

**RECHERCHES
POUR
LE DEVELOPPEMENT**

Série Sciences Biologiques

N°32-2023

Antananarivo - Madagascar

**Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique**

ISSN 1025 – 3467



RECHERCHES POUR LE DEVELOPPEMENT

Série Sciences Biologiques

N°32

2023

**RECHERCHES
POUR
LE DEVELOPPEMENT
Série
Sciences Biologiques
N° 32
2023**

Ce numéro a été édité avec le concours de
Université d'Antananarivo
et
Centre d'Information et de Documentation
Scientifique et Technique

Toute correspondance concernant les publications
RECHERCHES POUR LE DEVELOPPEMENT
doit être adressée au :

Centre d'Information et de Documentation
Scientifique et Technique
BP 6224 – Email : edition.cidst@gmail.com
Antananarivo - Madagascar

ISSN 1025-3467

NOS PRINCIPALES REALISATIONS

**Fonds Documentaire consultable
gratuitement sur place**

24261 Ouvrages
1584 Titres de périodique

Production documentaire : Fiches techniques
66 thèmes sur l'agriculture et l'élevage

Base de données en ligne : MADADOC
(sur l'Environnement et le Développement Rural)
12642 Références

Base de données bibliographiques : MIREMBY
41537 Références multidisciplinaires

Edition de la Collection
"Revue Recherche pour le Développement"
42 numéros dont :

Série Sciences Biologiques : 25
Série Sciences de l'Homme et Société : 9
Série Sciences Technologiques : 2
Série Médecine : 6

Promotion de l'innovation :
Organisation de l'évènement Science Hack Day :
5 éditions
Mise en place de CATI et FABLAB



MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Centre d'Information et de Documentation
Scientifique et Technique



**✓ Votre partenaire
pour le développement durable
et l'innovation**

21, rue Fernand Kassanga
Andoharano - Tsimbazaza - BP 6224
Antananarivo 101
Tél : (261)20 22 566 37
E-mail : cidst@cidst.mg
Site Web : <http://www.cidst.mg>
FB : facebook.com/cidst

SOMMAIRE

Situation épidémioclinique de la dermatophilose bovine dans le district de Mananjary	
RAKOTOVAO-RAVAHATRA Zafindrasoa Domoina, RANDRIANARISON Joseph Adrien, RAKOTOVAO Andriamiadana Luc	07
Production de farine et de bioéthanol à partir de la patate douce (<i>Ipomea batatas</i>)	
RANDRIAMBOLOLONA Andoniaina C., RASAMBA My Tahirisoa N, RASOANAIVO Jean Luc, RABETOKOTANY RARIVOSON Nantenaina	19
Diversification des sources de protéines dans l'alimentation	
RAVONINJATOVO Mboahangy, RANDRIAMIDOSY Jean Claude, RAVONIZAFY Christine, RANDRIANATORO Hery, ANDRIAMAMPIANINA Rija, ANDRIAMAMPIANINA Mandaniaina, RANDRIAMAHATODY Zo	31
Plantes tinctoriales des Hautes Terres de Madagascar : phytochimie, expérience de teinture	
RAHARITSIADIANA Herimalala Marie, RANISAHARIVONY Blanche Nisa Grazielia, ANDRIANTSIFERANA Marta	43
Modélisation d'une farine dénommée Farine MAHAVONJY	
Razafimahefa, Youssrat Ali Youssouf, Nestorine	57
Micromeria flagellaris une LAMIACEAE source d'innovation thérapeutiques, moteur de développement	
RAKOTOFINA Haja Mamison Edouard, RAKOTONANDRASANA Stéphan, RAZAFINDRAKOTO Rinah, RANDRIANIRINA Mamy, ANDRIANJARA Charles, RAKOTOVAO Marcelle	77
Qualité alimentaire des huiles vendues et consommées dans la ville d'Antananarivo	
RAZAFINDRAZAKA Vonimanitra, RASOAMANARIVO Lalao Jeannine, HARIMALALA ANDRIAMBELO Nirina, RAHANITRARIVONY Veronirina	95
Caractérisations physico-chimiques des sédiments du lac Dzilandze-Anjouan Comores	
MOHAMED Abdou	113
Effets des extraits méthanolique, dichlorométhanique de <i>Rhopalocarpus similis</i> (SPHAEROSEPALACEAE) sur l'œdème inflammatoire	
RAMA Michela Stephanie, ROUKIA Djoudi, RAZAFINDRAMANANA Jeenath Francelline, RAJAONARISON Jean François	133

Performance du système d'identification bactérienne Bis-Plus-D dans l'identification des streptocoques RAKOTOVAO-RAVAHATRA Zafindrasoa Domoina, RANDRIATSARAFARA Fidiniaina Mamy, RAKOTOVAO-RAVAHATRA Joely Nirina, RASOARAHONA Jean Roger, RAONIZAFINIMANANA Béatrice, RAKOTOVAO Andriamiadana Luc	143
Etude de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique de <i>Antidesma madagascariense</i> (PHYLLANTACEAE) RAZAFINDRAMANANA Jeenath Francelline, ROUKIA Djoudi, RAMA Michela Stephanie, RAJAONARISON Jean François	152
Efficacité des Nématodes entomopathogènes, <i>Steinernema</i> et <i>Heterorhabditis</i> pour le contrôle des vers blancs du genre <i>Heteronychus</i> (DYNASTIDAE) ANDRIAMAMPIANINA Mandaniaina, RAVAOMANARIVO Lala Harivelo, RAKOTOARIMANGA Christophe, RAZAFINDRANAIVO Victor	163
Effect of geographical origin on the nutritional composition of <i>Moringa oleifera</i> leaf powder from Madagascar Ramaroson Vonimihaingo	173
Analyse comparative de la toxicité des champignons entomopathogènes de la forêt de Tapia envers le ver à soie <i>Borocera cajani</i> (LASIOCAMPIDAE) RAVELOMANANA Andrianjaka, DRENY Lobert R., RAHARIJAONA Sariaka F., TSIRINIRINDRAVO Herisetra L.	185

SITUATION EPIDEMIO-CLINIQUE DE LA DERMATOPHILOSE BOVINE DANS LE DISTRICT DE MANANJARY

par

RAKOTOVAO-RAVAHATRA Zafindrasoa Domoina⁽¹⁾, RANDRIANARISON Joseph Adrien⁽²⁾, RAKOTOVAO Andriamiadana Luc⁽¹⁾

(1) Département de Biologie Médicale, Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo, Madagascar

(2) Département de Médecine Vétérinaire, Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo, Madagascar

RESUME

La dermatophilose représente un problème majeur de la santé des bovins à Madagascar. La présente étude a pour objectif de décrire la situation épidémiologique de la dermatophilose bovine dans le district de Mananjary.

Il s'agit d'une étude descriptive et transversale a été réalisée du mois d'octobre 2015 au mois de février 2016 dans le district de Mananjary.

En termes de résultats, la prévalence globale de la dermatophilose se situe à 35,68%. L'étude des facteurs de risque montre que la fréquence de la dermatophilose était maximale chez les bovins métis (100%) ($p=0,0024$), chez les femelles (41,06%) ($p=0,0054$), chez les bovins maigres (61,97%) ($p=0,68$; NS), chez les bovins non détiqués (69,01%) ($p=0,029$) et chez les bovins déparasités irrégulièrement (53,52%) ($p=0,0069$).

En conclusion, la dermatophilose des bovins reste encore une menace pour le bétail dans notre pays. Le diagnostic étiologique précis et les traitements efficaces à long terme sont indispensables pour pouvoir les maîtriser et les éradiquer.

Mots-clés : Bovin, Dermatose, Prévalence, Race, Madagascar

ABSTRACT

Dermatophilosis represent a major cattle health problem in Madagascar. The present study aims to describe the epidemiological and clinical situation of bovine dermatophilosis in the district of Mananjary.

This is a descriptive and cross-sectional study was carried out from October 2015 to February 2016 in the district of Mananjary.

In terms of results, the overall prevalence of dermatophilosis is 35.68%. The study of risk factors shows that the frequency of dermatophilosis was highest in crossbred cattle (100%) ($p=0.0024$), in females (41.06%) ($p=0.0054$), in lean cattle (61.97%) ($p=0.68$; NS), in untagged cattle (69.01%) ($p=0.029$) and in irregularly dewormed cattle (53.52%) ($p=0.069$).

In conclusion, bovine dermatophilosis remain a threat to livestock in our country. Precise etiological diagnosis and effective long-term treatments are essential to be able to control and eradicate them.

Key-words : Bovine, Prevalence, Skin disease, Race, Madagascar

INTRODUCTION

L'élevage bovin représente une source de revenus importante dans la plupart des pays en développement et contribue à la sécurité alimentaire. Une des contraintes majeures au développement de ce secteur reste la maîtrise des maladies animales (Mahamat O., 2014). Les dermatoses occupent une place non négligeable dans la pratique quotidienne bovine. Elles sont rarement responsables de mortalité, mais elles entraînent une baisse de production (viande, lait) ainsi qu'une dépréciation des cuirs (Labit A., 2003). Parmi ces dermatoses, la dermatophilose, connue par les Malagasy sous le nom de « drodro », ou « bokaboka », revêt une importance de premier ordre. En effet, les affections cutanées qui peuvent toucher les bovins sont nombreuses, mais ces deux maladies touchent fréquemment les bovins selon l'OIE.

La dermatophilose est une affection de la peau frappant la plupart des animaux domestiques et plus particulièrement les bovins (Daher I., 1995). Par ailleurs, elle constitue une zoonose mineure. Elle est très fréquente dans les pays tropicaux et subtropicaux.

La connaissance générale de cette maladie à partir des enquêtes permettrait d'avoir des informations pour améliorer les méthodes de lutte contre ces maladies. La présente étude a pour objectif de connaître la situation épidémio-clinique de la dermatophilose bovine dans le district de Mananjary. Pour atteindre cet objectif général, il s'agit spécifiquement de collecter les données auprès des éleveurs. Ensuite, déterminer le profil épidémio-clinique de la dermatophilose et, et enfin, identifier leurs facteurs de risque.

MATERIELS ET METHODES

Cadre de l'étude

L'étude s'est déroulée dans cinq communes du district de Mananjary qui sont les suivantes : la commune urbaine de Mananjary, la commune rurale d'Antsenavolo, la commune rurale d'Anosiparihy, la commune rurale de Tsarahafatra, et enfin la commune rurale de Marokarima.

Type d'étude

Il s'agit d'une étude prospective, descriptive, transversale.

Période d'étude

La descente sur terrain s'est déroulée du mois d'octobre 2015 au mois de février 2016.

Population d'étude

La population de l'étude est constituée par les bovins atteints de la dermatophilose dans les différentes communes choisies.

Critères d'inclusion

Le troupeau ayant des animaux atteints de la dermatophilose bovine, toute race et toute catégorie et leurs propriétaires respectifs, vivant dans les cinq communes ont été inclus dans l'étude.

Critère d'exclusion

Les bovins infectés dont les propriétaires n'ont pas donné leurs consentements éclairés concernant les questionnaires ont été exclus de l'étude.

Mode d'échantillonnage

L'échantillonnage a été effectué sur trois niveaux : propriétaires, communes, bovins malades de la dermatophilose et de la DNC. Le mode d'échantillonnage est de type aléatoire simple.

Taille de l'échantillon

Dans le cadre de cette étude, 16 éleveurs sont enquêtés, soit un échantillon de 199 bovins. Ils sont numérotés de 1 à 16. L'échantillon est formé par le nombre de bovin de chaque éleveur ciblé.

Variables étudiées

Variables indépendantes

Les variables indépendantes sont représentées par le sexe, la race, le type de logement, le mode de déparasitage, le mode de détiquage et l'état d'embonpoint de bovin.

Variables dépendantes

Dans cette étude, la variable dépendante est représentée par l'état sanitaire de l'animal.

Analyse des données

Les informations collectées sur terrain ont été enregistrées sur Excel® 2016 puis traitées et analysées avec le logiciel Epi infoversion 7.1.4.0. Le test de χ^2 a été utilisé pour l'analyse de corrélation entre les variables. Le seuil de signification choisi a été de $p=0,05$.

Limite de l'étude

Cette étude est essentiellement limitée par :

- Le biais d'information qui peut survenir : Absence des moyens de vérification des réponses, non sincérité des réponses collectées auprès des éleveurs.
- Le biais de mémorisation : les personnes enquêtées peuvent oublier les étapes d'évolution de la maladie, les traitements antérieurs qui sont effectués, et les conduites d'élevage de leurs troupeaux.

Considérations éthiques

Le consentement volontaire et éclairé de la personne enquêtée a été sollicité. Avant chaque interview, les déroulements de l'enquête et les objectifs attendus ont été expliqués clairement.

Les informations concernant les appliquant ont été gardées de façon confidentielle et anonyme. Un système de code a été utilisé.

La lettre majuscule « E » a été utilisée pour désigner les éleveurs et/ou les détenteurs d'animaux. Elle est suivie d'un chiffre arabe allant de 1 à n en fonction de l'effectif des personnes enquêtées durant l'étude.

RESULTATS

Prévalence globale de la dermatophilose

La Figure 1 montre la prévalence globale de la dermatophilose dans la zone d'étude.

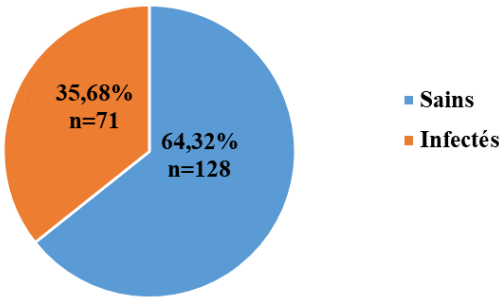


Figure 1 : Prévalence globale de la dermatophilose

Cette Figure 1 montre que 71 bovins (35,68%) sont touchés par la dermatophilose.

Race

La Figure 2 montre le taux d'infection des bovins par la dermatophilose selon la race.

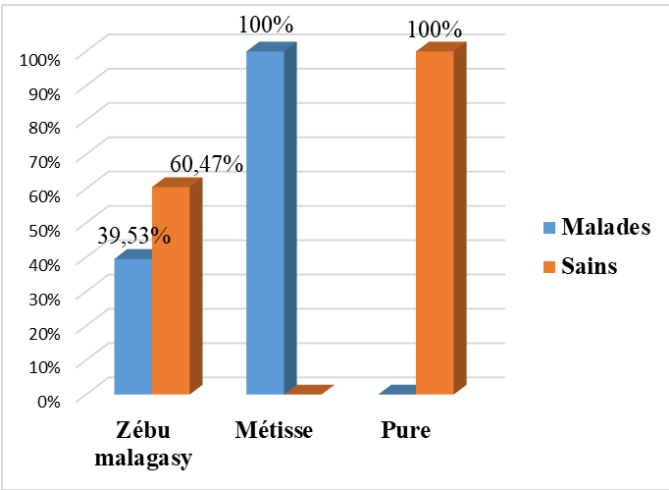


Figure 2 : Fréquence de la dermatophilose selon la race

La fréquence de la dermatophilose était maximale chez les bovins métis (100%), contrairement aux races pures (0%). Le calcul de p-value a donné une valeur de $p=0,0024$, inférieure à la valeur de la table, alors la race jouait un rôle dans la survenue de la dermatophilose.

Sexe

La Figure 3 montre le taux d'infection de bovin par la dermatophilose selon le sexe.

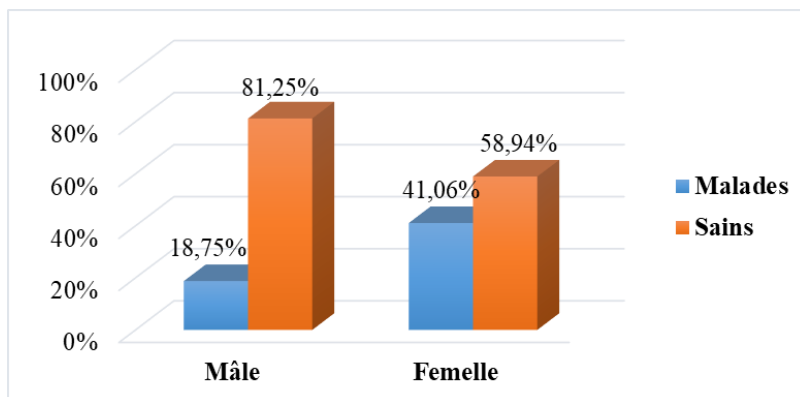


Figure 3 : Fréquence de la dermatophilose selon le sexe

La fréquence de la dermatophilose était plus élevée chez les femelles (41,06%) que chez les mâles (18,75%). Le test χ^2 a montré une valeur de $p=0,0054$, inférieure à la valeur de la table, alors le sexe était un facteur de risque de la dermatophilose.

État d'embonpoint de l'animal

La Figure 4 montre le taux d'infection de bovin par la dermatophilose selon l'état d'embonpoint.

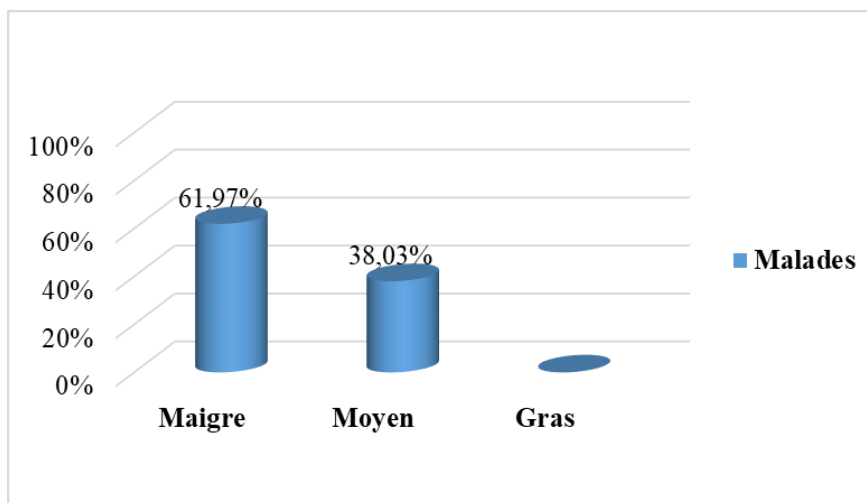


Figure 4 : Fréquence de la dermatophilose selon l'état d'embonpoint

La fréquence de la dermatophilose était plus élevée chez les bovins maigres (61,97%) par rapport aux animaux en bon état (38,03%) et gras (0%). Le test χ^2 a montré une valeur de $p=0,68$, supérieure à la valeur de la table, donc l'état d'embonpoint des bovins ne pouvait pas engendrer l'infection à la dermatophilose.

Détiquage

La Figure 5 montre le taux d'infection des bovins par la dermatophilose en fonction du détiquage.

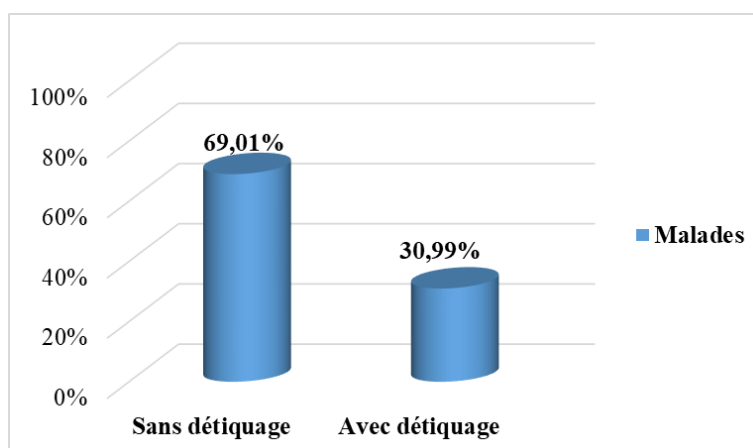


Figure 5 : Fréquence de la dermatophilose en fonction de détiquage des bovins

La fréquence de la dermatophilose était plus élevée chez les bovins non détiqués (69.01%) que chez les animaux détiqués (30,99%). Le test χ^2 a montré une valeur

de $p=0,029$, inférieure à la valeur de la table, donc le détiquage avait une influence sur l'apparition de l'infection à la dermatophilose.

Déparasitage

La Figure 6 présente le taux d'infection des bovins par la dermatophilose en fonction du déparasitage.

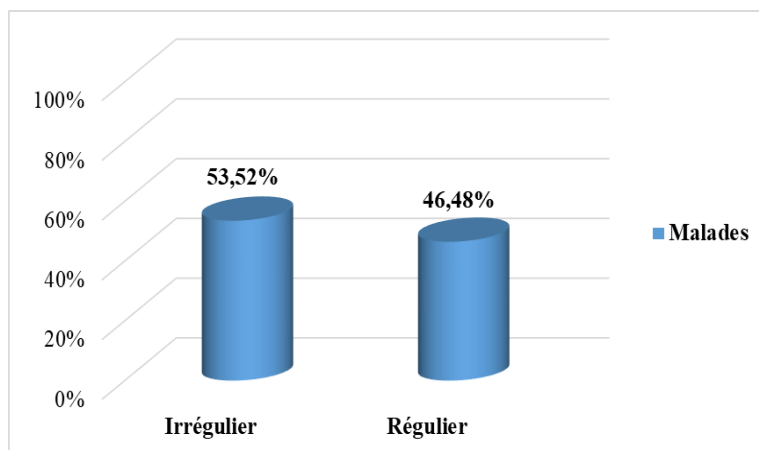


Figure 6 : Fréquence de la dermatophilose en fonction de déparasitag

La fréquence de la dermatophilose était plus élevée chez les bovins déparasités irrégulièrement (53,52%) que chez les animaux déparasités régulièrement (46,48%). Le test Chi²a montré une valeur de $p=0069$, inférieure à la valeur de la table, donc le déparasitage avait une influence sur l'apparition de la dermatophilose.

DISCUSSION

Prévalence globale de la maladie

Le taux d'infection globale chez les bovins au sein de la zone d'étude est de 35,68%. Ce taux est nettement élevé par rapport à l'impact national de la dermatophilose en 2009 avec une prévalence de 9,52%. Par contre, l'étude menée dans le district de Fénerive-Est a donné une prévalence de 20,43% en 2012. Ce résultat est concordant avec notre étude. L'humidité élevée durant la saison pluvieuse permet la germination des zoospores et fragilise aussi le mécanisme de défense naturelle de la peau contre les agents infectieux (Gourreau J.M.et *al.* 2000).

Race

Les Zébus métis ont été les plus affectés par la dermatophilose. La littérature confirme que la race est un facteur de réceptivité important, mais la réceptivité

individuelle (naturelle ou acquise) semble aussi jouer un rôle capital dans le développement de la maladie (Ralison P., 1978).

Sexe

Les femelles sont deux fois plus touchées avec 41,06% contre 18,75% pour les mâles. Ce résultat pourrait s'expliquer par une raison liée aux éleveurs. Certains éleveurs pensent que le fait de traiter la vache augmente le risque d'avortement. D'après Ranaivoson A et ses collaborateurs, le sexe intervient peu dans la réceptivité (Ranaivoson A. et *al.*, 1983). Ainsi, la survenue de la maladie dépend de la conjonction de plusieurs paramètres portant sur l'hôte (réceptivité, sensibilité), sur la bactérie (source, nombre, multiplication) et sur les conditions de transmission naturelle (climat) ou via des vecteurs (poux, tiques, insectes divers).

État d'embonpoint

Notre étude révèle que les bovins ayant un état général maigre sont les plus touchés par la dermatophilose avec 61,97%, contre 38,03% pour l'état général moyen et 0% pour l'état général gras. Plusieurs auteurs démontrent que la malnutrition et les carences sont des facteurs de prédisposition à la dermatophilose. L'insuffisance des apports nutritifs des pâturages de la saison sèche diminue la résistance corporelle des bovins en les rendant sensibles aux diverses infestations et infections (Institut de l'élevage, 2008).

Détiquage

Dans notre étude, les bovins non détiqués sont plus sensibles à la dermatophilose avec 69,01% contre 30,99% pour les bovins détiqués. Deux facteurs sont les plus favorables pour le déclenchement et le développement d'une dermatophilose : piqûres (insectes, tiques, végétation épineuse,) et humidité (Mamihajatiana M.H., 2009). Les mouches sont vectrices d'un grand nombre de maladies du bétail (anaplasmose, piroplasmose, cowdriose, etc). Elles injectent aussi de la toxine pendant leur nutrition et provoquent l'irritation et l'agitation. Elles entraînent l'anémie et l'amaigrissement des animaux par leur action hématophage. C'est pour cela qu'elles font le lit de dermatoses par leurs morsures.

Déparasitage

L'absence de déparasitage favorise le parasitisme interne et externe des animaux. Notre étude révèle que les bovins non déparasités (53,52%) sont les plus touchés par la dermatophilose par rapport aux bovins déparasités (46,48%). Les parasites internes diminuent l'immunité et donc, affaiblissent les animaux. Cela rejoint l'affirmation de HUNTER disant que les bovins dont l'état général est déprimé, constituent un terrain de prédilection pour le développement de

Dermatophilus congolensis (Hunter A., 2006). Par contre, les parasites piqueurs comme les acariens (demodex, sarcoptes) et les tiques (*Boophilus et Amblyoma*) sont considérés comme les premiers facteurs qui favorisent la dermatophilose. Ils provoquent des démangeaisons et entraînent des lésions de grattage. Ceci est une bonne opportunité pour l'entrée des germes qui sont déjà présents sur le revêtement cutané (Hunter A., 2006). En outre, une combinaison des facteurs est nécessaire pour le développement de la dermatophilose. Alors, l'action du parasitisme n'est pas le seul facteur de déclenchement de la maladie.

CONCLUSION

Dans la présente étude, la prévalence de la dermatophilose a été de 35,68%. Grâce à la présente étude, la connaissance de la situation épidémio-clinique de la dermatophilose aiderait les responsables d'élevage à élaborer des stratégies pour mieux gérer leurs facteurs de risque. De même, les éleveurs doivent suivre toutes les instructions venant de responsable d'élevage concernant la pratique quotidienne bovine afin d'améliorer la production. En bref, la dermatose est plus inquiétante actuellement car elle menace le bétail malgache si le service vétérinaire ne trouve pas des remèdes efficaces à long terme pour l'éradiquer.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) Daher I., 1995. Contribution à l'étude de la filière lait au Sénégal : contraintes liées à la pathologie (Dermatose Nodulaire) et au changement de partie du franc CFA [Thèse]. Médecine Vétérinaire : Dakar. 72p.
- 2) Gourreau J.M., Chermette R. (2000). Dermatophilose bovine. *Bull. Group. Tech. Vét.*, 8: 159-161.
- 3) Hunter A., Guilenberg., Meyer C. (2006) Santé animale. Principales maladies. Paris, 6 : 22-24.
- 4) Institut de l'élevage. Maladies des bovins. 4ème édition. Paris : France agricole ; 2008, 797 p.
- 5) Labit A., 2003. Réalisation d'un CD ROM de diagnostic des affections dermatologiques des bovins [Thèse]. Médecine Vétérinaire : Créteil. 207 p.
- 6) Mahamat O., 2014. Contribution à l'amélioration de l'épidémiosurveillance des maladies animales en Afrique francophone de l'ouest et du centre [Thèse]. Médecine Vétérinaire : Liège. 165 p.
- 7) Mamihajatiana M. H., 2009. Situation épidémiologique et approches sanitaires de la dermatose nodulaire bovine dans le district de Miandrivazo [Thèse]. Médecine Vétérinaire : Antananarivo. 72p.

- 8) Ralison P., 1978. Dermatophilose bovine à Madagascar [Thèse]. Médecine vétérinaire : Toulouse. 58p.
- 9) Ranaivoson A., Ranaivoson R., Rambelomanana D. (1983). Impact de la dermatophilose sur la production du bétail et lutte contre cette maladie à Madagascar. *Bulletin de l'académie malgache*, 81 :1-2.

PRODUCTION DE FARINE ET DE BIOETHANOL A PARTIR DE LA PATATE DOUCE (*Ipomea batatas*)

par

RANDRIAMBOLOLONA Andoniaina Carol⁽¹⁾, RASAMBA My Tahirisoa⁽¹⁾,
RASOANAIVO Jean Luc^(1,2), RABETOKOTANY RARIVOSON Nantenaina⁽¹⁾

- (1) Ecole Doctorale Gestion des Ressources Naturelles et Développement (GRND), Equipe d'accueil Agro-Management et Développement Durable des Territoires (AM2DT), Université d'Antananarivo, Madagascar
(2) Département Énergétique, Centre National de Recherches Industrielle et Technologique (CNRIT), Antananarivo, Madagascar

RESUME

La culture de la patate douce qui est très pratiquée dans le pays n'arrive pas à satisfaire les besoins alimentaires du pays car sa transformation en d'autres produits est encore limitée. Notre étude vise alors à valoriser les tubercules de patate douce en les transformant en d'autres produits agro-alimentaires et en bioénergie. Par l'abondance du soleil dans le pays, l'utilisation de l'énergie renouvelable est mise en avant pour la valorisation de la patate douce, ceci s'applique par l'utilisation d'un séchoir solaire indirect qui permettra le séchage de ces plantes à tubercules et ainsi les transformer en farine. Et par l'abondance de l'amidon dans sa composition chimique, les déchets issus de la transformation en farine suivent des procédés de transformation comme l'hydrolyse, la fermentation et la distillation afin d'obtenir du bioéthanol. Le bioéthanol obtenu sera rectifié dans un rectificateur. Les résultats obtenus montrent les différentes caractéristiques physico-chimiques de la farine obtenue ainsi que les taux de matières sèches des variétés de patate douce. Nous avons obtenu un bioéthanol avec un degré alcoolique satisfaisant utilisable pour la cuisson de repas ou en tant que biocarburant tout en respectant les normes environnementales.

Mots clés : Patate douce, Séchage, Farine, Déchets, Transformation, Bioéthanol

ABSTRACT

The cultivation of sweet potato, which is widely practiced in the country, is not able to satisfy the food needs of the country because its transformation into other products is limited. Our study aims at valorizing the sweet potato tubers by transforming them into other agro-food products and bioenergy. By the abundance of the sun in the country, the use of the renewable energy is put forward for the

valorization of the sweet potato, this applies by the use of an indirect solar dryer which will allow the drying of these plants with tubers and thus to transform them into flour. And by the abundance of starch in its chemical composition, these waste products from the transformation of flour follow transformation processes such as hydrolysis, fermentation and distillation to obtain bioethanol. The obtained bioethanol will be rectified in a rectifier. The results obtained show the different physicochemical characteristics of the flour obtained as well as the dry matter content of the sweet potato varieties. We obtained bioethanol with a satisfactory alcoholic degree either usable for cooking meals or as biofuel while respecting the environmental standards.

Key words : Sweet potato, Drying, Flour, Waste, Processing, Bioethanol

INTRODUCTION

Madagascar est un pays qui rencontre un problème majeur de sous-alimentation. Effectivement le pourcentage de la population ayant comme activité l'agriculture ne permet pas encore au Pays de satisfaire son autosuffisance alimentaire. Ces problèmes sont dus à la mauvaise gestion post-récolte des produits agro-alimentaires. Dans le cadre des cultures vivrières du pays, quatre cultures occupent une place importante dans le territoire national à savoir le riz, la patate douce, le maïs et le manioc (BIMTT, 2019). Ces cultures facilitent et aident la population du pays à satisfaire ses besoins alimentaires, mais leur transformation en d'autres produits dérivés reste encore très limitée dans la Grande Ile (Razafindraibe & Ravelomanantsoa, 2010).

La transformation de ces produits en d'autres produits agroalimentaires contribue à la gestion rationnelle de ceux-ci et ainsi permet au Pays de surmonter ce grand fléau qu'est la sous-alimentation. La transformation de ces produits étant très énergivore et trop cher pour un pays comme Madagascar, et pour assurer le développement durable du pays, cette transformation oblige à recourir à l'utilisation des énergies renouvelables, notamment l'énergie solaire par l'intermédiaire des séchoirs solaires (Boulemtafes, 2011). Le séchage est un procédé important pour la transformation et la conservation des produits issus de l'industrie agro-alimentaires (Boulemtafes, 2011 ; Rasoanaivo, 2010).

Dans la politique d'un développement durable, l'obtention d'une énergie nouvelle sans dégagement de gaz à effet de serre est devenue un intérêt majeur pour la science. C'est une politique de transition des énergies fossiles en énergies renouvelables dont la perspective est de valoriser les déchets issus de la transformation de farine pour avoir du bioéthanol. Le bioéthanol est un composé

chimique issu du groupement alcool dont la production est faite par fermentation anaérobie.

Tous ces faits nous ont conduits à la problématique qui est la suivante : comment procéder à la valorisation de cette culture de patate douce pour contribuer au développement du pays ? L'objectif principal de cette étude est alors de produire un complément de produit agroalimentaire par l'énergie du soleil et de produire de la bioénergie par l'utilisation de la patate douce.

MATERIELS ET METHODE

Matières premières

Patate douce (Ipomea batatas)

Pour la transformation de la patate douce en farine, nous avons utilisé comme matière principale les variétés de patates douce Sihanaka à chair blanche, Mahafaly à chair crème et Vony à chair blanche. Après une étude bibliographique approfondie, ces trois variétés ont été choisies par leurs caractéristiques et leur abondance ainsi que la disponibilité de celles-ci dans le territoire national (BIMTT, 2019). Ces variétés ont été collectées auprès des marchands locaux du pays, nous avons veillé à ce que les tubercules soient de bonne qualité.

Pour notre étude, nous avons utilisé 1683 g de patate douce Sihanaka, 1058g de patate douce Mahafaly et 3928g de patate douce Vony. Une partie de la masse de ces échantillons, c'est-à-dire 100g ont été mis de côté pour faire preuve de témoins durant le séchage des tubercules, et la masse restante des tubercules a été utilisée pour la transformation des tubercules en farine.

Pour la transformation en bioéthanol, l'épluchure de patate douce est utilisée comme matière première. Elles sont obtenues après le prétraitement des patates douces pour la transformation de farine. Les épluchures sont traitées par un procédé qu'on appelle gélification avant d'être fermenté. On ajoute une quantité d'eau avec l'épluchure et le met à cuire pendant une heure.

Grain de Paddy

Le grain de paddy est la matière végétale pour la production du lait de malt. Ce dernier est versé sur l'épluchure gélifié dont la température est à environ 30°C puis agité dans un mixeur. Cette étape consiste à transformer les amidons en sucre simple : c'est l'hydrolyse enzymatique.

