

# Tests d'activités antiparasitaires et antibactériennes des extraits des feuilles de *Psidium guajava* L. (ipera) du Burundi

Liberata Nizigiyimana\*, Stanislas Nahimana, Léonard Ndayiziga

Université du Burundi, Faculté des Sciences, Département de Chimie, B.P. 2700. Bujumbura, Burundi.

\* Auteur de correspondance, E-mail: [liberata.nizigiyimana@ub.edu.bi](mailto:liberata.nizigiyimana@ub.edu.bi)

Reçu: le 22 Septembre 2020

Accepté pour publication: le 03 Novembre 2020

Publié en ligne pour la première fois: le 18 Novembre 2020

## Résumé

La plante *Psidium guajava* L est connue pour ses fruits délicieux et pour les multiples utilisations de ses feuilles dans le traitement de certaines maladies telles que la diarrhée, le diabète, les affections plasmodiques, cardiovasculaires, urinaires,...Le but de cette étude est de mettre en évidence l'existence la présence de substances bioactives dans les feuilles de *P. guajava* cultivé au Burundi ainsi que leurs effets parasitologiques et bactériologiques. Le criblage phytochimique a indiqué que les feuilles de *P. guajava* contiennent des tanins, des saponosides, des terpènes et stéroïdes en quantité suffisante alors que les flavonoïdes, les leucoanthocyanes et les quinones sont en faible quantité et que les alcaloïdes sont absents. Les résultats des tests parasitologiques des extraits organiques, aqueux et infusés préparés à partir des feuilles de *P. guajava* ont montré que ces substances agissent sur certains parasites, à savoir les amibes, le Chilomastix, les ankylostomes et les giardia. Les résultats des tests de sensibilité bactérienne effectués avec les mêmes extraits, utilisés dans les tests parasitologiques, ont montré que les souches de staphylocoques présentent une sensibilité élevée à la fois pour les tanins, les mélanges tanins-saponosides et stéroïdes-terpènes, mais, une sensibilité moyenne pour les extraits aqueux et infusés. Ces résultats obtenus lors des tests parasitologiques et de sensibilité bactérienne semblent justifier l'utilisation de cette plante en médecine traditionnelle pour le traitement, entre autres, des maladies diarrhéiques causées par les ankylostomes, les amibes, le Chilomastix et les giardia ainsi que diverses infections telles que les abcès et les angines causées par les staphylocoques

**Mots clés:** *Psidium guajava*, substances bioactives, activité antibactérienne, activité antiparasitaire, médecine traditionnelle

## Abstract

*Psidium guajava* L is known for its delicious fruits and for the different use of its leaves in the treatment of some diseases such as diarrhea, plasmodic, diabetic, cardiovascular, urinary infections,... The aim of this study is to highlight the existence of bioactive substances found in the leaves of *P. guajava* field in Burundi and their parasitological and bacteriological effects. The phytochemical screening indicated that *P. guajava*'s leaves contain tannins, saponosides, terpenes and steroids in sufficient quantity while flavonoids, leucoanthocyanins and quinones were in little quantity and alkaloids were absent. The results of parasitological tests of organic, aqueous and infused extracts prepared from the leaves of *P. guajava* have shown that these substances act on certain parasites, namely amoebae, Chilomastix, hookworms and giardia. From the results of bacterial susceptibility tests carried out on the same extracts used in parasitological tests, it was found that strains of staphylococci show a high sensitivity for both tannins and the mixture of tannin-saponosides and steroid-terpenes as well as an average sensitivity for aqueous and infused extracts. These results obtained in parasitological and bacterial susceptibility tests seem to justify the use of this plant in traditional medicine in the treatment of, among others, diarrheal diseases caused by hookworms, amoebae, Chilomastix and giardia as well as various infections such as abscesses and angina caused by staphylococci.

**Keywords:** *Psidium guajava*, bioactive substances, antibacterial activity, antiparasitic activity, traditional medicine

## 1. Introduction

Partout au monde, la nature constitue une source importante où l'être vivant, particulièrement l'homme, puise les ressources nécessaires pour sa survie tant alimentaire, vestimentaire que thérapeutique. Parmi les éléments de la nature utilisés par l'homme, les végétaux occupent une place prépondérante. Plus de 200000 espèces végétales sur 300000 recensés jusqu'en 1996 sur l'ensemble de notre planète poussent dans les pays tropicaux d'Afrique et d'ailleurs. Un bon nombre de ces espèces végétales servent de nourriture ou sont utilisées pour traiter des maladies d'origine diverses (A. Sofowora, 1996). Parmi les maladies traitées, on peut citer celles parasitologiques comme la dysenterie amibienne (T. Hart & P. Shears, 1997) et celles dues aux microorganismes pathogènes à l'instar des bactéries. De ces dernières, il y'en a qui sont responsables des diarrhées chez l'homme dont *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Shigella dysentera* et *Salmonella thyphi* ; mais aussi *Klebsiella pneumonia* responsable de certaines formes de pneumonie et *Staphylococcus aureus* responsable de diverses infections chez l'homme comme l'abcès et les angines.<sup>2</sup> La médecine et la pharmacopée traditionnelle pratiquées par 70 % des populations du tiers monde, viennent en tête dans l'utilisation de la plante. Dans notre pays, l'art de guérir est encouragé grâce à l'effort tenace de certains chercheurs qui s'efforcent à convaincre l'opinion de ses bienfaits. La phytothérapie traditionnelle occupe une place non négligeable bien qu'elle se heurte souvent à beaucoup de problèmes tels que le mode de préparation, d'administration, de conservation, de posologie et de toxicité. Ainsi, elle est souvent assimilée à la sorcellerie, ...et pour apporter un remède à tous ces problèmes, il faut faire des études sur les principes bioactifs présents, la posologie ainsi que sur les conditions de conservation afin de mettre fin à toute polémique. Il est aussi vrai, cependant, que beaucoup de maladies sont soignées efficacement par la médecine moderne et les médecins de formation préfèrent employer les médicaments qu'ils connaissent le mieux. Pourtant pour certaines maladies, la médecine moderne est moins efficace et même incompétente. Les cas les plus connus sont les maladies psychiques qui posent de gros soucis à la médecine moderne lorsque celles-ci ne sont pas d'origine organique et les morsures de serpents venimeux dont le sérum antivenimeux coûte très cher (G. Fumba, 1983). Se basant sur le fait que beaucoup de gens recourent aux infusés et extraits aqueux des feuilles de goyavier pour traiter les maladies diarrhéiques, mais aussi sur les enquêtes ethnobotaniques effectuées par certains chercheurs (M. Ramadhan, 1985; M. J. Bigendako, 1990) montrant que les feuilles de *P. guajava* (Figure 1) sont utilisées dans le traitement des maladies diarrhéiques comme la dysenterie, les parasitoses intestinales et les vomissements chez les nourrissons, nous avons voulu faire une étude sur l'activité des principes actifs extraits des feuilles de *P. guajava* sur certains parasites intestinaux et certaines bactéries afin de confirmer l'efficacité pharmacologique de cette plante dans le traitement de certaines maladies diarrhéiques. Il a aussi été rapporté par B. Boullard (2001) que des bains d'une décoction

