

Analyses microbiologique et physicochimique de quelques médicaments traditionnels liquides à base de plantes vendus dans la ville de Daloa (Haut-Sassandra, Côte d'Ivoire)

KOFFI Allali Eugène^{1,*}, GBOGBO M.¹, KPOROU Kouassi E.¹, TANO H Aya H.¹, YAPI Houphouët F.².

¹ UFR Agroforesterie, Laboratoire d'Agrovalorisation, Equipe de Recherche BIONAS, Université Jean Lorougnon GUEDE, BP 150 Daloa, Côte d'Ivoire.

² UFR Biosciences, Laboratoire de Pharmacodynamie biochimique, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

Date de réception : 12 Octobre 2021 ; Date de révision : 10 Novembre 2021 ; Date d'acceptation : 23 Novembre 2021

Résumé:

Les remèdes à base de plantes sont essentiels pour les soins de santé primaire. Ils connaissent un regain d'intérêt dans le monde entier et particulièrement en Côte d'Ivoire. La majorité de ces médicaments traditionnels n'ont pas été testés et suivis dans des laboratoires de références pour approuver leur qualité impactant leur innocuité et leur efficacité. L'objectif de ce présent travail vise ainsi à évaluer la qualité microbiologique et des paramètres physicochimiques de quelques médicaments liquides à base de plantes, vendus dans les quartiers de la ville de Daloa. Des échantillons de ces médicaments ont fait l'objet de recherche et de dénombrement, selon la méthode basée sur les procédures normalisées (AFNOR), la flore aérobie mésophile totale (FAMT) ou Germes aérobie mésophile totale (GAMT), les coliformes totaux (CT), les levures et moisissures. Des germes bactériens pathogènes ont également été recherchés, notamment, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* et *Escherichia coli*. Les résultats ont montré un niveau de contamination des GAM qui varie de $0,309.10^4$ à $9,86.10^4$ Unités Formant Colonies par millilitre (UFC/mL), celui des CT et des germes fongiques oscille respectivement entre $0,218.10^4$ à $6,55.10^4$ UFC/mL, et $0,195.10^4$ à $1,62.10^4$ UFC/mL, avec une présence de *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dans quelques échantillons. Il a été également observé la présence des minéraux acidifiant et une hétérogénéité au niveau de quelques échantillons. Il est donc nécessaire de former les phytothérapeutes exerçant dans le domaine afin qu'ils proposent des médicaments exempts de microorganismes et propres à la consommation.

Mots clés: Médicaments Traditionnels liquides, qualité microbiologique, paramètres physicochimiques ; *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, GAM, CT, Levures et moisissures.

Microbiological and physicochemical analyses of some plant based traditional liquid drugs sold in the city of Daloa (Haut-Sassandra, Côte d'Ivoire).

Abstract :

Plant based remedies - primary health care core elements - have become more popular again worldwide and especially in Côte d'Ivoire. Most of these traditional drugs weren't tested and monitored in reference laboratories to approve their quality in relation to their harmlessness and efficiency. This study (carried out in the city of Daloa) aimed to assess the microbiological quality and the physicochemical parameters of some plant based liquid drugs that are sold in the districts of that city. Some collected samples were studied and the bacterial and fungal germs were numbered using the method based on the standardized procedures (AFNOR). Thus, the Total Aerobic Mesophilic Flora (TAMF) or Total Aerobic Mesophilic Bacteria (TAMB), total coliform (TC), yeasts and molds were numbered. Bacterial pathogens were looked for, especially, the *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* and *Escherichia coli*. The results showed a level of contamination of the TAM which vary from $0.309 10^4$ to $9.86 10^4$ Colony Forming Units per mL (CFU/mL), that of the TC and of the fungal germs oscillates between $0.218 10^4$ to $6.55 10^4$ UFC/mL and $0,195.10^4$ à $1,62.10^4$ UFC/mL respectively, with bacterial pathogens in some samples. We also notice the presence of acidifying minerals and some heterogeneity in some samples. In view of the results, it is necessary to train the herbalists in this area so that they can offer drugs with no micro-organisms and suitable for consumption.

Key words: Traditional liquid medicines, microbiological quality, physicochemical parameters, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, TAM, TC, Yeast, mold.

Introduction

De nos jours, la phytothérapie ou la médecine par les plantes est une forme de médecine acceptée et reconnue dans le monde entier (Mpiana et al., 2020). Selon l'Organisation mondiale de la Santé, pour plusieurs millions de personnes, les médicaments à base de plantes, les soins traditionnels et les tradipraticiens sont la principale source de soins de santé, et parfois la seule source de soins (WHO, 2013). Il est connu qu'entre 65 et 80 % de la population mondiale

utilisent les plantes médicinales comme principale forme de soins de santé (WHO, 2015) et environ 80% de la population africaine utilisent la médecine traditionnelle pour le traitement de base (Inkoto et al., 2020a ; Inkoto et al., 2020b ; Nkasa et al., 2020). Les plantes médicinales seraient ainsi selon certains auteurs la meilleure source pour obtenir une variété de médicaments (Santos et al., 1995).