Saccharomyces cerevea

La souche pour la fermentation anaérobie des matières premières est le ‘‘*saccharomyces cerevea*’’. C’est le meilleur catalyseur pour la transformation des matières amylacées en bioéthanol. Elle se trouve dans des levures boulangères. La levure est ajoutée à la solution mixée puis centrifugée. La solution est ensuite renversée dans un récipient incubé. Le dosage de la levure se fait par 5% du poids de substrat.

$$DS = \frac{ms}{100} \times 5 \text{ (Equation 1)}$$

avec

DS : dose de levure (g)

ms : masse du substrat après gélification et addition de l’enzyme (g)

La mesure d’atténuation est faite pendant cette étape pour obtenir le pourcentage de sucre réducteur pouvant être transformés en bioéthanol. Cela consiste à mesurer le taux de sucre avant et après le temps de fermentation.

Caractérisation des matières étudiées

Production de farine

Différents matériels indispensables ont été utilisés pour nos manipulations au laboratoire. Avant le séchage proprement dit de ces matières premières, des étapes de prétraitement ont été faits pour la bonne préparation des matières à étudier, les matériels utilisés pour ce prétraitement sont : les balances de précision, les balances électroniques, le couteau en inox, la cuvette en plastique, le mortier, le tamis et le dessiccateur.

Pour la transformation de la patate douce en farine, les appareils comme le séchoir solaire, le mortier, le tamis sont utilisés. Et pour caractériser l’humidité et la valeur de la matière sèche à chacun de ces produits, l’utilisation d’une étuve ventilée a été nécessaire.

Pour les matières premières étudiées, avant de les disposer dans l’armoire de séchage, elles ont d’abord été prétraitées physiquement et chimiquement, ces étapes de prétraitement sont :

- **Le triage** : qui consiste à séparer les produits en bon état des produits qui se sont déjà désaltérés et qui pourront supporter l’attente dans la phase avancée du séchage (Rasoanaivo, 2010)
- **Le lavage** : qui consiste à laver les tubercules de patate à l’eau de robinet pour enlever les souillures et les microorganismes superficiels.

- **L'épluchage** : qui consiste à enlever la peau des patates douces à l'aide d'un éplucheur à carotte et d'un couteau aiguisé en acier inoxydable.
- **Le découpage** : consiste à découper les tubercules de patate en fines lamelles et rondelles de 3 à 5 mm d'épaisseur.
- **Le blanchiment** : c'est le prétraitement chimique effectué pour dénaturer les polyphénols responsables du brunissement enzymatique des produits (Andriampenhaja, 1996). Cette opération consiste à chauffer les variétés de patate douce dans une marmite inoxydable contenant de l'eau portée à ébullition pendant 3 minutes. Après cela, les tubercules de patate sont égouttés.

Après avoir bien effectué les étapes de prétraitement nécessaires, nous procédons au séchage des variétés de tubercules. Les tranches de lamelles découpées soigneusement sont disposées dans l'armoire de séchage et nous veillons à ce que celles-ci ne soient pas superposées pour pouvoir effectuer un bon séchage. Le séchage a été effectué à une température de consigne de 40°C, et pendant le séchage nous avons veillé à l'évolution de la masse des échantillons de 100g considérés comme témoins. L'évolution de la masse de ces échantillons témoins au cours du temps de séchage pour les 3 variétés va nous donner les variations de la masse de ces échantillons en fonction du temps et quand il n'y a plus variation de la masse de ces échantillons, c'est-à-dire la masse est constante, nous considérons que les tubercules de patate douce sont séchés, et dans nos expériences le séchage a duré 30 heures.

Pour éliminer totalement l'eau et pour pouvoir déterminer le taux de la matière sèche à chaque variété, nous avons procédé ensuite au séchage des échantillons témoins dans une étuve ventilée à 105°C, et nous avons arrêté l'opération lorsqu'il n'y avait plus variation de masse. La durée du séchage des échantillons dans l'étuve est de 24h.

Après avoir pesé les échantillons à la fin du séchage, nous procédons aux calculs des différents paramètres comme :

- L'humidité relative ou le titre en eau des échantillons donnée par la formule (Rasoanaivo, 2010)

$$HR = \frac{Me}{Mt} = \frac{Me}{Me + Ms} \text{ (Equation 2)}$$

- Quant à la teneur en matière sèche des échantillons est donnée par la relation (Rasoanaivo, 2010):

$$TMS = \frac{Ms}{Mt} = \frac{Mt - Me}{Mt} = 1 - HR \text{ (Equation 3)}$$

avec

HR : Humidité relative de la matière

Me : Masse d’eau contenue dans le corps

Ms : Masse de la matière sèche

Mt : Masse totale de la matière humide.

Extraction du bioéthanol

Après un temps de fermentation, le produit a été extrait dans la solution par l’utilisation d’un distillateur simple dans le laboratoire de CNRIT. Nous avons obtenu plusieurs flacons de 100 ml d’alcool après 3 expériences. Puis, nous avons opté à une rectification du produit par un rectificateur (distillateur à colonne) pour avoir un bioéthanol pur et dans l’usage peut être énergétique.

Pendant le travail, 2300g d’épluchure de patate douce sont utilisés pour chaque expérience.

Tableau 1 : Les paramètres qui caractérisent chaque expérience

Paramètres	1 ^{ère} expérience	2 ^{ème} expérience	3 ^{ème} expérience
Ajout d’eau (L)	2	2,5	2,5
Temps de fermentation (j)	3	3	7
5% de Levure (g)	154	208	263

RESULTATS

Production de farine

La variation de la masse des échantillons témoins des différentes variétés de patate douce au cours du temps après le séchage est donnée par le tableau 2, la variété qui a le plus perdu en masse est la variété Sihanaka, la masse de cet échantillon après séchage est de 38g, tandis que pour celles des variétés Mahafaly et Vony sont de 40g.

Tableau 2 : Variation de la masse en fonction du temps durant le séchage

Durée de séchage [h]	0	1	2	3	4	5	24	30
Masse de la Variété Sihanaka [g]	100	89	77	68	57	46	38	38

Masse de la Variété Vony [g]	100	87	75	63	52	42	40	40
Masse de la Variété Mahafaly [g]	100	89	78	67	56	45	40	40

L’étuvage à 105°C des échantillons témoins nous a permis de ressortir l’humidité relative ainsi que le taux de matière sèche de chaque variété. Le tableau 3 nous montre la variation de masse des échantillons témoins durant l’étuvage. Et les valeurs de l’humidité relative et du taux de matière sèche de ces échantillons sont obtenues à partir de ces masses.

Tableau 3 : Variation de la masse des échantillons après l’étuvage

Durée de l’étuvage (h)	0	2	4	22	24
Masse de la variété Sihanaka (g)	38,0011	37,7512	37,5346	34,3754	34,3626
Masse de la variété Vony (g)	40,0235	39,8134	39,6911	38,5961	38,596
Masse de la variété Mahafaly (g)	40,0391	39,7713	39,5214	36,4532	36,4423

La valeur de l’humidité relative et des taux de matière sèche spécifiques à ces échantillons sont données par les équations 2 et 3. D’après le tableau 4, nous constatons que la variété Sihanaka est la variété qui retient le moins d’eau car elle a une valeur de l’humidité relative la plus élevée : 65,64%. L’humidité relative finale des deux autres variétés Mahafaly et Vony sont respectivement de 63,55% et de 61,40%.

Tableau 4 : Humidité relative des échantillons

	Variété Sihanaka	Variété vony	Variété Mahafaly
Humidité relative finale	HR= (100 – 34,36)/100 = 65,64%	HR = (100 – 38,60)/100 = 61,40%	HR = (100-36,44)/100 = 63,56%

Quant aux taux de matières sèches des trois variétés, celui de la variété Sihanaka est de 34,36%, celui de la variété Vony est de 38,59% et celui de la variété Mahafaly est de 36,44%.

Les propriétés physico-chimiques, ainsi que le rendement de la farine obtenue sont donnés par le Tableau 5, en général nous avons obtenu une bonne qualité de farine avec un bon rendement pour les trois variétés.

Tableau 5 : Caractéristiques de la farine obtenue

Propriétés	Couleur	Odeur	Saveur	Granulométrie	Rendement
Sihanaka	Blanche	Forte	Sucrée	Ronde dont la maille du tamis est de 0,5 mm	61,67%
Vony	Blanche	Forte	Sucrée	Ronde dont la maille du tamis est de 0,5 mm	67,58%
Mahafaly	Crème	Forte	Sucrée	Ronde dont la maille du tamis est de 0,5 mm	78,86%

Production de bioéthanol

La fermentation de l'expérience n°3 réalisée avec un taux de levure de 5% (154g), pendant une durée de fermentation de 7 jours aboutit à un rendement de fermentation le plus élevé de 63,6% :

- L'expérience 1 a permis d'obtenir 5 flacons de 100ml
- L'expérience 2 a permis de collecter 6 flacons de 100ml
- L'expérience 3 a permis d'avoir 9 flacons de 100ml

Il est bien précisé que chaque distillation a été arrêtée lorsque le degré alcoolique était inférieur à 10° GL.

Tableau 6 : Caractéristiques des 3 distillations

Rubrique	1 ^{ere} distillation	2 ^{eme} distillation	3 ^{eme} distillation
Premier point de coupe (°C)	69	60	45
Temps d'apparition du premier distillat (mn)	90	90	70
Volume de distillat obtenu (ml)	500	600	900
Durée de distillation (mn)	210	270	360

Pendant les expériences, un suivi de la valeur du degré alcoolique à chaque volume de 100 ml de solution obtenu a été effectué.

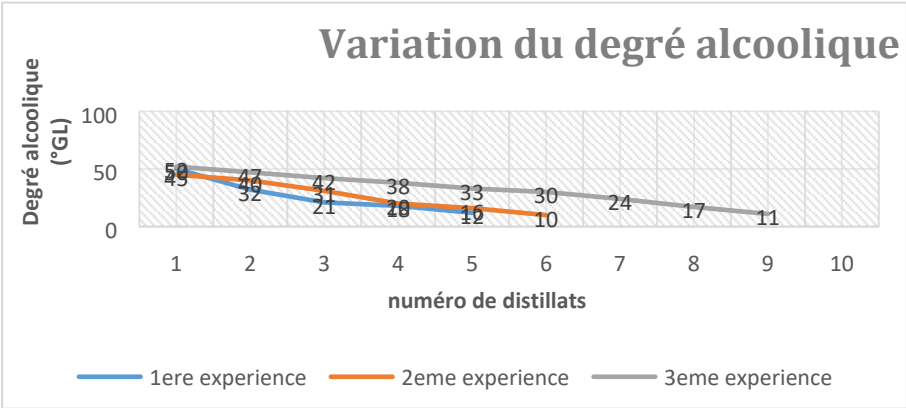


Figure 1 : Variation du degré alcoolique des distillats issus des 3 expériences

L'alcool issu des 3 expériences a été regroupé en 1 seul lot de 2000 ml pour pouvoir passer à la rectification. Il est à noter que le lot a un degré alcoolique de 25° GL avant rectification.

Conditions opératoires

Les consignes pour l'étape de la rectification sont les suivantes :

- Degré alcoolique 25 °GL,
- Volume initial de l'alcool 2000 ml,
- Température de consigne du régulateur de bouilleur (Θ_b) : 250°C,
- Température de consigne du régulateur de la tête de colonne (Θ_{tc}) : 78°C.

Tableau 7 : Caractéristiques de la rectification

Premier point de coupe	Température de consigne du bouilleur ($\theta_b = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$)
Température affichée par le régulateur du bouilleur ($^{\circ}\text{C}$)	210
Température affichée par le régulateur de la tête de colonne (en $^{\circ}\text{C}$)	77
Temps d'apparition du premier distillat (mn)	27
Volume d'éthanol obtenu (ml)	500
Degré alcoolique de l'alcool rectifié (en $^{\circ}\text{GL}$)	78 à 90
Volume de résidu (ml)	1447
Degré alcoolique du résidu (en $^{\circ}\text{GL}$)	4
Durée de distillation (mn)	250

DISCUSSIONS

L'étude a montré que les différentes variétés de patate douce présentent des caractéristiques de séchage propre à chaque variété. Le taux d'humidité relative diffère selon chacune des variétés de tubercules de patates. L'expérience a mis en évidence que la variété Sihanaka a un taux d'humidité relative élevé par rapport aux deux autres variétés. Cette teneur, élevée en eau est due à sa forte concentration dans le tubercule. Concernant le taux de matière sèche, les trois variétés ont un taux avoisinant la norme, cela permet une bonne conservation des produits. Les caractéristiques de la farine obtenue montrent un résultat satisfaisant comparativement à celle vendue sur les marchés locaux du pays.

La production de bioéthanol, affichée lors des 3 expériences effectuées sont différentes. La troisième expérience fut la plus concluante : 900 ml d'alcool hydraté ont été obtenus après 7 jours de distillation et en gardant un volume d'eau de 2,5L comme celle de la deuxième expérience. Les résultats de la rectification de l'alcool de 2000ml ont donné 500ml de bioéthanol pur avec une variation du degré alcoolique situé entre 78 et à 90 ° GL après une consigne de la température de la colonne sur 78°C. Celle-ci est favorable pour être une source d'énergie renouvelable ne dégageant pas de gaz à effet de serre.

CONCLUSION

Ce travail a permis de mettre en évidence l'importance de la patate douce dans le secteur agro-alimentaire ainsi que dans le domaine énergétique du pays. Les différentes expériences faites durant cette étude révèlent que l'utilisation des énergies renouvelables est très importante. Les étapes de prétraitement et le séchage des patates douces dans le séchoir solaire sont des procédés importants pour la transformation de la patate douce en farine. Et les déchets issus de cette transformation constituent les matières premières nécessaires à la production de bioéthanol. Les déchets sont, en effet, transformés en bioéthanol après gélification, fermentation, distillation et rectification.

L'étude a, par ailleurs, permis d'avoir les taux de matière sèche pour les trois variétés de patate douce étudiées qui sont de 34,62% pour la variété Sihanaka, 38,59% pour la variété Vony et 36,44% pour la variété Mahafaly. De très bonnes caractéristiques organoleptiques de la farine ont été obtenues ainsi qu'un degré d'alcool allant de 78 à 90° GL après rectification. Tenant compte des limites relatives à la disponibilité du matériel en laboratoire, il serait approprié d'améliorer les matériels d'étude et d'avoir à disposition une main d'œuvre qualifiée pour pouvoir développer une production à l'échelle industrielle.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) Andriampenhaja, A. (1996). *La farine de patate douce et son incorporation en pâtisserie et/ou biscuiterie : une des propositions valables pour la lutte contre la malnutrition et le développement du Sud de Madagascar*. Mémoire d'Ingénieur Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques, Université d'Antananarivo.
- 2) BIMTT. (2019). *Patate douce* (BIMTT-CTA,). CTA.
https://www.doc-developpement-durable.org/file/Culture/Culture-plantes-alimentaires/FICHES_PLANTES/maladies/patate_douce_Madagascar.pdf
- 3) Boulemtafes, A. (2011). Le séchage solaire des produits agricoles. *Recherche et Développement*, 21(7), 10–12.
https://www.cder.dz/vlib/bulletin/pdf/bulletin_021_07.pdf
- 4) Randriambololona, A.C. (2022). *Valorisation de la patate douce (Ipomea batatas) par utilisation d'un séchoir solaire indirect : cas de la production de farine*. Mémoire de Licence Professionnelle en Ingénierie Pétrolière. Ecole Supérieure Polytechnique d'Antananarivo
- 5) Rasoanaivo, J.-L. (2010). *Contribution à l'étude, la conception et à la réalisation d'un séchoir solaire polyvalent: Application à la valorisation des produits agroalimentaires*. Thèse de Doctorat en Génie Chimique. Ecole Supérieure Polytechnique d'Antananarivo. Université d'Antananarivo
- 6) Razafindraibe, I., & Ravelomanantsoa, S. (Eds.). (2010). *Catalogue national des espèces et variétés cultivées - Madagascar* (PRESS ATTI).

DIVERSIFICATION DES SOURCES DE PROTEINES DANS L'ALIMENTATION

par

RAVONINJATOVO Mboahangy⁽¹⁾, RANDRIAMIDOSY Jean Claude⁽¹⁾,
RAVONIZAFY Christine⁽¹⁾, RANDRIANATORO Hery⁽¹⁾,
ANDRIAMAMPIANINA Rija H.⁽¹⁾, ANDRIAMAMPIANINA Mandaniaina⁽¹⁾,
RANDRIAMAHATODY Zo⁽¹⁾

(1) Centre National de Recherches sur l'Environnement (CNRE), Antananarivo, Madagascar

RESUME

Madagascar dispose de nombreuses ressources alimentaires d'origine animale et végétale riches en divers nutriments. Pourtant la majorité de la population suit un régime alimentaire insuffisant en termes de quantité et de qualité. Les aliments consommés sont pauvres en énergie, en protéines et en micronutriments. Cette étude a pour objectif de valoriser les ressources alimentaires considérées comme déchets, de promouvoir la consommation d'aliments peu coûteux mais riches en éléments nutritifs et d'inciter à la diversification alimentaire afin de contribuer à la lutte contre la malnutrition. L'autolysat protéique riche en protéines obtenu à partir des viscères d'esturgeon, la poudre de haricot riche en protéines et en micronutriments et la poudre de chrysalides de landibe dotée en protéines et en acides gras ont constitué les matériels d'étude. Les teneurs en macronutriments et en minéraux ont été déterminés. Les résultats ont montré que les trois aliments étudiés sont d'excellentes sources de protéines avec des acides aminés essentiels non négligeables. La teneur en lipides est importante dans la poudre de chrysalide et les éléments minéraux, notamment le potassium, le phosphore, le calcium et le magnésium se trouvent en quantité élevée dans la poudre de haricot et dans la poudre de chrysalide. Ces aliments ont une potentialité nutritionnelle élevée qui mérite d'être valorisée. L'autolysat protéique et la poudre de haricot traitée peuvent être utilisés pour la fortification de plats à base de glucides et la poudre de chrysalide peut servir dans la formulation de complément alimentaire.

Mots clés : Autolyse, Haricot, Viscères d'esturgeon, Chrysalides, Valorisation

ABSTRACT

Madagascar is well provided with food resources of animal and plant origin rich in various nutrients. However, the large majority of the population follows a diet that is insufficient in terms of quantity and quality. Foods are usually low in energy, protein and micronutrients. The aim of this study is to enhance the use of food resources considered as waste, to promote consumption of inexpensive foods rich in nutrients and to encourage diversified diets in order to contribute to the struggle against malnutrition. Protein-rich protein autolysate obtained from sturgeon viscera, bean powder rich in protein and micronutrients and landibe chrysalis powder with high protein and fatty acid content were used as study materials. Macronutrient and mineral contents were determined. The results showed that the three foods studied are excellent sources of protein with significant essential amino acids. The fat content is important in the chrysalis powder and the mineral elements, especially potassium, phosphorus, calcium and magnesium are in high quantities in the bean powder and in the chrysalis powder. These foods have a high nutritional potential which deserves to be promoted. Protein autolyzate and processed bean powder are suitable for the fortification of carbohydrate-based dishes and chrysalis powder can be used in the formulation of food supplements.

Key words : Autolysis, Bean, Sturgeon viscera, Chrysalis, Valorisation

INTRODUCTION

La majorité de la population Malagasy adopte un régime alimentaire insuffisant aussi bien en termes de qualité que de quantité. Les aliments consommés sont généralement peu variés, pauvres en énergie, en protéines et en micronutriments et sont caractérisés par la prédominance de céréales et tubercules. Les autres groupes d'aliments sont faiblement consommés (PAM, 2014).

Ce manque de diversité alimentaire a des répercussions néfastes, surtout pour les groupes de population vulnérables, pouvant conduire à des carences en macro et micronutriments affectant la croissance physique et le bon développement psychomoteur. A Madagascar, la malnutrition est un important problème social et de santé publique et touche une proportion élevée d'enfants. Près de 40% des enfants de moins de 5 ans souffrent de retard de croissance (INSTAT, 2021).

Des aliments riches en éléments nutritifs et à moindre coût s'avèrent être essentiels pour améliorer la situation nutritionnelle. L'autolysat protéique est une substance produite par l'hydrolyse enzymatique sous l'action des enzymes endogènes. Sa qualité biologique et sa forte teneur en protéines, qui possède une potentialité et une propriété fonctionnelle non négligeable, lui permet d'être

considérée comme nouvelle source de nutriments utilisable dans l'alimentation. Le haricot, qui est une plante à graines, contribue à l'amélioration de la fertilité des sols grâce à sa capacité de fixation d'azote atmosphérique. Sa culture réduit donc l'ajout d'engrais. Il s'adapte aux différentes conditions de culture et est connu pour sa richesse en différents éléments nutritifs. La facilité de stockage de leurs graines, une fois sèches, assure leur disponibilité toute l'année. Par ailleurs, les chrysalides de landibe sont une ressource alimentaire intéressante en raison de leur teneur non négligeable en protéine et en lipide. De plus, l'élevage d'insectes nécessite significativement moins de surface et moins d'eau que l'élevage du bétail. Les insectes émettent également moins de gaz à effet de serre et moins d'ammoniac que le bétail ou les porcs (FAO, 2014).

Le but de cette étude est de valoriser ces ressources alimentaires peu coûteuses mais riches en éléments nutritifs et de promouvoir la diversification alimentaire par la consommation d'aliments d'origine animale et végétale afin de contribuer à la lutte contre les différentes formes de malnutrition.

MATERIELS ET METHODE

Matériels

L'autolysat protéique, le haricot marbré et les chrysalides de landibe constituent les matériels d'étude. L'autolysat protéique a été obtenu après une autolyse enzymatique des viscères d'esturgeon du genre « *Acipenser baeri* » fournie par ACIPENSER Madagascar. Le haricot marbré (haricot sec) : Vangamena FOFIFA CAL 98 a été fourni gracieusement par le FOFIFA. Tandis que les chrysalides de landibe ont été achetées à Arivonimamo.

Préparation des échantillons avant analyse

Autolysat protéique

Les viscères d'esturgeons, après décongélation et broyage, ont subi une autolyse enzymatique pendant 3h (CAO et *al.*, 2009). Les fractions d'autolyse obtenues ont été ensuite séchées à 70°C pendant une semaine, puis broyées afin d'obtenir une poudre d'autolysat protéique.

Haricot marbré

Les graines de haricot sec ont directement été broyées pour en obtenir une poudre.

Chrysalides de landibe

Les chrysalides ont d'abord été séchées pendant 7 jours puis broyées à la main.

Méthodes de dosage des composés

Détermination des macronutriments

Protéines

La teneur en protéines totales est déterminée par la méthode de Kjeldahl. Une minéralisation a d'abord été effectuée en introduisant dans un matras 0,5g d'échantillon additionné de 25ml d'acide sulfurique concentré et de catalyseur composé de CuSO_4 et K_2SO_4 . La distillation a par la suite été réalisée en présence d'hydroxyde de sodium, le distillat contenant l'ammoniac a été dosé avec une solution d'acide sulfurique 0,1N. La teneur en protéines est obtenue en multipliant la teneur en azote total par le facteur de conversion 6,25 (AFNOR, 1993).

Acides aminés

Les acides aminés de l'autolysat protéique et du haricot marbré ont été respectivement identifiés par chromatographie sur couche mince et estimés par la méthode de Mossé.

- Autolysat protéique

Après hydrolyse acide, les solutions des échantillons et des acides aminés témoins ont été déposées à l'aide de fins capillaires à 1cm du bord inférieur d'une plaque de silice.

Après chaque dépôt, la plaque a été immédiatement séchée avec un séchoir pour éviter un phénomène de diffusion. La plaque a ensuite été placée dans une cuve contenant le solvant butanol/acide acétique/eau distillée (6/2/2, v/v/v). Une fois la ligne de front atteinte par le solvant (0,5cm du bord supérieur) la plaque est séchée. La révélation a été faite par une pulvérisation de la plaque avec une solution de 0,2% de ninhydrine dans de l'acétone. Après séchage, des spots correspondant à chaque acide aminé ont été révélés.

Afin d'identifier chaque spot, la référence frontale a été calculée selon la formule ci-dessous :

$$Rf = d/D$$

où **Rf** correspond à la référence frontale, d la distance parcourue par la substance en cm et D la distance parcourue par la phase mobile, en cm.

- Haricot marbré (Mossé, 1990)

Les variations des compositions en acides aminés enregistrées au niveau des protéines des graines sont en corrélation avec leur taux d'azote. Elles obéissent aux mêmes types de relations linéaires et sont définies par 3 coefficients déterminables

expérimentalement. La connaissance de ces coefficients permet de calculer la composition en acides aminés à partir de leur taux d'azote.

Le taux (A_i) d'acide aminé en g pour 100 g de matière sèche (MS) est de :

$$A_i = (a_iN + b_i) / 1000$$

où a_i est la pente de la droite de régression et b_i est l'ordonnée à l'origine.

La concentration (C_i) en acide aminé en g pour 100g de protéines brutes est obtenue par la formule suivante : $C_i = 0.016 (a_i + b_i / N)$

où a_i est la pente de la droite de régression, b_i est l'ordonnée à l'origine, N est le taux d'azote en % MS.

Lipides

En ce qui concerne les lipides totaux, la méthode utilisée est basée sur l'extraction à reflux de la matière grasse brute contenue dans 5g d'échantillon par l'éther de pétrole à l'aide d'un Soxhlet (Wolff, 1991). Le solvant a ensuite été évaporé sous pression réduite. La teneur en lipides totaux a été déterminée par gravimétrie.

Cendres brutes

La teneur en cendres brutes a été obtenue par incinération progressive de l'échantillon à 550°C jusqu'à obtention de cendres de couleur blanche ou grise. Une quantité de 5g de farine a été prélevée et mise dans un creuset en porcelaine. Le creuset a été pesé avant et après incinération (AFNOR, 1989).

Glucides

Le taux de glucides totaux est déduit de la différence entre la teneur en extrait sec et la somme des teneurs en protéines, lipides et cendres brutes (Adrian, 1995). Il a été obtenu selon la formule ci-dessous :

$$GT \% = 100 - (P \% + MG \% + C \%)$$

où GT correspond à la teneur en glucides totaux pour 100 g de MS, P (%) à la teneur en protéines pour 100 g de MS, MG (%) à la teneur en matières grasses pour 100 g de MS et C (%) à la teneur en cendres pour 100 g de MS.

Détermination des micronutriments

Potassium, phosphore, magnésium, manganèse, calcium, sodium et fer

Ce dosage a utilisé la spectrométrie d'absorption atomique. Les cendres ont été humidifiées avec de l'eau distillée et de l'acide chlorhydrique concentré y a été

ajouté. La solution a ensuite été chauffée à ébullition puis filtrée et ensuite recueillie dans une fiole de 100 ml.

A l'aide de solutions étalons de différentes concentrations, l'appareil construit une courbe étalon sur laquelle est mise en évidence la densité optique correspondant à chaque concentration. Les solutions à doser sont mesurées en longueur d'onde qui sont propres à chaque élément.

La concentration en éléments minéraux est donnée par la formule suivante :

$$EM = X \cdot 10^{-6} \times dil \times V \times 100/PE$$

EM correspond à la concentration en éléments minéraux (g/ 100g MS), X la concentration de la solution en mg/l, V volume de reprise des matières minérales en ml, *dil* l'inverse du facteur de dilution et *PE* la masse de la prise d'essai (MS) en g.

Phosphore

Les éléments mis en solution ont la propriété d'absorber un rayon lumineux. Cette absorption est liée linéairement à la concentration (Dubois, 1999) (Randrianatoro, 1996). Le spectrophotomètre UV-Visible a été utilisé. La densité optique de chaque solution étalon a été mesurée au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 430 nm.

La teneur en phosphore a été exprimée à partir de la formule ci-dessous :

$$P = X \cdot 10^{-6} \times dil \times V \times 100/PE$$

avec P la concentration en phosphore (g/100g MS), X la concentration de la solution en mg/l, V pour le volume de reprise des matières minérales en ml, *dil* pour l'inverse du facteur de dilution et *PE* la masse de la prise d'essai (MS) en g.

RESULTATS

D'après le Tableau 1, la composition globale des trois ressources alimentaires étudiées révèle que tous les échantillons sont riches en protéines et varient entre 20,31% et 93,98%, le haricot en est le plus pauvre et l'autolysat protéique en est le plus doté. La teneur en lipides est importante dans les chrysalides (39,00%) et elle est faible dans l'autolysat protéique (0,50%). L'autolysat protéique et les chrysalides ne contiennent pas de glucides tandis que le haricot en contient à hauteur de 73,37%. La teneur en cendres brutes est la plus élevée dans le haricot (4,65%) suivie par l'autolysat protéique (1,67%) et les chrysalides de landibe (1,05%).

Le potassium, le phosphore, le calcium et le magnésium constituent les principaux minéraux du haricot. Les chrysalides de landibe sont dotées de potassium, phosphore et magnésium. Les valeurs énergétiques sont respectivement de 380,42,

389,75 et 579,76 Kcal pour l'autolysat protéique, le haricot et les chrysalides de landibe (Tableau 1).

Tableau 1 : Composition globale de l'autolysat protéique, du haricot sec marbré et des chrysalides de landibe

Paramètres	Autolysat protéique	Haricot marbré	Chrysalides de landibe
Protéines (g/100g MS)	93,98±0,04	20,31±0,19	57,19± 0,03
Lipides (g/100g MS)	0,50±0,00	1,67±0,10	39,00±0,24
Glucides (g/100g MS)	0,00±0,00	73,37±0,13	0,00±0,00
Cendres brutes (g/100g MS)	1,67±0,00	4,65±0,13	1,05±0,00
Potassium (mg/100g MS)	-	1323,82±70,89	1369,68±0,01
Phosphore (mg/100g MS)	6,00±0,00	379,18±10,34	495,76±0,00
Calcium (mg/100g MS)	8,00±0,01	157,59±25,56	75,49±0,00
Magnésium (mg/100g MS)	23,00±0,06	135,28±0,45	190,24±0,00
Sodium (mg/100g MS)	-	9,83±0,23	70,11±0,01
Manganèse (mg/100g MS)	0,40±0,00	4,53±0,25	0,41±0,00
Fer (mg/100g MS)	11,00±0,00	9,92±0,33	4,66±0,00
Valeur Energétique (Kcal/100g MS)	380,42	389,75	579,76

Onze spots d'acides aminés ont été révélés sur le chromatogramme pour l'autolysat protéique. Concernant le haricot, tous les acides aminés ont pu être estimés sauf le tryptophane qui est détruit par hydrolyse acide. Les graines sont riches en lysine et pauvres en acides aminés soufrés. Les acides aminés essentiels constituent plus de 32% des acides aminés totaux (Tableau 2).

Tableau 2 : Acides aminés identifiés dans l'autolysat protéique et composition en acides aminés du haricot marbré

Acides aminés	Autolysat protéique	Haricot marbré (g/100g MS)
Gly	identifié	0,71
Ala	identifié	0,85

Val	identifié	0,93
Leu		1,60
Ile		0,78
Ser		1,06
Thr	identifié	0,90
Tyr	identifié	0,64
Phe	identifié	1,09
Pro		0,72
Trp	identifié	
Met	identifié	0,24
Cys		0,27
Lys		1,31
His	identifié	0,48
Arg	identifié	0,79
Asx (asparagine+acide aspartique)		2,36
Glx		2,85
Met-Cys		0,29
Asn	identifié	

DISCUSSION

Les trois échantillons sont d'excellentes sources de protéines qui constituent des moyens pour lutter contre la malnutrition protéino-énergétique. L'autolysat protéique contient des acides aminés essentiels, notamment la méthionine, le tryptophane, la phénylalanine, la valine et la thréonine. Ces acides aminés sont indispensables à l'organisme animal pour maintenir et réaliser leurs activités quotidiennes (croissances, structurelles, hormonales, précurseurs, ...). Ils jouent un rôle important dans les mécanismes d'entretien, tels que le renouvellement du mucus intestinal et la synthèse des immunoglobulines (Relandeau et *al.*, 2005). Une déficience en thréonine affecterait l'efficacité des acides aminés soufrés et de la lysine (Kidd et *al.*, 2004).

Quand le haricot contient 32% d'acides aminés essentiels, cela signifie une bonne qualité de ses protéines. En comparant avec les protéines de références, celles de l'autolysat protéique sont 3 fois plus élevées et celles des chrysalides 2 fois plus élevées que les protéines de la viande (26%) ; celles du haricot sont 2,5 fois plus importantes que celles du riz (7%) et du maïs (9%) (Bohrer, 2017).

Les chrysalides sont aussi source de lipides (39%), elles contiennent 3 fois plus de lipides que l'œuf (11%) (Bender, 2006).

Avec des teneurs en glucides élevés, le haricot constitue une bonne source d'énergie. Ce résultat est en accord avec celui trouvé par Anino et *al.* (2019), qui ont rapporté que les glucides forment le composé majeur (63-66%) de 3 variétés de *Phaseolus vulgaris* L. du Kenya.

En matière d'éléments minéraux, le haricot et les chrysalides sont très riches en potassium, en phosphore, en calcium et en magnésium et couvrent respectivement 40, 60, 12 et 38% des besoins journaliers d'un individu (FAO, 2001) (WHO, 2007). Pour ces deux aliments le ratio Na/K est inférieur à 1, ce qui signifie qu'ils peuvent contribuer à réduire l'hypertension artérielle.

CONCLUSION

L'autolysat protéique, le haricot sec marbré et les chrysalides de landibe présentent une potentialité nutritionnelle très intéressante et méritent d'être valorisés afin de diversifier les sources de nutriments dans l'alimentation de la population Malagasy. L'autolysat protéique peut servir de fortifiant alimentaire et enrichir en protéines les différents plats des Malagasy. Des produits dérivés enrichis à base de poudre de haricot traité peuvent être élaborés et vulgarisés. Les chrysalides de landibe peuvent être transformées en farine qui peut être utilisée comme complément alimentaire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) Adrian, J., Frangne, R., Potus, J. (1995). La science alimentaire de A à Z. *Technique et documentation Lavoisier*, Paris.
- 2) AFNOR. (1989). Méthodes d'analyse officielle. Contrôle de la qualité des produits alimentaires, Paris.
- 3) AFNOR. (1993). Corps gras, graines oléagineuses, produits dérivés, Paris.
- 4) Anino, C., Onyango, A.N., Imathiu, S., Maina, J., Onyang, F. (2019). Chemical composition of the seed and milk of three common bean (*Phaseolus vulgaris* L) varieties. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13: 1242-1249.
- 5) Bender, D.A. (2006). *Benders' Dictionary of Nutrition and Food Technology*. Woodhead Publishing Ltd, Abington, England., 552 p.
- 6) Bohrer, B.M. (2017). Review: Nutrient density and nutritional value of meat products and non-meat foods high in protein, *Trends in Food Science & Technology*.

