tandis que la flore fongique présente une variation très peu sensible.

La flore mésophile totale (30°C) dénombrée dans les macérations est essentiellement constituée de bacilles Gram positifs et négatifs. La flore fongique est constituée de levures et de moisissures (*A. niger* et *Mucor sp.*)

3.1.3-Les phytomédicaments

Les phytomédicaments SN-1 et TOLA-1 analysés ne contiennent pas de germes anaérobies sulfite-réducteurs ni de *Staphylococcus aureus*.

Les phytomédicaments SN-1 et TOLA-1 renferment respectivement une flore mésophile totale (30°C) de 104 germes/ml et 120 germes/g ; des levures et moisissures 700 germes/ml et 103 germes/g.

La flore mésophile totale (30°C) dénombrée est essentiellement constitué de bacilles Gram positifs, catalase positive ou négative, des bacilles du genre Bacillus et non Bacillus, des coccobacilles Gram négatifs tandis que les moisissures isolées sont *Aspergillus niger* et *Mucor sp.*

CONCLUSION

Le présent travail montre que les plantes médicinales et les phytomécaments testés sont contaminés par des micro-organismes qui peuvent affecter leur qualité hygiénique et organoleptique et dont certaines espèces sont susceptibles de provoquer des toxi-infections.

La production des phytomédicaments doit donc respecter les bonnes pratiques d'hygiène et de préparation pour réduire les contaminations décelées.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1 - ASSION,A. ; de SOUZA, C. ; KPODONOU, A., ; GUEDE-GUINA, F. ; KABORE, I. ; KOUMAGLO, K. et GBEASSOR, M. (1998). Evaluation de l'activité antimicrobienne et de la qualité hygiénique d'un remède traditionnel antitussif à base de plantes médicinales codés CITRIM-SIROP. *JBAN-1* par les Universités de Côte d'Ivoire. Communication N° 612.
- 2 - ANONYME, DIAGNOSTICS PASTEUR. (1986). La Mycologie Médicale-Prélèvement-Identification-Antibiogramme-Sérologie. Imprimé en France - Promoform,15p.
- 3 - BOURGEOIS , C .M. ; LEVEAU J. Y.(1980).Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Contrôle microbiologique. Tome3, Paris, Technique et documentation. Lavoisier,331p.
- 4 - de SOUZA ,C. ; ANANI, K.T. ; GUEDE-GUINA, F. ; KABORE, I. ,KOUMAGLO, K. et GBEASSOR, M. (1998). Surveillance de la qualité hygiénique des phytomédicaments traditionnels par une démarche HACCP JBNA-1 par les Universités de Côte d'Ivoire. Communication N°A512.
- 5 - GUIRAUD, J. et GALZY, P. (1980). L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Collection Génie alimentaire. Les éditions de l'usine nouvelle, 239p.
- 6 - SOFOWORA, A. (1984). Medicinal plants and traditional medicine in Africa. John Wiley and sons, Chichester. Pp142-143.
- 7 - SOFOWORA, A. (1982). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique traduit par FELICUTAS CEPLEANU. KATHALA - Edition Diffusion. (1996,75013 Paris, pp 25 -295)
- 8 - VALLEMONT, P. (1981). Analyse bactériologique des denrées alimentaires. Méthodes générales et Normes. *OPERON*, 01 FICHE TECHNIQUE. pp19 - 26

Tableau N°1 : Evaluation de la qualité hygiénique des plantes

N°	NOM SCIENTIFIQUE	ORGANES UTILISES	NOMBRE DE GERMES / GRAMME DE MATIERE SECHE		
			Coliformes totaux (30°C)	Coliformes thermotolérants (44°C)	Levures et Moisissures (30°C)
1	<i>Dialium guineense</i> (Caesalpiniaceae)	Feuilles	25.10 ²	25.10 ²	46.10 ³
2	<i>Pavetta corymbosa</i> (Rubiaceae)	Feuilles	6. 10 ²	6.10 ²	16.10 ³
3	<i>Rytigynia canthioides</i> (Rubiaceae)	Feuilles	70.10 ³	25.10 ²	32.10 ³
4	<i>Sansevieria liberica</i> (Agavaceae)	Racines	110.10 ³	110.10 ³	82.10 ³
5	<i>Securinega virosa</i> (Euphorbiaceae)	Feuilles	250	250	3.10 ³
6	<i>Uvaria chamae</i> (Annonaceae)	Feuilles	6.10 ³	6.10 ³	84.10 ³
		Racines	25.10 ³	6.10 ³	7.10 ³

Tableau N°2 : Le dénombrement des germes aux différentes étapes de la conservation de la macération R_{cS_V-2} au réfrigérateur (4°C) et à la température ambiante (26°C).

ETAPES	DUREE DE CONSERVATION (jours)	NOMBRE DE GERMES / ML			
		Flore mésophile totale (30°C)		Levures et moisissures	
		4°C±1	26°C	4°C±1	26°C
I	0	320.10 ²		84.10 ³	
II	3	172.10 ³	237.10 ⁵	8.10 ³	143.10 ⁵
III	6	11.10 ³	155.10 ⁷	3.10 ³	123.10 ⁷
IV	9	15.10 ²	229.10 ⁹	10.10 ²	234.10 ⁹
V	12	27.10 ²	362.10 ²	25.10 ²	338.10 ¹¹
VI	15	32.10 ²	325.10 ³	31.10 ²	312.10 ¹³

Notes : R_{cS_V-2} = mélange des feuilles de *Rytigynia canthioides* et de *Securinega virosa*

Tableau N° 3 : Le dénombrement des germes aux différentes étapes de la conservation de la macération dprsu-5 au réfrigérateur ($4^{\circ}\text{C}\pm 1$) et à la température ambiante (26°C)

ETAPES	DUREE CONSERVATION (jours)	NOMBRE DE GERMES / ML			
		Germes mésophile totaux (30°C)		Levures et moisissures	
I	0	322.10^5		0	
		$4^{\circ}\text{C}\pm 1$	26°C	$4^{\circ}\text{C}\pm 1$	26°C
II	3	89.10^5	345.10^5	0	75.10^5
III	6	31.10^5	463.10^5	0	367.10^5
IV	9	69.10^5	115.10^7	37.10^5	209.10^7
V	12	38.10^5	120.10^9	36.10^5	234.10^9
VI	15	33.10^5	55.10^{11}	31.10^5	54.10^{11}

Notes :

DPRSU-5 = mélange des feuilles de *Dialium guineense*, *Pavetta corymbosa*, *Rytiginia canthioides* et des racines de *Sansevieria liberica* et de *Uvaria chamae*.