des bourgeons de feuilles de goyavier permettent de soulager des endométries. Des propriétés antioxydantes des constituants chimiques de ces feuilles ont aussi été rapportées par une étude de H. Qian & V. Nihorimbere (2004). *P. guajava* est une plante de la famille des Myrtacées, qui compte plus de 80 genres et 3.000 espèces réparties dans les régions tropicales et subtropicales du monde. Selon les cultivars de *P. guajava*, la chair des fruits est de coloration blanche, rose ou rouge, et quelques-uns ont également une peau rouge (au lieu de verte ou jaune) Prabhudesai & al., 2019). La plante a été identifiée au Burundi par M. J. Bigendako en 1988 et se retrouve dans l'herbarium du Département de Biologie sous le numéro 1190.



**Figure 1:** Photo du *Psidium guajava*L. (ipera).

Plusieurs études ont été conduites pour mettre en évidence les diverses propriétés de cette plante ainsi que les substances actives et extraits responsables des activités antidiarrhéiques, hépatoprotectrices (C. K. Roy & al., 2006), hypoglycémiques (A. J. O. Ojewole, 2005), lipidiques (A. Rahmat & al., 2006), antibactériennes (C. O. Esimone & al., 2012; B. Debadin & C. Someswar, 2016), antioxydantes (S. Tachakittirungrod & al., 2007) et anticancéreuses (J. Qin, 2017).

Le but de cette étude est de confirmer que les feuilles de *P. guajava* du Burundi renferment des substances bioactives justifiant leur utilisation dans le traitement des maladies diarrhéiques dues aux parasites intestinaux et bactériennes (H. Arima & G. Danno, 2002), en même temps permettre aux tradipraticiens d'agir avec discernement et ainsi donner une raison de la valorisation de cette plante.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel

#### 2.1.1. Matériel végétal

En vue d'extraire les substances bioactives sur lesquelles faire des tests bactériologiques et contre les parasites intestinaux, des feuilles de *P. guajava* (goyavier) ont été récoltées à deux périodes aux mois de janvier 2009 et 2014 (près du CRUPHMET

et du restaurant universitaire respectivement (campus Mutanga)) au moment de leur développement mais avant la formation des boutons floraux qui diminuent la teneur en principes actifs (G. Debuigne, 1984). Le choix de la période de récolte est très déterminant car la valeur de la drogue varie qualitativement et même quantitativement avec le cycle végétatif de la plante si bien que les feuilles se récoltent de préférence au début de la floraison.

Les feuilles récoltées ont été séchées à température ambiante sur les paillasses du Laboratoire du Centre de Recherche Universitaire pour la Pharmacopée et la Médecine Traditionnelle (CRUPHMET) pendant un mois. Ensuite ces feuilles ont été réduites en poudre dans un mortier en bois à l'aide d'un pilon en bois bien lavé et sec. Après tamisage à l'aide d'un tamis métallique de mailles d'environ 50 µm de diamètre, une poudre fine et homogène a été obtenue. Cette poudre, qui va ensuite servir pour l'identification et l'extraction des principes actifs, est conservée dans un flacon bien fermé.

### 2.1.2. Matériel microbiologique

Les essais antibactériens ont porté sur six souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Proteus mirabilis*, *Shigella sp*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus aureus*, *staphylococcus epidermidis* et *Vibrio cholerae* isolées des patients. Le milieu de culture de Mueller Hinton Agar (MHA), reconnu actuellement pour être de référence pour la majorité des espèces bactériennes, a été utilisé pour la culture de chaque souche bactérienne. La gélose de MHA comprend pour 1 ℓ d'eau distillée: 17.5 g de peptone de caséine, 2 g d'infusion de viande de bœuf, 1.5 g d'amidon de maïs et 17 g d'agar.

Le milieu de culture MHA est préparé en homogénéisant 38 g de poudre (extrait) dans 1 ℓ d'eau distillée tout en chauffant sous agitation jusqu'à ébullition. Dans l'entre-temps la gélose est stérilisée à l'autoclave à 115°C pendant 15 minutes puis répartie dans des boîtes de Pétri jusqu'à couvrir une superficie d'environ 4 mm d'épaisseur. Les boîtes de Pétri sont ensuite séchées de 20 à 30 minutes à 35-37°C à l'étuve pour éliminer l'excès d'humidité puis ramenées à la température normale d'incubation.

### 2.1.3. Matériel parasitologiques

Les parasites intestinaux testés sont ceux retrouvés dans les selles des patients à savoir *Entamoeba histolytica*, *entamoeba coli*, *Chilomastix mesnili*, *Ancylostoma duodenale*, *Entamoeba dispar*, *Trichocephalus trichiuris*, *Taenia*, *Ascariis lumbricoides*, *Hymenolepis nana*, *Schistosoma mansoni*, filaments mycéliens, levures et giardia.