La reconnaissance des valeurs pharmacologique,

(*) Correspondance : Koffi A. E. ; e-mail : koffiallali@yahoo.fr ; tél. : (+225) 0749614728 / 0545542347.

clinique, pharmaceutique et économique des plantes continue de croître, bien que cela varie fortement selon les pays (Bony, 2004). Cette pratique s'est considérablement développée ces dix dernières années suite à la politique de promotion de la médecine traditionnelle encouragée par l'OMS, à cause de l'émergence des souches microbiennes résistantes qui entraînent les coûts onéreux de certaines molécules pharmaceutiques (Schnaubelt, 1998) et un prolongement des séjours d'hospitalisation. À ces difficultés, s'ajoute le phénomène des effets secondaires de ces molécules pharmaceutiques (Hamad et al., 1998). En effet, de nombreux patients se plaignent des effets indésirables des médicaments classiques et considèrent au contraire la phytothérapie comme une médecine douce, présentant moins de risque (Christophe, 2014). Ainsi, la médecine traditionnelle a l'avantage d'être sûre, efficace, moins chère et moins risquée, avec des effets secondaires considérablement réduits par rapport aux médicaments de la médecine moderne (Nkasa et al., 2020 ; Tshilanda et al., 2019). En Côte d'Ivoire, après avoir été pendant longtemps le souci de certains chercheurs, la médecine traditionnelle est devenue aujourd'hui une composante de la politique sanitaire (Coulibaly et al., 2018). Elle connaît depuis quelques années un regain d'intérêt et occupe une place importante. En Août 1995, le Ministère de la Santé et de l'Hygiène

Publique a intégré cette médecine dans son Plan National de Développement Sanitaire (PNDS) (Konan, 2012). Au regard de la place qu'occupent les médicaments traditionnels dans le programme de santé publique, les autorités sanitaires et la population accordent de l'importance à l'innocuité, à l'efficacité ainsi qu'à la qualité de ces médicaments à base de plantes (Coulibaly et al., 2018).

La qualité de ces médicaments a un impact direct sur leur innocuité et leur efficacité. Des rapports ont montré des effets secondaires associés aux falsifications et à la présence de contaminants (métaux lourds, pesticides et micro-organismes) (Allechi, 2015). Une résolution de la 22^{ème} Assemblée Mondiale de la santé, invitait les états membres à adopter « les règles de bonnes pratiques applicables à la fabrication des médicaments et au contrôle de leur qualité » (Anonyme, 2011). Ainsi, lors d'une étude menée par l'OMS, 71 pays ont confirmé l'existence d'un mécanisme de contrôle pour leurs besoins de sécurité sur 106 pays ayant participé à cette enquête (Coulibaly, 2008).

Dans le but de contribuer à l'homologation de quelques remèdes à base de plantes vendus dans la ville de Daloa, l'objectif général de cette étude a été de réaliser des analyses microbiologique et physicochimique de quelques médicaments à base de plantes sous forme liquide produits par les phytothérapeutes de ladite ville.

Matériel et Méthodes

1. Matériel

Le matériel biologique est constitué de médicaments liquides à base de plantes codifiés (E), produits par les Praticiens de la Médecine Traditionnelle (PMT) de Daloa dont six sont référencés par le Programme National de la Promotion de la Médecine Traditionnelle (PNPMT) (E1, E3, E4, E5, E7 et E8) et quatre non référencés par le PNPMT (E2, E6, E9, E10). Ils ont été prélevés dans quatre quartiers différents : Abattoir (E4, E6), Commerce (E1, E2, E8), Baoulé (E3, E5, E7) et Kennedy 1 (E9, E10). Trois échantillons (prélevés) du même médicament constituent un lot.

Du matériel de laboratoire de biochimie et de microbiologie a été également utilisé.

2. Méthodes

2.1 Analyses microbiologiques:

- *Dénombrement et recherche des microorganismes:*

Le dénombrement a porté sur la Flore ou Germe aérobie mésophile totale (FAMT ou GAMT) (AFNOR, 1999), les coliformes totaux (CT) (AFNOR, 2009), les levures et moisissures (AFNOR, 1996). Certains germes pathogènes ont été recherchés, notamment *Staphylococcus aureus* (AFNOR, 2004), *Salmonella sp* (AFNOR, 1997) *Escherichia coli* (AFNOR, 2001).

- *Préparation des milieux de cultures:*

Les milieux de cultures ont été préparés selon les recommandations des fabricants.

- *Préparation des suspensions mères et des dilutions décimales:*

Les suspensions mères (SM) et dilutions décimales ont été préparées selon la norme (AFNOR, 2017). Ainsi, 25 mL de la solution à analyser ont été prélevés de façon aseptique et

ajoutés à 225 mL d'Eau Peptonnée Tamponnée (EPT) stérile et homogénéisés pendant 2 minutes, constituant la SM.

Pour les dilutions décimales, 1 mL de la SM a été prélevé et ajouté à 9 mL d'eau distillée stérile pour avoir une dilution 10-1. Les dilutions décimales successives ont permis d'obtenir des dilutions de : 10⁻¹ ; 10⁻² ; 10⁻³ ; 10⁻⁴.