- 7) Cao, W., Zhang, C., Hong, P. (2009). Autolysis of shrimp head by gradual temperature and nutritional quality of the resulting hydrolysate. *LWT - Food Science and Technology*, 42 : 244-249.
- 8) Dubois, J.P. (1999). Techniques d'analyse des éléments traces dans les sols. Modules « Monitoring des polluants ».
- 9) FAO. (2001). Human energy requirements. Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation, Rome, 17–24 October 2001. *Food and Nutrition technical report series* 1(73).
- 10) FAO. (2014). Insectes comestibles : Perspectives pour la sécurité alimentaire et l'alimentation animale.
- 11) INSTAT, ICF. (2021). Enquête Démographique et de Santé à Madagascar : Indicateurs Clés.
- 12) Kidd, M.T., Corzo, A., Hoehler, D., Kerr, B.J., Barber, S.J., Branton, S.L. (2004). Threonine Needs of Broiler Chickens with Different Growth Rates, *Poultry Science*, (83): 1368-1375.
- 13) Mossé, J. (1990). Acides aminés de 16 céréales et protéagineux : variations et clés du calcul de la composition en fonction du taux d'azote des grain (e) s. Conséquences nutritionnelles. *INRAE Productions Animales*, 3(2) : 103-119.
- 14) PAM. (2014). Analyse globale de la sécurité alimentaire et nutritionnelle et de la vulnérabilité.
- 15) Randrianatoro, H.N. (1996). Contribution à l'étude de la valeur nutritionnelle des carnidines et des chevaquines. Mémoire de Maîtrise, Université d'Antananarivo.
- 16) Relandeau, C., Le Bellego, L. (2005). Besoin en acides aminés du poulet de chair : revue sur la Lysine, la Thréonine et les autres acides aminés, *Ajinomoto Animal Nutrition*, (27) : 1-36.
- 17) WHO/FAO/UNU. (2007). Protein and amino acid requirements in human nutrition. Technical Report Series 935. Report of a Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation.
- 18) WOLFF. (1991). Analyse et dosage des lipides, In Multon J.L. *Technique d'analyse et Contrôle dans les industries Agroalimentaire*. Paris : Technique et documentation ; Tome 4 :157-199.

PLANTES TINCTORIALES DES HAUTES TERRES DE MADAGASCAR : PHYTOCHIMIE, EXPÉRIENCE DE TEINTURE

par

RAHARITSIADIANA Herimalala M.⁽¹⁾, RANISAHARIVONY B N G.⁽²⁾,
ANDRIANTSIFERANA M H.⁽³⁾

(1) Centre National de Recherches Industrielle et Technologique (CNRIT), Antananarivo, Madagascar

(2) Centre National de Recherches sur l'Environnement (CNRE), Antananarivo, Madagascar

(3) Laboratoire de Chimie des « Produits naturels » et « Biotechnologie » (LPNB), Université d'Antananarivo, Madagascar

RESUME

A Madagascar, la pratique de la teinture naturelle date de l'époque royale, pendant laquelle les plantes tinctoriales ont été assimilées aux plantes médicinales. La présente étude se focalise sur cinq sources tinctoriales des traditions des Hautes Terres de Madagascar : *Indigofera arrecta* A. Rich, *Aloe vaombe* Decorse & Poiss, le champignon *Pisolithus arhizus* Scop. Rauschert, *Psiadia altissima* DC., *Harungana madagascariensis* Lam ex Poir. L'objectif est de contribuer à la valorisation de ces plantes par l'étude de leur potentiel tinctorial et en pharmacologie. Les extraits secs ont été obtenus par diverses méthodes selon les espèces : fermentation, décoction aqueuse et lyophilisation, extraction au méthanol et à l'éthanol dans un bain à ultrasons. Le criblage phytochimique a été effectué afin de connaître les familles chimiques, responsables des propriétés tinctoriales et thérapeutiques desdites espèces. Les polyphénols totaux dans les extraits méthanoliques ont été dosés par spectrophotométrie UV-Visible utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Une évaluation préliminaire du potentiel antiradicalaire a été effectuée selon la méthode au DPPH. Des expérimentations de teinture et des analyses par chromatographie sur couche mince (CCM) ont été menées aux fins de leurs applications dans la teinture des fibres naturelles. Le criblage phytochimique a révélé la présence d'alcaloïdes, flavonoïdes, anthocyanes, tanins, polyphénols et stéroïdes. L'extrait de *Psiadia altissima*, particulièrement riche en polyphénols a présenté une activité antioxydante remarquable. Les profils chromatographiques des extraits, ainsi que les tests tinctoriaux ont montré une riche variété de nuances.

Mots clés : Teinture naturelle, Plantes tinctoriales, Fibres naturelles, Criblage phytochimique, Polyphénols, Spectrophotométrie UV-Visible, Chromatographie sur couche mince, Madagascar

ABSTRACT

Over the years in the past, particularly during royal period, Malagasy people practiced the natural dyeing art. Dye plants were assimilated to medicinal plants. The present study deals with the natural dye extracts from five plant sources: *Indigofera arrecta* A. Rich, *Aloe vaombe* Decorse & Poiss, the mushroom *Pisolithus arhizus* Scop. Rauschert, *Psidium altissimum* DC., *Harungana madagascariensis* Lam ex Poir. The aim of the present is to valorizing the above dye plants for both their dyeing and pharmacological potentials. The dry extracts were obtained by several methods depending on the species: fermentation, aqueous decoction, extraction in an ultrasonic bath, which have used two kinds of solvents, methanol and ethanol. Phytochemical screening was carried out to identifying the chemical families, responsible for the dyeing and therapeutic properties of every species. Total phenolic contents were determined by UV-Visible spectrophotometric method, using the Folin-Ciocalteu reagent. A preliminary evaluation of the antiradical potential was carried out according to the DPPH method. Thin Layer Chromatographies (TLC) were conducted for the approximate dyes and/or pigments identification. The phytochemical screening revealed the occurrence of alkaloids, flavonoids, anthocyanins, tannins, phenolic contents and steroids. *Psidium altissimum* DC., particularly rich in polyphenols, displayed a remarkable antioxidant activity. Thin layer Chromatography (TLC) profiles of the extracts, as well as dyeing tests have given a rich variety of shades. As a resume, the above coloring species constitute interesting sources for raw multipurpose materials.

Key words : Natural dyes, Plant dyes, Natural fibers, Phytochemical screening, Polyphenols, UV-Visible spectrophotometry, Thin Layer Chromatography, Madagascar

INTRODUCTION

Depuis des millénaires, les hommes de tous les continents ont utilisé les ressources végétales pour leurs propriétés colorantes. Leurs utilisations se trouvent dans toutes les civilisations (Cardon, 2010). A Madagascar, depuis l'époque Royale au 18^e siècle, les Malgaches ont déjà fait usage de colorants naturels pour teindre, surtout les écharpes de soie sauvage (Raharitsadiana, 2021). Les plantes tinctoriales ont également et en général des propriétés médicinales. Nombre de travaux sur ces ressources végétales tinctoriales ont mis en évidence cette double utilisation

(Andriamanantena, 2019) (Andriantsiferana, 2014) (Fagbohoun, 2014) (Madiélé, 2015) (Jansen, 2004).

A cause de l'industrialisation du secteur de la teinturerie, ces savoir-faire ancestraux ont tendance à disparaître car les colorants synthétiques répondent mieux aux besoins des utilisateurs. Ils ont en effet l'avantage d'être stables et reproductibles. Toutefois, en alliant tradition et innovation, les colorants naturels attirent de nouveau les utilisateurs de nombreux domaines tant artisanaux qu'industriels. Les colorants d'origine pétrochimique sont parfois toxiques non seulement pour l'homme, mais aussi pour l'environnement (Cardon, 2010) (Garcia, 2008).

Le but de l'étude consiste donc à réaliser les caractérisations analytiques, afin d'évaluer les potentiels tinctorial et pharmacologique de cinq (5) espèces : *Indigofera arrecta* A. Rich (Fabaceae), *Aloe vaombe* Decorse & Poiss (Liliaceae), le champignon *Pysolithus arhizus* Scop. Rauschert (Sclerodermataceae), *Psiadia altissima* DC. (Asteraceae), *Harungana madagascariensis* Lam ex Poir (Hypericaceae). Ces espèces ont été choisies pour leur disponibilité et leur fréquence d'utilisation par les tisserandes de soie des Hauts Plateaux de la Grande Île.

Deux hypothèses sont ainsi émises :

- ces plantes tinctoriales contiennent des familles chimiques ayant des propriétés à la fois tinctoriales et médicinales,
- des procédés d'extraction et de teinture écologiques tendent vers une palette de coloris basique.

Un criblage phytochimique, une quantification des composés phénoliques, une étude du pouvoir antioxydant, et des tests de teinture ont par conséquent été entrepris pour vérifier ces deux hypothèses.

MATERIELS ET METHODE

Matières végétales

Les feuilles d'*Indigofera arrecta* A. Rich (Fabaceae), *Aloe vaombe* Decorse & Poiss (Liliaceae) et *Psiadia altissima* DC. (Asteraceae), la partie entière du champignon *Pisolithus arhizus* Scop. Rauschert (Sclerodermataceae), et les écorces de *Harungana madagascariensis* Lam ex Poir (Hypericaceae) qui proviennent du District d'Arivonimamo, région Itasy, dans les Hautes Terres centrales de Madagascar ont été exploités. La récolte a été effectuée entre mars et août 2021. L'identification de chacune des espèces a été effectuée par des botanistes du

Département « Flore » du Parc Botanique et Zoologique de Tsimazaza (PBZT), Antananarivo.

Les espèces collectées ont été séchées à l'air libre à température ambiante, puis, broyées ou réduites en copeaux.

Préparation des extraits

L'obtention des extraits bruts a fait appel à divers types de méthodes, selon les espèces : fermentation, décoction aqueuse, extraction assistée par ultrasons (UAE) utilisant deux types de solvants, méthanol et éthanol. Le Tableau 1 résume les méthodes d'extraction utilisées pour chacune des espèces.

Tableau 1 : Méthodes et paramètres d'extraction

Genre et espèce botanique (organe utilisé)	Masse de matière végétale (g)	Préparation	Solvant	Volume solvant (mL)	Méthode d'extraction	Extrait
<i>Pisolithus arhizus</i> (champignon entier)	50	Séchage - broyage	MeOH distillé	300	UAE*	RAH001
	50		EtOH 96°	300	UAE*	RAH003
	50		Eau distillée	300	Décoction**	RAH011
<i>Aloe vaombe</i> (feuilles)	25	Séchage – broyage	MeOH distillé °	150	UAE*	RAH005
	25		EtOH 96°	150	UAE*	RAH012
	25		Eau distillée	150	Décoction**	RAH008
<i>Psiadia altissima</i> (feuilles)	50	Séchage - broyage	MeOH distillé	300	UAE*	RAH014
	25		EtOH 96°	200	UAE*	RAH024
	20		Eau distillée	100	Décoction**	RAH019
<i>Harungana madagascariensis</i> (écorces)	25	Séchage - réduction en copeaux	MeOH distillé	150	UAE*	RAH016
	25		EtOH 96°	150	UAE*	RAH021
	25		Eau distillée	150	Décoction**	RAH023
<i>Indigofera arrecta</i> (feuilles)	25	Feuilles fraîches	Eau distillée	150	Cuve***	RAH030
	25	Séchage-broyage	MeOH	150	UAE*	RAH015

* Extraction dans une cuve à ultrasons, à température ambiante, pendant 60 min - filtration sous vide - évaporation - séchage à l'étuve à 50°C

** Ebullition 10 min - refroidissement sous agitation - filtration sous vide - lyophilisation

*** Fermentation à 45°C - basification au Ca(OH)₂ jusqu'à pH=11 - barbotage d'air – décantation filtration-séchage à l'étuve à 50°C

Criblage phytochimique

Le criblage phytochimique a été effectué selon la méthode de Fong *et al.* (1977), Bruneton (1993). Il s'agit d'une méthode basée sur la caractérisation des familles chimiques présentes par des réactions effectuées à partir de la poudre de plante ou avec l'extrait hydroéthanolique, utilisant des réactifs spécifiques conduisant à la formation de complexes insolubles ou colorés

Dosage des polyphénols

Les polyphénols sont déterminés par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu, initialement décrite par Singleton et Rossi (1965), et modifiée successivement par Khoudali (2014), Fagbohoun (2014), et Caporaso (2018) : pour chaque espèce, 0,5 ml de l'extrait méthanolique des feuilles à 5 mg/mL et 2 ml d'une solution de carbonate de sodium (75 g/L) ont été ajoutés à 2,5 ml de 10% (v/v) du réactif de Folin-Ciocalteu. L'acide gallique étant pris comme référence standard. Après 30 min de réaction à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à la longueur d'onde de 765 nm. Les tests ont été refaits trois fois, afin de s'assurer de la reproductibilité des résultats. L'étalon a été réalisé avec différentes concentrations d'acide gallique dont la linéarité présente une corrélation $R^2=0,9984$. Les valeurs de concentration ont été directement lues à partir de la droite d'étalonnage établie à l'aide de la solution de référence d'acide gallique, droite de la forme :

$$\text{Abs} = a \times [\text{AG}] + b.$$

a = pente de la droite

b = ordonnée à l'origine.

Le contenu phénolique total a été exprimé en mg d'Equivalent d'Acide Gallique par gramme d'échantillon.

Evaluation du pouvoir antioxydant par la méthode « Bioautography » DPPH

La technique repose sur la décoloration du 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyle (DPPH) initialement pourpre violet en présence d'antioxydants. La méthode décrite par Fagbohoun (2014), et Ranarivelo (2016), a été adoptée. Chaque extrait méthanolique est dissout dans du méthanol à la concentration de 10g/mL(m/v), puis la solution est déposée sur une plaque CCM. Après élution à l'aide du système de solvant (BAW) : n-butanol-acide acétique-eau (65 :25 :15), la plaque est révélée par une solution de DPPH à la concentration de 2 mg/mL. Le test positif est indiqué par l'apparition de décoloration au niveau des taches ou spots des produits.

Tests de teinture

Identifications préliminaires des couleurs développées par les extraits

Le dépistage préliminaire pour identifier et dénombrer les couleurs produites par les extraits a été mis en évidence par des tests sur chromatographie en couche mince. Les systèmes d'élution utilisés étant respectivement le (BAW) : n-butanol-acide acétique-eau (65 : 25 : 15) pour le *Pysolithus arhizus* et *Aloe vaombe* ; et le Dichlorométhane, hexane, méthanol (7 : 4 : 1) pour *Indigofera arrecta*, *Harungana madagascariensis* et *Psiadia altissima*.

Tests de teinture sur coton et soie

Pour *Indigofera arrecta*, l'extrait aqueux obtenu par fermentation RAH 030 a subi une « réduction-oxydation » en présence de fructose ; la cuve étant constituée de 2g de poudre d'indigo, 6g de fructose, 4g de chaux et 1L d'eau à 50°C (Raharitsiadiana, 2008).

Pour les autres sources de teinture, les extraits aqueux obtenus par décoction (2g) sont solubilisés dans 1L d'eau à 80°C. Un pré-mordançage à l'alun a été effectué.

La pièce de soie ou de coton de 20 cm x 20 cm est plongée dans le « bain » de teinture, retournée plusieurs fois pendant 20 mn, puis lavée à l'eau savonneuse, rincée à l'eau vinaigrée et laissée sécher à l'abri du soleil (Costa, 2003).

RESULTATS ET DISCUSSION

Rendement d'extraction

Les résultats montrent que les meilleurs rendements proviennent de l'extraction au méthanol pour *Pysolithus arhizus*, *Psiadia altissima*, *Harungana madagascariensis* et *Indiofera arrecta*. Pour *Aloe vaombe*, la décoction aqueuse a le rendement le plus élevé par rapport aux trois méthodes, suivi de près par celui au MeOH et enfin, celui à l'EtOH. Pour *Harungana madagascariensis*, comparativement aux précédentes, l'extraction à l'EtOH mène au rendement le plus faible (Tableau 2).

Chacun des extraits bruts précédents devrait subir une analyse chromatographique complémentaire. Ce, d'une part, afin de déterminer le solvant d'extraction le plus approprié et, d'autre part, de connaître tant sa composition qualitative que quantitative.

Tableau 2 : Rendements d'extraction

Espèces	Méthodes	Solvant	Extrait	Rendement (%)
<i>Pisolithus arhizus</i> (<i>Champignon entier</i>)	UAE	MeOH distillé	RAH001	4,44
	UAE	EtOH 96°	RAH003	3,58
	Décoction	Eau distillée	RAH011	1,40
<i>Aloe vaombe</i> (<i>Feuilles</i>)	UAE	MeOH distillé	RAH005	2,69
	UAE	EtOH 96°	RAH012	1,16
	Décoction	Eau distillée	RAH008	3,50
<i>Psiadia altissima</i> (<i>Feuilles</i>)	UAE	MeOH	RAH014	19,35
	UAE	EtOH	RAH024	13,09
	Décoction	Eau distillée	RAH019	10,35
<i>Harungana</i> <i>madagascariensis</i> (<i>Ecorces</i>)	UAE	MeOH	RAH016	18,54
	UAE	EtOH	RAH021	13,09
	Décoction	Eau distillée	RAH023	15,07
<i>Indigofera arrecta</i> (<i>Feuilles</i>)	Fermentation	Eau distillée	RAH030	1,60
	UAE	MeOH	RAH 015	4,12

Criblage phytochimique

Les résultats révèlent la présence dans les extraits, d'une diversité de familles chimiques : alcaloïdes, flavonoïdes, leucoanthocyanes, tanins, triterpènes (Tableau 3).

La présence dans les extraits de métabolites secondaires variés justifie leurs utilisations multiples, non seulement à des fins thérapeutiques, mais aussi leurs applications en teinture naturelle. En effet, d'après la littérature les flavonoïdes sont sources importantes de teinture jaune. Les tons de jaune, d'orangé, brun et rouge proviennent des anthraquinones. Les jaunes basiques sont issus des sels d'alcaloïdes. Le bleu provient des indigoïdes. Les tanins et polyphénols, dotés de propriétés tannantes, sont très importants en teinture. Les tanins catéchiques subissent une hydrolyse, suivie d'une oxydation, et libèrent des substances de couleur rouge (Cardon, 2003) (Guoco, 2009) (Madiélé, 2015) (Raharitsiadiana, 2021).

Tableau 3 : Résultats du criblage phytochimique

Espèce	Grandes familles chimiques détectées									Couleur obtenue
	Alcoïdes	Flavonoïdes	Leucoanthocyanes	Anthraquinones	Tanins et polyphénols	Autres composés polyphénoliques	Hétérosides cyanogénétique	Triterpènes	Stérols insaturés	
<i>Pisolithus arhizus</i>	-	++	+++	-	++	-	-	-	++	Jaune
<i>Aloe vaombe</i>	++	+	-	-	++	-	-	-	-	Rouge
<i>Psiadia altissima</i>	+	++	-	-	+	-	-	+	-	Vert
<i>Harungana madagascariensis</i>	-	++	-	+++	++	-	-	-	-	Jaune
<i>Indigofera arrecta</i>	+++	++	+++	-	-	++	-	-	-	Bleu

(+++): Présence particulièrement remarquable ; (++) : présence remarquable ; (+) : Présence peu remarquable ; (±) : à l'état de traces ; (-) : absence

Dosage des polyphénols

Le Tableau 4 résume l'évaluation de la teneur en composés polyphénoliques totaux sur les extraits méthanoliques par la méthode de Folin Ciocalteu.

Ces résultats montrent que l'extrait le plus riche en composés phénoliques est celui de *Psiadia altissima*, suivi de ceux de *Harungana madagascariensis*, de *Pisolithus arhizus*, et de *Aloe vaombe*. Celui qui présente la plus faible teneur est l'*Indigofera arrecta*.

Les composés phénoliques peuvent être subdivisés au moins en 10 classes différentes, selon leur structure de base (Bruneton, 1987). Dès lors, le résultat présenté ici est d'ordre général et ne peut nous renseigner quant à la nature ou la

classe des polyphénols contenus dans chaque espèce. Par ailleurs, les dosages respectifs des flavonoides, leucoanthocyanes, tanins, sont tout aussi indispensables pour l'évaluation quantitative des sous familles de polyphénols présentes.

L'intérêt de ce dosage global permet d'accéder à l'activité antioxydante des extraits, du fait que le test se base sur la réaction d'oxydo-réduction. Par conséquent, les extraits les plus riches en composés phénoliques peuvent *a priori* être également considérés comme étant les plus antioxydants (Fagbohoun, 2014).

Tableau 4 : Teneur en composés phénoliques totaux en mg EAG/g des extraits méthanoliques

Extrait	Espèce	Teneur en composés phénoliques (en mg EAG/g)
RAH001	<i>Pysolithus arhizus</i>	150,4
RAH005	<i>Aloe vaombe</i>	102,44
RAH014	<i>Psiadia altissima</i>	472,11
RAH015	<i>Indigofera arrecta</i>	93,05
RAH016	<i>Harungana madagascariensis</i>	201,92

Evaluation du pouvoir antioxydant par la méthode « Bioautograpy » DPPH

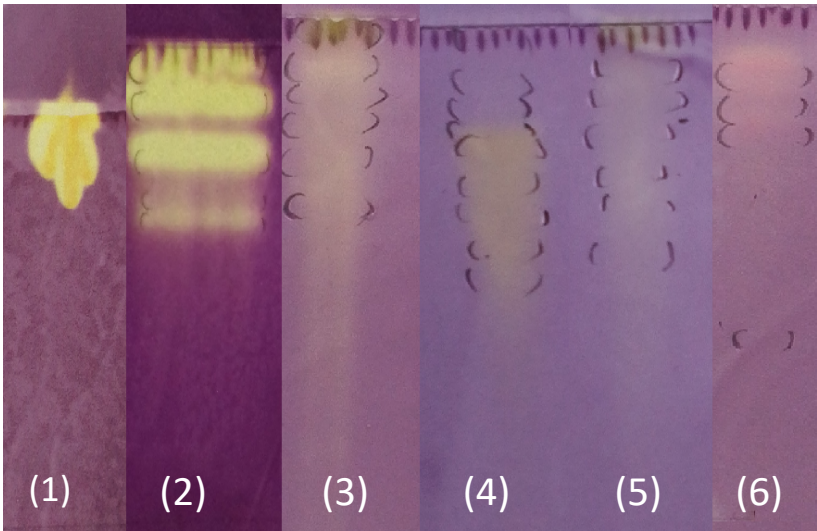


Figure 1 : Évaluation du potentiel antioxydant par la méthode « bioautograpy » DPPH
 (1) : Acide ascorbique ; (2): *P.altissima* ; (3): *H. madagascariensis* ; (4) *P.arhizus* ; (5) : *A. vaombe* ; (6) : *I. arrecta* ;
 Solvants d'élution : (BAW), n-butanol-acide acétique-eau (65 :25 :15)

Les zones d'activité antioxydante apparaissent en jaune clair ou jaune orangé sur fond violet, témoin de la réduction du DPPH par le contenu des extraits testés. Il est à noter que, mis à part *I. arrecta*, les autres composés présentent des plages claires plus ou moins visibles sur la plaque CCM. Il est également remarqué que *Psiadia altissima*, l'espèce riche en polyphénols, exhibe une plage claire vraiment remarquable.

Tests de teinture

Identifications préliminaires des couleurs développées par les extraits

Les profils CCM du dépistage préliminaire des couleurs sont présentés sur la Figure 2. Les chromatogrammes montrent bien des nuances de vert pour *Psiadia altissima*, de jaune pour *Pisolithus arhizus* et *Harungana madagascariensis*, de rouge pour *Aloe vaombe*, et de bleu pour *Indigofera arrecta*.

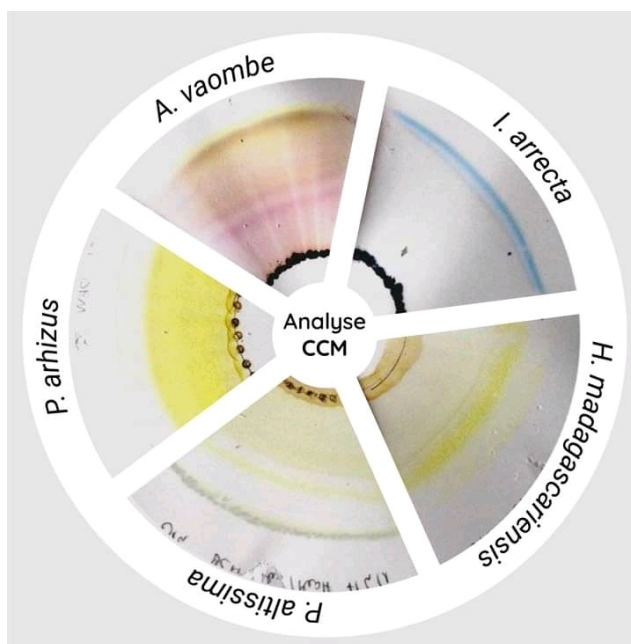


Figure 2 : Couleurs révélées par dénombrement préliminaire par CCM

Systèmes de solvants :

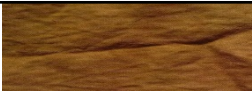
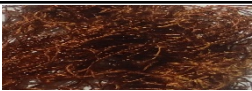
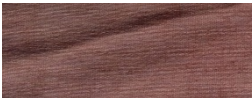
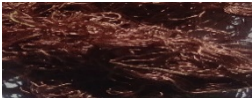
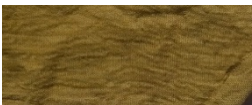
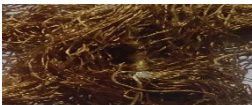
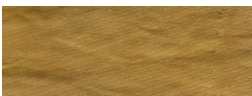
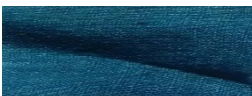
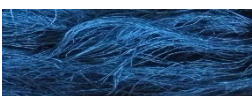
(BAW) : *n*-butanol-acide acétique-eau (65 : 25 : 15) pour *Pysolithus arhizus* et *Aloe vaombe*

Dichlorométhane, hexane, methanol (7 : 4 : 1) pour *Indigofera arrecta*, *Harungana madagascariensis* et *Psiadia altissima*

Tests de teinture sur coton et soie

Les résultats des tests de teinture au laboratoire sont similaires à ceux décrits par les artisans des fibres naturelles des Hauts Plateaux, notamment ceux qui travaillent la soie (CCI, 2006) (SAHA, 2006) (Raharitsiadiana, 2011) (Tableau 4).

Tableau 4 : Résultats des expérimentations de teinture sur le coton et la soie

Espèce	Nom courant	Teinture sur coton	Teinture sur soie
<i>Pisolithus arhizus</i>	Taikinina		
<i>Aloe vaombe</i>	Vaombe		
<i>Psiadia altissima</i>	Dingadingana		
<i>Harungana madagascariensis</i>	Harongana		
<i>Indigofera arrecta</i>	Aika		

Les couleurs observées à partir des échantillons sont aussi similaires à celles rapportées dans les travaux de Etheve (2005), travaux entrepris dans la région du Boina.

Les couleurs produites peuvent provenir d'une famille chimique précise : jaune pour les flavonoïdes, les anthraquinones et les alcaloïdes, bleue pour les indigoïdes (Raharitsiadiana, 2011). La synergie des différentes familles chimiques peut aussi influencer sur une couleur spécifique, unique, dans laquelle chaque groupe de composés chimiques contribue à modifier, à des quantités variables et de diverses manières, la nuance produite.

CONCLUSION

Au terme de ce travail préliminaire, il peut être dit que : la présence de très divers métabolites secondaires dans les espèces *Indigofera arrecta*, *Aloe vaombe*, *Pisolithus arhizus*, *Psiadia altissima*, *Harungana madagascariensis* justifie sans aucun doute leur double utilisation en teinture naturelle et en pharmacologie. Les résultats du dosage des composés phénoliques montrent que l'extrait méthanolique

des feuilles de *Psiadia altissima* est particulièrement riche en polyphénols. Les tests d'activité antiradicalaire montrent que cet extrait a un potentiel antioxydant très important. Cette activité serait liée à la présence des composés phénoliques.

La série d'expériences de teinture entreprise a effectivement confirmé le potentiel tinctorial des extraits provenant des cinq (5) espèces. Ces extraits sont obtenus en utilisant des solvants écologiques, selon des procédés responsables. L'utilisation de ces nouveaux intrants dans l'artisanat des fibres naturelles va sans conteste contribuer au développement social et à l'Economie durable et inclusive du pays.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) Andriamanantena, M., Danthu, P., Cardon, D., Fawbush, F.R., Raonizafinimanana, B., Razafintsalama, V.E. *et al.* (2019). Malagasy Dye Plant Species: A promising Source of Novel Natural Colorants with Potential Applications – In *Chemistry & Biodiversity* 2019, 16, e1900442, p.32.
- 2) Andriantsiferana, M., Rakotomalala, J., Raharitsiadiana, H. M. (2014). Relationship: “Diversity of Madagascar’s landscapes, Megabiodiversity and single Malagasy Handcraft”, *International Forum of Natural Dyes IFND/WEFT*, Taipei, Taiwan (http://2014dyes.ntcri.gov.tw/en/news_detail.asp?seq=21)
- 3) Bruneton, J. (1987). Eléments de phytochimie et de pharmacognosie, *Edition Technique et documentation LAVOISIER*, Paris, 585p.
- 4) Caporaso, N. (2014). Hyperspectral imaging for non-destructive prediction of fermentation index, polyphenol content and antioxydant activity in single cocoa beans, In *Food Chemistry*, 258(2018) 343-351.
- 5) Cardon, D. (2003). Le monde des teintures naturelles, *Belin*, Paris, p 256-389
- 6) CCI. (2006). Symposium-Atelier international sur les teintures naturelles, rapport final, 11p.
- 7) Costa, M. (2003). Soie, Manuel technique de teinture, Antananarivo : CITE, ONUDI, SAHA, 29p.
- 8) Ethève, A. M. (2005). Manuel de teinture naturelle : exemple de Madagascar. Soie et autres fibres. Antananarivo : Coopération française, CITE.
- 9) Fagbohoun, L. (2014). Etude chimique de colorants naturels et matériaux résineux traditionnels au Bénin dans le domaine artisanal. Thèse de doctorat, Université d’Avignon et des Pays de Vaucluse.
- 10) Fee, S., Rasoarifetra, B. (2009). In ‘Recipes from the past: Highland textile dyes in 19th century Merina sources, with a translation of passages from the "Ombiasy's manuscript.", *Études Océan Indien* 2009, 143–173.

- 11) Garcia, M. (2003). Couleurs végétales : Teintures, Pigments et encres, Paris : Edisud.
- 12) Garcia, M. (2008). Les couleurs végétales aujourd'hui : les enjeux, les conditions du développement, slide show présenté au Salon Miec La Seine sur Mer.
- 13) Guoco, G. (2009). Etude chimique et caractérisation de principes colorants historiquement employés dans l'impression des indiennes en provenance, Thèse de Doctorat, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.
- 12) Khoudali, S. (2014). Etude de l'activité antioxydante et de l'action anticorrosive de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (*Chamaerops humilis* L.) du Maroc, *In JMES* 5(3) (2014) 887-898
- 13) Jansen, P. C. M., Cardon, D., Lemmens, R. H. M. J., Oyen, L. P. A. (2004). in 'Plant Resources of Tropical Africa', Fondation PROTA: CTA, Backhuys Publishers, Wageningen, Leiden, 238p.
- 14) Madiele Mabika, A.B., Quoi Zhao, J. M., Thierry, V., Agnani, H., Brunet, C., Graber, M., Ouamba, J. M. (2015). Caractérisations analytiques des extraits colorants des plantes tinctoriales d'Afrique Centrale, *In Labanese Science Journal*, 16 (1) : 33-44
- 15) ONUDI, CITE. (2004). Résultats d'atelier d'échange « Plantes tinctoriales et teintures végétales », Antananarivo : ONUDI, CITE, 10p
- 16) Raharitsiadiana, H. M. (2008). Etude en vue de l'obtention de la teinture indigo d'origine végétale pour la soie de Madagascar et Analyses chimique et structurale approfondies de l'indigotine, 1H,1'H[2,2']Bisindolylidène-3,3'-dione isolée de *Indigofera arrecta* Hochst de Madagascar, Mémoire de DEA, Université d'Antananarivo, 95p.
- 17) Raharitsiadiana, H. M., Andriantsiferana, M. (2011). "Tradition and science, a synergy for development of natural dyes: case of indigo dye for silk in Madagascar", *International Symposium & Exhibition on Natural Dyes ISEND*, La Rochelle. (<http://www.tcfdatau.org/files/Isend2011Proceedings.pdf>)
- 18) Raharitsiadiana, H. M., Andriantsiferana, M. (2017). " Biodiversité, Savoirs traditionnels et Chimie durable pour la production, l'optimisation et le développement des colorants naturels à Madagascar », *Festival international sur les Plantes, Ecologie et Couleurs IFPECO/RIDA*, Antananarivo.
- 19) Raharitsiadiana, H. M., Ranisaharivony, B.N.G., Andriantsiferana, M. (2021). " Plantes tinctoriales de la tradition des hautes terres de Madagascar : Etudes ethnobotaniques, phytochimiques et valorisations dans le domaine de l'artisanat de la soie », *In Actes des Journées des ISTs, 6è Edition 2021*, ISSN 2710-4648.

(http://madarevues.recherches.gov.mg/spip.php?page=madarevues_article&id_article=4399)

- 20) Ranarivelo, L., Ralambonirina, T., Andrianaivoravelona, J., Harizafy, H., Randriamialinoro, F., Rakotonandrasana, S. et *al.* (2016). Activités biologiques des extraits de *Psychotriabridsoniae* A. Davis & Govaerts (Rubiaceae) de Madagascar, *In MADAHARY*, ISSN 2410-0315, vol.5.
- 21) SAHA. (2006). La teinture végétale à Madagascar : Présentation d'un projet de recherche sur les plantes tinctoriales, Antananarivo : SAHA, 2 p.

MODELISATION D'UNE FARINE INFANTILE DENOMMEE

« FARINE MAHAVONJY »

par

RAZAFIMAHEFA.^(1, 2), YOUSSEF Ali Youssouf⁽¹⁾, NESTORINE ⁽²⁾

(1) Faculté des Sciences, de Technologies et de l'Environnement, Université de Mahajanga, Madagascar

(2) Ecole Doctorale Génie du Vivant et Modélisation, Université de Mahajanga, Madagascar

RESUME

La malnutrition protéino-énergétique constitue le problème nutritionnel majeur à Madagascar. Cette étude a pour objectif principal de contribuer à la lutte contre la malnutrition infantile, avec comme objectifs spécifiques de modéliser et de caractériser une farine infantile dénommée « *Farine Mahavonjy* ». Elle a été modélisée à partir de la farine de patate douce à chair blanche, de pâte de sésame et de poudre de *Moringa oleifera* en utilisant un système de trois équations à trois inconnus. Sa valeur nutritionnelle a été appréciée en utilisant un logiciel Excel. À base de 100 g de farine, les masses des produits utilisées sont 47,75 g de farine de patate douce à chair blanche, 29,11 g de pâte de sésame et 23,14 g de poudre de *Moringa oleifera*. Cette « *Farine Mahavonjy* » apporte 406,52 kcal d'énergie par 100 g. Ses teneurs en eau et en matières sèches sont respectivement de l'ordre de 4,68 % et de 95,32 %. Elle contient 14,18 % de protéines, 14,57 % de matières grasses, 61,77 % de glucides totaux et 4,80 % de cendres. Ses teneurs en éléments minéraux, potassium, calcium, phosphore, magnésium, sodium, fer, zinc, manganèse et cuivre sont respectivement 925,52 mg, 733,83 mg, 287,33 mg, 258,51 mg, 135,85 mg, 7,08 mg, 1,91 mg, 1,59 mg et 0,72 mg pour 100 g de produit. Ses ratios Ca/P et Na/K sont respectivement 2,55 et 0,14. Sa Charge Acide Rénale Potentielle est de -18,12. Elle respecte les normes recommandées et répond aux besoins nutritionnels des enfants de 6 à 24 mois.