## 2.2. Méthodes

### 2.2.1. Screening phytochimique

Par screening phytochimique, il faut comprendre une série

d'opérations permettant la détection des groupes les plus importants de substances végétales physiologiquement actives présentes dans une matière naturelle brute (J. Bruneton, 2015). Ces substances sont les alcaloïdes, les flavonoïdes, les leucoanthocyanes, les saponosides, les tannins, les quinones, les terpènes et stéroïdes. Leur détection repose sur des tests standards des réactions de coloration ou de précipitation.

#### Détection des alcaloïdes

Prendre 5 g de poudre des feuilles de *P. guajava* à faire macérer dans 50 ml HCl à 5% et filtrer après 24 h. Prélever une portion de 10 ml du filtrat à répartir dans 3 tubes à essai et y ajouter 2 à 3 gouttes de l'un des réactifs de Dragendorf (D), de Mayer (M) et de Wagner (W). La présence d'alcaloïdes se révèle par la formation de sels, de produits d'addition ou de complexes insolubles respectivement.

#### Détection des flavonoïdes (Méthode de Willstater)

Préparer l'infusé de 5 g de poudre des feuilles de *P. guajava* L. dans 50 ml d'eau bouillante pendant 10 minutes puis filtrer. A 3 ml du filtrat, ajouter 3 ml du mélange HCl-méthanol-eau (1 :1 :1(V/V)) et quelques tournures de magnésium. Une coloration orange indique la présence de flavones tandis qu'une coloration rouge indique la présence de flavonols et celle violette ou rose les flavonones.

#### Détection des saponosides

Prendre 10 ml du filtrat de l'infusé à 5% de la poudre dans un tube à essai et agiter pendant un moment et mesurer la hauteur de la mousse épaisse qui persiste après 20 minutes. Une hauteur de la mousse persistante supérieure à 1 cm atteste la présence de saponosides.

#### Détection de tannins

Agiter 5 g de poudre avec 100 ml d'eau distillée chaude pendant quelques minutes, puis filtrer pour obtenir un infusé à 5%. A 10 ml de l'infusé, ajouter quelques gouttes d'une solution de chlorure de fer (III) à 3%. La formation d'un précipité bleu-noir indique la présence de tannins hydrolysables (galliques) alors qu'un précipité brun-verdâtre indique la présence de tannins catéchiques ou condensés.

#### Détection des terpènes et stéroïdes (test de Lieberman-Burchard)

Mettre 1 g de poudre à macérer dans 20 ml d'éther pendant 24 h. Evaporer 10 ml du filtrat de macération sur un verre de montre. Dissoudre le résidu dans 1 ml d'anhydride acétique et ajouter 2 ou 3 gouttes de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré. L'apparition d'une coloration mauve qui tourne au vert atteste la présence des terpènes-stéroïdes.

#### Détection des Leucoanthocyanes

Préparer un infusé à 5% de la poudre des feuilles de *P. guajava*. Prélever 5 ml de l'infusé et y ajouter 2 ml de HCl 2N. Chauffer le mélange jusqu'à l'ébullition, l'apparition d'une coloration rouge violacée indique la présence des leucoanthocyanes.

#### Détection des quinones

Humecter 2 g de poudre avec une solution de HCl 10%. Laisser macérer dans 5 ml de mélange CHCl<sub>3</sub> – ether (3 :1 (V/V)) pendant 24 h. Traiter 1 ml du filtrat avec NH<sub>4</sub>OH 25% ou NaOH 10% (réaction de Borntraeger). Une coloration rose, violacée, ou rouge signale la présence de quinones. En cas de

présences d'antraquinones, la coloration est rouge.

### 2.2.2. Extraction des principes actifs

A l'aide de l'appareil de Soxhlet, 30 g de poudre des feuilles de *P. guajava* ont été extraits successivement par les solvants heptane, chloroforme, ether diéthylique, ethanol et eau. Chaque fois 200 ml du solvant extracteur étaient utilisés. Les extraits ainsi recueillis ont été concentrés grâce à un évaporateur rotatif jusqu'à l'obtention d'un volume de 10-15ml. Ensuite, ces extraits ont été conservés au frigo à 4°C dans des flacons préalablement stérilisés et emballés en papier aluminium avant d'être utilisés dans des tests bactériologiques.

Un décocté des feuilles fraîches a aussi été préparé en immergeant ces feuilles dans de l'eau distillée et en portant ce mélange à ébullition jusqu'à la diminution d'un tiers environ du volume initial. Le décocté résultant a été aussi conservé au frigo en attendant son emploi dans des tests bactériologiques (feuilles récoltées en 2009).

Par ailleurs pour l'échantillon des feuilles de 2014, trois des principes actifs présents en plus grande quantité dans les feuilles du goyavier ont été extraits afin de vérifier leur activité contre quelques parasites intestinaux et certaines souches bactériennes.

Avant de procéder à l'extraction, on commence par le dégraissage de la poudre par un solvant non polaire comme l'hexane, l'éther de pétrole ou le chloroforme. Dans notre cas, l'hexane a été utilisé. Ainsi, la poudre des feuilles de *P. guajava* a été débarrassée des graisses, terpènes, cires et autres substances lipophiles qui sont susceptibles de gêner le bon déroulement du processus d'extraction (J. Bruneton, 2016).

#### Extraction des terpènes et stéroïdes.

Le résidu de la phase d'hexane de l'étape de dégraissage est utilisé pour en extraire les terpènes et les stéroïdes. Il est préalablement concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif et le résidu résultant est traité par une solution éthanolique de KOH 0.5N. Le mélange est chauffé à reflux pendant 2 h à 78°C. Après refroidissement il est dissous dans de l'eau distillée. Les terpènes et stéroïdes sont extraits de cette solution par l'éther diéthylique à l'aide d'une ampoule à décanter et cela à trois reprises pour maximiser l'extraction du principe actif. Les extraits étherés combinés sont ensuite concentrés par rotavap. Un test de Liebermann-Burchard effectué sur ce concentré a permis de confirmer que ce dernier contenait des terpènes et des stéroïdes et l'extrait concentré a été conservé pour servir aux analyses ultérieures.