- Ensemencement des milieux de cultures et incubation:

L'ensemencement en profondeur concerne les milieux PCA, VRBL, Sabouraud + Chloramphénicol, qui servent à dénombrer respectivement les GAM, les CT puis les levures et moisissures. Ainsi, 1 mL des dilutions (10-1, 10-2, 10⁻³ et 10⁻⁴) a été transféré aseptiquement dans les boîtes de Pétri stériles. Les milieux ont été portés au bain-marie à 45 °C (en surfusion) et ajoutés à l'échantillon à raison de 15 mL par boîte. Ensuite, des mouvements rotatifs de la boîte de Pétri ont été réalisés afin d'avoir une répartition homogène de l'échantillon. Après solidification complète de cette première couche, les boîtes reçoivent une deuxième couche de 7 mL pour une nouvelle solidification. Les boîtes retournées, ont été incubées respectivement à 30 °C pendant 72 h pour les GAM, à 30 °C pendant 24 h pour les CT, et à 25 °C pendant 5 jours pour les levures et moisissures (Coulibaly et al., 2018).

L'ensemencement en surface par étalement concerne les milieux Rapide *E. coli*₂ et Baird Parker, qui servent à dénombrer respectivement *E. coli*, *Staphylococcus aureus*. Ainsi, un volume de 0,1 mL de chaque dilution (10⁻¹, 10⁻², 10⁻³ et 10⁻⁴) a été transféré aseptiquement dans les boîtes de Pétri stériles contenant respectivement le milieu Rapid *E. coli*₂ et Baird Parker préalablement solidifié. A l'aide d'un rateau stérile, un étalement uniforme à la surface du milieu contenu dans la boîte de Pétri a été réalisé. Elles ont été incubées respectivement à 45 °C et 37 °C puis observés après 24 h (Coulibaly et al., 2018).

- Recherche de *Salmonella* sp:

0,1 mL de la chaque dilution (10-1, 10-2, 10-3 et 10-4) a été transféré aseptiquement dans les tubes contenant 10 mL du milieu Rappaport Vassiliadis (RV) (bouillon) correspondant, incubé à 45 °C puis observés après 24 h. A l'aide d'une anse de platine stérile, une quantité de bouillon a été prélevée puis ensemencée sous forme de stries sur des boîtes la gélose Hektoen, qui sont incubées à 37 °C puis observées après 24 h.

- Expression des résultats:

Le nombre de colonies dans les boîtes a été calculé comme suit, (Coulibaly et al., 2018):

$$N = \frac{\sum C.}{V (n1 + 0,1 n2) d} (UFC) / mL,$$

N : nombres de colonie en UFC / mL,

$\sum C$: somme des colonies par boîtes retenues,

V : volume de l'inoculum prélevé,

n1: nombre de boîtes de Pétri retenues à la 1^{ère} dilution,

n2: nombre de boîtes de Pétri retenues à la 2^{ème} dilution,

d : taux de dilution à la 1^{ère} dilution retenue.

- Normes microbiologiques:

Le nombre de microorganismes par UFC /mL a été calculé pour chaque type de flore étudiée en fonction des échantillons analysés, puis comparé à la référence normative des critères microbiologiques des médicaments à base de plantes de la pharmacopée européenne (Ph EU, 2014).

2.2 Analyses physicochimiques:

- Aspect:

Il s'agit d'observer visuellement l'homogénéité (sans de dépôt, ou impureté, même couleur) des échantillons.

- Potentiel d'hydrogène (pH):

Le pH des échantillons a été apprécié à l'aide d'un pH-mètre (sur l'écran de l'appareil), après qu'il a été plongé dans ces derniers.

- Teneur en cendres totales:

Les échantillons de drogue ont été incinérés pour mesurer la quantité d'éléments minéraux (Coulibaly, 2008). Chaque creuset pesé a reçu 0,5 g du médicament préalablement séchés à l'étuve puis placés dans un four à moufle, à une température de 550 °C pendant 4 h d'incinération. Les échantillons sont retirés du four, refroidis pendant 30 minutes puis pesés à nouveau pour la détermination de la masse finale (Allechi, 2015). Ainsi, la détermination des cendres (Ct) totales a été faite comme suit :

$$Ct = (mi - mf) \times 100,$$

Ct : Cendres totales,

mi : masse initiale,

mf : masse final.

- Tests d'uniformité de masse:

Il vise à s'assurer que le principe actif utilisé (PA) est le même dans les échantillons de médicament. Ainsi la même quantité d'échantillon est évaporée à l'étuve pendant trois (3) jours à 60 °C puis la poudre obtenue est pesée à l'aide d'une balance (Allechi, 2015)..

2.3 Analyse statistique:

Les résultats expérimentaux ont été soumis à l'analyse de la variance ANOVA à un facteur. Ils sont représentés sous forme de moyenne \pm erreur standard sur la moyenne. Lorsque la différence est

significative au seuil de 5 %, les moyennes sont comparées par le test de Duncan. Toutes ces analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel STATISTICA version 7.1.

Résultats et Discussion

1. Résultats:

1.1 Analyse microbiologique:

Toutes les observations des germes au cours des analyses microbiologiques ont été faites à des dilutions $d = 10^{-2}$; 10^{-3} .