Mots clés : Malnutrition infantile, Patate douce à chair blanche, Sésame, *Moringa oleifera*, Farine infantile, Farine Mahavonjy, Madagascar

ABSTRACT

Protein-energy malnutrition is the major nutritional problem in Madagascar. The main objective of this study is to contribute to the fight against infant malnutrition, with the specific objectives of modeling and characterizing an infant flour called "*Farine Mahavonjy*". It was modeled from white-fleshed sweet potato flour, sesame paste and *Moringa oleifera* powder using a system of three equations with three unknowns. Its nutritional value was assessed using Excel software. Based on 100 g of flour, the masses of the products used are 47.75 g of white-fleshed sweet potato flour, 29.11 g of sesame paste and 23.14 g of *Moringa oleifera* powder. This "*Farine Mahavonjy*" provides 406.52 kcal of energy per 100 g. Its water and dry matter contents are respectively around 4.68% and 95.32%. It contains 14.18% protein, 14.57% fat, 61.77% total carbohydrates and 4.80% ash. Its contents in mineral elements, potassium, calcium, phosphorus, magnesium, sodium, iron, zinc, manganese and copper are respectively 925.52 mg, 733.83 mg, 287.33 mg, 258.51 mg, 135.85 mg, 7.08 mg, 1.91 mg, 1.59 mg and 0.72 mg per 100 g of product. Its Ca/P and Na/K ratios are 2.55 and 0.14 respectively. His Potential Renal Acid Load is -18.12. It meets the recommended standards and meets the nutritional needs of children from 6 to 24 months.

Key words : Infant malnutrition, White-fleshed sweet potato, Sesame, *Moringa oleifera*, Infant flour, Mahavonjy flour, Madagascar

INTRODUCTION

Faisant partie de l'une des priorités numéro un des investisseurs internationaux, la malnutrition reste encore un grave problème (Bruyeron et *al.*, 1998). C'est un état pathologique résultant de l'insuffisance (voire de l'absence) d'un ou plusieurs nutriments essentiels dans l'alimentation, ou à l'inverse, d'un excès de certains types d'aliments (Ministère des Affaires Étrangères et Européennes, 2011). Elle peut être distinguée de la sous-alimentation, qui est une insuffisance quantitative de la ration alimentaire (Guillou et *al.*, 1997) (Latham, 2001). Selon la FAO (2009), plus d'un milliard de personnes sont sous-alimentées.

Environ 90 % de la population vivant dans les pays en développement sont touchés par la malnutrition (WHO, 1998). Près de 6 millions d'enfants meurent chaque année de malnutrition ou de maladies qui y sont associées, soit près de la moitié de tous les décès évitables (FAO, 2009). La mauvaise caractéristique nutritionnelle ou l'insuffisance qualitative et quantitative des éléments nutritifs dans des aliments est reconnue comme étant un facteur principal de la malnutrition et les

carences en micronutriments causent la mauvaise absorption et l'utilisation de ces derniers chez les jeunes enfants (WHO, 1998).

Les principales formes de malnutrition sont le kwashiorkor (carence en protéines accompagnée d'œdème), le marasme (amaigrissement majeur) et les avitaminoses (Randrianantoandro, 2004). Une carence en protéines associée à la sous-alimentation constitue la malnutrition protéino-énergétique (Guillou et *al.*, 1997).

La mauvaise caractéristique nutritionnelle des aliments est, en effet, reconnue comme facteur principal de la malnutrition et des carences en micronutriments chez les jeunes enfants. L'alimentation est pauvre en protéines (Ahamadi, 2011) (Rabearimanana, 2004) (Razafinjanahary, 2007). Le cadre conceptuel aliments-santé-soins est le centre de tous les problèmes nutritionnels. Un mauvais état nutritionnel est lié directement à une alimentation qualitativement et quantitativement insuffisante et aux maladies. La synergie entre ces deux causes immédiates induit des taux élevés de morbidité et de mortalité dans les pays en développement (Guillou et *al.*, 1997) (Razakandrainy, 2008) (Ahamadi, 2011).

La malnutrition a des conséquences graves, telles que la maigreur, l'affaiblissement et le ralentissement de la croissance, pour ne citer que ces trois facteurs (Guillou et *al.*, 1997). Elle est rapidement réversible par l'apport aux malnutris d'une alimentation riche et équilibrée (Rabearimanana, 2004). Pour lutter contre ce fléau qui met en danger l'avenir sanitaire et mental de l'humanité, l'amélioration de l'alimentation en quantité et en qualité est primordiale et la plus efficace. Pour l'alimentation des enfants sevrés, on peut utiliser rationnellement les ressources alimentaires locales pour la fabrication des farines infantiles. La composition des farines infantiles varie d'un pays à l'autre selon les ressources alimentaires locales disponibles utilisées. Dans certaines régions d'Afrique, les farines produites à partir du manioc, du maïs ou bien de la banane sont utilisées (Bruyeron et *al.*, 1998).

L'opinion s'accorde à reconnaître que de sérieux problèmes alimentaires et nutritionnels sévissent à Madagascar (Jeannoda et *al.*, 1997). Face à la démographie galopante et l'augmentation des prix de produits, la malnutrition est un problème réel qui concerne à la fois la santé publique et la situation socio-économique d'une grande partie de la population malgache, particulièrement les enfants en bas âge et les femmes enceintes et allaitantes (ONN, 2021). Les principaux problèmes nutritionnels à Madagascar sont dus à différents facteurs dont la pratique inadéquate de l'allaitement maternel, l'apport insuffisant d'énergie et de protéines (malnutrition chronique, malnutrition aigüe et émaciation), les carences nutritionnelles en Vitamine A, en Fer et en Iode et les habitudes alimentaires familiales en nutrition essentiellement inadaptées

(MESupRES, 2015). Ils sont aussi dus au changement climatique qui est très marqué dans les Régions Atsimo Andrefana et dans l'Androy.

À Madagascar, l'enquête nationale sur le suivi des objectifs du développement durable a montré que 47,3 % des enfants de moins de 5 ans souffraient de malnutrition chronique, touchant environ deux millions d'enfants en 2012, situant ainsi le pays au 4^{ème} rang mondial pour le retard de croissance des enfants de cette catégorie (ONN, 2021). Les taux de malnutrition aiguë (émaciation) et d'insuffisance pondérale chez les enfants malgaches de moins de 5 ans sont respectivement 8,2 % et 32,4 % (ONN, 2021). La malnutrition s'installe principalement chez l'enfant entre 0 et 2 ans (Stéphane, 2004). Les enfants, en particulier de moins de cinq ans, sont plus sensibles aux conséquences de la malnutrition que les adultes. Il s'agit surtout de la malnutrition protéino-énergétique (MPE) qui constitue la toile de fond de la mortalité et de la morbidité chez les enfants de moins de cinq ans (Jeannoda et *al.*, 1997). Elle sévit aussi bien en milieu urbain qu'en milieu rural.

Or, pour être actif et en bonne santé, il est indispensable de disposer d'une nourriture adéquate en quantité, en qualité et en diversité, permettant de répondre aux besoins énergétiques et nutritionnels de la population. Rendre disponibles des farines infantiles de qualité, fabriquées localement à partir des matières premières disponibles localement, permettrait de s'attaquer à l'une des principales causes de la malnutrition (Trèche, 1998). Actuellement, à Madagascar, « *Koba Aina* » est la seule farine infantile fabriquée localement et vendue sur les marchés. Pourtant, le pays est privilégié par la richesse de ses ressources floristiques et faunistiques disponibles et comestibles grâce à sa situation géographique et à son climat. Cependant, certaines de ces ressources naturelles malagasy sont méconnues ou mal utilisées et, de surcroît, l'éducation nutritionnelle est insuffisante.

Cette étude a donc pour objectif principal de contribuer à la valorisation des ressources comestibles et disponibles à Madagascar afin d'atteindre l'objectif numéro 2 « *Faim zéro* » visant à « *éliminer la faim et la famine, assurer la sécurité alimentaire, améliorer la nutrition et promouvoir une agriculture durable* » tel qu'il est défini dans les « *objectifs de développement durable – ODD* ». (Nations Unies à Madagascar, SD). Elle a pour objectifs spécifiques de produire une farine de patate douce à chair blanche, une pâte de graines de sésame et une poudre de feuilles de *Moringa oleifera*, de caractériser ces produits transformés, de modéliser une farine infantile dite « *Farine Mahavonjy* » répondant aux besoins énergétiques des enfants de 6 à 24 mois.

MATERIELS ET METHODE

Matières premières

Les matières premières utilisées durant cette étude sont des tubercules de patate douce à chair blanche, des graines de sésame et des feuilles de *Moringa oleifera*.

Collecte des matières premières

Les tubercules de patate douce à chair blanche ont été achetés au bazar de la Commune Urbaine de Port-Bergé, District de Port-Bergé, Région Sofia. Les graines de sésame ont été achetées au marché de Marolaka, Commune Urbaine de Mahajanga, District de Mahajanga I, Région Boeny. Les feuilles de *Moringa oleifera* ont été collectées à la vitrine d'Amborovy, Commune Urbaine de Mahajanga, District de Mahajanga I, Région Boeny.

Transformation des matières premières

Les tubercules de patate douce à chair blanche achetés ont été triés, pesés, lavés, équeutés, épluchés, lavés et découpés en petites rondelles. Ces dernières ont été séchées au soleil sur un sachet plastique noir jusqu'à l'obtention d'un taux d'humidité très faible, puis pilonnées et tamisées pour avoir une farine. Les graines de sésame achetées ont été triées, pesées, torréfiées et pilonnées pour avoir une pâte.

Les feuilles de *Moringa oleifera* collectées ont été triées, pesées et mises en bouquets à l'aide des fibres de raphia. Les bouquets des feuilles ficelés ont été accrochés à des fils de fer tendus à l'intérieur d'un bâtiment bien aéré et y ont été laissés pendant 15 jours. Les folioles des feuilles sèches ont été enlevées manuellement, puis récupérées dans un panier propre et pilonnées dans un mortier. Les folioles ainsi broyées ont été tamisées pour avoir une poudre.

La farine de tubercules de patate douce à chair blanche, la pâte de graines de sésame et la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* ainsi obtenues ont été conditionnées et stockées dans trois bocaux en plastique étiquetés et fermés hermétiquement.

Analyse des produits de transformation des matières premières

Les méthodes suivantes ont été employées pour analyser les produits de transformation des matières premières :

- Méthode de AOAC (1990) : pour déterminer les teneurs en eau et en matière sèche ;
- Méthode de Kjeldahl : pour déterminer la teneur en protéines brutes en utilisant le facteur de conversion de l'azote total en protéines égal à 6,25 ;

- Méthodes employées par AOAC (1970), et Jocelyn (1970) : pour déterminer les teneurs en lipides et en cendres brutes ;
- Méthode de différence : pour estimer la teneur en glucides totaux ;
- Méthode utilisant des coefficients calorifiques spécifiques d'Atwater : pour déterminer les énergies métabolisables ;
- Spectrophotométrie d'absorption atomique : pour doser les éléments minéraux potassium, calcium, magnésium, sodium, manganèse, zinc, fer et cuivre ;
- Spectrophotométrie d'absorption moléculaire : pour doser le phosphore ;
- Simples calculs pour déterminer les ratios Ca/P et Na/K ;
- Méthodes employées par Remer et Manz (1995), et Pamplona-Roger (2016) : pour déterminer les Charges Acides Rénale Potentielles ou PRAL (*Potential Renal Acid Load*).

Calcul des masses des produits utilisés pour modéliser la farine infantile

Lors de cette étude, une farine infantile dénommée « *Farine Mahavonjy* » a été modélisée à partir des trois produits obtenus après transformation des matières premières. Ces produits apportent des énergies qui sont fournies par les trois principes énergétiques, tels que les protéines, les glucides et les lipides car, d'une manière générale, les coefficients calorifiques spécifiques de ces trois principes énergétiques sont respectivement 4 kcal/g, 4 kcal/g et 9 kcal/g (Trémolières et *al.*, 1984) (Pamplona-Roger, 2013b). L'OMS (1998), a donné des marges raisonnables concernant la couverture des besoins énergétiques par un apport mixte de protéines, de lipides et de glucides. D'après l'OMS (1998), 10 à 12 % des énergies doivent être d'origine protidique ; 15 à 35 %, d'origine lipidique et 55 à 75 %, d'origine glucidique. Mais, selon Pamplona-Roger (2013b), ces proportions sont les suivantes : 10 % des énergies sont d'origine protidique, 30 %, d'origine lipidique et 60 %, d'origine glucidique. Durant cette étude, les proportions données par Pamplona-Roger (2013b), ont été choisies pour calculer les masses des trois produits utilisés.

D'une manière générale, les énergies métabolisables apportées par ces trois principes énergétiques sont obtenues en faisant la somme des énergies métabolisables des principes énergétiques (les protéines, les lipides et les glucides). L'énergie fournie par un principe énergétique est obtenue en multipliant sa teneur avec son coefficient calorifique spécifique d'Atwater. Les coefficients calorifiques spécifiques d'Atwater des protéines, des lipides et des glucides contenus dans les produits utilisés durant le présent travail de recherche sont respectivement 2,78 kcal/g, 8,37 kcal/g et 4,03 kcal/g (pour la farine de tubercules de patate douce à chair

blanche), 3,47 kcal/g, 8,37 kcal/g et 4,07 kcal/g (pour la pâte de sésame) et 2,44 kcal/g, 8,37 kcal/g et 3,57 kcal/g (pour la poudre de feuilles de *Moringa oleifera*). Il est à noter que les coefficients calorifiques spécifiques des principes énergétiques sont variables selon le type d'aliment. À partir de ces différentes données, trois équations à trois inconnues ont été établies.

En connaissant les teneurs en protéines, en lipides et en glucides des trois produits utilisés et en respectant les pourcentages des apports énergétiques recommandés par Pamplona-Roger (2013b), pour ces trois principes énergétiques, trois équations à trois inconnus (masses m_1 , m_2 et m_3 des trois produits utilisés) peuvent être établies ; elles sont sous les formes ci-dessous (Équations 1, 2 et 3).

$$\begin{cases} E_{P1} + E_{P2} + E_{P3} = E_P & (1) \\ E_{L1} + E_{L2} + E_{L3} = E_L & (2) \\ E_{G1} + E_{G2} + E_{G3} = E_G & (3) \end{cases}$$

Où

$$\begin{aligned} E_{P1} (\%) &= \frac{CCS_{P1} \times T_{P1} \times m_1}{100} & E_{P2} (\%) &= \frac{CCS_{P2} \times T_{P2} \times m_2}{100} & E_{P3} (\%) &= \frac{CCS_{P3} \times T_{P3} \times m_3}{100} \\ E_{L1} (\%) &= \frac{CCS_{L1} \times T_{L1} \times m_1}{100} & E_{L2} (\%) &= \frac{CCS_{L2} \times T_{L2} \times m_2}{100} & E_{L3} (\%) &= \frac{CCS_{L3} \times T_{L3} \times m_3}{100} \\ E_{G1} (\%) &= \frac{CCS_{G1} \times T_{G1} \times m_1}{100} & E_{G2} (\%) &= \frac{CCS_{G2} \times T_{G2} \times m_2}{100} & E_{G3} (\%) &= \frac{CCS_{G3} \times T_{G3} \times m_3}{100} \end{aligned}$$

Avec :

E_P : Énergie apportée par les protéines des trois produits (10 % de l'apport énergétique total) ;

E_L : Énergie apportée par les lipides des trois produits (30 % de l'apport énergétique total) ;

E_G : Énergie apportée par les glucides des trois produits (60 % de l'apport énergétique total) ;

$$E_P + E_L + E_G = E_{TOTAL} = 100 \%$$

CCS_P , CCS_L et CCS_G : Coefficients calorifiques spécifiques d'Atwater des protéines, des lipides et des glucides des trois produits utilisés ;

T_P , T_L et T_G : Teneurs en protéines, en lipides et en glucides des trois produits utilisés.

En remplaçant l'expression de chaque type d'énergie, les trois équations à trois inconnues mentionnées ci-dessus peuvent être écrites sous les formes ci-dessous. La résolution de ces trois équations à trois inconnues a été expliquée par Danko et Popov (1977).

$$\begin{cases} a_1 m_1 + b_1 m_2 + c_1 m_3 = d_1 & (1) \\ a_2 m_1 + b_2 m_2 + c_2 m_3 = d_2 & (2) \\ a_3 m_1 + b_3 m_2 + c_3 m_3 = d_3 & (3) \end{cases}$$

Avec :

m_1 : Masse, en grammes, de farine de patate douce utilisée ;

m_2 : Masse, en grammes, de pâte de sésame utilisée ;

m_3 : Masse, en grammes, de poudre des feuilles de *Moringa oleifera* utilisée ;

d_1 : Apport énergétique total apporté par des protéines des trois produits ($E_P = 10\%$) ;

d_2 : Apport énergétique total apporté par des lipides des trois produits ($E_L = 30\%$) ;

d_3 : Apport énergétique total apporté par des glucides des trois produits ($E_G = 60\%$) ;

Les calculs de ces paramètres ont été effectués à l'aide d'un logiciel Microsoft office Excel 2016.

Appréciation de la valeur nutritionnelle de la farine infantile modélisée

En connaissant les masses et les teneurs en nutriments de chaque type de produits utilisés (en g par 100 g pour les macronutriments et en mg par 100 g pour les éléments minéraux), la qualité nutritionnelle de la farine infantile modélisée a été appréciée. Pour chaque type de produit, des calculs permettant de déterminer les quantités de nutriments dans chacune des masses nécessaires pour donner 100 g de farine infantile ont été effectués en utilisant le logiciel Microsoft office Excel 2016. La somme des quantités d'un type de nutriment calculée correspond à la quantité de ce type de nutriment dans 100 g de farine infantile modélisée.

RESULTATS

Caractéristiques nutritionnelles des trois produits utilisés

Les résultats des analyses effectuées sur la farine de tubercules de patate douce à chair blanche, la pâte de graines de sésame et la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* sont rassemblés dans le Tableau 1. Ces résultats indiquent que les produits utilisés ont des caractéristiques nutritionnelles variables. La poudre de feuilles de *Moringa oleifera* est moins riche en énergie et plus riche en éléments minéraux, particulièrement en potassium et en calcium, que les deux autres produits. La pâte de graines de sésame est plus énergétique et plus riche en lipides que les deux autres produits. La teneur en glucides totaux est plus élevée dans la farine de tubercules de patate douce à chair blanche que dans les deux autres produits. Pour les trois produits, les teneurs en fer, en zinc, en manganèse et en cuivre sont faibles. Ces résultats indiquent aussi que les ratios Ca/P pour la pâte de graines de sésame et la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* sont tous supérieurs à 1, alors que celui de la farine de tubercules de patate douce à chair blanche est inférieur à 1. Les ratios Na/K des trois produits sont tous inférieurs à 1. Ils indiquent également que les indices PRAL (*Potential Renal Acid Load*) des trois produits utilisés sont tous négatifs. La valeur absolue de l'indice PRAL la plus élevée est celle de l'indice PRAL de la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* (43,5070) et la plus faible étant celle de l'indice PRAL de la pâte de graines de sésame (4,4926).

Masses des trois produits utilisés

Pour modéliser 100 g de farine infantile ayant une haute valeur nutritionnelle et répondant aux besoins nutritionnels souhaitables pour les enfants de 6 à 24 mois, les masses de farine de tubercules de patate douce à chair blanche, de pâte de graines de sésame et de poudre de feuilles de *Moringa oleifera* utilisées sont respectivement 47,75 g, 29,11 g et 23,14 g. Vu l'importance de l'iode et de fluor dans l'organisme humain, une quantité de sel de table iodé et fluoré (0,6 g) peut être ajoutée à cette farine infantile. Dans ce cas, la formule donnée dans le Tableau 2 a été utilisée. Un nom a alors été attribué à cette farine infantile. Ce nom est « *Farine Mahavonjy* », indiquant que cette farine peut sauver des enfants malnutris et, par conséquent, elle est nécessaire à la croissance et au développement des enfants de 6 à 24 mois.

Tableau 1 : Caractéristiques nutritionnelles de trois produits utilisés

PARAMÈTRES	ÉCHANTILLONS ANALYSÉS		
	Farine de patate douce à chair blanche	Pâte de graines de sésame	Poudre de feuilles de <i>M. oleifera</i>
Énergies métabolisables (kcal/100 g)	370,12	574,29	270,62
Humidité (g/100 g)	4,56	0,47	10,24
Matières sèches (g/100 g)	95,44	99,53	89,76
Protéines (g/100 g)	4,44	17,80	29,72
Matières grasse (g/100 g)	0,52	47,38	2,30
Glucides totaux (g/100 g)	87,71	28,49	50,10
Cendres brutes (g/100 g)	2,78	5,87	7,64
Potassium (mg/100 g)	924,18	434,60	1545,72
Calcium (mg/100 g)	61,94	1325,00	1376,60
Phosphore (mg/100 g)	148,66	575,00	211,62
Magnésium (mg/100 g)	60,83	313,00	597,84
Sodium (mg/100 g)	259,74	11,00	37,27
Fer (mg/100 g)	2,53	6,80	16,81
Zinc (mg/100g)	0,74	4,20	1,44
Manganèse (mg/100g)	0,38	1,80	3,83
Cuivre (mg/100 g)	0,44	1,20	0,69
Ratio Ca/P	0,4167	2,3043	6,5051
Ratio Na/K	0,2810	0,0253	0,0241
Indice PRAL	– 14,1186	– 4,4926	– 43,5070

PRAL : *Potential Renal Acid Load* ou Charge Acide Rénale Potentielle.

Tableau 2 : Formule de la « *Farine Mahavonjy* »

PRODUITS UTILISES	MASSE DES PRODUITS UTILISES
	(En g pour 100 g de farine infantile)
Farine de patates douces à chair blanche	47,75
Pâte de graines de sésames	29,11
Poudre de feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	23,14
Additif (sel de table iodé et fluoré)	0,60

Caractéristiques nutritionnelles de la « *Farine Mahavonjy* » modélisée

Les quantités de nutriments dans 100 g de « *Farine Mahavonjy* » modélisée sont présentées dans le Tableau 3. Ces résultats indiquent que l'énergie métabolisable et les teneurs en protéines, en lipides, en glucides totaux, en potassium, en calcium, en phosphore, en magnésium et en sodium de cette farine sont élevées. Par contre, les teneurs en fer, en zinc, en manganèse et en cuivre sont faibles. Pour cette farine, le ratio Ca/P est supérieur à 1. Par contre, celui de Na/K est inférieur à 1. Son indice PRAL est de signe négatif.

DISCUSSION

Après plusieurs étapes de transformation des matières premières, trois types de produits ont été obtenus. Ce sont la farine de patate douce à chair blanche, la pâte de graines de sésame et la poudre de feuilles de *Moringa oleifera*. Les teneurs en eau de ces trois produits sont faibles ; elles sont toutes inférieures à 12 %. Ces valeurs respectent les normes car, selon Trèche (1989), elles ne doivent pas dépasser 14 %, limite généralement considérée comme maximale pour une bonne conservation des farines. Il serait ainsi difficile pour des microorganismes de s'y multiplier, puisqu'ils ont besoin d'une activité de l'eau et, par conséquent, d'une teneur en eau assez élevée pour se proliférer (Cheftel et Cheftel, 1976). En outre, les réactions chimiques et enzymatiques de détérioration sont fortement ralenties dans des aliments ayant une faible teneur en eau (Cheftel et Cheftel, 1976). Ces trois produits sont donc conservables pendant longtemps dans des bocaux.

Tableau 3 : Caractéristiques nutritionnelles de la « *Farine Mahavonjy* »

NUTRIMENTS	QUANTITÉ DE NUTRIMENTS (Pour 100 g de Farine Mahavonjy)
Energie métabolisable (kcal/100 g)	406,52
Humidité (g/100 g)	4,68
Matière sèche (g/100 g)	95,32
Protéines (g/100 g)	14,18
Matières grasses (g/100 g)	14,57
Glucides totaux (g/100 g)	61,77
Cendres brutes (g/100 g)	4,80
Potassium (mg/100 g)	925,52
Calcium (mg/100 g)	733,83
Phosphore (mg/100 g)	287,33
Magnésium (mg/100 g)	258,51
Sodium (mg/100 g)	135,85
Fer (mg/100 g)	7,08
Zinc (mg/100 g)	1,91
Manganèse (mg/100 g)	1,59
Cuivre (mg/100 g)	0,72
Ratio Ca/P	2,5540
Ratio Na/K	0,1468
Indice PRAL	- 18,1180

PRAL : *Potential Renal Acid Load* ou Charge Acide Rénale Potentielle.

La pâte de graines de sésame et la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* sont des sources de protéines car leurs teneurs en ce nutriment sont remarquables (Tableau 1). Cependant, la pâte de graines de sésame est plus riche en ce nutriment que la poudre de feuilles de *Moringa oleifera*. Par contre, la farine de patate douce à chair blanche n'est pas une source de protéines, puisque sa teneur en ce nutriment est faible (4,44 %). Cette teneur est supérieure à celle qui a été trouvée par Soanirina (2016), sur la farine des tubercules de patate douce à chair blanche achetés au marché de Port-Bergé dans la Région Sofia (2,80 %). Cette différence peut être due à

l'inégalité des sols de plantation. Comparée à la teneur en protéines de la pâte de graines de sésame (17,80 %) et à celle de la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* (29,72 %), elle est remarquablement faible. C'est la raison pour laquelle, durant cette étude, la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* et la pâte de graines de sésame ont été utilisées pour compenser la faible teneur en protéines de la farine de patate douce à chair blanche pour modéliser la farine infantile. La pâte de graines de sésame, quant à elle, présente une faible teneur en protéines (17,80 %), comparée à d'autres plantes oléagineuses comme le tournesol (23 %), l'arachide (25 %) et le soja (40 %) (Samoela, 2007).

Les trois produits obtenus après la transformation des matières premières sont des sources de glucides car leurs teneurs en glucides totaux sont élevées. Toutefois, la farine de patate douce à chair blanche est plus riche en ce nutriment que la pâte de graines de sésame et la poudre de feuilles de *Moringa oleifera*, puisque sa teneur en glucides totaux (87,71 %) est plus élevée que celles de ces deux autres produits (28,49 % et 50,10 %) (Tableau 1). Les glucides contenus dans la farine de patate douce à chair blanche sont essentiellement constitués par l'amidon.

La pâte de graines de sésame est une excellente source de lipides, car sa teneur en matières grasses brutes est élevée (47,38 % à base de matière fraîche ou 47,60 % à base de matière sèche). Cette teneur est beaucoup plus faible que celle rapportée par Samoella (2007), (55,34 % à base de matière sèche). Cette différence peut être due à l'inégalité des modes de transformation, des variétés et des origines des graines de sésame utilisées. La composition de l'huile de sésame est très équilibrée, car elle contient approximativement une proportion égale d'acide oléique (qui protège le cœur) et d'acide linoléique (qui réduit le cholestérol) (Pamplona-Roger, (2013a). Par contre, la farine de patate douce à chair blanche et la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* ne sont pas des sources de lipides, car leurs teneurs en ce nutriment sont faibles (Tableau 1).

Les trois produits transformés sont des sources d'éléments minéraux. La farine de patate douce à chair blanche et la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* constituent des sources appréciables de potassium. La pâte de graines de sésame et la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* sont des sources de calcium. Pour 100 g de pâte de graines de sésame, comparée aux valeurs rapportées par Pamplona-Roger (2013a), l'échantillon étudié présente des valeurs inférieures pour le phosphore (575,00 mg < 629 mg), le magnésium (313,00 mg < 351 mg), le zinc (4,20 mg < 7,75 mg) et le fer (6,80 mg < 14,6 mg). Par contre, la quantité (en mg pour 100 g de produit) de calcium (975 mg) mentionnée par cet auteur est inférieure à celle de l'échantillon étudié (1 325 mg). Cet aliment joue des rôles importants dans l'organisme humain. Il assure la formation des os et des dents, intervient dans les

réactions biochimiques qui libèrent de l'énergie, aide à la transmission des flux nerveux, intervient dans le relâchement musculaire et dans les processus de maintien de l'équilibre acido-basique et de la sécrétion de l'insuline par le pancréas (Pamplona-Roger, 2013a). La poudre de feuilles de *Moringa oleifera* est une source importante de potassium (1 445,72 mg/100 g) et de calcium (1 376,60 mg/100 g) (Tableau 1). Ces valeurs sont faibles par rapport à celles trouvées par Fulgie (2002). D'après cet auteur, à base de matière fraîche, les taux de calcium dans la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* sont compris entre 1 600 et 2 200 mg/100 g et de l'ordre 1 800 mg/100 g pour le potassium. Ces différences peuvent être dues à l'inégalité des lieux de récolte des échantillons et, par conséquent, de la composition des sols de plantation. Il est à noter que la composition des organes des plantes, comme les feuilles, dépend de la composition du sol. Grâce à sa richesse en calcium, la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* assure aussi la formation des os et des dents chez les êtres humains.

Les calculs des ratios Ca/P et Na/K permettraient de montrer le rôle que jouerait les aliments dans l'amélioration du fonctionnement cardiovasculaire (He et Macgregor, 2008), et dans le mécanisme de la calcification et l'intégrité du squelette (Kemi *et al.*, 2006). Les ratios Ca/P pour la pâte de graines de sésame et la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* sont tous supérieurs à 1 (Tableau 1). Ces résultats indiquent que les teneurs en calcium sont plus élevées que celles de phosphore. Ces produits pourraient alors intervenir dans la calcification au cours de la formation du squelette. Par contre, le ratio Ca/P de la farine de patate douce à chair blanche et les ratios Na/K des trois produits sont tous inférieurs à 1 (Tableau 1). Ces résultats indiquent que, dans la farine de patate douce à chair blanche, la teneur en calcium est plus faible que celle de phosphore. Ils indiquent aussi que, dans les trois produits obtenus, les teneurs en sodium sont plus faibles que celles de potassium. La consommation de ces produits ne provoque donc pas l'augmentation de la pression artérielle, car le sodium est un élément qui favorise l'hypertension artérielle (Pamplona-Roger, 2013b). Ces faibles ratios Na/K sont alors bénéfiques pour la promotion de la santé cardiovasculaire (He et Macgregor, 2008) (Pamplona-Roger, 2013b). Ainsi, les trois produits utilisés sont conseillés pour les personnes hypertendues.

Selon Pamplona-Roger (2013a), le rapport Ca/P idéal est de 1 : 1, indiquant que les teneurs en calcium et en phosphore doivent être égales. Or, d'après Dany Cinq-Mars (2001), le ratio Ca/P devrait se situer aux alentours de 2 : 1. Mais, l'important c'est de ne jamais avoir plus de phosphore que de calcium (Dany Cinq-Mars, 2001). Par ailleurs, des ratios de calcium et de phosphore, qui oscillent entre 1 : 1 et 7 : 1, sont considérés comme très acceptables, pourvu que les exigences en phosphore

soient comblées (Dany Cinq-Mars, 2001). Or, les ratios Ca/P pour la pâte de graines de sésame et la poudre des feuilles de *Moringa oleifera* sont inférieurs à 7 (Tableau 1). En considérant la remarque de Dany Cinq-Mars (2001), on peut donc dire que les ratios Ca/P pour ces deux produits sont acceptables. Mais, le ratio Ca/P pour la farine de patate douce à chair blanche ne respecte pas la remarque de Dany Cinq-Mars (2001), car ce ratio est inférieur à 1.

Les indices PRAL des trois produits utilisés sont tous négatifs (Tableau 1). Ces produits ont donc un pouvoir alcalinisant et génèrent plus de bases que d'acides. Ceci indique que, selon Pamplona-Roger (2016), ces produits contribuent à maintenir le nécessaire équilibre entre les acides et les alcalins dans notre organisme. Ainsi, ils allègent le travail des reins pour éliminer l'excès d'acide et favorisent une bonne santé.

Les trois produits utilisés sont des sources d'énergie. Toutefois, la pâte de graines de sésame est plus énergétique que les deux autres produits ; tandis que la poudre des feuilles de *Moringa oleifera* est la moins énergétique. Pour la farine de patate douce à chair blanche dont la teneur en glucides totaux est très élevée (Tableau 1), l'énergie est essentiellement apportée par les hydrates de carbone. Pour la pâte de graines de sésame, elle est apportée par les trois principes énergétiques, les lipides, les protéines et les glucides, puisque les teneurs en ces nutriments sont toutes importantes. Et pour la poudre de feuilles de *Moringa oleifera*, elle est essentiellement d'origine protéinique et glucidique, la teneur en lipides étant très faible (Tableau 1). D'après Delveau et Boiteau (1980), 100 g de poudre de feuilles de *Moringa oleifera* apportent 205 kcal, une valeur qui est inférieure à celle que nous avons trouvée (270,62 kcal/100 g). Cette différence peut être due à l'inégalité de la période et du lieu de récolte des feuilles de *Moringa oleifera*.

Les résultats obtenus mentionnés dans le Tableau 3 indiquent que 100 g de farine infantile modélisée dénommée « *Farine Mahavonjy* » apportent 406,52 kcal d'énergies, 14,18 g de protéines, 14,57 g de lipides et 61,77 g de glucides. La composition nutritionnelle de cette farine est comparable à celle de la « *Farine Mahatomady* » fabriquée par Ratovonomenjanahary (2017), car 100 g de celle-ci apportent 404,69 kcal et contiennent 14,21 g de protéines, 14,50 g de lipides et 61,63 g de glucides. Comparée à la « *Farine Mahatsara* » fabriquée par Mahatsara (2017), cette « *Farine Mahavonjy* » est plus énergétique et plus riche en protéines, en lipides et en glucides, car 100 g apportent 363,37 kcal d'énergies et contiennent 12,83 g de protéines, 13,02 g de lipides et 59,99 g de glucides. Elle est aussi plus énergétique et plus riche en protéines et en lipides que « *Farine Koba aina* », pour laquelle 100 g apportent 374,80 kcal d'énergies et contiennent 10,60 g de protéines et 8,50 g de lipides. Elle est également plus énergétique et plus riche en protéines et en lipides

que « *Farine Mamparisika* » produite par Ranjanirina (2018), qui apporte 379,61 kcal d'énergies par 100 g et contient 12,43 % de protéines et 13,61 % de lipides. Elle est moins énergétique et plus riche en protéines et en lipides et moins riche en glucides que la farine Blédina qui apporte 392,00 kcal d'énergies par 100 g et contient 10,04 % de protéines, 1,40 % de lipides et 82,70 % de glucides. Elle est moins énergétique et moins riche en glucides, mais plus riche en protéines et en lipides que la farine Farilac, pour laquelle 100 g apportent 425,00 kcal d'énergies et contiennent 13,00 % de protéines, 7,60 % de lipides et 75,80 % de glucides. Elle est moins énergétique, moins riche en protéines et en lipides mais plus riche en glucides que la farine « Nursie 2 » qui apporte 459,00 kcal d'énergies par 100 g et contient 15,10 % de protéines, 20,30 % de lipides et 52,40 % de glucides. Ces différences peuvent être dues à l'inégalité des produits utilisés pour fabriquer ces farines.