#### Extraction des tannins.

30 g de la poudre dégraissée ont été introduit dans une nouvelle cartouche et l'extraction au Soxhlet s'est poursuivie en utilisant 200 ml du système acétone-eau (3 :2 (V/V)). L'extrait hydro-acétonique a été concentré grâce à l'évaporateur rotatif jusqu'à ce que le volume restant soit de 10-15ml. Ce résidu aqueux est traité avec du dichlorométhane afin d'en extraire les pigments et les lipides. Par décantation la phase aqueuse contenant les tannins a été séparée de la phase de dichlorométhane. Les tests au FeCl<sub>3</sub> 3% et à la

gélatine salée menés sur cette phase aqueuse ont été rassurants quant à la présence des tannins. Ainsi l'extrait aqueux tannique a été conservé au frigo dans un flacon préalablement stérilisé pour servir dans des tests d'activité antiparasitaire et bactériologique ultérieurs.

#### Extraction des saponosides

20 g de la poudre dégraissée au n-heptane sont séchés et extraits à l'aide de l'appareil de Soxhlet par 200 ml du système de solvants méthanol-eau (4:1 (V/V)). L'extrait obtenu est concentré par rotavap pour éliminer le méthanol.

Au résidu aqueux obtenu, il est ajouté le mélange solvant eau-*n*-butanol (1 :1 (V/V)) tout en agitant. Ensuite grâce au rotavap, on élimine le *n*-butanol et le résidu aqueux résultant qui renfermerait une mixture de glucosides est dissous dans du méthanol puis de l'acétate d'éthyle y est ajouté lentement pour précipiter ces glucosides. Après élimination de l'acétate d'éthyle par un évaporateur rotatif, le résidu est redissous dans du méthanol et l'extrait méthanolique obtenu servira aux analyses ultérieures.

### 2.2.3. Analyse des parasites intestinaux

Les parasites intestinaux (protozoaires, levures, métrazoaires, larves et ascaris adultes, tricoéphales et oxyures) ont été détectés par analyse au microscope.

Tout le matériel est désinfecté au chlorhexidine. Une petite portion de selles diluées avec du sérum physiologique est analysée au microscope afin de visualiser la mobilité des trophozoïtes de protozoaires. Et, à l'aide d'une pipette pasteur, trois à quatre gouttes des différents extraits sont prélevées et déposées sur les lames portant l'échantillon de selles contenant les parasites. Après une bonne homogénéisation, les lames sont recouvertes avec une lamelle. Après environ 5 minutes de repos, les examens microscopiques sont effectués pour constater si le parasite garde la même mobilité qu'avant l'application de l'extrait ou pas.

### 2.2.4 Détermination de la sensibilité bactérienne

Au moyen d'un perforateur, des disques, en papier filtre adsorbant de qualité spéciale à imprégnation exacte, de 5,7 mm de diamètre sont préparés. Après une stérilisation préalable à l'étuve à 100°C pendant 8h, ces disques ont été trempés pendant 24 h dans les différents extraits préparés à partir des feuilles de *P. guajava*. Après ce temps, ils ont été retirés puis séchés à 80°C à l'étuve durant 20 minutes. Ensuite en attendant leur utilisation, ils ont été conservés au réfrigérateur à 4°C dans un flacon stérile.

A l'aide d'un écouvillon, une suspension microbienne, obtenue en diluant une colonie de chaque souche bactérienne dans 5 ml d'eau physiologique, a été étalée sur le milieu de culture Mueller Hinton (MHA) se trouvant dans une boîte de Pétri. Ensuite, au moyen d'une pince stérilisée, les disques en papiers filtrés stérilisés imprégnés de l'extrait sont appliqués sur le milieu de culture juste après l'ensemencement. Après 24 h d'incubation à 37°C dans l'étuve, il a été relevé les résultats du test de sensibilité.

### 3. Présentation et discussion des résultats

Les résultats obtenus sont compilés dans les tableaux 1 à 5 ainsi que la photo de la figure 2 dans lesquels on retrouve les résultats du screening phytochimique des feuilles, des tests parasitologiques et bactériologiques des extraits de feuilles de *P. guajava*. Les résultats de screening phytochimique fournis dans le tableau 1 sont similaires à ceux trouvés par D. Ndayishimiye (2007). En effet, pour les deux espèces de goyavier blanc et rouge, il avait trouvé que les feuilles de goyavier blanc ou rouge renferment six (flavonoïdes, saponosides, leucoanthocyanes, quinones et hétérosides antracéniques, stéroïdes et terpènes ainsi que les tannins) des sept principes actifs majeurs et cela avec des abondances identiques sauf pour les saponosides qui se retrouvent plus abondants dans la variété rouge. Par ailleurs, les résultats du screening nous montrent une présence en abondance des flavonoïdes, or la quercétine est la plus abondante des flavonoïdes des feuilles de *P. guajava*. La plupart des activités thérapeutiques des feuilles de goyavier est attribuée aux flavonoïdes. En effet, les flavonoïdes ont déjà prouvé une activité antibactérienne et la quercétine contribuerait dans l'effet antidiarrhéique de la goyave vu qu'elle est capable de détendre les muscles lisses de l'intestin et d'inhiber les contractions intestinales (B. Joseph & M. Priya, 2011). En étendant ses analyses sur les fruits des deux espèces de goyavier, Ndayishimiye avait également trouvé que les fruits aussi étaient riches en les mêmes principes actifs mais moins riches que les feuilles. Lors d'un travail préliminaire d'extraction des anthraquinones des feuilles du *P. guajava*, un screening phytochimique avait aussi été réalisé et les six principes actifs identifiés (B. Nkurunziza, 2008).