- Charges microbiennes des germes d'altération:

Le résultat de l'analyse microbiologique des Médicaments Traditionnels (MT) sous la forme liquide et vendus dans les quartiers Abattoir (E4,

E6), Commerce (E1, E2, E8), Baoulé (E3, E5, E7) et Kennedy 1 (E9, E10) de Daloa est contenu dans le Tableau I.

- Contamination microbiologique:

L'analyse des résultats de la recherche des germes bactériens pathogènes dans les MT prélevés dans les quartiers Abattoir, Baoulé, commerce, Kennedy 1 est contenue dans le Tableau II.

Tableau I : Charges microbiologiques des germes d'altération des MT prélevés dans chaque quartier.

Nombre de germes / mL d'échantillons (UFC/mL)			
Echantillons	GAM	CT	germes fongiques
E1	$4,29.10^4 \pm 2,67.10^{4ab}$	$0,00 \pm 0,00^a$	$0,00 \pm 0,00^a$
E2	$4,45.10^4 \pm 1,80.10^{4ab}$	$2,59.10^4 \pm 8,36.10^{3ab}$	$1,95.10^3 \pm 2,76.10^{3a}$
E3	$9,86.10^4 \pm 1,05.10^{5b}$	$6,55.10^4 \pm 6,81.10^{4b}$	$1,62.10^4 \pm 1,56.10^{4b}$
E4	$0,00 \pm 0,00^a$	$2,18.10^3 \pm 3,09.10^{3a}$	$2,55.10^3 \pm 3,6.10^{3a}$
E5	$0,00 \pm 0,00^a$	$0,00 \pm 0,00^a$	$0,00 \pm 0,00^a$
E6	$3,09.10^3 \pm 4,37.10^{3a}$	$0,00 \pm 0,00^a$	$0,00 \pm 0,00^a$
E7	$3,47.10^4 \pm 3,83.10^{4ab}$	$0,00 \pm 0,00^a$	$0,00 \pm 0,00^a$
E8	$4,30.10^4 \pm 2,27.10^{4ab}$	$0,00 \pm 0,00^a$	$0,00 \pm 0,00^a$
E9	$4,36.10^3 \pm 6,17.10^{3a}$	$0,00 \pm 0,00^a$	$0,00 \pm 0,00^a$
E10	$0,00 \pm 0,00^a$	$0,00 \pm 0,00^a$	$0,00 \pm 0,00^a$
Normes	$<10^7$	$<10^7$	$<10^5$

GAM : Germes Aérobie Mésophile ; CT : Coliformes Totaux.

NB :

- les germes ont été observés à des dilutions $d = 10^{-2}$; 10^{-3} ;
- les valeurs de lettres alphabétiques différentes (a, b et ab) dans la même colonne sont significativement différentes ;
- les valeurs de lettres alphabétiques communes (a, ou b, ou ab) dans la même colonne ne sont pas significativement différentes.

Tableau II : Germes pathogènes recherchés dans les MT prélevés dans les quartiers Abattoir, Baoulé, commerce, Kennedy 1.

Germes pathogènes recherchés			
Echantillons	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i>
E1	Absence	Absence	Absence
E2	Présence	Présence	Présence
E3	Absence	Absence	Absence
E4	Absence	Absence	Absence
E5	Absence	Absence	Absence
E6	Présence	Absence	Présence
E7	Absence	Absence	Absence
E8	Absence	Absence	Absence
E9	Absence	Absence	Présence
E10	Absence	Présence	Absence

1.2 Analyse physicochimique:

- Aspect:

Le résultat de l'analyse de l'aspect de chaque échantillon est présenté dans le Tableau III. Parmi les dix médicaments étudiés, huit étaient homogènes à l'exception des médicaments E6, et E7 qui sont hétérogènes.

- Potentiel d'hydrogène (pH):

Les échantillons du même médicament avaient sensiblement le même pH, tous inférieurs à 7. Ces médicaments sont acides. La mesure du pH de chaque échantillon est présentée dans le Tableau IV.

- Test d'uniformité de masse :

Des échantillons du même médicament n'avaient pas les mêmes masses (Tableau V)

Tableau III : Aspect des différents échantillons analysés

Echantillons de médicaments liquides										
	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10
Couleur	Mc	V	Mf	Mc	Mc	Mc/Mf	Mc/Mf	Mf	B	J
Homogénéité	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Non	Oui	Oui	Oui

Mc : marron clair ; Mf : marron foncé ; B : blanche ; J : jaune ; V : vert
 Oui : homogène ; Non : hétérogène.

Tableau IV. Potentiel d'Hydrogène de chaque échantillon.