La « *Farine Mahavonjy* » respecte bien les normes recommandées par Pamplona-Roger (2013b), car 10 % des énergies fournies par cette farine infantile sont d'origine protéique, 30 % sont d'origine lipidique et 60 % sont d'origine glucidique. Cette farine infantile peut donc être utilisée comme un aliment de complément des enfants de 6 à 24 mois. D'ailleurs, elle est une source d'éléments minéraux, particulièrement les potassium, calcium, phosphore, magnésium et sodium. De plus, le ratio Ca/P de cette farine infantile est inférieurs à 7 (Tableau 3), ce qui est donc acceptable selon Dany Cinq-Mars (2001). En outre, la consommation de cette farine infantile ne provoque pas l'augmentation de la pression artérielle, car le ratio Na/K de cette farine infantile est inférieur à 1 (Tableau 3). Ceci indique que la teneur en sodium est plus faible par rapport à celle de potassium. Rappelons que le sodium est un élément qui favorise l'hypertension artérielle (Pamplona-Roger, 2013b). Cette farine infantile a aussi un effet alcalinisant chez l'organisme humain, car son indice PRAL est négatif (Tableau 3). Elle génère donc plus de bases que d'acides. Elle contribue, alors, à maintenir le nécessaire équilibre entre les acides et les alcalins dans l'organisme humain. Ainsi, elle allège le travail des reins pour éliminer l'excès d'acide et favorisent une bonne santé.

Face au changement climatique, et compte tenu des prix élevés des farines infantiles importées comme la Blédina et Nursie 2, la modélisation de la farine infantile dénommée « *Farine Mahavonjy* » a été réalisée à partir de matières premières locales qui ont de grandes facultés d'adaptation à des situations écologiques variées, souvent défavorables pour d'autres espèces, et faciles à reproduire et à cultiver, disponibles toute l'année à Madagascar. La poudre de feuilles de *Moringa oleifera*, facile à produire et très riche en protéines, en vitamines et en éléments minéraux, est de plus en plus sollicitée en Afrique dans la lutte contre la malnutrition et les carences en vitamines et en oligo-éléments (Fuglie, 2002). Elle

concurrence actuellement l'utilisation de la spiruline, qui est plus onéreuse, comparée à cette poudre selon les commerciaux. Ainsi, la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* constitue un aliment de complément susceptible de contribuer à l'équilibre nutritionnel des enfants Malagasy, mélangée avec d'autres aliments fabriqués localement comme la farine des tubercules de patate douce à chair blanche et la pâte de graines de sésame.

CONCLUSION

La patate douce à chair blanche, le sésame et *Moringa oleifera* sont des plantes comestibles et rustiques. Cette étude a été basée sur l'utilisation de ces produits pour modéliser une farine infantile. Des procédés technologiques ont été appliqués sur ces matières premières.

Les trois produits utilisés sont énergétiques, riches en glucides et en éléments minéraux, particulièrement le potassium, calcium, phosphore, magnésium et sodium. Mais, ils sont pauvres en fer, en zinc, en manganèse et en cuivre. La farine de patate douce à chair blanche est pauvre en matières grasses et en protéines, alors que la pâte de sésame est riche en ces nutriments. La poudre de feuilles de *Moringa oleifera* est riche en protéines, mais elle est pauvre en matières grasses. Les ratios Ca/P pour la pâte de graines de sésame et la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* sont supérieurs à 1. Par contre, pour la farine de patate douce à chair blanche, ce ratio est inférieur à 1. Les ratios Na/K pour ces trois produits sont également inférieurs à 1. Les trois produits utilisés pour modéliser la farine infantile sont tous alcalinisants.

En vue de la modélisation d'une farine infantile dénommée « *Farine Mahavonjy* », les trois produits utilisés ont été mélangés selon des proportions convenables. L'association de ces trois produits a permis d'obtenir une farine infantile de bonne qualité nutritionnelle répondant aux besoins nutritionnels souhaitables pour les enfants de 6 à 24 mois et respectant les normes requises. Ces ressources peuvent donc être valorisés pour produire une farine infantile de bonne qualité nutritionnelle. Ceci pourra contribuer à la lutte contre la malnutrition infantile à Madagascar.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) AOAC (1970). *Official method of analysis*. 11th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C.
- 2) AOAC (1990). *Official methods of analysis of Association of Official Analytical Chemists. Method 925.10 (Final Action): Food Composition, Additives, Natural*

Contaminants, 15th Ed. – Arlington, Virginia 22201 USA: HELRICH K. – Volume II, p.777.

- 3) Cheftel, J.-C. et Cheftel, H. (1976). *Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments*. Technique et Documentation ; Entreprise Moderne d'Entreprise, Paris, Volume 1, p. 1 – 32.
- 4) Danko, P. et Popov, A. (1977). *Exercices et problèmes des mathématiques supérieures*. Partie I, Editions MIR – Moscou, p, 110 – 165.
- 5) Dany Cinq-Mars, (2001). *Minéraux majeurs. Nutrition et alimentation*. MAPAQ/Direction des services technologiques, p.1 – 6.
- 6) Delveau, P. et Boiteau, P. (1980). Huile à intérêt pharmacologique, cosmétologique et diététique IV, *Plantes médicinales et phytothérapies*, 14(1), p. 29 – 33.
- 7) FAO (2009). *L'état de l'insécurité alimentaire dans le monde. Crise économique, répercussions et enseignement, Principaux messages*, (Rome, 2009), p. 11.
- 8) Fulgie, L. J. (2002). Nutrition naturelle sous les tropiques. In : *L'arbre de la vie, Les multiples usages du Moringa*. Wageningen: CTA ; Dakar : CWS, p. 105 – 118.
- 9) He, F. J., and Macgregor, G. A. (2008). Beneficial effects of potassium on human health. *Physiology Plant*, 133(4), p. 725 – 735.
- 10) Jeannoda, V., Ralison, Ch., Ramanitrera, C., Ramaharobandro, C., Randrianaivo, D. et Randrianarivony, A. R. (1997). *La situation alimentaire et nutritionnelle à Madagascar : Stratégie nationale de sécurité alimentaire et de nutrition*, 134p.
- 11) Joslyn, M. A. (1970). *Methods in Food Analysis*. – 2nd ed. Academic Press. New York.
- 12) Kemi, V. E., Kärkkäinen, M. U. M., and Lamberg Allardt, C. J. E. (2006). High phosphorus intake acutely and negatively affects calcium and bone metabolism in a dose-dependent manner in healthy young females. *British Journal of Nutrition.*, 96, p. 545 – 552.
- 13) Latham, M. C. (2001). Partie I : Les causes de la malnutrition. Chapitre 1 : La nutrition et les problèmes alimentaires dans une perspective mondiale. In : *La nutrition dans les pays en développement*. New York, États Unis : FAO, p. 3 – 14.
- 14) Mahatsara, M. H. (2017). *Mise au point des procédés de fabrication de la farine infantile à base de la pâte de sésame, de la farine des bananes plantains et de la poudre des feuilles de Moringa oleifera*. – Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie et Sciences de l'Environnement : Mahajanga : Faculté des Sciences, de Technologies et de l'Environnement, 81 p.

- 15) Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique (MESupRES) (2015). *Plan directeur de la recherche sur l'agriculture et la sécurité alimentaire et nutritionnelle 2015 – 2019*. Madagascar, 85 p.
- 16) Ministère des Affaires Etrangères et Européennes (2011). *Nutrition dans les pays en développement : Document d'orientation stratégique*. Direction générale de la mondialisation, du développement et des partenariats, République Française, 20 p.
- 17) Nations Unies à Madagascar (SD). *Objectifs de Développement Durable. Cibles et Indicateurs*.
- 18) OMS (1998). *Recommandations diététiques basées sur l'approche alimentaire : élaboration et utilisation : rapport d'une consultation conjointe FAO/OMS*, Nicosie, 1985. Genève. OMS, Série de rapports techniques 880.
- 19) ONN (2021). *Plan National d'Action pour la Nutrition-III 2017-2021. La Nutrition, garant d'un Capital Humain pour un Développement social et économique Durable*, 81 p. Disponible sur :
« <https://www.unicef.org/madagascar/sites/unicef.org.madagascar/files/2018-08/Madagascar-nutrition-PNAN3.pdf> ».
- 20) Pamplona-Roger, G. D. (2013a). *Guide des aliments et de leur pouvoir curatif : Traité de bromatologie et diétothérapie. Première partie : La science des aliments*. Huitième édition en français de l'édition originale en espagnol. E-28770 Colmenar Viejo, Madrid, Espagne : Editorial Safeliz, S. L. Volume 1, p. 126, 382 – 422. (Bibliothèque éducation et santé).
- 21) Pamplona-Roger, G. D. (2013b). *Guide des aliments et de leur pouvoir curatif : Traité de bromatologie et diétothérapie. Deuxième partie : Le pouvoir curatif des aliments. Chapitre 37. Une bonne utilisation des aliments*. Huitième édition en français de l'édition originale en espagnol. E-28770 Colmenar Viejo, Madrid, Espagne : Editorial Safeliz, S. L. Volume 2, p. 301, 388 – 403. (Bibliothèque éducation et santé).
- 22) Pamplona-Roger, G. D. (2016). *Santé par les boissons. Jus, smoothies et infusion : Guide pratique pour votre bien-être*. – Première Edition. – E-28770 Colmenar Viejo, Madrid (Espagne) : Editions Safeliz S. L., p. 268–271. – (Collection : Vie et Santé).
- 23) Ranjanirina, A. E. (2018). *Valeur alimentaire de la farine des bananes plantains récoltées à Anivorano- Nord et son utilisation pour fabriquer un aliment infantile*. – Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master en Sciences de la Nature et de l'Environnement : Antsiranana : Faculté des Sciences, 82 p.

- 24) Ratovonomenjanahary, E. W. (2017). *Mise au point des procédés de fabrication d'une farine infantile à base de sésame, de patate douce à chair jaune et de Moringa oleifera*. – Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie et Sciences de l'Environnement : Mahajanga : Faculté des Sciences, de Technologies et de l'Environnement, 83 p.
- 25) Remer, T., et Manz, F. (1995). Potential Renal Acid Load of Foods and its Influence on Urine pH. *Journal of the American Dietetic Association* 95, N° 7, p. 791 – 797. (doi:10.1016/S0002-8223(95)00219-7).
- 26) Samoela, M. N. H. (2007). *Valeur nutritionnelle des graines de sésame Sesamum indicum : utilisation en alimentation infantile*. Mémoire pour l'obtention du diplôme d'Études Approfondies de Biochimie, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, 99 p.
- 27) Soanirina, C. (2017). *Essai de fabrication des pains composites à base des farines de blé et de patate douce à chair blanche*. – Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie et Sciences de l'Environnement : Mahajanga : Faculté des Sciences, de Technologies et de l'Environnement, 64 p.
- 28) Stéphane, A. (2004). – *État nutritionnel et qualité de l'alimentation des enfants de moins de 2 ans dans le village de Damé (Côte d'Ivoire) : Caractérisation et essai d'identification des déterminants de la malnutrition protéino-énergétique et des pratiques alimentaires*. Mémoire en l'UR106 de l'IRD (Institut de Recherche pour le Développement Université de Montpellier II académie de Montpellier, 65 p.
- 29) Trèche, S. (1989). *Potentialités nutritionnelles des ignames (Dioscorea spp.) cultivées au Cameroun*. Edition de l'OROSTOM, Paris, Vol. 1, 224 p. (Collection Études et Thèses).
- 30) Trèche, S. (1998). Les aliments de complément : Enjeux, contraintes et potentialités. *Bulletin du réseau Technologie et Partenariat en Agroalimentaire (TPA)*, N° 15, p. 5 – 7.
- 31) Trémolières, J., Serville, Y., Jacquot, R. et Dupin, H. (1984). Manuel d'alimentation humaine. Les bases de l'alimentation, 10^{ème} édition. Les Editions Sociales Françaises, Paris. Tome 1, p. 290.
- 32) WHO (1998). Preparation and use of food-based dietary guidelines. WHO Technical report.

MICROMERIA FLAGELLARIS, UNE LAMIACEAE SOURCE D'INNOVATION THÉRAPEUTIQUE, MOTEUR DE DÉVELOPPEMENT

par

RAKOTOFINA Haja Mamison E.^(1,2), RAKOTONANDRASANA Stéphan⁽³⁾,
RAZAFINDRAKOTO Rinah⁽²⁾, RANDRIANIRINA Mamy⁽²⁾,
ANDRIANJARA Charles⁽²⁾, RAKOTOVAO Marcelle⁽¹⁾

(1) Laboratoire de Chimie et de Valorisation des Produits Naturels, Antananarivo, Madagascar

(2) Laboratoire Bio-thérapeutique, Institut Malgache de Recherche Appliquée, Antananarivo, Madagascar

(3) Centre National d'Application de Recherche Pharmaceutique, Antananarivo, Madagascar

RESUME

De nombreuses maladies persistent encore dans le monde malgré les progrès galopants de la technologie et du développement des médicaments. Alors que certaines sont persistantes car ne pouvant être éradiquées, d'autres sont qualifiées de réfractaires, ne répondant pas aux traitements indiqués ; l'hypertension artérielle en fait partie, elle fait des ravages actuellement. Dès lors, trouver un système innovateur de lutte contre ce caractère réfractaire de l'hypertension s'avère une priorité. Ce qui a justifié le choix du thème de recherche portant sur *Micromeria flagellaris*, « ahibitsy » de son nom vernaculaire, une plante antihypertensive, traditionnelle et endémique de Madagascar.

Etant donné que l'hypertension artérielle est une maladie à étiologies multiples, plusieurs organes, notamment du système circulatoire, peuvent être des points de dysfonctionnements physiologiques, comme le cœur, les vaisseaux, le sang et/ou les reins.

Dès lors, pour la partie recherche fondamentale, des tests d'activités antihypertensives d'extraits hydroalcooliques, et de ses fractions à diverses doses sur des modèles pharmacologiques, d'une part *in vivo* sur des rats de souche Wistar, et d'autre part, *in vitro* sur des organes isolés comme le cœur et les vaisseaux, ont été réalisés.

L'extrait hydroalcoolique *in vivo* a montré à la fois une activité antihypertensive à partir de 250 mg/Kg et une activité diurétique à la même dose.

L'extrait hydroalcoolique administré *per os in vivo* a montré à la fois une activité antihypertensive et une activité diurétique à partir de la dose de 250 mg/Kg. L'extrait hydroalcoolique est ensuite fractionné par des méthodes chromatographiques utilisant des solvants de gradient de polarités croissantes, allant de l'hexane, au dichlorométhane, à l'acétate d'éthyle puis au butanol.

L'extrait hydroalcoolique et chacune de ses fractions ont été testés sur les aortes isolées. L'extrait hydroalcoolique, les fractions DCM, AcOEt, et Butanolique possédaient chacune une activité vasodilatatrice marquée avec des CE₅₀ respectivement de : $0,95 \pm 0,1$; $0,45 \pm 0,03$; $0,50 \pm 0,02$ et $0,32 \pm 0,09$ mg/ml.

Mots clés : *Micromeria*, Antihypertension, Vasodilatateur, Cardiomodérateur, Innovateur thérapeutique

ABSTRACT

Many diseases still persist in the world despite the galloping progress of technology and drug developments. While some of them are persistent, because they could not be eradicated, others are qualified as refractory, not responding to the indicated treatments; arterial hypertension is one of them. The latter is currently causing havoc. Therefore, finding an innovative system to fight against this refractory character of hypertension is a priority. This justified the choice of this research topic on *Micromeria flagellaris*, a traditional antihypertensive plant and endemic of Madagascar.

Since Hypertension is a disease with multiple etiologies, several organs especially of the circulatory system, can be the seat of physiological dysfunctions, such as the heart, the vessels, the blood and/or the kidneys.

Therefore, for the fundamental research part, tests of antihypertensive activities of hydroalcoholic extracts, and its fractions at various doses on pharmacological models on the one hand *in vivo* on rats of Wistar strain and on the other hand, *in vitro* on isolated organs such as heart and vessels have been performed.

The hydroalcoholic extract *in vivo* showed both an antihypertensive activity from 250 mg/Kg and a diuretic activity at the same dose.

The hydroalcoholic extract administered *per os in vivo* showed both antihypertensive and diuretic activity from the dose of 250 mg/Kg. The hydroalcoholic extract was then fractionated by chromatographic methods using gradient solvents of increasing polarities, ranging from hexane, to dichloromethane, to ethyl acetate and then to butanol.

The hydroalcoholic extract and each of its fractions were tested on isolated aortas. The hydroalcoholic extract, DCM, AcOEt, and Butanolic fractions each possessed marked vasodilator activity with EC50s of: 0.95 ± 0.1 ; 0.45 ± 0.03 ; 0.50 ± 0.02 ; and 0.32 ± 0.09 mg/mL, respectively.

Key words : *Micromeria*, Antihypertensive, Vasodilator, Cardiomoderator, Therapeutic innovator

INTRODUCTION

Parmi les systèmes les plus complexes et en évolution permanente, le domaine de la santé figure en tête de liste aussi bien épidémiologique que thérapeutique.

Selon Omran (1971), sur le point épidémiologique, la charge de morbi-mortalité connaissait une transition vers la moitié du 20^{ème} siècle, en partant des maladies transmissibles et/ou associées aux infections et aux conditions maternelles, périnatales et nutritionnelles vers les maladies chroniques non transmissibles et émergentes telle que l'hypertension artérielle. Par contre dans le domaine thérapeutique, les résultats des progrès technologiques pour la promotion de la santé et le développement de nouveaux médicaments sont parfois limités face à certaines maladies qui ne sont pas encore maîtrisées, car elles sont réfractaires (Krapfs, 2017). L'hypertension artérielle fait partie de ces maladies appelées réfractaires. Cette pathologie qui touche 60% du genre féminin et 49% du genre masculin, est considérée comme un vrai problème de santé publique à l'échelle planétaire (OMS, 2021). Toujours d'après l'OMS, dans le panorama sur l'hypertension artérielle, cette maladie est caractérisée par une élévation permanente et/ou paroxystique de la pression artérielle supérieure ou égale à 140 mmHg pour la pression artérielle systolique et/ou supérieure ou égale à 90 mmHg pour la pression artérielle diastolique. Cette maladie est à étiologie multiple, ainsi plusieurs organes du système circulatoire comme le cœur, les vaisseaux, le sang et/ou les reins, peuvent être le siège des dysfonctionnement physiologiques, raison de l'augmentation des chiffres tensionnels (Blacher et *al.*, 2013).

D'après la physiopathologie et les organes responsables du dysfonctionnement, le choix des médicaments contre l'hypertension artérielle dépend de ces étiologies. Ainsi, pour diminuer le débit cardiaque, ils peuvent diminuer la fréquence cardiaque ou la volémie, et pour diminuer la résistance périphérique, ils provoquent une vasodilatation.

Dans tous les cas, quelles que soient les maladies, les médicaments prescrits par la médecine allopathique sont de plus en plus onéreux et restent inaccessibles à la majorité des populations des pays en développement (Yaya et Kengne, 2014). Ces

dernières ont recours à la médecine traditionnelle car l'utilisation des plantes médicinales n'est pas seulement une alternative pour se soigner, mais aussi fait partie de la culture des pays du sud. La richesse de Madagascar en plantes médicinales qui ne demandent qu'à être utilisées et donc valorisées est, reconnue par tous (Rafidison et *al.*, 2019).

Le présent article est axé sur l'étude chimique et l'activité antihypertensive de l'extrait de la plante *Micromeria flagellaris*.

MATÉRIELS ET MÉTHODE

Matériels biologiques

Matériel végétal

Les parties aériennes des *Micromeria flagellaris* ont été récolté dans la région d'Ankaratra en 2019, séchées à l'ombre et broyées.

Matériel animal

Les modèles pharmacologiques utilisés sont des rats de souche Wistar, âgés de 6 à 8 semaines, des souris de souche Swiss de 4 à 6 semaines et des cochons d'Inde âgés de 5 semaines. Les rats et les souris provenaient de l'animalerie de l'Institut IMRA, les animaux y sont élevés dans le cycle normal de la lumière et de l'obscurité 12h/12h, avec un accès à l'eau à volonté, ils sont nourris avec de la provende LFL 1420. Les cochons d'Inde provenant du marché d'Itaosy sont conditionnés au laboratoire pendant 1 semaine avant les tests.

Les réactifs utilisés

Les réactifs utilisés pour les tests *in vitro* sont rapportés sur le Tableau 1.

Tableau 1 : Liste des réactifs des milieux de survie

Réactifs	Solution physiologique Krebs-Henseleit	Solution physiologique Krebs-Henseleit sans calcium avec EDTA	Solution physiologique Krebs-Henseleit sans calcium sans EDTA
	Quantité en mM	Quantité en mM	Quantité en mM
NaCl	122	122	122
KCl	5	5	5
MgSO ₄	0,56	0,56	0,56
KH ₂ PO ₄	1,2	1,2	1,2
NaHCO ₃	25	25	25
Glucose	12	12	12
CaCl ₂	1,2.	0	0
EDTA	0	0,2.	0

Les solvants utilisés

Les solvants d'extraction et de fractionnement utilisés pendant les travaux pour la partie chimie sont l'hexane, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle, l'éthanol, le butanol et l'eau.

Partie Chimie

Préparation de l'extrait

Les méthodes de la préparation de l'extrait décrite et utilisée par Hobou et *coll.* (2011), a été retenue pour la préparation de l'extrait.

Concernant la préparation, 500 g de poudre de plantes ont été macérés dans 5 litres de mélange EtOH/ H₂O (70/30) V/V. L'ensemble est laissé sous agitation pendant 72 heures (200 tours /minute).

La solution extractive est filtrée avec du coton hydrophile, et le solvant est évaporé avec un rotavapor de marque BUCHI afin d'obtenir l'extrait hydroalcoolique brut. L'extrait hydroalcoolique obtenu a été soumis à un test de criblage phytochimique selon la méthode décrite par Fong et *al.* (1977).

Pour le fractionnement 70 g d'extrait hydroalcoolique est redissous à son tour dans 1 litre d'eau distillée chaude, la solution est filtrée, le filtrat est partagé avec des solvants à gradient de polarité croissante allant de l'hexane, du dichlorométhane, de l'acétate d'éthyle, et du butanol.

Des produits sont isolés à partir des fractions obtenues à l'aide des techniques de chromatographie liquide à basse pression sur colonne en utilisant divers mélanges d'éluant et d'adsorbant de gel de silice.

L'ensemble des méthodes d'extraction, de fractionnement et d'isolement est rapporté sur le Diagramme 1 suivant.

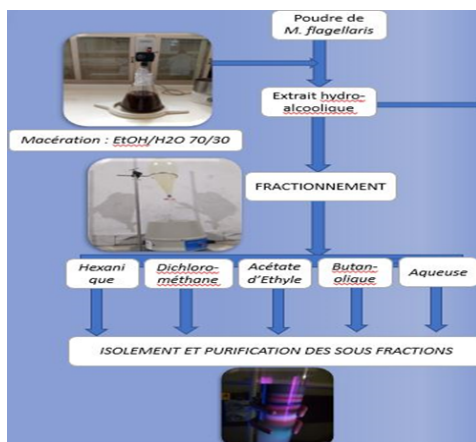


Diagramme 1 : Ensemble des méthodes d'extraction, de fractionnement et d'isolement

Partie pharmacologie

Test de toxicité aigüe

La toxicologie est depuis longtemps reconnue comme étant la science des poisons. Elle étudie les effets nocifs des substances chimiques de synthèse ou d'origine naturelle sur les organismes vivants (La pointe, 2014). Ainsi le test de toxicité permet de découvrir l'innocuité, la toxicité, ou même la létalité d'un produit à destination alimentaire ou pharmacologique afin de garantir la sécurité de ses utilisateurs.

La répartition des animaux selon les volumes des excipients ou d'extrait administré par voie orale est récapitulée dans le Tableau 2 ci-dessous.

Tableau 2 : Répartition des animaux selon les volumes d'eau ou de solution d'extrait de *Micromeria flagellaris*

Lot 1 témoin			Lot 2 : Extrait à 0,5 g/kg			Lot 3 : Extrait à 1 g/kg			Lot 4 : Extrait à 2 g/kg		
Souris	Poids	V.A*	Souris	Poids	V.A*	Souris	Poids	V.A*	Souris	Poids	V.A*
1	19,5	0,19	1	24	0,08	1	24,8	0,16	1	26	0,32
2	21, 8	0,21	2	24	0,08	2	25	0,16	2	30	0,32
3	22	0,22	3	24,8	0,08	3	25	0,16	3	32	0,32
D**	Q.S.P		Dilution au 1/4			Dilution au 1/2			Solution mère		

V.A* = Volume administré. D** = dilution

Modèle pharmacologique

Des souris de race Swiss âgées de 6 semaines environ sont utilisées pour l'évaluation de la toxicité de l'extrait hydroalcoolique de la plante *Micromeria flagellaris*.

Préparation des animaux

Avant l'administration de l'extrait, les animaux sont mis à jeun pendant 12 heures, avec toutefois un accès libre à l'eau (Djyh et coll., 2010).

Pour l'identification des animaux, des colorations des différentes parties de leurs corps ont été effectuées (codes couleurs) afin de pouvoir préciser la dose à administrer. Et pour des doses croissantes de 0,5 ; 1 ; 2 g/kg, les souris ont été réparties en nombre égal, en 4 lots de 4 souris dont 1 témoin.

Les animaux sont surveillés pendant les 12 heures après l'administration ; le temps et la dose du premier décès sont notés afin de déterminer le seuil de toxicité de l'extrait.

Test d'activité antihypertensive

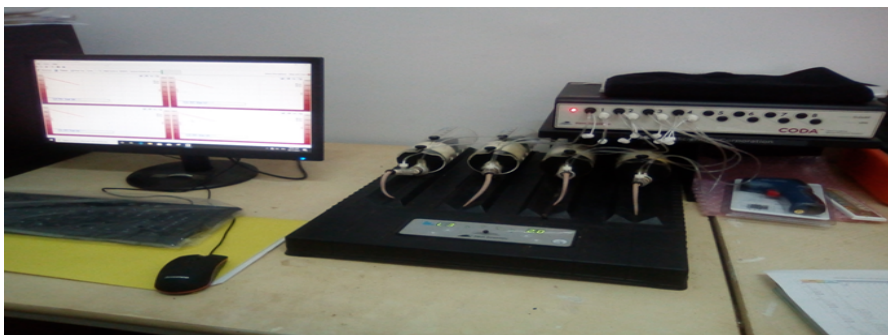
Modèle pharmacologique

Des rats de souches Wistar âgés de 8 à 10 semaines, pesant entre 205 à 316 g de sexe mâle ont été choisis pour effectuer le présent test.

Préparation des animaux

Les rats ont été rendus hypertendus en remplaçant la provende normale avec un régime hypersodé pendant 6 semaines avec un accès libre à l'eau. Pour préparer ce régime, 8 g de NaCl ont été incorporés dans 92 g de provende (Badyal et coll., 2003). Avant de commencer le régime hypersodé et pendant cette période, la pression artérielle des rats a été mesurée au niveau de leur queue à l'aide d'un tensiomètre électropneumatique de marque CODA®, 2 fois par semaine, à la même heure dans un même endroit tranquille au laboratoire.

Le dispositif pour la mesure journalière de la pression artérielle des rats est rapporté sur la Photographie 1.



Photographie 1 : Prise bi-hebdomadaire de la tension artérielle des rats avec un tensiomètre électropneumatique CODA®

Test d'activité antihypertensive proprement dite

L'activité de l'extrait sur les rats rendus hypertendus a été étudiée en suivant la variation de la pression artérielle des animaux traités avec l'extrait par rapport au témoin. A partir du 22^{ème} jour, le régime hypersodé a été arrêté, et les animaux ont été nourris avec de la provende normale et ont eu toujours un accès libre à l'eau. Les rats ont été mis à jeun pendant 18 heures avant l'expérience, puis répartis en 4 lots : 1 lot témoin (-), 1 lot témoin (+) et 2 lots traités avec l'extrait. Les animaux du lot témoin (-) et (+) ont reçu respectivement de l'eau distillée à 10 ml/kg et de l'amlodipine à 0,16 mg/kg. Les 2 autres lots ont reçu l'extrait hydroalcoolique aux doses respectives de 200 et 400 mg/kg (Hobou et coll., 2011).

La pression artérielle de ces rats a été mesurée 2 fois par semaine 10 minutes avant l'administration de l'extrait et de l'eau distillée, à partir du 22^{ème} jour jusqu'au retour à la valeur de la pression artérielle à la normale.

Test d'Activité diurétique de l'extrait hydroalcoolique

L'activité de l'extrait sur la diurèse a été étudiée en mesurant le volume de l'urine émise par les rats pendant 24 heures. Les rats rendus hypertendus ont été mis à jeun pendant 18 heures avec un accès libre à l'eau (Sanogo et coll., 2009), puis ils ont été répartis en 4 lots : 1 lot témoin (-), 1 lot témoin (+), et 2 lots traités avec extrait. Les rats du lot témoin ont ensuite reçu 10 ml/kg d'eau distillée par voie orale, tandis que les animaux des 2 lots restants ont reçu l'extrait aux doses de 200 et 400mg/kg par voie orale dans un volume de 10 ml/kg (Hobou et coll., 2011). Ces rats ont ensuite reçu une surcharge hydrique de 50 ml/kg 10 minutes après l'administration de l'extrait et de l'eau distillée. Juste après cette surcharge hydrique, les rats ont été placés dans une cage à métabolisme individuelle pendant 24 heures, et pendant cette période, l'urine émise par chaque animal a été récoltée dans un récipient, et son volume a été mesuré (Elhajili et coll., 2001).

Test d'activité vasodilatatrice

L'activité vasodilatatrice de l'extrait hydroalcoolique de *Micromeria flagellaris* a été étudiée sur l'aorte isolée de rat de souche Wistar. Pour isoler l'aorte, le rat a été sacrifié, puis placé en décubitus dorsal. Une thoracotomie a été réalisée, puis l'aorte a été repérée et prélevée (Zahoui et coll., 2010). Elle a été plongée dans une solution physiologique Krebs-Henseleit normale.

L'aorte a ensuite été débarrassée des tissus adipeux, puis découpée en anneaux de 3 à 4 mm de longueur. Puis l'anneau a été ensuite monté dans une cuve à organe isolé et suspendu à des tiges métalliques reliées à des capteurs de tension AIRPAX®, eux-mêmes reliés à un enregistreur de tension de marque BUXCO®. La cuve remplie de solution physiologique Krebs-Henseleit normale de pH égale à 7,4 est maintenue à une température de 37° C et aérée avec du carbogène (O₂ à 95% et CO₂ à 5%). (Ouedraogo, 2008).

On a laissé l'aorte se stabiliser pendant 45 minutes. Pendant ce temps, le bain a été renouvelé toutes les 15 minutes. Après la stabilisation, la phényléphrine a été injectée dans le bain afin de réaliser une concentration finale de 10⁻⁴ M dans le bain, pour tester la viabilité de l'organe et pour le sensibiliser (Mélançon, 2005). Après la contraction provoquée par la phényléphrine, la préparation a été rincée 3 fois pendant une nouvelle période de stabilisation de 45 minutes.

Puis la phényléphrine a été injectée dans le bain d'une manière cumulative à 10^{-6} M jusqu'à l'obtention de la contraction maximale de l'aorte. Au plateau de la contraction, l'extrait a été injecté dans le bain de façon cumulative jusqu'au relâchement total de l'organe (Fernandez et *coll.*, 2013).

RÉSULTATS

Partie Chimie

Résultats de l'extraction

Les résultats de l'extraction par le mélange de solvant EtOH/H₂O à partir de 500 g de poudre des parties aériennes de la plante est de 70 g.

Ce résultat donne un rendement d'extraction jusqu'à l'épuisement de :

Rendement = 14%

Résultats du fractionnement

Les résultats des fractionnements à partir de l'extrait hydroalcoolique de la plante sont rapportés dans le Tableau 3 suivant.

Tableau 3 : Résultats du fractionnement de l'extrait hydroalcoolique

Solvant	Hexane	DCM	AcOEt	nBuOH	H ₂ O
Volume solvant (L)	4	4	8	4	1,2
Masse de la fraction (g)	3	8,7	6,36	16	28,94
Rendement (%)	4,28	12,42	9,08	22,85	41,34

Résultats du criblage phytochimique

Le criblage phytochimique montre la présence des métabolites secondaires récapitulé dans le Tableau 4.

Interprétation

L'extrait hydroéthanolique et ses fractions sont très riches en métabolites secondaires bioactifs.

Tableau 4 : Résultats des criblages phytochimiques

Familles chimiques	Fractions				
	H ₂ O/EtOH (70/30 V/V)	DCM	Acétate	Butanol	H ₂ O
ALCALOIDES	+++	+++	++	+	+
FLAVONOIDES	+++	-	++	++	+++
TANINS ET POLYPHENOLS	+++	+	+	+++	++
STEROIDES ET TRITERPENES	+++	+	+++	++	++
SAPONINES	+++	+++	-	-	++
LEUCOANTHOCYANES et ANTHOCYANES	+++	++	++	+	++

Partie pharmacologie

Résultats de l'étude de la toxicité aiguë

Les résultats sur la létalité des produits aux doses respectives de 0,5 ; 1 et 2 g/kg sont rapportés dans le Tableau 5 suivant.