Comme les deux analyses ont été faites à des périodes différentes, l'appréciation de la coloration ou du précipité peut être différente, raison pour laquelle les principes actifs identifiés ne sont pas annotés de la même manière. De plus,

le fait que les feuilles sont récoltées sur des goyaviers de deux sites différents pourrait aussi être un facteur vu que la teneur en principes actifs varie selon la nature du sol, le climat, l'âge de la plante, la période de récolte, les conditions de séchage, de conservation, etc... (P.C. Rwangabo, 1986)

**Tableau 1.** Screening phytochimique des feuilles de *P. guajava*

Principes actifs		Barèmes pour R1	Barèmes pour R2
	D	-	-
Alcaloïdes	M	-	-
	W	-	-
		++	+
Flavonoïdes		+++	++
Tannins		++	++
Saponosides		++	+
Quinones		+	+
Leucoanthocyanes		+++	++
Terpènes & stéroïdes			

D : réactif de Dragendorff, M : Réactif de Mayer, W: Réactif de Wagner  
R1 : Echantillon de feuilles récoltées en janvier 2009 près du labo CRU-PHAMET

R2 : Echantillon de feuilles récoltées en janvier 2014 près du restaurant universitaire

- : absence de coloration ou précipitation (absence de substances recherchées)  
+ : coloration ou précipitation faible (présence des substances recherchées en quantité faible)

++ : coloration ou précipitation nette (présence des substances recherchées en quantité moyenne)

+++ : coloration ou précipitation importante (présence des substances recherchées en quantité importante).

Au vu de cette richesse en principes actifs des feuilles de *P. guajava*, différents extraits aqueux et organiques ont été réalisés afin qu'il soit testé leur activité contre les parasites intestinaux et aussi leur sensibilité bactérienne. Ainsi, les données du tableau 2 montrent comment les parasites intestinaux ont réagi face aux différents extraits des feuilles récoltées en 2014 vu que l'activité antiparasitaire n'avait pas été analysée avec la récolte de 2009.

**Tableau 2.** Résultats des tests parasitologiques effectués sur les extraits de feuilles de *P. guajava*.

Extrait	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8
Parasites								
<i>Entamoeba histolitica</i>	+++	+++	++	++	++	++	++	+++
Kystes d' <i>Entamoeba histolitica</i>	++	+	+	-	-	-	-	++
Kystes d' <i>Entamoeba coli</i>	++	+	+	-	-	-	-	++
<i>Chilome stix</i>	+++	+++	++	+++	++	+++	++	+++
Taenia	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Ascaris lumbricoides</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Ancylostoma duodenale</i>	+++	+++	+++	-	+++	-	+++	+++
<i>Entamoeba dispar</i>	++	+++	++	++	++	-	+	+++
Levures	-	-	-	-	-	-	-	-
Filaments mycéliens.	-	-	-	-	-	-	-	-
Kystes de Giardia	+++	++	+++	-	-	-	-	+++
<i>Trichocephalus trichiuris</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Hymenolopis nana</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Schistosoma mansoni</i>	-	-	-	-	-	-	-	-

E1 : Saponosides; E2 : Tannins; E3 : Terpènes et stéroïdes ; E4 : Infusé des feuilles fraîches ; E5 : Extrait aqueux des feuilles fraîches (décoction) ; E6 : Infusé des feuilles sèches ; E7 : Extrait aqueux de la poudre ; E8 : Mélange Tannins-saponosides-terpènes et stéroïdes ; +++ : réaction rapide ; ++ : réaction lente ; + : réaction faible ; - : pas de réaction

Il est lisible de ce tableau 2 que chacun des extraits organiques (saponosides, tannins, terpènes et stéroïdes) tout comme leur mélange ont une activité appréciable sur la forme végétative de l'*Entamoeba histolytica*, l'*Ancylostoma duodenale*, l'*Entamoeba dispar*, le *Chilomastix mesnili* et aussi sur les kystes de *Giardia intestinalis* ; mais une activité moyenne sur les kystes d'*Entamoeba histolytica* et d'*Entamoeba coli*.

Les extraits aqueux, que ce soit des feuilles fraîches ou de la poudre ont affiché une activité importante seulement pour l'*Ancylostoma duodenale* et une activité moyenne sur la forme végétative d'*Entamoeba histolytica*, le *Chilomastix mesnili* et l'*Entamoeba dispar*. De ce même tableau, il est visible que les parasites intestinaux *Entamoeba histolytica* et *Chilomastix mesnili* réagissent vivement et rapidement face aux infusés des feuilles fraîches et sèches alors que l'*Entamoeba dispar* réagit moyennement ou doucement à l'infusé des feuilles fraîches.

Ainsi, les extraits aqueux des feuilles fraîches ou de la poudre sont plus efficaces dans le traitement de l'infection à l'*Ancylostoma duodenale* alors que leurs infusés sont mieux indiqués dans le traitement des maladies dues à *Entamoeba histolytica* et *Chilomastix mesnili*. Les tests parasitologiques effectués sur les parasites, *Taenia*, *Ascaris lumbricoides*, levures, filaments micéliens, *Trichocephalus trichiuris*, *Hymenolepis nana* et *Shistosoma mansoni* ont montré que ces derniers sont résistants à tous les extraits et infusés. Néanmoins, il est aussi constaté que l'action conjuguée des trois extraits organiques (saponosides, tannins, terpènes et stéroïdes) est plus efficace pour les parasites suivants : *Entamoeba histolytica*, *Chilomastix mesnili*, *Entamoeba dispar*, kystes de *Giardia intestinalis*, kystes d'*Entamoeba histolytica* et kystes d'*Entamoeba coli*. D'autres études rapportent un effet des extraits de feuilles de goyavier dans le traitement in vitro de *Giardia*. Cette étude montra que l'extrait de goyavier donnait des résultats d'efficacité supérieure au Tinidazol, médicament couramment utilisé dans ce genre d'infection (M. M Ponce & al, 1994). Une autre étude montra que les extraits de feuilles inhibaient la croissance d'*Entamoeba histolytica* (N. Nundkumar & J. A. O. Ojewole, 2002).