Echantillons de médicaments liquides										
	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10
pH moyen	4,55	5,92	5,87	3,99	5,05	5,21	4,55	5,85	3,42	4,02
	± 0,02	± 0,02	± 0,02	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,02	± 0,01	± 0,01	± 0,02

Tableau V : Résultats du test d'uniformité de masse dans les échantillons de médicaments

Echantillons de médicaments liquides										
	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10
Masse	0,8	1,61	10,74	10,20	20,70	3,16	3,76	3,4	0,9	1,1
moyen	± 0,13	± 0,04	± 0,27	± 0,13	± 0,04	± 0,66	± 0,91	± 0,04	± 0,13	± 0,4

- Teneur en cendres totales

La teneur en cendres (Tc) totales de chaque échantillon (E1 : 12 % ; E2 : 11,3 % ; E3 : 5 % ; E4 : 8,7 % ; E5 : 11 % ; E6 : 11,3 % ; E7 : 16 % ; E8 : 12 % ; E9 : 3,3 % ; E10 : 6 %) est présentée par la Figure

1. La Tc totales varie d'un échantillon à un autre. Certains phytomédicaments ont une Tc totales élevée par rapport à d'autres. L'échantillon E7 (16 %) à la plus forte teneur Tc totales contre l'échantillon E9 (3,3 %) qui a la plus faible teneur.

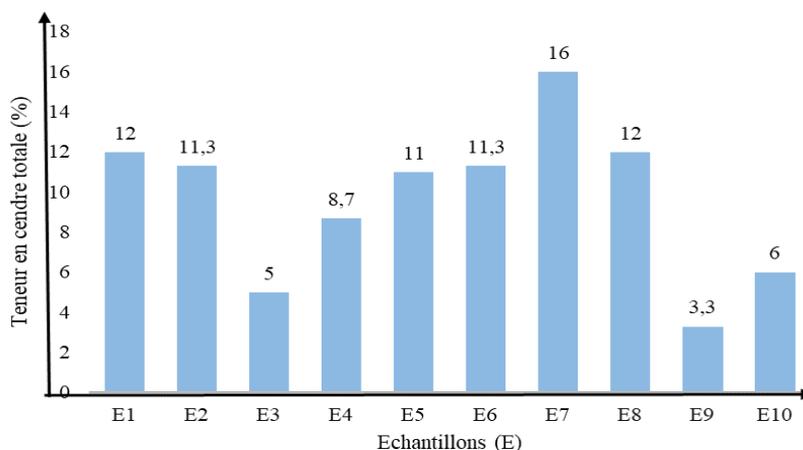


Figure 1 : Histogrammes des teneurs en cendres totales des MT.

2. Discussion:

Les résultats issus de l'analyse microbiologique ont révélé la présence dans ces médicaments, des germes aérobies mésophiles (GAM), indicateurs de conditions de fabrication insatisfaisantes. Selon les normes (AFNOR, 1999), les échantillons présentant un taux de flore totale supérieur à 107 UFC/mL sont plus contaminés et sont non satisfaisants, conditions aussi suivies par Coulibaly et al. (2018). Ainsi, cette analyse a montré que les GAM sont présents dans sept (7) médicaments liquides à base de plantes (E1, E2, E3, E6, E7, E8, E9) avec un niveau de contamination variant de 0,309.104 à 9,86.104 UFC/mL. Ces niveaux de contaminations sont inférieurs à 107 UFC/mL, normes (AFNOR, 1999). Ces médicaments sont donc de qualité microbiologique satisfaisante. Les résultats obtenus de ces présents travaux sont nettement au-dessus de ceux rapportés par Agassounon et al. (2001) dont les travaux ont porté sur une évaluation de la qualité hygiénique de six plantes médicinales et des phytomédicaments traditionnels. En effet ces auteurs ont rapporté la présence dans ces plantes étudiées, de GAM dans des proportions allant de 1,04.102 UFC /mL à 1,2.102 UFC/ mL. Selon Kassé et al. (2001), une forte présence des GAM favorise une altération des produits et constituent un risque de présence de germes pathogènes. Cette numération élevée des bactéries aérobies mésophiles explique et exprime un indicateur général de mauvaise pratique dans la production de ces médicaments : soit la température d'extraction est insuffisante, soit la conservation des médicaments est prolongée, soit l'hygiène est déficiente (La CREUSE, 2017, Anonyme, 2019).

Cette présente étude a montré la présence des coliformes totaux (CT) dans trois (3) médicaments (E2, E3, E4), avec un niveau de contamination variant de 0,218.104 à 6,55. 104 UFC/mL. Ce niveau de contamination est inférieur à 107 UFC/mL des normes (AFNOR, 2009). Ces médicaments sont ainsi de qualité microbiologique satisfaisante. Ces valeurs sont inférieures à celles rapportées par Coulibaly et al. (2018), dont les travaux ont porté sur l'évaluation de la qualité microbiologique des médicaments traditionnels améliorés (MTA) vendus dans six communes d'Abidjan. Ces auteurs ont mis en évidence la présence dans les médicaments traditionnels prélevés, les CT dans les proportions allant de 1,6.104 - à 5,5.107 UFC/ mL. Comme les coliformes totaux sont sensibles au chlore, leur présence dans les échantillons d'eau pourrait

indiquer l'existence d'un biofilm ou un manque d'efficacité du traitement (Anonyme, 2012). Leur présence dans ces médicaments expliquerait un traitement thermique inefficace (la température d'extraction inefficace) ou une contamination subséquente. Leur présence peut aussi indiquer un mauvais nettoyage et manque d'assainissement des appareils de production (Anonyme, 2019).