Tableau 5 : Résultats des tests de toxicité aiguë de l'extrait hydroalcoolique de la plante *Micromeria flagellaris*

Lots des animaux par dose	Temps de 1er décès après administration	Nombre des animaux décédés
Lot N° 1 (T) RKVJD : 0 g/kg	0	0
Lot N° 2 (Tx1) RKVJD : 0,5 g/kg	0	0
Lot N° 3 (Tx2) RKVJD : 1 g/kg	0	0
Lot N° 4 (Tx3) RKVJD : 2 g/kg	0	0

Interprétation

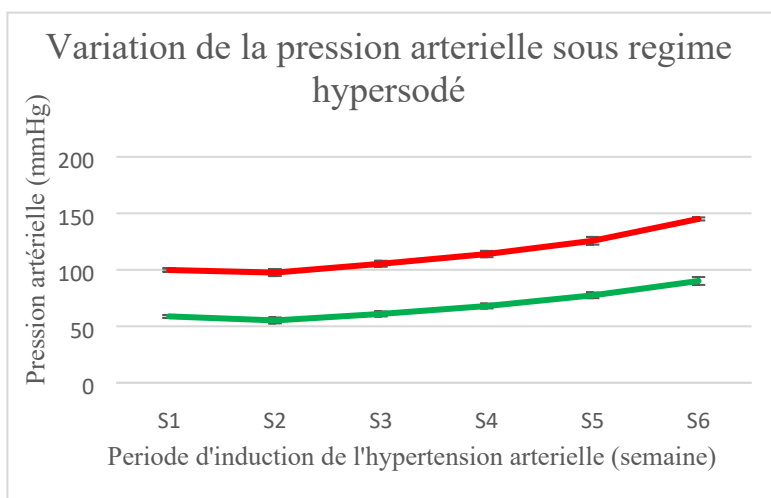
Aucun animal n'est décédé dans tous les lots jusqu'à l'administration de 2 g/kg d'extrait hydroalcoolique ; ainsi la non létalité du produit est vérifiée. Par contre, des signes d'effets physiologiques passagers et réversibles ont été observés.

Concernant les signes physiologiques qui pouvaient être associés avec le système nerveux autonome et somatique, des ptosis, poils hérissés, apraxie,

sédentarité et un état anesthésié ont été observés. Pour le système digestif une diarrhée se manifeste à la dose de 2 g/kg d'extrait hydroalcoolique, et les symptômes qui pouvaient être associés au fonctionnement du système respiratoire observés étaient des frottements du nez, dyspnée, bradypnée, et apnée qui apparaissent dans presque tous les lots.

Résultats de l'étude de l'activité antihypertensive

En ce qui concerne l'induction de l'hypertension artérielle expérimentale, à l'issue des régimes hypersodés à 8 % pendant 6 semaines, les résultats de la variation de la pression artérielle des animaux d'expérimentation sont rapportés sur le Graphe 1.



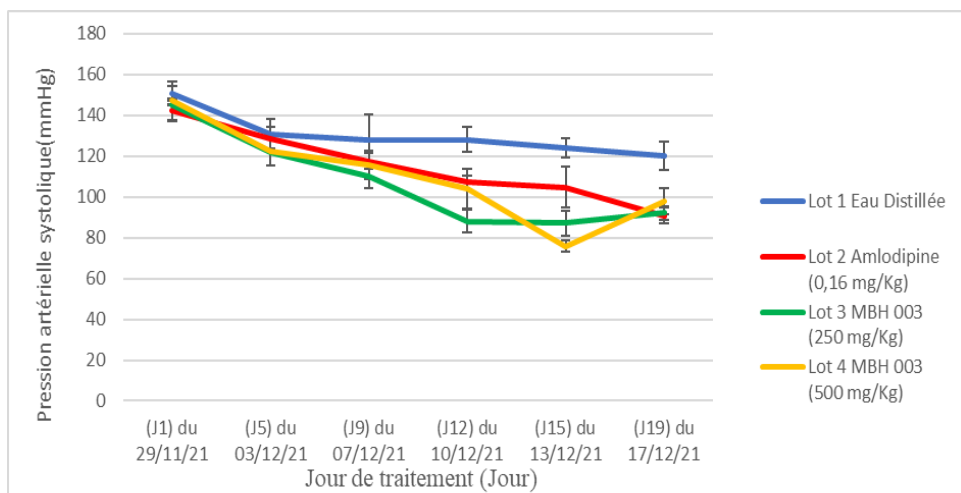
Graphe 1 : Variation de la pression artérielle des rats sous régime hypersodé pendant 6 semaines exprimée en ($m \pm e.s.m$; $n = 4$; $P < 0,05$)

Interprétation

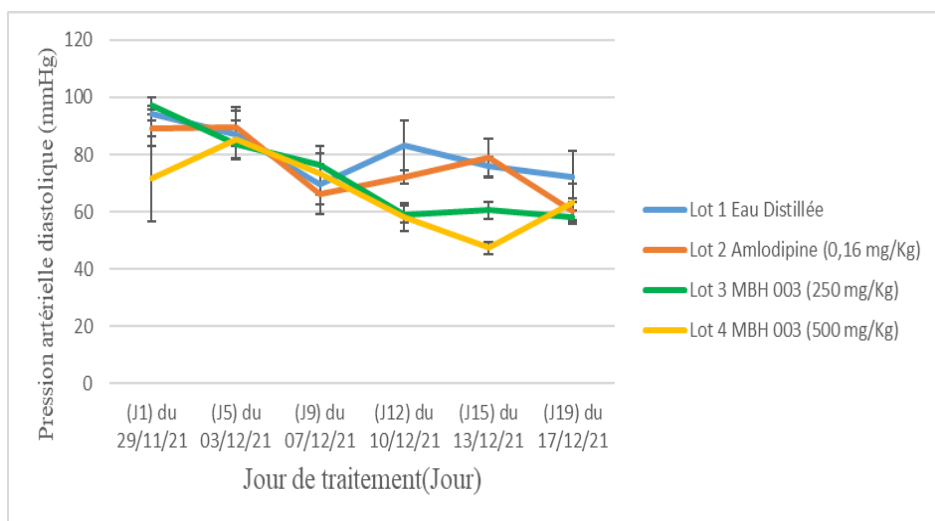
Chez les animaux sous régime hypersodé de 8 % pendant 6 semaines, une augmentation de la pression artérielle systolique et diastolique respective de 45 et 32 mmHg a été observée.

Résultats du test d'activité antihypertensive proprement dite

Les résultats du test d'activité antihypertensive de l'extrait hydroalcoolique des parties aériennes de la plante *Micromeria flagellaris* par voie orale à 250 et 500 mg/kg avec celui du lot témoin négatif et positif qui ont reçu respectivement de l'eau distillée et de l'amlodipine à 0,16 mg/kg sont rapportés sur les Graphes 2 et 3 suivants.



Graph 2 : Variation de la pression artérielle systolique des rats rendus hypertendus témoins négatifs, témoins positifs et rats rendus hypertendus traités par l'extrait *Micromeria flagellaris* aux doses de 250 mg/kg 500 mg/kg. ($m \pm e.s.m.$ n = 4 ; $P < 0,05$)



Graph 3 : Variation de la pression artérielle diastolique des rats rendus hypertendus témoins négatifs, témoins positifs et rats rendus hypertendus traités par l'extrait *Micromeria flagellaris* aux doses de 250 mg/kg 500 mg/kg. ($m \pm e.s.m.$ n = 4 ; $P < 0,05$).

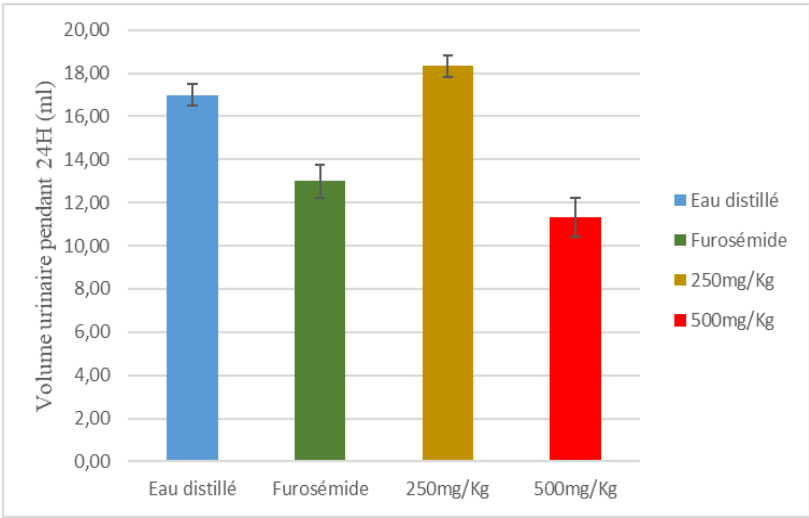
Interprétation

Après l’administration journalière d’une dose de 250 mg/kg en partant de $145 \pm 0,25$ mmHg, une diminution de la pression artérielle systolique de 53 mmHg a été observée au bout du 19^{ème} jour de traitement. Pour celle de 500 mg/kg, la valeur de cette diminution est de 49,5 mmHg pour un traitement de 19 jours. La pression artérielle systolique de ce lot diminue jusqu’à $75,75 \pm 2,87$ mmHg au 15^{ème} jour de traitement et un retour vers $97,75 \pm 6,56$ mmHg a été observé au 19^{ème} jour.

Pour la pression artérielle diastolique, une diminution en partant de 97 ± 3 mmHg à $76,5 \pm 6,5$ mmHg au bout de 9 jours à la dose de 250 mg/kg a été observée. La valeur revient à $58,25 \pm 2,18$ mmHg au bout du 19^{ème} jour.

Résultats du test d’Activité diurétique de l’extrait hydroalcoolique

Suite à l’étude de l’effet de l’extrait hydroalcoolique sur la diurèse, les résultats sont rapportés sur le Graphe 4.



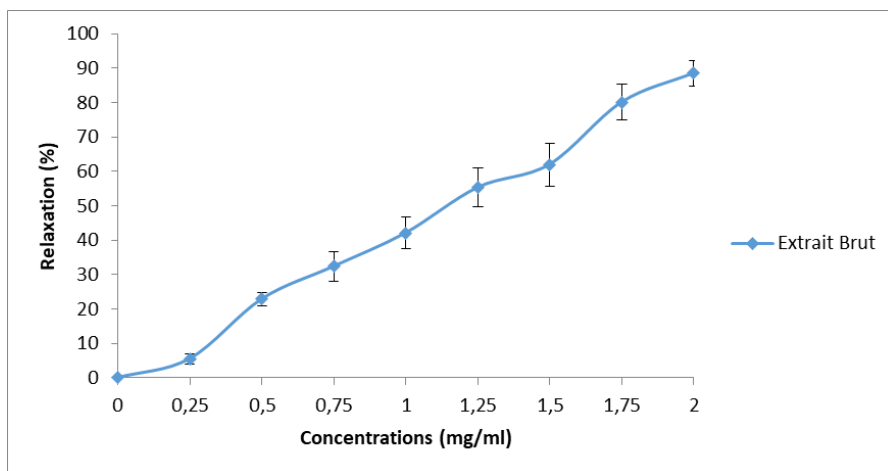
Graphe 4 : Variation du volume d’urine émis pendant 24 h chez le lot témoin, le lot traité par le furosémide et les lots traités avec l’extrait par voie orale aux doses de 250 mg/kg et 500 mg/kg. ($m \pm$ e.s.m. ; $n = 4$; $P < 0,05$)

Interprétation

L’extrait à la dose de 250 mg/kg permet d’avoir un maximum de volume urinaire émis pendant 24 h de 18,33 ml, qui est supérieur par rapport à celui obtenu par le furosémide et qui est égal à 13 ml. En augmentant la dose de l’extrait hydroalcoolique à 500 mg/kg, une diminution du volume urinaire récolté a été observée.

Résultats du test d'activité vasodilatatrice

L'effet de l'extrait MBH 003 sur les vaisseaux isolés pré-contractionnés avec la phényléphrine à 10^{-6} M à dose cumulative et croissante est rapporté sur le Graphe 5.



Graphe 5 : Pourcentage de relaxation de l'aorte isolée pré-contractionnée avec la phényléphrine sous l'effet de l'extrait EtOH/H₂O de *Micromeria flagellaris*

Interprétation

Après injection de la phényléphrine avec une concentration finale de 10^{-6} M, l'aorte isolée est à la contraction maximale. Au plateau de contraction, l'extrait de la plante *Micromeria flagellaris* est injecté de façon cumulative à raison de 0,25 mg/ml jusqu'à 2 mg/ml. La relaxation vasculaire est enregistrée avec un effet progressif et dose dépendante. La CE₅₀ du produit est de $0,95 \pm 0,1$ mg/ml et la relaxation maximale obtenue à la concentration maximale dans la cuve à 2 mg/ml est de l'ordre de 88,50%.

DISCUSSION

L'innocuité de l'extrait hydroéthanolique de la plante *Micromeria flagellaris* est justifiée jusqu'à la dose de 2 g/kg par voie orale. Cette dose est suffisamment élevée afin de vérifier l'éventuelle toxicité et/ou létalité, car la quantité administrée est déjà proche de celle des aliments. A l'issue du criblage phytochimique, l'extrait et ses fractions contiennent de fortes teneurs en métabolites secondaires courants chez les

végétaux tels que des alcaloïdes, flavonoïdes, leucoanthocyanes, tanins, des polyphénols, stéroïdes, triterpènes, saponines et anthocyanes. Ces métabolites cités sont tous biologiquement actifs et non toxiques jusqu'à la dose ci-dessus pour la plante sujet de la présente étude (Lebri et *al.*, 2015). Devant cette innocuité, quelques phénomènes biologiques passagers et réversibles ont été observés pendant les 24 h suivant l'administration. Dans la liste, la sédentarité, l'état anesthésié et le ptosis sont les premiers enregistrés. La sensation de froid qui se manifeste par le poil hérissé et regroupé est apparue dans presque tous les lots. Ces symptômes liés à l'activité du système nerveux somatique pourraient être associés à l'ingestion à forte dose d'alcaloïde contenant dans l'extrait. Concernant l'effet sur le système autonome précisément respiratoire, des dyspnées, tachypnées et quelques apnées ont été observées à la dose de 2 g/kg. Ces symptômes de gêne respiratoire passagère et réversible pourraient être dûs à la forte présence de tanins de l'extrait de *Micromeria flagellaris*.

Concernant la vérification de l'activité présumée « antihypertensive », la préparation des modèles pharmacologiques via une hypertension expérimentale par des régimes hypersodés à 8 % selon la méthode utilisée et décrite par Burnier et *al.* (2009), nous a permis d'avoir une augmentation moyenne de 45,24 mm Hg au bout de 6 semaines qui aboutit à l'obtention d'animaux hypertendus expérimentaux. Cette augmentation de la pression artérielle *in vivo* chez le rat pourrait être associée à l'augmentation de la natrémie entraînant la rigidité artérielle et la volémie, cause principale de l'hypertension artérielle expérimentale (Dustan, 1970).

Au sommet de l'hypertension artérielle expérimentale le chiffre tensionnel moyen est de 147,25±9,43 mmHg et de 71,5±14,8 mmHg (PAS, PAD). L'administration de produit de référence et de « l'extrait testé » aux doses de 250 mg/kg et 500 mg/kg ont permis d'avoir les diminutions des pressions artérielles, cette diminution pourrait être associée à la présence des alcaloïdes (Burnier et *al.*, 2009).

L'effet diurétique de l'extrait est observé pendant les 24 h suivant l'administration par voie orale de 250 mg/kg. Cette diminution est en concordance avec le retour de la pression artérielle à la normale car la variation de la volémie est un facteur influençant l'augmentation ou la diminution de la pression artérielle. Cette activité pourrait être due à la présence de tanins et d'alcaloïdes. (Sanogo et *al.*, 2009)

En échange de cette activité diurétique, l'extrait hydroalcoolique épargne les ions sodium et potassium. Cette spécificité peut être expliquée par le mécanisme d'action probable de l'extrait en limitant la réabsorption d'eau au niveau du tubule rénal à partir du tube contourne proximal jusqu' au tube collecteur. Pourtant, les ions

peuvent circuler librement pendant leur passage à l'intérieur du tubule rénal. Ce mécanisme probable est comparable à celui du diurétique osmotique (Ntchapda et *al.*, 2016).

L'approfondissement de l'étude du mécanisme d'action de l'extrait conduit à la réalisation des tests d'activité vasodilatatrice *in vitro* sur des modèles pharmacologiques, aorte isolée de rat pré contractée avec du Phényléphrine à 10^{-6} M. Une relaxation vasculaire progressive et à dose dépendante jusqu' à 88,5 % a été obtenue avec des concentrations croissantes et cumulatives allant de 0,25 à 2 mg/ml. Cette activité vasorelaxante peut être associée avec la présence de flavonoïdes (Sakat et *al.*, 2009), et polyphénols (Hügel et *al.*, 2016).

L'ensemble des résultats corrobore la vertu traditionnelle de la plante *Micromeria flagellaris* empiriquement antihypertensive. Et les recherches appliquées effectuées définissent ses activités multithérapeutiques combinées fixes, en tant que vasodilatateur et diurétique.

CONCLUSION

L'ensemble des travaux effectués sur la plante codée *Micromeria flagellaris* traditionnellement utilisée pour lutter contre l'hypertension artérielle a permis de vérifier d'une façon scientifique cette activité présumée. Dans l'hypertension artérielle expérimentale, l'extrait de la plante étudiée diminue significativement la pression artérielle *in vivo* chez le rat à partir de 250 mg/kg. Le même extrait fait preuve d'activité diurétique à la dose de 250 mg/kg tout en préservant les ions potassium et sodium.

Concernant le test *in vitro*, la plante montre un effet vasodilatateur à partir de 0,25 mg/ml avec un effet dose dépendant. Les métabolites secondaires présents dans l'extrait ont été également identifiés.

L'objectif visé au départ sur la vérification de l'activité antihypertensive de la plante a été atteint dans la présente étude. Cependant, des études approfondies tels que l'identification de la fraction active et l'isolement des principes actifs sont dans la liste des travaux à mener.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) Badyal, D. K., Lata, H., Dadhich, A. P. (2003). Animal models of Hypertension and effect of drugs. *Ind. J. Pharmacol.*, 35 : 349-362.
- 2) Blacher, J., Halimi, J-M., Hanon, O., Mourad, J-J., Pathak, A., Schnebert, B., Girerd, X., société française d'hypertension artérielle. (2013). Prise en charge de

l'hypertension artérielle de l'adulte. Recommandations 2013 de la société française d'hypertension artérielle. *Ed. Presse Med.*, Paris, 1-7.

- 3) Burnier, M., Bochud, M., Vogt, B., Maillard, M., (2009). Transport du sodium : implications dans l'hypertension artérielle. *Méd. Sci., Actualités néphrologiques*. Ed. Flammarion, France., 260-270.
- 4) Djyh, G. B., Adeoti, M. F., Djaman, A. J., Guede Guina, F., Sess ED. (2010). Evaluation de la toxicité aiguë de l'extrait total aqueux d'écorces de *Mansonia altissima* (bois bete) chez les souris. *J. sci. pharm. biol.*, 11 (2): 13-20
- 5) Dustan, H. P., (1970). Etiology and pathogenesis of hypertension. *West. J. Med.*, 3 (1) : 86 – 87.
- 6) Elhajili, M., Baddouri, K. (2000). Etude comparative du pouvoir diurétique de quelques plantes médicinales du Maroc. *J. Ethnopharmacol. Biologie et Santé.*, 1 (1) : 38 – 43.
- 7) Fernandez, I. J., Gomez, P. N., Parodi, J., Mejia, F. R., Salazar, R. S. (2013). Chilean crude extract of *Ruta graveolens* generates vasodilatation in rat aorta at cellular subtoxic concentrations. *Adv. Biosci. Biotechnol.*, 4 : 29 - 36.
- 8) Fong, H. H. S., Tin-wa, M., Farnsworth, N. R. (1997). Phytochemical Screening. *Rev. Univ. Illinois. Chicago, (USA)*, 275 : 6 - 7.
- 9) Houbou, D. R. A. D., Fofie, N. B. Y., N'Guessan, K., Kone, D. (2011). Evaluation de la toxicité de stachytarpheta indica chez la souris. *J. Sci. Pharm. Biol.*, 12 (1) : 6 - 12.
- 10) Hügel, H. M., Jackson, N., May, B., Zhang, A. L., Xue, C. C., 2016. Polyphénol protection and treatment of hypertension. *J. of Phytomed.*, 23 (2) : 220 – 231.
- 11) Krapf, R., Kummer, M., Mirlacher, M., Guido, S., Cathomas, G., Fleiner, M., and Barbara, C. (2017). Arterial Neovascularization and Inflammation in Vulnerable Patients *AHA J. of circulation* 18 (110); 186-210
- 12) Lapointe, G. (2004). Notion de Toxicologie Ed. *Commission de la santé et de la sécurité du travail du Québec (2ème édition)* : 40-54 ; 60-65
- 13) Lebri, M., Bahi, C., Fofie, N. B. Y., Gnahoue, G., Lagou, S. M., Achibat, H., Yapi, A., Zirih, G. N., Coulibaly, A., Hafid, A. et Khouili, M., (2015). Analyse phytochimique et évaluation de la toxicité aiguë par voie orale chez des rats de l'extrait total aqueux des feuilles de *Abrus*.
- 14) Melancon, S. (2005). Caractérisation de la réactivité vasculaire et des actions hémodynamiques de l'insuline chez le rat spontanément hypertendu nourrit avec une alimentation sucrée. Mémoire soutenue pour l'obtention du grade de maître ès sciences Québec (CANADA) : 28 – 30.

- 15) Ntchapda, F., Talla, E., Obono, B. C., Dabole, B., Guido, S., Moccia, F., Tanzi, F., Tanyi, J. M., Dimo, T. (2013). Nitric oxide-dependent vasodilatation and intracellular Ca^{2+} concentration increase induced by 6, 8- dihydroxy-4-methoxyflavone in rat aorta. *J. Pharm. Phytother.*, 5 (7) : 132- 141.
- 16) Omran, A. (1971). The epidemiologic transition: a theory of the epidemiology of population change. *Milbank Memorial Fund Quarterly* 49 : 509-538.
- 17) Ouedraogo, M. V. W. (2008). Contribution à l'étude des propriétés antihypertensive de *guiera senegalensis j.f gmel* (COMBRETACEAE) évaluation in vitro de l'effet de l'extrait aqueux des feuilles sur la musculature lisse vasculaire (aorte isolée de lapin). Thèse présentée pour l'obtention du grade de Docteur en Pharmacie (BURKINA FASO) : 60 -63.
- 18) Rafidison, V., Ratsimandresy, F., Rakotondrajaona, R., Rasamison, V., Rakotoarisoa, M., Rakotondrafara, A., Rakotonandrasana, S. R. (2019). Synthèse et analyse de données sur les inventaires de plantes médicinales de Madagascar *J. of plants, people and Applied Research Ethnobotany Research & Application* (1) : 1-19
- 19) Sanogo, R., Halimatou, K. A., Ouassa, D., Drissa, D. (2009). Activité diurétique et salidiurétique d'une recette utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement de l'hypertension artérielle. *Rev. Méd. Mali.* 25 (4) : 1 - 6.
- 20) Zahoui, O. S., Nene-bi, S. A., Soro, T. Y., Traore, F. (2010). Etude des effets pharmacologiques de l'extrait aqueux de *Héliotropium indicum* Linn. (BORAGINACEAE) sur le coeur isolé de rat et aorte isolée de cobaye. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 4 (5): 1610 - 1620.

QUALITE ALIMENTAIRE DES HUILES VENDUES ET CONSOMMEES DANS LA VILLE D'ANTANANARIVO

par

RAZAFINDRAZAKA Vonimanitra ⁽¹⁾, RASOAMANARIVO Lalao Jeannine ⁽¹⁾,
HARIMALALA ANDRIAMBELO Nirina ⁽¹⁾, RAHANITRARIVONY
Veronirina ⁽¹⁾

(1) Parcours Sciences des Aliments et Nutrition, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, Madagascar

RESUME

Un inventaire des huiles vendues sur cinq marchés de la ville d'Antananarivo ainsi que la détermination de la qualité nutritionnelle et sensorielle ont été menés. Des enquêtes auprès des commerçants et gargotiers ont été réalisés pour l'inventaire et l'utilisation des huiles, suivies d'analyses physico-chimiques. Une série d'analyses sensorielles a été réalisée pour déceler leurs spécificités à savoir, étude descriptive, test triangulaire, test de notation et classement.

Les huiles de soja et de palme, vendues en vrac, conditionnées en jerricane ou en fût, sont les plus consommées par les ménages Malagasy ; elles représentent les 87% des ventes. Au moment de la vente, les qualités nutritionnelles de ces huiles sont satisfaisantes mais les conditions d'exposition pourraient provoquer des risques élevés d'altération. Utilisées en friture dans les gargotes, l'indice de peroxyde I_p a augmenté à 8,52 mEq O_2 /kg d'huile, pouvant atteindre 14 mEq. Ainsi, une dégradation par oxydation est observée. Les risques sanitaires liés à l'utilisation répétitive d'une huile ne sont pas encore connus par les vendeurs de rue, aucune précaution particulière n'est prise avant réutilisation. Il existe une variation des caractères organoleptiques des aliments conférés par la matière végétale à partir de laquelle a été extraite une huile. Les frites préparées avec les huiles de palme sont les moins appréciées par les dégustateurs alors que ces huiles sont les plus vendues sur le marché urbain.

Pour la protection des consommateurs et pour atténuer le risque de dégradation des huiles vendues, des actions de sensibilisation sont nécessaires auprès des vendeurs sur les conditions de stockage. Il en est de même pour les gargotiers concernant les pratiques à adopter durant les préparations des aliments de rue.

Mots clés : Qualité nutritionnelle, Qualité sensorielle, Huile de palme, Huile de soja, Huile de friture

ABSTRACT

Survey was taken from traders and street food vendors for an inventory and use of the oils sold in five markets of Antananarivo. The physicochemical characteristics of these oils were evaluated. Four types of sensory analysis were conducted to detect their specificities: descriptive study, triangular test, rating and classification test.

Soya and palm oils, sold in bulk packaged in jerrycans or drums, are the most consumed by Malagasy households, they represent 87% of sales. In the market, the nutritional qualities of these oils are satisfactory but the terms of display put them at a high risk of deterioration. Used in frying in these cheap eateries, the I_p peroxide value increased to 8,52 mEq O_2 /kg of oil, could easily reach 14 mEq. Thus, a degradation by oxidation is observed. The health risks associated with the repetitive use of an oil are not yet known by street vendors. No appropriate precautions were taken before reuse. There is a variation in the organoleptic characteristics of food conferred by the plant material raw from which an oil has been extracted. French fries prepared with palm oils are the least appreciated by tasters even though these oils are the most sold on the urban market.

For the protection of consumers and to reduce the risk of oil degradation, sensitization is needed to perform the sellers on storage conditions. Similarly, for food sellers, sensitization is necessary concerning good practices to be adopted during the preparation of products.

Key words : Nutritional quality, Sensory quality, Palm oil, Soya oil, Frying oil

INTRODUCTION

Le profil de consommation alimentaire des ménages Malagasy a été longtemps reconnu comme fortement hyper glucidique, basé sur les céréales, spécialement le riz et les racines amylacées. Le score de diversité alimentaire est faible, les matières grasses et les sucres sont en moyenne consommés 3 à 4 jours dans la semaine, les produits d'origine animale, 2 fois ou moins (WFP, 2006). Aussi, plus d'un tiers des ménages est affecté par l'insécurité alimentaire (INSTAT, 2013), et une carence en macro et micronutriments. Les huiles représentent une part importante du régime alimentaire chez l'homme et contiennent de nombreux nutriments essentiels (OCL, 2013). Or, à Madagascar, la fréquence d'utilisation et le volume d'huile utilisée dans les préparations ménagères sont très faibles (WFP, 2006) (Razafindrazaka, 2001).

La croissance, le développement et le maintien de l'organisme humain peuvent être affectés par la qualité et la quantité des lipides alimentaires. Ces nutriments doivent apporter les 30 à 35% des calories totales d'une journée (Corpet, 2014). En

effet, ces quantités sont indispensables pour couvrir les besoins énergétiques, pour répondre aux besoins en acides gras essentiels et en vitamines liposolubles. Il est admis qu'il n'existe pas de carence absolue en lipides. Cependant, les signes pathologiques comme le retard de croissance, les dermatoses ou la chute des cheveux associés aux malnutritions sévères pourraient être liés au déficit lipidique de la ration notamment en acide gras essentiel (AGE) (Razafindrazaka, 2001). En outre, un apport excessif de lipides alimentaires est associé à un accroissement du risque d'obésité, de cardiopathie coronarienne et de certains types de cancer (Kandji, 2001).

La qualité des matières grasses alimentaires joue également un rôle déterminant sur la santé. En effet, pendant un traitement hydro thermique, en présence d'oxygène, de chaleur et d'eau, les lipides alimentaires subissent des dégradations, à l'origine de la formation des molécules potentiellement toxiques au sein d'une matrice alimentaire (Pambou-Tobi, 2015). Ces composés modifient également les propriétés physico-chimiques de l'aliment.

Il est démontré que la couverture des besoins en lipides à partir des repas préparés au niveau des ménages est faible (Razafindrazaka, 2006). Cependant, il est remarqué que la restauration hors domicile incitée par le mode de vie actuel prend de l'ampleur. Les secteurs de restauration collective (gargotes, restaurants, cantines scolaires, ...) proposent des produits alimentaires frits de différentes natures qui sont très appréciés par les consommateurs. Ces nourritures constituent donc une source non négligeable de lipides alimentaires. A notre connaissance, les données sur la qualité des huiles utilisées se font rares ou ne sont pas complètes, il en est de même pour la diversité, l'origine et la qualité de ces matières grasses. Ce manque de données semble être un handicap pour la sécurité sanitaire des consommateurs. Pour cette raison, la diversité et la qualité d'huile sur le marché doivent être contrôlées de manière sérieuse et doivent faire l'objet de prévention aux phénomènes de dégradation du fait qu'elles sont les plus employées dans l'alimentation quotidienne. Afin de contribuer à la protection des consommateurs vis-à-vis de la consommation des fritures vendues dans la ville d'Antananarivo, le présent travail a pour objectifs d'identifier les types d'huiles disponibles et utilisés sur le marché, de déterminer leurs propriétés physico-chimiques, notamment celles des huiles de friture utilisées dans les restaurations collectives (gargotes, restaurants), et d'analyser les caractères sensoriels conférés par ces huiles.

MATERIELS ET METHODE

Ce travail comprend 3 étapes : il s'agit dans un premier temps d'inventorier les huiles vendues ainsi que le mode d'utilisation auprès des gargotiers, ensuite de faire une caractérisation physico-chimique de ces huiles et, enfin, d'analyser leurs caractères sensoriels.

Identification des huiles vendues et utilisées sur le marché

Cinq quartiers situés dans la Commune Urbaine d'Antananarivo ont été pris comme sites d'étude, en raison du fort nombre de vendeurs et de consommateurs sur les marchés. Ce sont les quartiers d'Anosibe, Anosipatrana, Itaosy, Ambohipo et Isotry. L'étude réalisée en février 2022 a permis deux sortes d'entretien individuel : i) Auprès de trente-cinq vendeurs (grossistes et épiciers) pour connaître les types d'huile disponibles, le rythme de vente et le mode de stockage ; ii) Auprès de quinze vendeurs d'aliments de rue pour identifier le mode d'utilisation de ces huiles. Les vendeurs à enquêter ont été choisis par tirage au hasard.

Détermination des propriétés physico-chimiques

Des prélèvements ont été effectués auprès de chaque vendeur enquêté (épiciers, gargotiers, ...) à la fin de l'entretien, tenant compte de la nature de l'huile (soja, palme, ...) et le conditionnement existant (fût, jerricane, ...). Le volume correspondant à un prélèvement est de 125 ml. Ces échantillons ont été stockés dans des bouteilles de couleur sombre, fermés puis étiquetés selon la nature du produit, le mode de conditionnement et le site d'enquête. Les échantillons ont été transportés au laboratoire et stockés au froid (4°C) jusqu'aux analyses.

La qualité nutritionnelle et le degré d'altération ont été déterminés par un éventail de tests analytiques. Pour ce faire, la méthode ISO 6883 : 2017 a été utilisée pour déterminer la densité D (ISO, 2017) ; l'ISO 6320 : 2017 pour l'indice de réfraction I_R (ISO, 2017) ; l'ISO 3961 : 2018 pour l'indice d'iode I_I (ISO, 2018) ; ISO 3657 : 2020 pour l'indice de saponification I_S (ISO, 2020) ; l'ISO 660 : 2020 pour l'indice d'acide I_A (ISO, 2020) et l'ISO 3960 : 2017 pour l'indice de peroxyde I_P (ISO, 2017).

Caractérisation sensorielle

Trois types d'huiles ont été soumis à des analyses sensorielles : une huile de palme en vrac, une huile de soja en vrac et une huile de soja conditionnée en bouteille. Pour ce faire, des pommes de terre blanches ont été utilisées comme aliment vecteur pour la friture, du fait de son faible apport en lipides et par sa facilité de préparation. Les frites obtenues ont été dénommées respectivement F1, F2, F3 et

ont été ensuite proposées à un jury de dégustateurs. Quatre épreuves ont été réalisées :

- L'épreuve descriptive afin de définir un profil d'identité des huiles à partir des termes spécifiques. Ce test a été réalisé avec des panels « qualifiés » et selon les directives décrites dans les normes ISO 6564 : 1985 et ISO 13299 : 2016 (ISO, 1985 ; ISO, 2016).

- L'épreuve triangulaire pour détecter s'il existe ou non une différence sensorielle entre 2 produits (ISO, 2021).

- L'épreuve de notation pour exprimer le niveau d'appréciation selon l'ISO 6658 : 2017 (ISO, 2017).

- Et enfin l'épreuve de classement pour ranger les frites selon la préférence des consommateurs ISO 8587 : 2006 (ISO, 2006). Les 3 derniers tests ont été réalisés avec des consommateurs « initiés » non entraînés, mais déjà familiarisés à la méthode.

RESULTATS ET DISCUSSION

Nature des huiles disponibles sur les marchés

Diversité et mode d'exposition

Les enquêtes sur terrain ont été réalisées en février 2022 et ont permis de faire ressortir que les huiles de soja et de palme sont les plus disponibles. L'huile de soja est fluide, tandis que l'huile de palme est solide. Trois modes de conditionnement existent : en bouteille de 1 litre, dans des fûts métalliques et dans des bidons plastiques. Très souvent, les récipients sont laissés à l'extérieur au soleil jusqu'à la fermeture du magasin car ils demandent beaucoup d'espace, quelquefois, lorsque les conditions le permettent, les bidons et les bouteilles sont gardés à l'intérieur (Figure 1).



a) Fût métallique



b) Jerricane



c) Jerricane stocké à l'intérieur

Pour l'huile de palme solide, les vendeurs la réchauffent dans des marmites ou l'exposent au soleil pour la faire fondre ; cette pratique n'est pourtant pas recommandée car elle favorise la dégradation rapide des lipides. En effet, la chaleur, la lumière associée à l'oxygène de l'air et à l'effet des récipients en métaux sont les facteurs favorables à une oxydation en augmentant la vitesse. Elles peuvent aussi entraîner une élévation des valeurs des différents indices (Marie-Elisabeth et Marie-Noelle, 2020). Pour ralentir ou limiter le processus de dégradation de l'huile pendant la vente et le stockage, il est recommandé de la mettre à basse température, à l'abri de la lumière, tout en respectant les dates limites de conservation. Il faut éviter le contact avec les métaux oxydables ou ions métalliques (fer, cuivre) et privilégier les récipients inertes (Conseil Supérieur de la Santé, 2012). Aussi, aux effets des antioxydants endogènes initialement contenus dans la matière première, se conjuguent ceux d'un antioxydant de synthèse rajouté au moment de la fabrication (Cuvelier et Latino-Martel, 2009) (Frankel, 2007), ce qui est déjà le cas pour les huiles en bouteille ; aucune information n'est cependant pas disponible pour les autres conditionnements.