Les tests de sensibilité bactérienne ont été réalisés sur des extraits et infusés des échantillons de feuilles de *P. guajava* récoltées près du laboratoire de CRUPHAMET en 2009 et près du restaurant universitaire en 2014.

Pour l'échantillon de 2009, six extraits organique et aqueux ont été préparés en vue du test de sensibilité bactérienne et les résultats sont synthétisés dans le tableau 4. L'expression et l'interprétation des résultats sont seulement

qualitatives, en se référant à la fiche technique d'antibiogramme (J. Frotte & P. Vergez, 1994), qu'il y a sensibilité clinique, résistance clinique ou sensibilité intermédiaire dans la frontière d'incertitude. Il est avéré que les souches d'*Escherichia coli* et de *Shigella sp* ont manifesté une résistance à tous les six extraits, tandis que la décoction des feuilles fraîches a montré une activité importante sur les souches de *Staphylococcus saprophyticus* (10 mm), de *Proteus mirabilis* (8 mm) d'une part et une activité moyenne sur la souche de *Vibrio cholerae* (6 mm) d'autre part. Une faible sensibilité (4 mm) à la décoction a aussi été relevée pour *Klebsiella sp*.

Par ailleurs, les souches de *Proteus mirabilis* et de *Staphylococcus saprophyticus* ont manifesté une sensibilité moyenne (5 et 6 mm respectivement) pour l'extrait aqueux de la poudre des feuilles sèches. Les extraits organiques heptanique, chloroformique, éthéré et méthanolique n'ont donné aucun effet sur les souches testées (Figure 2). Cela serait probablement dû à une faible concentration de ces extraits en substances actives agissant sur les souches microbiennes, vu qu'il existe effectivement une concentration minimale inhibitrice nécessaire. De plus, la constitution en principes actifs de ces extraits organiques est sûrement différente de celle de la décoction ou de l'extrait aqueux. La sensibilité bactérienne plus visible pour la décoction est en phase avec les observations de D. Malgras (1992). Selon lui, la décoction est le mode couramment utilisé en médecine traditionnelle puisqu'elle permet de recueillir le plus de principes actifs. Et le screening phytochimique réalisé pour la décoction des feuilles fraîches et l'extrait aqueux de la poudre des feuilles séchées de *P. guajava* attestent effectivement que la décoction est plus riche, que l'extrait aqueux, en principes actifs (Tableau 3).

**Tableau 3.** Principes actifs identifiés dans la décoction et dans l'extrait aqueux des feuilles de *P. guajava*.

Principes actifs	Barèmes d'identification	
	Décoction	Extrait aqueux
Alcaloïdes	-	-
Flavonoïdes	+++	++
Leucoanthocyanes	+	-
Quinones	+++	+
Saponosides	+++	++
Tannins	+++	++
Terpènes et stéroïdes	-	-

- : absence de coloration ou précipitation (absence de substances recherchées)

+: coloration ou précipitation faible (présence des substances recherchées en quantité faible)

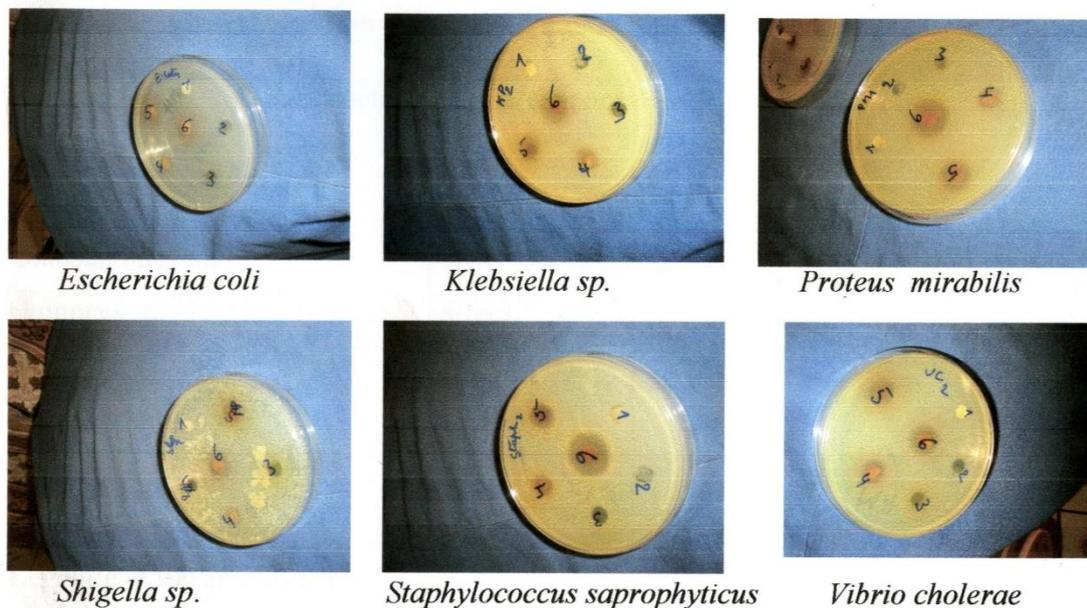
++ : coloration ou précipitation nette (présence des substances recherchées en quantité moyenne)

+++ : coloration ou précipitation importante (présence des substances recherchées en quantité importante).