Il a été également observé dans ces médicaments (E2, E3, E4) une présence de levures et moisissures avec des fréquences variables de 0,195.104 à 1,62.104 UFC/mL. Ceci traduit un niveau de contamination fongique inférieur à 105 UFC/mL, donc acceptable. Ces résultats sont nettement inférieurs à ceux de travaux de Agassounon et al. (2001) dont les valeurs varient de 3.103 à 84.103 UFC/ mL. Les résultats de ces présents travaux sont aussi supérieurs à ceux de travaux de Coulibaly et al. (2018), ceux-ci ayant rapporté une absence totale de levures et moisissures dans les MTA liquides vendus dans la ville d'Abidjan. En effet, la présence des germes fongiques dans ces échantillons pourrait s'expliquer par la contamination de la matière première restée longtemps à l'air libre et/ou exposée à l'humidité ou à une conservation prolongée (Tayou, 2007 ; Anonyme, 2019). Leur forte présence dans un produit entraîne la réduction de leur qualité et représente un risque pour l'organisme du consommateur, à cause des mycotoxines qui sont des métabolites toxiques (MAPAQ, 2019).

Enfin, les résultats de cette étude ont indiqué aussi la présence de bactéries pathogènes que sont : *S. aureus*, *Salmonella* et *E. coli* dans certains échantillons. *E. coli* est un indicateur de contaminant d'origine fécale et sa présence dans ces médicaments (E2 et E6) pourrait traduire une contamination fécale de la matière première (puisque cette bactérie est présente dans le tube digestif des animaux et de l'homme et qu'elle est le seul membre du groupe des coliformes à être exclusivement d'origine fécale) (MAPAQ, 2019), ou que la température d'extraction a été insuffisante. Leur présence serait le signe d'une présence potentielle de microorganismes pathogènes entériques. De ce fait, prendre ces médicaments présenterait un risque pour la consommation humaine (Anonyme, 2019). Quant aux *S. aureus*, ils sont présents dans les muqueuses nasales, la bouche, la gorge, sur la peau d'un individu sain. Ainsi, leur présence dans les médicaments (E2, E10) pourrait traduire une hygiène et comportement inadéquats des manipulateurs des médicaments, une insuffisance

de protection des orifices et de la peau lors de la mise en bouteille de ces médicaments, une absence de lavage des mains ou lavage des mains inadéquat, une température de conservation inadéquate. Ces médicaments constituent par conséquent un risque pour la consommation humaine (Anonyme 2019). Concernant Salmonella, germe bactérien hautement pathogène, ils ne doivent pas être présents dans les médicaments liquides analysés. La contamination des médicaments (E2, E6 et E9) par cette bactérie proviendrait : soit de la contamination originelle de la matière première ; soit de la contamination humaine par des malades ou des porteurs sains ou par les animaux (La CREUSE, 2017). Par contre Coulibaly et al. (2018) ont montré que les médicaments liquides vendus dans la ville d'Abidjan se distinguent par une absence totale de germes pathogènes.

Par ailleurs, une comparaison de la variation des charges microbiennes dans différents lieux de prélèvement, montre que les échantillons prélevés au quartier Abattoir (E6 : présence de E. coli, salmonella) et commerce (E2 : E. coli, salmonella, S. aureus) sont les plus contaminés par les germes pathogènes. Ceci pourrait être lié à l'insalubrité humaine et animale et à une forte concentration de la population dans ces zones.

Concernant l'analyse phytochimique, elle a permis de notifier l'aspect des médicaments. Ainsi, parmi les dix médicaments étudiés, huit sont homogènes (E1, E2, E3, E4, E5, E8, E9, E10), à l'exception des médicaments E6, E7 qui sont hétérogènes (avec une couleur différente variant du marron clair à marron foncé, pour trois échantillons du même médicament). Cette hétérogénéité pourrait être due à une altération plus poussée ou à une absence d'uniformité des quantités de matière (drogue végétale) utilisée

Conclusion

Les analyses microbiologique et physicochimique de dix remèdes à base de plante sous forme liquide ont été effectuées dans le but de s'assurer de la conformité de tous les échantillons avec les normes. L'analyse microbiologique a porté sur six germes différents (GAM, CT, Levures et moisissures, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella). Les résultats obtenus varient en fonction des germes recherchés avec un niveau de contamination des germes d'altération en dessous du seuil d'acceptabilité. Par contre, il est noté une présence de germes pathogènes dans quatre médicaments à base de plantes analysés et ces