Majoritairement, la durée de stockage chez un épicier/grossiste est de moins d'une semaine, ce qui signifie que, malgré les conditions d'exposition à la vente, la vitesse d'écoulement du produit est rapide et, par conséquent, le risque de dégradation est faible.

Type de vente

Les huiles sont majoritairement vendues en vrac ou conditionnées en bouteille de 1 litre chez les grossistes et les épiciers (76 %) ; 19 % des marchands ne vendent que des huiles en vrac et seulement 5 % d'entre eux ne vendent que des huiles en bouteille (Figure 2). L'huile de soja en vrac est la plus achetée par les ménages et la quantité minimale achetée correspond à 200 Ariary. Le prix de la bouteille varie entre 7.800 à 12.000 Ariary et cette dernière forme est la moins achetée car elle représente 13% des achats (Figure 3).

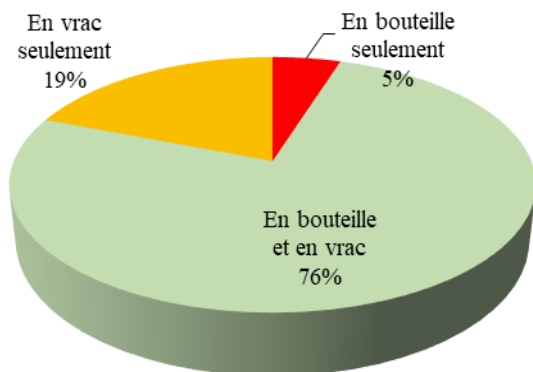


Figure 2 : Répartition des vendeurs selon le mode de conditionnement des huiles

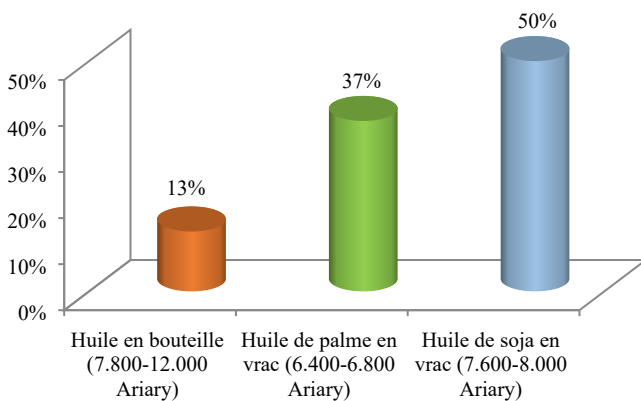


Figure 3 : Répartition des achats selon le prix et le mode de conditionnement

Utilisation des huiles dans les aliments de rue

Pour les fritures d'aliments de rue, 82 % des gargotiers utilisent l'huile de palme à cause du prix plus abordable et de la consigne mentionnée sur l'emballage ; 18 % uniquement utilisent l'huile de soja ; aucun n'utilise de l'huile conditionnée en bouteille (Figure 4).

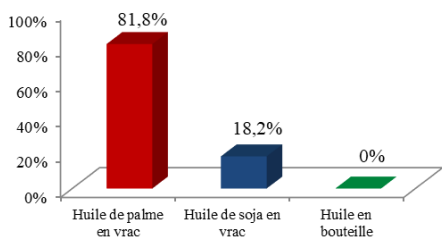


Figure 4 : Nature de l'huile employée pour friture

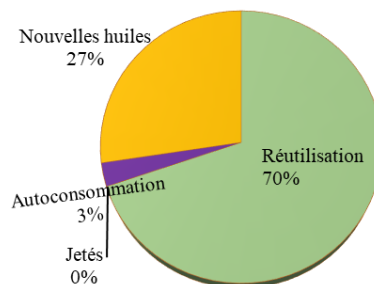


Figure 5 : Utilisation des restes d'huile

Aucun vendeur ne jette les restes d'huiles déjà utilisées, 70 % des gargotiers les réutilisent le lendemain signifiant ainsi une utilisation à plusieurs reprises ; 3 % les réutilisent pour leur propre consommation familiale. Par ailleurs, 27 % des vendeurs n'ont pas de reste à la fin de la journée (Figure 5). Il n'existe pas de méthode particulière de conservation, on la laisse juste se refroidir avant réutilisation.

L'utilisation à plusieurs reprises est fréquente et pratiquée par 70% des vendeurs, alors que la recommandation est de le renouveler après 5 à 6 utilisations maximum (Conseil Supérieur de la Santé, 2012). Cette pratique est à l'origine d'une baisse des qualités nutritionnelle et sensorielle, et accroît aussi les risques pour la santé. La détérioration de la qualité se traduit par une augmentation des valeurs des différents indices proportionnellement avec le nombre d'utilisation (Bassal et Nakhoul, 2000). Elle s'accompagne aussi de la formation des composés secondaires ayant des implications nutritionnelles défavorables et des dangers pour la santé humaine (Marquez-Ruiz, 1996).

Pour la conservation des huiles déjà utilisées, il est recommandé de ne pas dépasser le point de fumée, en maintenant la température en deçà de 180°C, de filtrer l'huile après usage afin de retirer les particules d'aliments ou autres, de conserver l'huile dans un contenant opaque et hermétique dans un endroit frais. Si nécessaire, toute huile qui a fumé, qui est trop foncée, qui a une odeur rance, qui ne bouillonne pas ou qui mousse lorsqu'on ajoute les aliments, doit être jetée (Conseil Supérieur de la Santé, 2012).

Propriétés physico-chimiques des huiles

Les analyses ont été effectuées sur 60 échantillons d'huile de soja et de palme en vrac et 10 échantillons d'huile de friture et les caractéristiques moyennes sont récapitulées respectivement dans les Tableau 1 et Tableau 2.

Qualité des huiles sur le marché

La densité ou la masse volumique d'une huile augmente avec la longueur moyenne des chaînes d'acides gras (AG) (Kapseu et *al.*, 2005). La densité de l'huile de soja (0,928) est plus élevée que celle de l'huile de palme (0,912-0,917) et renseigne que le soja est plus riche en AG de chaîne longue. Les valeurs pour les deux produits sont plus élevées par rapport aux fourchettes recommandées par la norme CSX 210-1999 (CODEX ALIMENTARIUS, 2021). Ce qui signifie que ces corps gras sont plus riches en AG à chaîne moyenne ou longue que les échantillons de référence respectifs.

Tableau 1 : Caractéristiques physico-chimiques des huiles vendues sur les marchés

	Conditionnement	Huile de palme	Norme Codex ⁽¹⁾	Huile de soja	Norme Codex ⁽¹⁾
DENSITE à 20°C	Jerricane	0,917 ± 0,0008	0,891 - 0,899 (X=50°C)	0,928 ± 0,0001	0,919 - 0,925 (X=20°C)
	Fût	0,912 ± 0,0004		0,928 ± 0,0001	
INDICE DE REFRACTION à 20°C	Jerricane	1,465 ± 0,003	1,454 - 1,456	1,465 ± 0,003	1,466 - 1,470
	Fût	1,464 ± 0,002		1,468 ± 0,006	
INDICE D'IODE	Jerricane	62,91 ± 2,19	50 - 55	119,97 ± 4,81	124 - 139
	Fût	60,17 ± 2,83		110,92 ± 11,61	
INDICE DE SAPONIFICATION (mg KOH/g d'huile)	Jerricane	184,56 ± 4,21	190 - 209	178,32 ± 7,88	189 - 195
	Fût	184,62 ± 2,17		168,32 ± 14,54	
INDICE D'ACIDE (mg KOH/g d'huile)	Jerricane	0,5 ± 0,13	≤0,6	0,5 ± 0,1	≤0,6
	Fût	0,32 ± 0,07		0,61 ± 0,27	
INDICE DE PEROXYDE (mEq O ₂ /kg d'huile)	Jerricane	0,35 ± 0,34	≤10	0,38 ± 0,22	≤10
	Fût	0,38 ± 0,31		0,5 ± 0,3	

⁽¹⁾ CODEX ALIMENTARIUS CSX 210-1999

$L'I_R$ est proportionnel au poids moléculaire des acides gras ainsi qu'à leur degré d'insaturation. Une faible dispersion entre les I_R du palme et du soja est notée, et ce, quel que soit le type de conditionnement. $L'I_R$ est légèrement supérieur (1,465) à la norme pour le palme, et dans la fourchette de valeur normale pour le soja, c'est-à-dire que l'huile de palme pourrait être plus riche en acides gras insaturés (AG_I) que l'échantillon de référence.

$L'I_I$ permet d'avoir une idée sur le degré d'insaturation d'un corps gras : plus une huile est insaturée, plus son indice d'iode est élevé (Wolff, 1968) (Novidzro *et al.*, 2019), et on peut aussi se baser sur cette grandeur pour évaluer la facilité de l'huile à rancir, étant donné que plus elle contiendra d'insaturations, plus elle sera sensible à l'oxygène. Une huile est dite siccative lorsqu'au contact de l'air, elle forme assez rapidement une fine pellicule : c'est un phénomène complexe très lent d'oxydation des insaturations des AG. En fonction de leur I_I , le classement des huiles est la suivante : huile non siccative si $I_I < 110$, semi-siccative si $110 < I_I < 150$, siccative si $I_I > 150$. Avec respectivement des I_I de 63 et 120, l'huile de palme est donc non siccative et celle du soja semi-siccative. La valeur de $L'I_I$ du soja est 2 fois plus que celle du palme, traduisant la forte concentration en AG insaturés (AG_I) mais moins que sa référence. Il est reconnu dans la littérature que le palme est moins concentré en AG_I mais dans cette étude, il est plus riche en double liaison et donc en AG_I ($I_I=60-63$) que l'huile de palme ayant servi de référence ($I_I=50-55$). Ces différences observées pourraient être attribuées à la composition de la matière végétale, aux traitements subis par les graines au cours des opérations d'extraction-raffinage, mais aussi liées au mode et à la durée de stockage. La faible concentration en AG_I du palme indique donc qu'elle est plus résistante à l'action de l'air et se porte mieux à une conservation plus longue que l'huile de soja. De ce qui précède, ces deux indicateurs I_R et I_I traduisent encore une richesse initiale en AG_I .

La connaissance de l'indice de saponification d'un corps gras renseigne sur la longueur de la chaîne carbonée des acides gras constitutifs. L'indice de saponification d'un corps gras est d'autant plus élevé que la chaîne carbonée des acides gras est courte (Lion, 1955) (Novidzro *et al.*, 2019). $L'I_S$ inférieur pour les deux signifie que les AG sont constituées de longue chaîne. Pour l'ensemble des huiles analysées, $L'I_S$ faible laisse prédire que ces huiles contiennent plutôt des AG à longues chaînes.

L'altération des corps gras se produit par deux voies principales souvent liées : i) la dégradation hydrolytique conduisant à la libération d'acides gras libres à l'origine de modifications organoleptiques, elle est reflétée par $L'I_A$; ii) la dégradation oxydative liée à la température et au degré d'insaturation des AG, elle est relevée par $L'I_p$, un critère très utile pour apprécier les premières étapes d'une

détérioration oxydative d'un corps gras ou le rancissement. Les I_A et I_P sont faibles et conformes aux normes signifiant que ces huiles ne sont pas encore sujettes ni à une hydrolyse ni à une oxydation primaire.

On peut dire que les huiles vendues sur le marché sont encore de bonne qualité et peuvent supporter une durée de stockage plus longue.

Propriétés physico-chimiques des huiles de friture

Les paramètres moyens des huiles utilisées pour la friture des aliments de rue sont consignés dans le Tableau 2. Ils ont été comparés aux valeurs référentielles de l'huile de palme puisque c'est l'huile la plus utilisée dans les préparations de rue.

Tableau 2 : Caractéristiques physico-chimiques des huiles de friture utilisées dans les gargotes

	Huile de friture	Norme Codex ⁽¹⁾
DENSITE à 20°C	0,925 ± 0,0001	0,891 - 0,899 (X=50°C)
INDICE DE REFRACTION à 20°C	1,467 ± 0,005	1,454 - 1,456
INDICE D'IODE	60,9 ± 4,08	50 - 55
INDICE DE SAPONIFICATION (mg KOH/g d'huile)	186,73 ± 1,56	190 - 209
INDICE D'ACIDE (mg KOH/g d'huile)	0,56 ± 0,08	≤0,6
INDICE DE PEROXYDE (mEq O ₂ /kg d'huile)	8,52 ± 3,66	≤10

⁽¹⁾ CODEX ALIMENTARIUS CSX 210-1999

Pour les huiles de friture, la densité reste plus élevée que celle de l'huile de palme crue et l' I_S faible laisse prédire que ces huiles contiennent toujours des AG à chaîne moyenne ou longue.

L' I_R est aussi légèrement supérieur à la norme pour le palme, l' I_I est légèrement en baisse mais reste toujours plus élevé que la norme, ce qui pourrait indiquer sa richesse en double liaison.

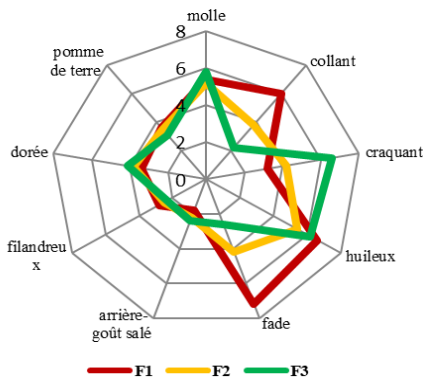
L' I_A reste constant, signifiant que ces huiles ne sont pas sujettes à des dégradations hydrolytiques ou enzymatiques.

L'I_p est assez élevé (8,52 mEq O₂/kg d'huile), variant de 4,34 et peut aller jusqu'à 14 dans certains quartiers (*Ambohipo*). Comparé à la norme dont la valeur supérieure est fixée à 10 mEq de peroxydes/kg d'huile, et à l'I_p initial du palme cru (0,35-0,38 mEq), ce résultat signifie que les huiles utilisées sont oxydées. Ce phénomène est lié à l'attaque de la double liaison et à la formation de peroxydes responsables du rancissement, et de la formation des composés polaires. Comparés aux travaux de Bazeniar et Ahmia (2007), ces valeurs correspondent à 15 cycles de friture. L'I_l légèrement en baisse et l'I_p en hausse signifient que les huiles résistent à l'hydrolyse mais subissent une oxydation primaire continue sur leur double liaison. En outre, au cours de la friture également, les acides gras insaturés sont instables, une partie d'entre eux seaturent. Les acides gras saturés sont stables mais biologiquement inactifs, ils deviennent nocifs quand ils sont présents en trop grande quantité dans l'organisme. Ils favorisent les maladies métaboliques de surcharge et des maladies cardio-vasculaires (BLANC in <http://www.senourrirautrement.fr>).

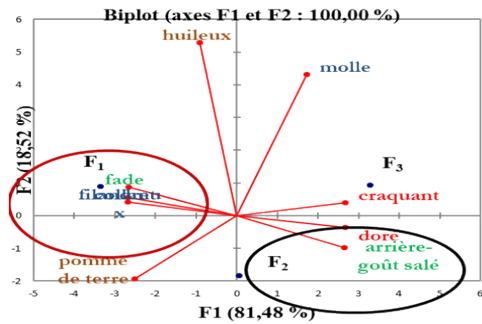
Les huiles contenant des acides gras insaturés sont excellentes pour la santé mais elles sont facilement oxydables et instables. La lumière et la chaleur (haute température à répétition) accélèrent le processus de dégradation et d'oxydation. La consommation de telles huiles nous demande d'être vigilants.

Caractères sensoriels des fritures préparées à partir des huiles de soja et de palme

D'après le profil radar (Figure 6), l'aspect mou et l'odeur huileux sont les caractères communs des 3 échantillons de frites de pomme de terre étudiés. Le goût fade et les textures collantes et filandreuses sont les caractères conférés par l'huile de palme. L'aspect doré et l'arrière-goût salé sont associés à l'huile de soja en vrac. L'aspect craquant est lié à l'huile de soja en bouteille.



a) Profil radar des descripteurs de frites



b) Analyse des Composantes Principales (ACP) des frites

Figure 6 : Cartographie sensorielle des huiles

Pour le test triangulaire, les réponses ont été comptabilisées et comparées au tableau des nombres critiques de réponses correctes pour l'épreuve triangulaire (ISO, 2021). Le nombre de réponses correctes nécessaire a dépassé la valeur critique minimale (au seuil de 5 %) pour conclure qu'il existe une différence perceptible sur la base d'un essai triangulaire. Ce qui signifie que la majorité des sujets ont pu différencier significativement les huiles entre elles. Les caractères organoleptiques sont significativement différents selon la nature des matières premières végétales.

Tableau 3 : Réponses correctes obtenues lors de l'épreuve triangulaire

	Frites répétées	
Frites différentes	Huile de palme	Huile de soja en vrac
Huile de soja en vrac	57,14%	
Huile de soja en bouteille		50%

Pour le test de notation, la note la plus élevée a été donnée à l'échantillon F3 (5,6), suivie de F2 (5,3) et F1 (3,5). Les frites préparées avec l'huile de soja en bouteille sont les plus appréciées.

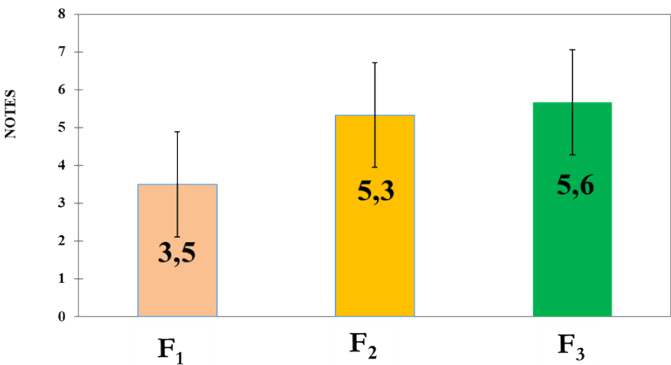


Figure 7 : Moyennes des notes ± écart-types obtenues lors du test de notation

Quant au test de classement, les dégustateurs ont classé les frites (F3) en premier, puis en deuxième position F2 et enfin F1. La préférence des consommateurs est donc plus accentuée pour l'huile en bouteille. Toutefois, les résultats du Test de Friedman montrent une différence non significative des 3 échantillons testés. Ces résultats sont cohérents avec ceux des analyses descriptives et ceux du test de notation classant l'huile de soja en bouteille en première position.

Tableau 4 : Classement des frites

Frites	Moyenne des rangs $\pm$ ET
F ₁	2,5 $\pm$ 0,54
F ₂	1,83 $\pm$ 0,75
F ₃	1,66 $\pm$ 1,03
p	0,31

Généralement, les huiles fluides confèrent l'aspect craquant, la texture molle, l'arrière-goût salé, et l'odeur d'huile moins forte appréciée des consommateurs. Le raffinage subi par ce type d'huile pourrait être un des facteurs permettant d'expliquer ses caractères sensoriels moins marqués et laissant transparaître davantage ceux de l'aliment vecteur. Ces résultats sont cohérents avec ceux des analyses descriptives et ceux du test de notation. Toutefois, les résultats du Test de Friedman montrent une différence non significative des 3 échantillons testés ($p > 0,05$). Si l'huile en bouteille est appréciée sur le plan sensoriel, il n'est pas le plus choisi dans la vie quotidienne comme le montre les résultats d'enquête auprès des épiciers mentionnant que l'huile en vrac étant la plus achetée. Ce contraste de choix est expliqué par les prix moins accessibles de ces produits.

CONCLUSION

L'étude de la qualité des huiles vendues en vrac et utilisées dans la restauration collective dans la ville d'Antananarivo a fait l'objet de cette recherche. Les paramètres physico-chimiques des huiles vendues sur le marché sont conformes à la norme Codex Alimentarius. Une légère différence est observée selon le mode de conditionnement (fût vs jerrycan). Ces valeurs renseignent que, dans les conditions de vente observées, les huiles restent de bonne qualité. Utilisées en friture dans les gargotes, ces paramètres restent stables à l'exception de l' I_p qui a augmenté à 8,52 mEq O₂/kg d'huile, allant à 14 mEq dans certains quartiers. Ainsi, une dégradation par oxydation est observée. Les risques sanitaires liés à l'utilisation répétitive d'une huile ne sont pas encore connus par les vendeurs de rue. Aucune précaution particulière n'a été prise avant réutilisation. L'évaluation sensorielle a montré que les fritures préparées avec l'huile de soja en bouteille sont plus appréciées par leur goût neutre, celles faites avec l'huile de palme sont moins appréciées alors que cette huile

est la plus vendue. Aussi, les caractères organoleptiques des aliments frits varient selon la nature de la matière végétale à partir de laquelle a été extraite une huile.

Parmi les perspectives envisageables figurent plus particulièrement l'éducation des vendeurs sur la bonne pratique d'entreposage, la sensibilisation des vendeurs d'aliments de rue sur les effets délétères d'une réutilisation fréquente d'huile, la réalisation d'une étude sur le vieillissement de l'huile en fonction du cycle de friture et de la nature des aliments. Par ailleurs, il serait judicieux également d'observer le dosage par des méthodes plus performantes du degré d'altération et de l'apparition des composés polaires totaux, ainsi que de réaliser des analyses toxicologiques des échantillons prélevés dans le commerce.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) Bassal, A., Nakhoul, A. P. (2000). Contribution à la fabrication des chips de pommes de terre au Liban, pp. 41- 48.
- 2) Bazeniar, M. L., Ahmia, A. (2007). L'effet de la thermo-oxydation sur quelques paramètres physico-chimiques et nutritionnels d'une huile végétale alimentaire. Université de Jijel, Faculté des Sciences, Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en Biologie. Option Contrôle de qualité et analyses. 93p.
- 3) BLANC *in* <http://www.senourrirautrement.fr>
- 4) Bocar, K., Sidi, O., Baïdy, B., Emmanuel, B. (2011). Etude physico-chimique des huiles consommées en Mauritanie. Science lib. Volume 4, N°120101 ISSN 2111-4706.
- 5) Codex Alimentarius (2021). CSX 19-1981 : Norme pour les graisses et huiles comestibles non visées par des normes individuelles. Adoptée en 1981. Révisée en 1987, 1999. Amendée en 2009, 2013, 2015, 2017, 2019, 2021. 5p.
- 6) Codex Alimentarius (2021). CSX 210-1999 : Norme pour les huiles végétales portant un nom spécifique. Adoptée en 1999. Révisée en 2001, 2003, 2009, 2017, 2019. Amendée en 2005, 2011, 2013, 2015, 2019, 2021. 17p.
- 7) Conseil Supérieur de la Santé (2012). Sécurité des huiles et graisses : quelques conseils pratiques N°8310. 4p.
- 8) Corpet, D. (2014). Qualité microbiologique des denrées alimentaires. Service de la consommation et des affaires vétérinaires au Département des affaires régionales, de l'économie et santé.

- 9) Cuvelier, M. E., Latino-Martel, P. (2009). Additifs anti-oxygènes. *In* : B de Reynal (coord.) Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries alimentaires, 4e édition. Paris : Lavoisier: pp. 183-214.
- 10) Frankel, E. N. (2007). Antioxidants in food and biology. Dundee : The Oily Press LTD. 254p.
- 11) Hiroko, S., Pierre, D. (2012). L'huile de palme : avantages sanitaires, environnementaux et économiques, 4p.
- 12) Institut National de la Statistique (INSTAT) (2013). Analyse globale de la sécurité alimentaire et nutritionnelle et de la vulnérabilité (AGSANS). Programme Alimentaire Mondiale.
- 13) Institut National de la Statistique (INSTAT) et ICF. (2021). Enquête Démographique et de Santé à Madagascar, 2021 : Indicateurs Clés. Antananarivo, Madagascar et Rockville, Maryland, USA : INSTAT et ICF.
- 14) ISO (1985). ISO 6564 :1985. Sensory analysis - Methodology - Flavour Profile Methods / Analyse sensorielle - Méthodologie - Méthodes d'établissement du profil de la saveur, 1st edition, 6p.
- 15) ISO (2006). ISO 8587 : 2006. Analyse sensorielle - Méthodologie - Classement par rangs / Sensory analysis - Methodology - Ranking ; 2nd edition : 21p.
- 16) ISO (2016). ISO 13299 :2016. Analyse sensorielle - Méthodologie - Directives générales pour l'établissement d'un profil sensoriel, 2nd edition, 45p.
- 17) ISO (2017). ISO 3960 : 2017. Corps gras d'origines animale et végétale - Détermination de l'indice de peroxyde - Détermination avec point d'arrêt iodométrique / Animal and vegetable fats and oils - Determination of peroxide value - Iodometric (visual) endpoint determination ; 5th edition, 10 pages ; 2017.
- 18) ISO (2017). ISO 6320 : 2017. Corps gras d'origines animale et végétale - Détermination de l'indice de réfraction / Animal and vegetable fats and oils - determination of refractive index ; 5th edition ; 7p.
- 19) ISO (2017). ISO 6658 : 2017. Analyse sensorielle - Méthodologie - Lignes directrices générales / Sensory analysis - Methodology - General guidance ; 3rd edition, 26p.
- 20) ISO (2017). ISO 6883 : 2017. Corps gras d'origines animale et végétale - Détermination de la masse volumique conventionnelle (poids du litre dans l'air) / Animal and vegetable fats and oils - Determination of conventional mass per volume (litre weight in air). 5th edition : 11p.
- 21) ISO (2018). ISO 3961 : 2018. Corps gras d'origines animale et végétale - Détermination de l'indice d'iode / Animal and vegetable fats and oils - Determination of iodine value. 6th edition, 12p.

- 22) ISO (2020). ISO 3657 : 2020. Corps gras d'origines animale et végétale - Détermination de l'indice de saponification / Animal and vegetable fats and oils - Determination of saponification value. 5th edition. 11p.
- 23) ISO (2020). ISO 660 : 2020. Corps gras d'origines animale et végétale - Détermination de l'indice d'acide et de l'acidité Animal and vegetable fats and oils - Determination of acid value and acidity 4th édition. 12p.
- 24) ISO (2021). ISO 4120 : 2021. Analyse sensorielle – Méthodologie - Essai triangulaire / Sensory analysis - Methodology - Triangle test. 5th edition : 17 pages.
- 25) Kandji, N. A. (2001). Etude de la composition chimique et de la qualité d'huiles végétales artisanales consommées au Sénégal. Thèse pour obtenir le diplôme de docteur en pharmacie. Université Cheikh AntaDiop de Dakar, Faculté de Médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie. 72p.
- 26) Kapseu, C., Tchankou Leudeu, B. C., Tchiegang, C., Silou, T. M., Parmentier, M. (2005). Quelques propriétés physico chimiques des huiles de quelques oléagineux non conventionnels en Afrique au sud du Sahara. *In* : Maîtrise des Procédés en vue d'améliorer la qualité et la sécurité des aliments, Utilisation des OGM, Analyse des risques en agroalimentaire. Ouagadougou, 8-11 Novembre 2005. 4 pages
- 27) Marie-Elisabeth, C., Marie-Noelle, M. (2020). Stabilité des huiles alimentaires au cours de leur stockage,
- 28) Marquez-Ruiz, G., Dobarganes, M. C. (1996). Nutritional and physiological effects of used frying fats in Perkins EG (Ed.) "Deep frying chemistry, nutrition and practical application". AOCS Press in Champaign, 160-182.
- 29) Novidzro, K. M., Wokpor, K., Amoussou Fagla, B., Koudouvo, K., Dotse, K., Osseyi, E., Koumaglo, K. H. (2019). *Etude de quelques paramètres physico-chimiques et analyse des éléments minéraux, des pigments chlorophylliens et caroténoïdes de l'huile de graines de Griffonia simplicifolia*. *In* : Int. J. Biol. Chem. Sci. 13(4): 2360-2373, August 2019 ISSN 1997-342X (Online), ISSN 1991-8631 (Print) Available online at <http://www.ifgdg.org>
- 30) OCL (2013). 20(5) A502 c Fine, F. *et al.*, Published by EDP Sciences 2013 DOI: 10.1051/ocl/2013020 www.ocl-journal.org
- 31) OCL (2013). Oil seeds and fats crops and lipids, *in* : EDP, 2012, 19(2), pp. 125-132.

- 32) Pambou-Tobi, N. (2015). Influence des conditions de friture profonde sur les propriétés physicochimiques de la banane plantain Musa AAB « harton » : étude du vieillissement des huiles et modélisation des transferts de matière au cours du procédé. Génie chimique. Université de Lorraine ; Université Marien-Ngouabi (Brazzaville). 234p.
- 33) Rasoamanarivo, L. J. (2022). Qualité alimentaire des huiles vendues en vrac et consommées dans la ville d'Antananarivo. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de Master. Université d'Antananarivo, Faculté des Sciences, Parcours Science des Aliments et Nutrition, 93p.
- 34) Razafindrazaka, R. V. (2001). Contribution à l'amélioration de l'alimentation de complément des nourrissons et des jeunes enfants dans les sites Nutrition à Assise Communautaire (NAC) de la région de Brickaville. Mémoire de DEA de Biochimie Appliquée aux Sciences de l'alimentation et de la Nutrition, Université d'Antananarivo.
- 35) Razafindrazaka, R. V. (2006). Elaboration et évaluation d'une stratégie d'amélioration de l'alimentation de complément des jeunes enfants à Brickaville (Côte-Est de Madagascar). Thèse de Doctorat en Sciences de la Vie. 284p.
- 36) Wolff, J. P. (1968). Manuel d'analyse des corps gras. Azoulay, Ed Paris. 519p.
- 37) World Food Program, European Union (2006). Madagascar : Comprehensive Food Security and Vulnerability Analysis (CFSVA) ; 119p.

CARACTERISATIONS PHYSICO-CHIMIQUES DES SEDIMENTS DU LAC DZIALANDZÉ-ANJOUAN-COMORES

par

MOHAMED Abdou⁽¹⁾, RANDRIAMBOAVONJY Jean Chrysostome⁽²⁾,
AMELAID Houmadi⁽³⁾, REJO Robert⁽²⁾

(1) Ecole Doctorale Gestion des Ressources Naturelles et Développement, Université d'Antananarivo, Madagascar

(2) Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques, Université d'Antananarivo, Madagascar

(3) Université des Comores, Comores

RESUME

Les sédiments lacustres de Dzialandzé provenant des versants cratériques et des sols riverains ont généralement une taille relativement fine. Ces sédiments ont deux origines principales : endogène et exogène. Les sédiments endogènes de composition majoritairement organique sont constitués de débris de végétaux aquatiques et/ou de cadavres d'animaux. Les sédiments exogènes ont une composition minérale et organique provenant de particules ruisselant vers le lac. L'apport exogène peut également être d'origine naturelle ou anthropique. L'objectif principal de l'article est de donner les caractéristiques physico-chimiques des sédiments. Le choix des paramètres analysés a été défini afin de dresser un portrait général du lac. De plus, les critères de caractérisation des sédiments ont deux objectifs : évaluer l'origine des apports ainsi que leur composition. Une campagne a été réalisée le 23 septembre 2023 pour échantillonner dans les 4 stations du Lac afin d'effectuer les analyses pédologiques par diverses méthodes selon les paramètres. La caractérisation des sédiments lacustres de Dzialandzé donne les résultats suivants : la température à 22°C, le pH acide (5,50 à 5,88), l'azote (0,657% à 0,777%), le phosphore (0,520ppm à 2,192ppm), la matière organique (MO) (14,421% à 34,704%), la densité (0,415g/cm³ à 2g/cm³) et la granulométrie dont les argiles de 13%, de 11% de limon au Nord et de 89% de sable au Sud du Lac. Ainsi, ces paramètres physico-chimiques caractérisent l'état acide des sédiments du lac. L'excès de matière organique (MO) et d'éléments nutritifs (N et P) conduit progressivement le lac au phénomène d'eutrophisation (Eutrophe).

Mots clés : Sédiments, Caractérisation, Physico-chimie, Eléments nutritifs, Eutrophisation, Lac Dzialandzé, Anjouan, Comores

ABSTRACT

Dzialandze lake sediments from crater slopes and riparian soils are generally relatively small. These sediments have two main origins: endogenous and exogenous. Endogenous sediments of predominantly organic composition consist of aquatic plant debris and/or animal corpses. Exogenous sediments have a mineral and organic composition from particles flowing into the lake. The exogenous contribution can also be of natural or anthropogenic origin. The main objective of the article is to give the physicochemical characteristics of the sediments. The choice of the analysed parameters was defined in order to draw a general portrait of the lake. In addition, the criteria for characterizing sediments have two objectives: to assess the origin of inputs and their composition. A campaign was carried out on September 23, 2023 to sample the 4 stations of the Lake in order to carry out the soil analyses by various methods according to the parameters. The characterization of Dzialandzé lake sediments gives these results: temperature at 22°C, acidic the pH (5.50 to 5.88), the Nitrogen (0.657% to 0.777%); the phosphorus (0.520ppm to 2.192ppm), the organic matter (OM) (14.421% to 34.704%), the density (0.415g/cm³ to 2g/cm³) and the granulometry whose clays are much expressed of 13%, 11% of silt in the north and 89% of sand in the south of the lake. Thus, these physicochemical parameters characterize the acidic state of the lake sediments. The excess of organic matter (OM) and nutrients (N and P) gradually leads the lake to the phenomenon of eutrophication (Eutrophic).

Key words : Sediments, Characterization, Physico-chemical, Nutrients, Eutrophication, Lake Dzialandzé, Anjouan, Comoros

INTRODUCTION

A l'échelle mondiale, les lacs sont des zones de sédimentation (Abdellaoui *et al.*, 2009). Pour la plupart de la population, un lac est simplement un plan d'eau entouré de terre. Chaque lac est unique et constitué de réseaux trophiques complexes où des gaz et de la matière organique sont transformés et assimilés en continue grâce à différents processus biologiques (Festy *et al.*, 2003). Chaque lac est un plan d'eau en mouvement constant qui puise son énergie du soleil et du vent et selon les saisons, celui-ci peut être constitué d'un plafond sédimentaire.