**Tableau 4.** Tests de sensibilité bactérienne des extraits de l'échantillon des feuilles récoltées en 2009.

Extraits Souches bactériennes	Degré de sensibilité aux extraits					
	E1	E2	E3	E4	E5	E6
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella sp</i>	-	-	-	-	-	+ (4mm)
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	-	-	++ (5 mm)	+++ (8 mm)
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	-	-	-	-	++ (6 mm)	+++ (10 mm)
<i>Shigella sp</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Vibrio cholerae</i>	-	-	-	-	-	++ (6 mm)

- : pas de sensibilité (pas de zone d'inhibition); + : sensibilité faible (zone d'inhibition d'au plus 4 mm de diamètre) ; ++ : sensibilité moyenne (zone d'inhibition entre 5-7 mm de diamètre); +++ : sensibilité importante (zone d'inhibition supérieure ou égale à 8 mm de diamètre); E1 : extrait heptanique, E2 : Extrait chloroformique ; E3 : Extrait éthéré ; E4 : Extrait méthanolique ; E5 : Extrait aqueux ; E6 : Décoction ou extrait aqueux des feuilles fraîches

**Figure 2.** Photos illustrant les zones d'inhibition de la croissance bactérienne des souches étudiées avec l'échantillon de 2009.**Tableau 5.** Tests de sensibilité bactérienne des extraits organiques, aqueux et infusés de l'échantillon des feuilles récoltées en 2014.

Extraits Souches bactériennes	Degré de sensibilité aux extraits							
	E'1	E'2	E'3	E'4	E'5	E'6	E'7	E'8
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella sp</i>	-	-	-	-	-	-	+ (4 mm)	-
<i>Shigella sp</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>		+++ (8 mm)	-	+ (4 mm)	-	-	++ (5 mm)	+++ (8 mm)
<i>Staphylococcus aureus</i>		+++ (10 mm)	-	+++ (8 mm)	-	-	++ (6 mm)	+++ (8 mm)
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>		+++ (10 mm)	-	++ (5 mm)	-	-	+++ (10 mm)	+++ (8 mm)

- : pas de sensibilité (pas de zone d'inhibition); + : sensibilité faible (zone d'inhibition d'au plus 4 mm de diamètre) ; ++ : sensibilité moyenne (zone d'inhibition entre 5-7 mm de diamètre); +++ : sensibilité importante (zone d'inhibition supérieure ou égale à 8 mm de diamètre);

E'1 : Saponosides ; E'2 : Tannins ; E'3 : terpènes-stéroïdes ; E'4 : Extrait aqueux des feuilles fraîches ; E'5 : Extrait aqueux de la poudre ; E'6 : Infusé des feuilles sèches ; E'7 : Infusé des feuilles fraîches ; E'8 : Mélange tannins-saponosides-terpènes-stéroïdes.

En vue d'une analyse comparative, un test de sensibilité bactérienne a été mené sur des extraits de l'échantillon des feuilles de *P. guajava* récoltées en 2014. Malheureusement, les mêmes souches bactériennes n'étaient pas disponibles à part *Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Shigella sp* et *Klebsiella sp.* et les tests ont été conduit sur les souches disponibles (Tableau 5).

Considérant la sensibilité des quatre souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Shigella sp* et *Klebsiella sp.*), communes aux analyses des deux échantillons de 2009 et 2014, face à l'extrait aqueux des feuilles fraîches, il est à noter que le microbe *Staphylococcus saprophyticus* est sensible aux deux extraits même si la sensibilité semble moindre pour l'extrait de l'échantillon de 2014 ; tandis

que les trois souches *Escherichia coli*, *Shigella sp* et *Klebsiella sp.* ont affiché la même sensibilité pour l'extrait aqueux des échantillons de 2009 de 2014 (Tableau 4 et tableau 5). La différence de sensibilité, observée pour *Staphylococcus saprophyticus*, n'est pas nécessairement effective vu que l'analyse est qualitative et a été effectuée à des périodes différentes. Pour les autres souches bactériennes étudiées seulement avec l'échantillon de 2014, on peut noter du tableau 5 que les souches de *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus aureus* ont affiché une sensibilité plus ou moins importante pour les extraits de tannins, l'extrait aqueux des feuilles fraîches, l'infusé des feuilles fraîches et l'extrait combiné de saponosides, tannins et terpènes et stéroïdes. La combinaison de ces trois principes actifs n'a donné aucune synergie pour augmenter la sensibilité bactérienne, mais a plutôt eu un effet inverse dans le cas de la souche *Staphylococcus aureus*, dû à un effet de dilution des substances actives tanniques. Les diverses sensibilités observées, sur les différentes souches microbiennes étudiées à savoir *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Proteus mirabilis*, *Vibrio cholerae* et *Klebsiella sp.*, attestent que l'extrait aqueux des feuilles fraîches de *P. guajava* seraient efficaces pour le traitement des maladies induites par l'infection de ces bactéries directement ou indirectement (diarrhée, infections intestinales diverses, etc.). Les extraits aqueux et infusé des deux échantillons de feuilles récoltées en 2009 et 2014 n'ont donné aucune sensibilité pour *Escherichia coli* contrairement à l'étude menée par Abubakar E.M. (2009) qui a conclu sur une action inhibitrice de la croissance de cet agent pathogène des extraits aqueux. Ainsi, plusieurs études rapportent l'utilisation des extraits de feuilles de *P. guajava* comme antidiarrhéique, hépatoprotective, anticancéreux, antioxydant et sont compilés dans cet article de revue (G. K. Gupta & al, 2011).

#### 4. Conclusions

Au vu des résultats du screening phytochimique montrant une richesse avérée des feuilles de *P. guajava* en principes actifs, l'usage de cette plante dans plusieurs volets de la médecine traditionnelle n'est pas étonnant. Les tests parasitologiques, réalisés sur les extraits organiques, aqueux et sur les infusés des feuilles de cette plante, attestent qu'ils renferment des substances qui agissent sur certains parasites comme les amibes, le *Chilomastix*, les *Ancylostoma duodenales*, les *Giardia*. Ce qui expliquerait l'utilisation des feuilles de *P. guajava* dans le traitement des maladies liées à ces parasites. Les tests de sensibilité bactérienne des souches bactériennes disponibles vis-à-vis des extraits organiques, aqueux et infusés montrent que les extraits aqueux surtout des feuilles fraîches ainsi que leur infusés ont manifesté une sensibilité plus ou moins significative étendue à plusieurs souches bactériennes. Même si la médecine traditionnelle au Burundi ne rapporte aucun usage de cette plante dans le traitement des pathologies induites

par les parasites intestinaux et les souches bactériennes ayant été sensibles à la décoction et à l'infusé des feuilles fraîches, l'usage de cette plante ailleurs est rapporté dans la littérature. Il serait bénéfique à toute la population burundaise de connaître les bienfaits et les vertus thérapeutiques avérés de cette plante. Une domestication à grande échelle de cette plante est à promouvoir.