pour les préparations ou à une filtration insuffisante et / ou encore à une dégradation chimique. Aussi, des impuretés introduites par d'autres procédés de fabrication du principe actif pourraient expliquer cette hétérogénéité qui dénote de la falsification (Koffi, 2013). En effet, le résultat du test d'uniformité de masse a révélé que pour les échantillons d'un même médicament, les masses étaient différentes. Mais ces différences n'étaient pas statistiquement significatives donc acceptables. Aussi, les bonnes pratiques de fabrication exigent-elles une uniformité au niveau de la masse de matière ou de principe actif à cause de la posologie indiquée sur l'étiquette (WHO, 2001). En plus de cela, les valeurs des pH obtenues après analyse des 10 échantillons de phytomédicaments oscillaient entre 3,42 et 5,92, indiquant une acidité de ces médicaments. Les échantillons d'un même médicament ont sensiblement le même pH. Le milieu acide des médicaments pourrait aussi expliquer l'existence de moisissures et levures dans certains échantillons (Anonyme, 2019). Les teneurs en cendres totales étaient plus importantes au niveau de certains médicaments (E7 ; E1 ; E8 ; E2 ; E6 ; E5 avec Tc totales > 10 %) et plus faibles dans d'autres (E4 ; E10 ; E3 ; E9 avec Tc totales < 10 %). Ces valeurs variaient de 3 à 16 %. En effet, la teneur en cendres totales indique la présence des minéraux dans un produit (Allechi, 2015). Ils peuvent être acidifiants ou alcalins. Il est possible donc de dire que l'acidité de ces médicaments serait dû au fait qu'ils contiennent des minéraux acidifiants et ces minéraux pourraient être le chlore, soufre, phosphore, le sodium, le potassium, calcium et bien d'autres (Anonyme, 2020). Un dosage de ces échantillons ou médicaments s'avère nécessaire pour la confirmation de cette hypothèse de la présence de ces minéraux.

quatre médicaments sont ceux provenant des phytothérapeutes non reconnus par le PNPMT. Ils sont alors de mauvaise qualité, car ils possèdent des germes pathogènes, impropres à la consommation. Concernant l'analyse des paramètres physicochimiques, la majorité de ces médicaments sont homogènes et contiennent des minéraux acidifiant responsables de leur acidité. Toutefois ces phytothérapeutes de la ville de Daloa devraient mettre à la disposition de la population, des remèdes à base de plantes de bonne qualité en respectant scrupuleusement les bonnes pratiques de fabrication.

Pour approfondir les résultats de la présente étude, et contribuer à l'homologation des médicaments à base de plantes, il conviendrait également de mener d'autres investigations à savoir:

- Faire une étude phytochimique ;
- Evaluer les propriétés biologiques de ces médicaments,
- Doser ces différents types de minéraux présents dans ces médicaments analysés,

- Former les phytothérapeutes sur les Bonnes Pratiques applicables à la Fabrication (BPF).

Remerciement

Nous remercions le Programme National de la Promotion de la Médecine Traditionnelle (PNPMT) qui a permis que nous obtenions des échantillons de médicaments sur lesquels ces travaux ont porté.

Références

AFNOR, 1996. Microbiologie des aliments - Dénombrement des levures et moisissures par comptage des colonies à 25 degrés Celsius-Méthode de routine, Norme XP-V08-059, Paris, AFNOR, 16 p.

AFNOR, 1997. Microbiologie des aliments - Recherche des Salmonella - Méthode de routine, Norme NF. V08-052, Paris, AFNOR, 13 p.

AFNOR, 1999. Microbiologie des aliments - Dénombrement des micro-organismes par comptage des colonies obtenues à 30 °C - Méthode de routine, Norme F. V08-051, Paris, AFNOR, 8 p.

AFNOR, 2001. Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour le dénombrement des Escherichia coli β -glucuronidase positive. Partie 2 : Technique de comptage des colonies à 44 °C au moyen d'acide 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucuronate, Norme F. ISO 16649-2, Paris, AFNOR, 8 p.

AFNOR, 2004. Microbiologie des aliments. Méthode de routine pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive par comptage des colonies à 37 °C. Partie 1 : Technique avec confirmation des colonies, Norme F. V08-057-1, Paris, AFNOR, 16 p.

AFNOR, 2009. Microbiologie des aliments. Dénombrement des coliformes présumé par comptage des colonies obtenues à 30 °C, Norme F. V08-050, Paris, AFNOR, 8 p.

AFNOR, 2017. Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique, Norme F. EN ISO 6887-1, Paris, AFNOR, 8 p.

Agassounon D. T., Anani K. T., Ameyapoh Y., Gbeassor M., de Souza C., & Toukourou. F., 2001. Evaluation de la qualité hygiénique de six plantes médicinales et des phytomédicaments traditionnels. *Pharmacopée Médecine Traditionnelle Africain*, 11, 83-92.

Allechi C.G., 2015. Elaboration des spécifications analytiques (organoleptique, physico-chimique et phytochimique) d'un phytomédicaments antipaludique : « die kouadio », *Thèse de Doctorat de l'Université Felix Houphouët- Boigny, Côte d'Ivoire* 85 p.

Anonyme, 2011. Fabrication des médicaments à base de plantes, vol 4-annexe7 5 p.

Anonyme, 2012. Health Canada. Guidelines for Canadian drinking water quality - Guideline Technical document. Total coliforms. Ottawa, ON: Health Canada; 2012 Mar. Available from:

<http://www.hcsc.gc.ca/ewh-semt/pubs/water-eau/coliforms-coliformes/index-eng.php>.

Anonyme, 2020. Les aliments alcalinisants et acidifiants. www.ericfavre.com/lifestyle.aliment.

Anonyme, 2019. Lignes directrices et normes pour l'interprétation des résultats analytiques en microbiologie alimentaire, Canada, 58p.

<http://www.mapaq.gouv.qc.ca/fr/Publications/recueil.pdf>.

Bony F.N., 2004. Projet de dossier d'homologation des médicaments à base de plante issue de la pharmacopée africaine, *Mémoire pour l'obtention du Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A.) à l'université Felix Houphouët-Boigny, Côte d'Ivoire* 39 p.

Christophe A., 2014. Limites et risques de la phytothérapie. *Thèse de Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, Université de Limoges, France* 107 p.

Coulibaly B., Kouassi K. C., Kroa E., Konate I., Kouassi K.E., & Djaman A.J., 2018. de la qualité microbiologique des médicaments traditionnels améliorés (MTA) vendus dans six communes d'Abidjan (Côte d'Ivoire), *European Scientific Journal*, 14, 307-316.

Coulibaly S.L., 2008. Contribution à l'évaluation de la qualité des médicaments traditionnels améliorés, *Thèse de doctorat à l'Université de Bamako*, 90 p.

Hamad I., Mehmood Z., & Mohammad F., 1998. Screening of some Indian medical plants for their antimicrobial properties. *Journal of Ethnopharmacology*, 62, 183-193.

Inkoto C. L., Kayembe J. P. K., Mpiana P. T., & Ngbolua K. N., 2020a. A review on the Phytochemistry and Pharmacological properties of Picralima nitida Durand and H. (Apocynaceae family): A potential antiCovid-19 medicinal plant species. *Emergent Life Sciences Research*, 6(1):64-75.

Inkoto C. L., Masengo C. A., Falanga C. M., Membo W. M. B., Amogu J.J.D., Mahendra I.S.M., Kayembe J.P.K., Mpiana P.T., & Ngbolua K.N., 2020b. A mini-review on the phytochemistry and pharmacology of the plant Carica papaya L. (Caricaceae). *Britain International of Exact Sciences*, 2(3), 663-675.

Kassé M., Mady C., Aminata T., Marie-Noëlle D., & Aliou G., 2014. Qualité microbiologique des tranches de mangues (*Mangnifera indica*. L) vendues à Dakar (Sénégal). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 8(4), 1611-1619.

- Konan. A., 2012.** Place de la Médecine Traditionnelle dans les soins de santé primaires à Abidjan (Côte d'Ivoire). *Thèse de Doctorat de la Faculté de médecine de l'Université de Toulouse iii-Paul Sabatier, France*, 104 p.
- Koffi K.P.I., 2013.** Enquête sur la contrefaçon des médicaments des laboratoires sanofi dans les officines de pharmacie privées de la ville de CONAKRY (République de GUINEE). *Diplôme d'état de pharmacie*. 210p.
- La CREUSE, 2017.** Hygiène alimentaire : analyses, prélèvement, conseils, 19 p.
- Mpiana P.T., Ngbolua K.N., Tshibangu, D.S.T., Kilembe J.T., Gbolo B.Z., Mwanangombo D. T., Clement L, Inkoto Lengbiye E. M., Mbadiko C. M., Matondo A., Bongo G. N., Dorothée D., & Tshilanda, 2020.** Aloe vera (L.) Burm. F. as a Potential Anti-COVID-19 Plant: A Minireview of Its Antiviral Activity. *European Journal of Medicinal Plants*, 31(8), 86-93.
- MAPAQ, 2019.** Lignes directrices et normes pour l'interprétation des résultats analytiques en microbiologie alimentaire, 58 p. Available from <https://www.mapaq.gouv.qc.ca/fr/Publications/recueil.pdf>
- Nkasa H.L., Clément Inkoto C.L., Muzomwe M.J.C., Masengo E.I., Mumba C.M., Mulenga C.M., & Taba K.M., 2020.** Phytochemical screening and antibacterial activity of phytomedicine mathesia, a drug use against buruli ulcer in republic Democratic of the Congo (Drc). *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, 7(2), 52-56.
- Schnaubelt. K., 1998.** Advanced aromatherapy : the sciences of essential oil therapy. *Healing Art Press* (Rochester, Vermont) 138 p.
- Tayou. F.M.C., 2007.** Etude d'hygiène dans la restauration collective commerciale moderne de Dakar (Sénégal). *Thèse de Médecine Vétérinaire, Université Cheick Anta Diop de Dakar Sénégal*, 113 p.
- Tshilanda D.D., Inkoto C.L., Mpongu K., Mata Z., Kapepula P.M., Tshibangu D.S.-T., Bongo G. N., Koto-te-Nyiwa N., & Mpiana P. T., 2019.** Microscopic Studies, Phytochemical and Biological Screenings of *Ocimum canum*. *International Journal of Pharmacy and Chemistry*, 5, 61-67.
- Santos P.R.V., Oliveira A.C.X., Tomassini T.C. B., 1995.** Controle microbiológico de produtos fitoterápicos. *Revista de farmácia e bioquímica*, 31, 35-38.
- World Health Organization (WHO), 2015.** Traditional medicine. Fact sheet Number 134. Available: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/> Accessed 2 February 2015.
- World Health Organization (WHO), 2013. WHO for traditional medicine strategy 2014-2023.2013;78. available: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/434690/trieve>.
- World Health Organization (WHO), 2001.** Guide OMS des normes relatives aux bonnes Pratiques de fabrication (BPF), Partie 1 : Modes opératoires normalisés et formules originales de fabrication, 195 p. <http://www.who.int/vaccines-documents/>.