#### Références

- [1] Abubakar E.M., 2009. The use of *P. guajava L.* in treating wound, skin and soft tissue infections, Scientific Research and Essay, 6, 605-611.
- [2] Arima H. & Danno G., 2002. Isolation of antimicrobial compounds from Guave (*P. guajava L.*) and their structural elucidation, Biosc. Biotechnol. Bioch., 66(8), 1727-1730.
- [3] Bigendako M.J., 1990. Recherches ethnopharmacognosiques sur les plantes utilisées en médecine traditionnelle au Burundi occidental. Thèse. Université Libre de Bruxelles, 352p
- [4] Boullard B., 2001. Plantes médicinales du monde: Réalités et Croyances, Estem.
- [5] Bruneton J., 2016. Pharmacognosie, Phytochimie-Plantes médicinales, 5<sup>e</sup> Ed, 1504p.
- [6] Debadin B. & Someswar C., 2016. Biogenic synthesis of silver nanoparticles using guava (*Psidium guajava*) leaf extract and its antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*, Appl Nanosci Vol 6, 895-901.
- [7] Debuigne G., 1984. Larousse des plantes qui guérissent. Librairie Larousse, Paris
- [8] Esimone C. O., Attama A. A., Mundi K. S., Ibekwe N. N. & Chah K. F., 2012. Antimicrobial activity of *Psidium guajava* Linn. stem extracts against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, African journal of Biotechnology, Vol.11, N°89.
- [9] Frotte J. & Vergez P., 1994. L'antibiogramme : le point de vue du clinicien et le point de vue du biologiste, bioMérieux, Paris, 106 p.
- [10] Fumba, G., 1983. Plantes médicinales antivenimeuses du Burundi, Presses de l'Avenir.
- [11] Gupta G. K., Chahal J. & Arora D., 2011. *Psidium guajava Linn*: Current Research and Future Prospects, J. Pharmacy Research 4(1),42-46.
- [12] Hart T. & Shears P., 1997. Atlas de Poche de Microbiologie, Flammarion, Paris, 317 pp.
- [13] Joseph B. & Priya M., 2011. Review on nutritional, medicinal and pharmacological properties of Guava (*Psidium guajava Linn*). Int. J. Pharm. Biol. Sci.; 2, 53-69.
- [14] Malgras D., 1992. Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes, ACCT Karthala, Paris, 478 p.
- [15] Ndayishimiye D., 2007. Essai d'extraction des stéroïdes, saponosides et tannins dans les feuilles du *Psidium guajava L* à fruit rouge (ipera) du campus Mutanga. Mémoire, Université du Burundi, 60 p.
- [16] Nkurunziza B., 2008. Identification, essai d'extraction et isolation d'antraquinones présentes dans les

- feuilles du *Psidium guajava* L à fruits rouges. Mémoire, Université du Burundi, 39 p+ annexes.
- [17] Nundkumar N. & Ojewole J.A. O., 2002. Studies on the antiplasmodial properties of some South African medicinal plants used as antimalarial remedies in Zulu folk medicine. *Methods and findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 24, 397-401.
- [18] Ojewole, J. A. O., 2005, Hypoglycaemic and hypotensive effects of *Psidium guajava* Linn. (Myrtaceae) leaf aqueous extract, *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, 27:689.
- [19] Ponce M. M., Navarro A.I., Martinez G. M. N. & Alvarez C. R., 1994. In vitro effect against Giardia of 14 plantextracts, *Revista de Investigacion Clinica*, 46, 343-347.
- [20] Prabhudesai A. P., Biyani D. M. & Umekar M. J., 2019. *Psidium guajava*: Multipurpose Medicinal Herb, *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 59(1).
- [21] Qian H. & Nihorimbere V., 2004. Antioxidant power of phytochemicals from *Psidium guajava* leaf. *J. Zhejiang Univ.-Sci.* 5, 676–683.
- [22] Qin X. J., Yu Q., Yan H., Khan A., Feng M. Y., Li P. P., Hao X. J., An L. K. & Liu H. Y., 2017. Meroterpenoids with Antitumor Activities from Guava (*Psidium guajava*), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65 (24), 4993-4999.
- [23] Rahmat A., Fadzelly M., Bakar A. & Z. Hambali, 2006. The effects of guava (*Psidium guajava*) consumption on total antioxidant and lipid profile in normal male youth, *African Journal of Food Agriculture Nutrition and Development*, Vol.6, n°2.
- [24] Ramadhan M., 1985. Contribution à l'étude photochimique des plantes médicinales du Burundi. Mémoire, Université du Burundi, 67 p.
- [25] Roy C. K., Kamath J. V & Mohammed Asad, 2006. Hepatoprotective activity of *Psidium guajava* Linn. leaf extract, *In. J. Exp. Biol.* Vol. 44, pp. 305-311
- [26] Rwangabo P.C., 1986. Recherche des substances chimiques susceptibles de justifier l'activité biologique de quelques plantes utilisées largement en médecine traditionnelle rwandaise. Thèse, 357 p.
- [27] Sofowora A., 1996. Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Académie Suisse des Sciences Naturelles. Karthala, 378 p.
- [28] Tachakittirungrod S., Ikegami F. & Okonogi S., 2007. Antioxidant Active Principles Isolated from *Psidium guajava* Grown in Thailand, *Scientia Pharmaceutica (Sci. Pharm.)* 75, 179-193.