Ces sédiments peuvent être mélangés avec de la matière organique, provenant de la faune et de la flore aquatique d'eau douce (Agathe, 2005). Un lac peut aussi être considéré comme un milieu hydro-sédimentaire et ses environs, reflétant les effets combinés de l'approvisionnement en eau de leur bassin versant, de la végétation, de la géologie et de l'histoire naturelle et humaine de leur environnement (Myriam *et al.*, 2012). En outre, les roches peuvent subir une désagrégation mécanique et les sédiments

formés sont transportés par flux et déposés vers un bassin sédimentaire constituant un lieu de stockage (Laval et *al.*, 2012). Les milieux lacustres sont comptés parmi les meilleures zones de stockage des sédiments (Agathe, 2005). Ils sont donc des sentinelles efficaces des changements climatiques car ils sont sensibles au climat, réagissent rapidement aux changements et intègrent des informations sur les changements dans le bassin versant. C'est sans équivoque qu'il est possible d'affirmer que les lacs sont importants à étudier, surtout en cette période où les changements climatiques ont de plus en plus d'impacts sur nos vies respectives (Legoff, 2011). Les milieux aquatiques ont une importance socio-économique majeure, mais ce sont des milieux fragiles pour lesquelles l'eutrophisation constitue, dans la plupart des pays, l'une des principales menaces de dégradation de la qualité de l'eau (Guergueb, 2015). L'étude des sédiments s'intègre dans une démarche globale qui vise à protéger et à améliorer la qualité des ressources en eaux de surface, afin de permettre une gestion durable d'eau potable de qualité qui prenne en compte l'impact de l'homme et la dynamique naturelle de l'environnement (Thevenon et *al.*, 2014). Dans cet article, une question se pose à la recherche et mérite d'être élucidée. Les analyses et caractéristiques physico-chimiques des sédiments peuvent-elles définir l'évolution et l'envasement du lac Dzialandzé ? L'hypothèse de cette recherche est de démontrer par des analyses et des observations macroscopiques que la présence d'azote (N) et de phosphore (P) joue un rôle majeur pour un début d'eutrophisation du lac Dzialandzé. L'objectif est de déterminer les valeurs caractéristiques majeures des sédiments du lac Dzialandzé par des analyses du sol.

MATERIELS ET METHODE

Campagne de prélèvements des échantillons de sédiments

Une campagne de prélèvements des sédiments a été effectuée le 23 septembre 2023 pour échantillonner dans les 4 stations (Nord, Sud, Est et Ouest) du Lac Dzialandzé afin d'effectuer les analyses pédologiques. 4 échantillons ont été prélevés dans ces 4 stations.



Figure 1 : Échantillons des 4 stations du Lac Dzialandzé

Travaux de Laboratoire

Le travail de laboratoire est subdivisé en 2 parties :

- préparation des échantillons « séchage des sédiments »,
- dosage des produits chimiques et des matériaux « analyses des paramètres physico chimiques ».

Tableau 1 : Opérations de Laboratoire des Analyses des Sédiments

<i>Opération de Séchage</i>					
Echantillon	Matériels	Méthode et procédure	Date et heure	Durée de séchage	Images d'illustration
Station 1 (S1) : Sud Station 2 (S2) : Nord	Plateau plastique + papier métré + Etagères	Etalement+ Etalage 28 à 30 °C, température ambiante /séchage à l'ombre	Du 02/10/2023 à 9h00mn au 12/10/2023 à 9h05mn	10 jours	 Etalement
Station 3 (S3): Est Station 4 (S4): Ouest	Plateau plastique + papier métré + Etagères	Etalement+ Etalage 28 à 30 °C, température ambiante /séchage à l'ombre	Du 02/10/2023 à 9h00mn au 12/10/2023 à 9h05mn	10 jours	 Etalage
<i>Préparation des échantillons</i>					
Echantillon	Matériels	Méthode et procédure	Dimension / Masse	Analyses	Images d'illustration
Station 1 (S1) : Sud Station 2 (S2) : Nord	Mortier + pilon en porcelaine	Broyage + Tamisage + emballage + étiquetage	2mm/ 100g à 200g 0,5mm / 05g	pH, P, Densité et granulométrie / N et MO	 Broyage
Station 3 (S3) : Est Station 4 (S4): Ouest	Mortier + pilon en porcelaine	Broyage + Tamisage + emballage + étiquetage	2mm/ 100g à 200g 0,5mm / 05g	pH, P, Densité et granulométrie / N et MO	 0,5mm et 2mm S1/S2 /S3/S4 après Broyage

Procédures d'Analyses au Laboratoire					
Détermination du pH des échantillons des Stations (S1, S2, S3 et S4)					
Echantillon	Matériels	Méthode et Procédure	Dimension	Masse	Images d'illustration
Station 1(S1) : Sud Station 2 (S2) : Nord Station 3 (S3) : Est Station 4 (S4): Ouest	Balance+ papier pesage + récipient + baguette en verre + pH-mètre	Pesage 10g + calibrage du pH-mètre avec une solution standard de 4,1 à 6,86 +25 ml d' eau distillée. Mélanger (1mn), Laisser reposer (30mn), puis mélanger 3fois.	2mm	10g	

Protocole d'analyses et détermination de l'Azote (N) des sédiments

Echantillons : Stations (S1, S2, S3 et S4) / dimension de l'échantillon : 0,5mm de masse 1g.

Matériels : Balance de précision+ Matra + Hôte (appareil pour l'attaque chimique / attaque thermique + plaque chauffante) + fiole + distillateur Xindal + agitateur magnétique.

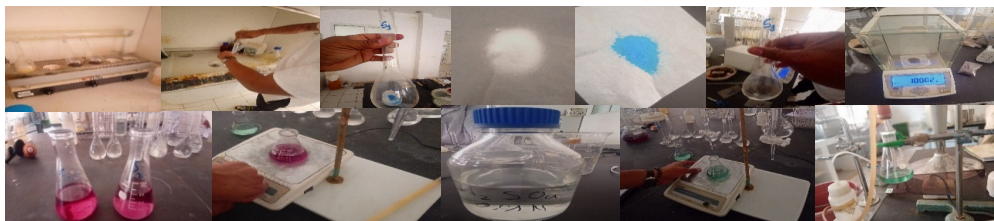


Figure 2 : Procédures d'analyses et de détermination de l'Azote

Méthode et Procédure

L'opération commence par une prise d'échantillon 0,5mm de 1g puis on le met dans le Matra. Puis, on y ajoute des catalyseurs : 0,3g de Cu SO_4 + 2,7g de $\text{K}_2 \text{ SO}_4$. Dans la salle d'attaque, on ajoute 10ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) pour rendre le milieu acide. Dans l'Hôte thermique on met les Matras sur la plaque chauffante : c'est la minéralisation. Au début la couleur est sombre et à la fin une couleur verdâtre apparaît. On poursuit l'opération, on transvase dans une fiole de 50ml puis on ajoute 50ml d'eau distillée. Ensuite, on agite fortement puis on avant de procéder à la distillation. On prélève 10ml de S1, S2, S3 et S4, on y ajoute 10ml de Na OH + 20ml d'acide borique. Le temps nécessaire pour que l'acide borique récupère l'azote (N) est de 10mn à 60°C (NB : la minuterie est mise en marche dès qu'il y a

apparition de la première goutte d'azote (N) dans la solution). Au début la couleur est rouge puis à la fin une couleur verte marque la présence d'Azote (N). Après la distillation, on procède à la titration avec H_2SO_4 à (0,01N). Et à la fin, la couleur verte vire au rouge coco. Fin du procédé et on passe au calcul.

Procédure d'analyses et détermination du phosphore (P)

Echantillons : Stations (S1, S2, S3 et S4) / dimension de l'échantillon : 2mm et masse est de 2,86g.

Matériels : Balance à simple pesée + récipients + Papier filtre (membrane filtrante) + tube à essai + Macro-pipete + vortex + Spectro-UV.



Figure 3 : Procédure d'Analyses et détermination du phosphore (P)

Méthode de Bray-II P et Extraction par filtration

On pèse 2,86g d'échantillon puis on le met dans un tube à essai. Ensuite, on procède à la lecture dans le Spectro-UV dans la salle d'instruments analytiques.

Etalon : 2ppm=0,068A ; 4ppm=0,158A ; 6ppm=0,234A et 8ppm=0,313A, la courbe est une droite. Pour les échantillons : S1= 0,083A, S2=0,046A, S3= 0,040A et S4=0,036A

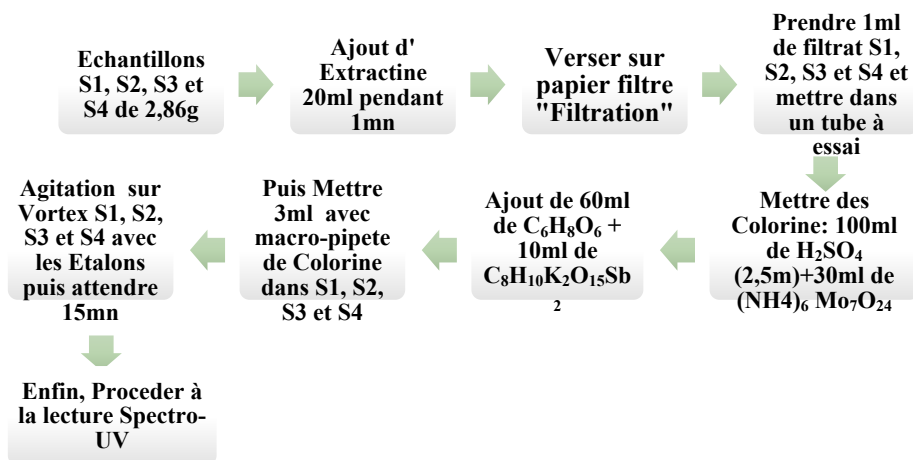


Figure 4 : Détermination du Phosphore (P) des sédiments par la Méthode de Bray-II P et Extraction par filtration

Procédure d'analyses et détermination de la Matière Organique (MO)

Echantillons : Station1 (S1, S2, S3 et S4 / dimension de l'échantillon : 0,5mm et masse est de 2,86g.

Matériels : Balance de précision, Becher de 500ml, réactifs (10ml de $K_2 Cr_2 O_7$ (Bichromate de Potassium), Pipete, 20ml d'acide sulfurique (H_2SO_4), Hôte pour l'attaque chimique, 200ml d'eau distillée, quelques gouttes d'indicateurs colorés, Agitateur magnétique.



Figure 5 : Procédure d'Analyses et détermination de la Matière (MO)

Méthode

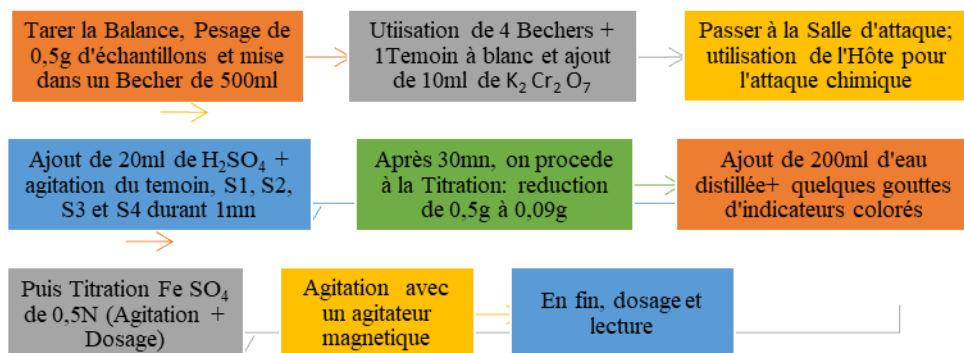


Figure 6 : Schéma de procédure de détermination de la matière organique (MO) des sédiments

Procédure d'analyses et détermination de la densité (d)

Echantillons : Stations S1, S2, S3 et S4 / dimension de l'échantillon : 2mm et la masse est de 15g.

Matériels : Balance de précision, Pycnomètre, étuve de séchage, eau distillée.



Figure 7 : Procédure d'Analyses et détermination de la densité

Méthode

On pèse à vide les pycnomètres n°14 = 27,8102g, n°34= 27,0462g, n°15= 27,8013g et n°35=27,5614g. Ensuite, on remplit les pycnomètres d'eau distillée et on pèse à nouveau : n°14=77,4368g (pycnomètre + eau distillée), n°34=75,6162g (pycnomètre + eau distillée), n°15=74,3554g (pycnomètre + eau distillée), et n°35=73,6042g (pycnomètre + eau distillée). Après, on jette l'eau distillée et on procède au séchage des pycnomètres à l'étuve à 90°C. Pour une deuxième opération, on remplit les pycnomètres avec de l'échantillon S1, S2, S3 et S4. De plus, on pèse les mélanges : n°14 S1 (Pycnomètre + échantillon) = 43,0528g, n°34 S2 (Pycnomètre + échantillon) = 42,8270g, n°15 S3 (Pycnomètre + échantillon) = 41,1025g et n°35 S4 (Pycnomètre + échantillon) = 40, 1021g. Pour une troisième opération, on mélange Pycnomètre + eau distillée + échantillon, donc n°14 S1 = 82,7314g, n°34 S2=80,1831g, n°15 S3= 81,6212g et n°35 S4= 80,1345g. Après, on procède aux calculs de la densité.

Procédure d'analyses et détermination de la granulométrie (G)

Echantillons : Station 1, 2, 3 et 4 / dimension de l'échantillon : 2mm et masse est de 50g.

Matériels : Balance de précision, Erlin Mayer, Hexa-méta phosphate de sodium (NaPO_3)_x Na₂ et x=13, (solution à 5%), eau distillée, agitateur Multiposte et densimètre de Bouyoucos.



Figure 8 : Procédure d'Analyses et Détermination de la granulométrie

Méthode

L'opération débute pour tarer la balance. Ensuite, on pèse dans la balance 50g d'échantillons S1, S2, S3 et S4 puis on met dans un Erlin Mayer les échantillons. Puis, on ajoute de l'hexa-méta phosphate de Sodium à 50ml (NaPO_3)_x Na₂ et x=13, (solution à 5%). Ensuite, on met les échantillons S1, S2, S3 et S4 à l'agitateur multiposte en marche pendant 20h environ. Après l'agitation des échantillons au Multiposte pendant 20h, on les transvase dans un cylindre de 1l. Puis, on mélange les échantillons avec de l'eau distillée jusqu'à remplir le cylindre de 1l. Le mélange est mixé avec la baguette 20 fois. Pour cela, on attend 40s pour procéder à la première lecture (L_1) au densimètre de Bouyoucos. L_1 S1= 5ml, L_1 S2= 11ml, L_1 S3= 13ml et

S4=12ml. Temperature $t_1=t_2=t_3=t_4=22^{\circ}\text{C}$. En fin, après 2h, on procède à la 2^{ème} lecture (L_2). $L_2\ S1= 3\text{ml}$, $L_2\ S2= 5\text{ml}$, $L_2\ S3= 8\text{ml}$ et $L_2\ S4=10\text{ml}$.

RESULTATS

Les échantillons des sédiments lacustres de Dzilandzé ont été prélevés sur quatre (4) stations du lac (au Sud, au Nord, à l’Est et à l’Ouest) par l’auteur le 23 septembre 2023 à partir de 11h. Les échantillons ont été déposés au Laboratoire de Pédologie de FOFIFA Ampandrianomby, Antananarivo, Madagascar, le 02 Octobre 2023 à 8h30mn. Ce même jour à 9h 15mn, les échantillons se sont étalés puis mis en étagère. Le séchage a été fait à l’ombre et à la température ambiante (28°C à 30°C). Le séchage a duré 10 jours et les analyses sont effectuées le 12 et le 13 Octobre 2023. Les résultats des sédiments sont présentés dans le Tableau 2. Par ailleurs, ce tableau présente les données traitées après les calculs Excel.

Tableau 2 : Données des analyses du sol après les calculs Excel

SIGLE	pH	C (%)	MO (%)	N (%)	P (ppm)	Densité (g/cm ³)	Granulométrie (%)		
							A	L	S
S1	5,88	9,276	15,993	0,777	2,192	2	9	3	89
S2	5,50	20,130	34,704	1,582	1,253	1	13	11	77
S3	5,65	9,075	15,646	0,713	0,565	0,450	6	5	35
S4	5,76	8,365	14,421	0,657	0,520	0,415	5	4	28

N : 001-13/10/2023_Laboratoire de Pédologie FOFIFA/Ampandrianomby

S1 : Station 1 (Sud)
S2 : Station 2 (Nord)
S3 : Station 3 (Est)
S4 : Station 4 (Ouest)

C : Carbone
MO : Matière organique
N : Azote
P : Phosphore

A : Argile
L : Limon
S : Sable

Dans les sédiments du lac Dzilandzé, le pH= 5,88 au Sud, pH=5,50 au Nord, pH= 5,65 à l’Est et pH=5,76 à l’Ouest. Dans l’ensemble, le pH est en dessous de 6, les sédiments lacustres de Dzilandzé ont un pH acide (le milieu acide).

L’expression de l’azote (N) dans les sédiments du Lac Dzilandzé est de 77,7mg/l au Station Sud, 158,2mg/l au Nord, 71,3mg/l à l’Est et 65,7mg/l à l’Ouest. Dans les 4 stations de la cuvette lacustre de Dzilandzé, les valeurs sont largement supérieures à la valeur guide indicative (25mg/l).

Les concentrations en phosphore dans les sédiments sont entre 2,192 mg/l à la station Sud, 1,253 mg/l au Nord, 0,565 mg/l à l’Est et 0,520 mg/l à l’Ouest.

Les teneurs en matière organique (MO) ont été déterminées par la méthode à partir de la détermination du Carbone dans les sédiments. Les résultats montrent que les teneurs en MO des sédiments superficiels du lac Dzilandzé varient de 14,421 % à 34,704 % avec une moyenne de 24,562 % (Tableau 2).

Dans cette étude, les sédiments sont composés d'argile, de limon et de sable. Les proportions des particules argileuses sont majoritaires dans la station Nord et Sud et très faibles dans la station Est et Ouest du Lac. Pour les limons, les particules sont très exprimées dans la station Nord et faiblement exprimées dans le reste des stations. Quant à la proportion du sable, la station Sud renferme 89% et la station Nord avec 77%.

La densité des sédiments dans ce lac varie entre 0,415g/cm³ à 2g/Cm³. Dans ce géosystème lacustre, la distribution des particules sédimentaires va obéir à la densimétrie de chaque particule sédimentaire et cela conduit à une répartition spatio-temporelle des sédiments dans le lac Dzilandzé.

Dans l'ensemble, ces paramètres caractérisent la physico-chimie des sédiments lacustres selon la vision à démontrer dans cet article sur la vulnérabilité du lac liée au phénomène d'eutrophisation du lac.

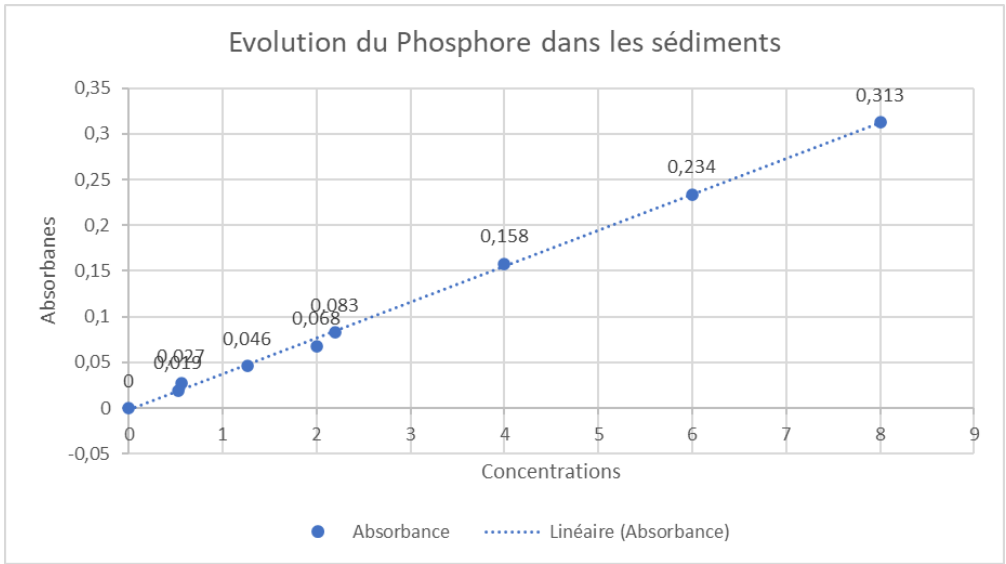


Figure 9 : Evolution du phosphore dans les sédiments lacustres

L'évolution du phosphore est en fonction de l'absorbance. Dans ce graphique, en station1 la concentration est de 2,19 et l'absorbance est de 0,083. Dans la station 2, la concentration est de 1,25 et l'absorbance est de 0,046. Pour la station 3, nous avons 0,56 de concentration et 0,027 d'absorbance et en fin 0,52 de concentration et 0,019 d'absorbance. 0, 2, 4, et 8 sont des concentrations de références.

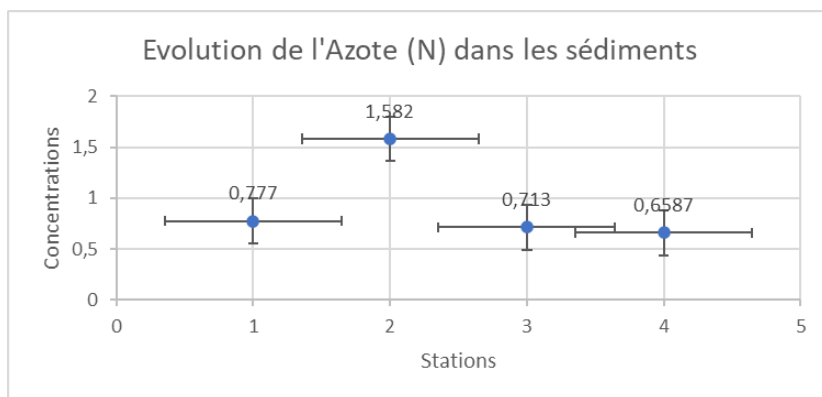


Figure 10 : Evolution de l’Azote dans les sédiments lacustres

De la station 1 vers la station 2, la concentration de l’azote est croissante station 1 est de 0,777 et station 2 est de 1,582. Ensuite, de la station 2 à la station 3 et 4, la concentration est descendante.

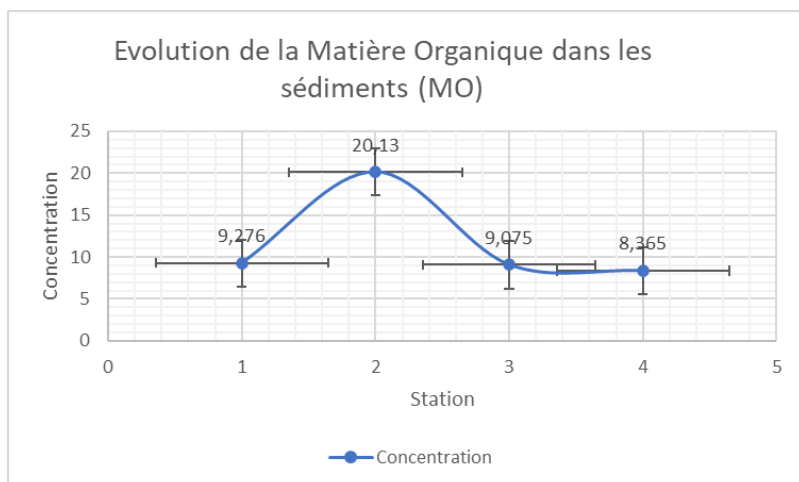


Figure 11 : Evolution de la Matière Organique dans les sédiments

Dans la station S1 vers S2, la valeur de la matière organique (MO) est croissante. Elle passe de 9,276 à 20,13. L’évolution est ascendante et convexe en cette station. De la station 2 vers la station 3 et 4, la courbe de l’évolution est descendante et concave.

L’évolution des particules sédimentaires est croissante de station 1 à la station 2. De la station 2 à la station 3 et 4, la tendance de la courbe est décroissante (Figure 12).

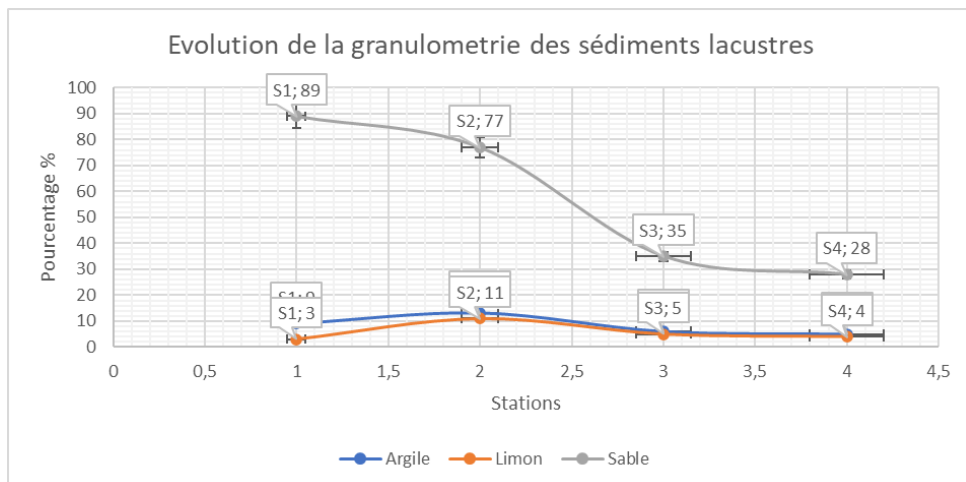


Figure 12 : Evolution de la granulométrie dans les sédiments lacustres

DISCUSSION

Le lac Dzilandzé enregistre une profondeur moyenne d'environ 3m. Or, des auteurs ont précédemment avancé que la profondeur du lac peut atteindre 300m à 200m (Sidi, 2011) (Nourddine, 2014). Avec ces valeurs, on peut estimer une profondeur moyenne de 60m et un volume moyen de 3 000 000 m³. Par contre, à l'heure actuelle, le lac présente une profondeur moyenne de 3m et un volume d'eau de 15 fois moins du volume ~~estimait~~ soit 6,66% (MOHAMED et *al.*, 2021). Alors, si ces valeurs ont existé auparavant, quel cataclysme a-t-il arrivé au lac pour qu'il perd rapidement en période de 10 ans environ ces paramètres caractéristiques ?

D'une part, le Lac Dzilandzé par son histoire, restait fort longtemps sacré et mystérieux comme le lac Tritriva à Madagascar avec sa profondeur de 160m avec des versants abrupts et rocheux (Ranarijaona, 1999). Cependant, les points communs qui existent entre ces deux lacs (Dzilandzé et Tritriva) et avec ses caractéristiques géomorphologiques d'origine volcanique démontrent que le lac Dzilandzé a connu des grandes profondeurs aussi dans le temps.

D'autre part, les caractères recensés durant l'étude du lac Dzilandzé relèvent des questions sur la vulnérabilité de cette réserve hydrique importante insulaire et nationale. L'envasement des sédiments n'est pas le facteur responsable de la perte de profondeur du lac Dzilandzé ? Et Quelles sont alors les indicateurs et les indices de vulnérabilité du lac ? Ainsi, la présence de l'azote (N) et de du phosphore (P) dans les sédiments lacustres et dans l'eau n'est-il pas responsable du phénomène d'eutrophisation du lac Dzilandzé ? Le Lac Dzilandzé est soumis à ce phénomène de vulnérabilité malgré il n'est pas au stade extrême. Pour répondre aux questions

posées ci-dessus, des analyses des paramètres majeurs des sédiments vont élucider la démarche.

Analyses des caractéristiques physico-chimiques des sédiments lacustres de Dzialandzé

Un seul type de matrice est analysé : les sédiments. Les paramètres analysés ont été choisis en concordance avec l'objectif à déterminer pour le lac Dzialandzé. Les paramètres sont présentés dans le Tableau 1 des résultats ci-dessus. Avec cette étude des sédiments, tous les paramètres sont analysés au laboratoire. Toutes les analyses ont été réalisées au Laboratoire de pédologie de FOFIFA Ampandrianomby, Antananarivo Madagascar. La température ambiante oscillée entre 24°C à 25°C dans le Laboratoire et pour les échantillons, la température était de 22°C.

L'expression du pH dans les sédiments lacustres

La mesure du pH est très importante car ce paramètre influence la diversité biologique du lac. Les organismes aquatiques ont besoin d'un pH compris entre 6 et 9 afin de garantir leur survie et leur bon développement. Dans les lacs eutrophes, des algues tolérantes au pH pourraient être favorisées, ce qui peut entraîner leur prolifération massive et l'aggravation du processus d'eutrophisation. En outre, la plupart des réactions physico-chimiques sont hautement contrôlées par le pH, telles que la précipitation, la dissolution et/ou l'adsorption. À des niveaux de la pollution, la valeur du pH est essentielle. Par exemple, les faibles valeurs de pH peuvent favoriser la solubilité des éléments traces métalliques, ce qui pourrait augmenter leur disponibilité immédiate.

L'azote dans les sédiments du Lac Dzialandzé

L'azote représente 78% de l'atmosphère gazeux. L'ensemble des réactions biologiques de croissance requiert la présence de l'élément azote (Vollenweider, 1970). L'azote (N) est un nutriment indispensable à la croissance des plantes, mais lorsqu'il est présent en excès dans l'écosystème, des contaminations ont lieu vers les hydrosystèmes sous forme de nitrate (NO_3^-) ou vers l'atmosphère sous forme de protoxyde d'azote (N_2O), gaz à effet de serre dont le potentiel de réchauffement est 298 fois plus élevé que celui du dioxyde de carbone (CO_2). Il a été considéré comme le principal élément qui limite la croissance du phytoplancton dans les lacs tropicaux (Guergueb, 2015).

Les apports d'azote d'origine agricole dans des eaux de surface varient de façon considérable d'une région à une autre, en relation avec la nature du sol, de l'hydrologie, du climat, des pratiques culturales, de la nature des récoltes et de l'emploi des engrais. Cet apport d'azote se fait presque uniquement sous sa forme la

plus mobile, c'est-à-dire l'azote nitrique NO_3^- . Une série d'événements directs et indirects se produit lors de l'augmentation des apports azotés, avec des conséquences à la fois biotiques et abiotiques. L'intensité de ces différents impacts sur les espèces et les communautés végétales dépend d'un certain nombre de facteurs dont la durée et la quantité totale d'apports azotés, la forme chimique et physique des composés, la sensibilité propre des espèces végétales, les conditions locales tels que le climat, la capacité du sol à neutraliser les acides et la disponibilité d'autres nutriments et la gestion actuelle et passée du système. En conséquence, les écosystèmes montrent une forte variabilité dans leur sensibilité aux dépôts azotés. Selon le temps de résidence des eaux lacustres, ces apports sont plus ou moins transformés par la production primaire et peuvent quelque fois ne pas être synonymes de forte eutrophisation. Pour les eaux de surface des lacs ou rivières, *une valeur guide indicative de 25 mg/L équivaut à 0,25%*, subsiste pour évaluer la qualité des eaux de surface des lacs ou rivières, seuil d'alerte de nature à influencer la filière de potabilisation des eaux.

Le lac Dzilandzé contient une forte présence d'azote soluble (N) soit 1,582% la valeur de l'azote la plus élevée. La limite de détection est de 2mg N/L (Mama, 2010). Ces valeurs excessives d'azote dans le lac constituent une source de pollution et contribuent au phénomène d'eutrophisation en cours.

L'Expression du phosphore dans les sédiments lacustres

Le phosphore est un nutriment provenant de sources diffuses de pollution du bassin versant du lac. Le phosphore soluble est bio-accessible pour les producteurs primaires aquatiques (comme les plantes, les algues et les cyanobactéries) et sa concentration permet de vérifier l'état trophique du milieu. Le phosphore est incorporé dans les sédiments sous formes inorganiques et organiques. Il est également physiquement adsorbé sur la surface des sédiments, lié chimiquement aux minéraux, biologiquement assimilé dans les cellules et dans les détritiques. La majorité de ce phosphore n'est pas biologiquement disponible. La fraction biologiquement disponible dans les sédiments (~ phosphore soluble) constitue généralement environ 10% de la teneur en phosphore total. Le phosphore soluble (en mg/L) est déterminé dans l'eau interstitielle extraite des sédiments afin de mettre en évidence la concentration de ce nutriment immédiatement disponible dans les sédiments pour les producteurs primaires du lac (e.g. cyanobactéries, végétaux supérieurs, algues). Le terme phosphore (P) englobe les innombrables composés phosphatés présents dans l'environnement. Au-delà de cette diversité, le phosphore présente quelques caractéristiques clés qui expliquent sa dynamique et son impact. En raison de sa forte affinité pour la phase solide minérale et du prélèvement actif par les êtres vivants, le phosphore est stocké préférentiellement, dans la biomasse, à la surface des sols et

dans les sédiments. La principale source naturelle du phosphate est la roche. Il est généralement libéré par l'érosion. Durant son parcours vers la mer, la molécule du phosphate pourra être absorbée par des plantes ou des animaux puis retourne au sol ou à l'eau par le biais de la décomposition végétale, animale ou par voie urinaire. Il a des origines diverses (Cann et *al.*, 1999), elle est multiple puisque le phosphore peut provenir : des rejets agricoles ou d'origine naturelle sont retenus dans les sols. Les eaux de surface peuvent éventuellement en contenir en raison de l'érosion et du ruissellement entraînant des particules de sol dans les cours d'eau. La croissance extrêmement rapide de la production agricole, qui génère ces rejets très importants de nutriments s'est faite dans les dernières années. Ainsi, les rejets d'origine agricole sont insuffisamment connus alors qu'ils représentent une part croissante des formes chimiques du phosphore dans la nature. Dans l'environnement, le phosphore est présent sous différentes formes. On distingue les formes dissoutes, des formes particulaires et apports de phosphore dans les milieux aquatiques. Les relations du phosphore avec les sédiments (sédiment des cours d'eau et sol) régissent la plus grosse part des apports à partir du stock sédimentaire. Les mécanismes chimiques et biologiques (action bactérienne) de réduction des complexes fer-phosphate et calcium-phosphate dans les sédiments jouent un grand rôle dans la régulation des échanges eau-sédiment. De plus, le comportement physico-chimique du phosphore est complexe et dépend d'un certain nombre de conditions de milieu. Des phosphates ajoutés au sol auront un comportement différent selon le pH : quand il est élevé, le phosphore est fixé sous forme de phosphate de calcium, et quand il est acide comme dans notre cas du Lac Dzilandzé, le phosphore précipite pour donner des oxydes de fer, d'aluminium ou de magnésium.

Cependant, une partie du phosphore reste toujours relativement disponible. La disponibilité est maximale quand le pH est d'environ 6,5. Les ions phosphates constituent la seule forme de phosphore assimilable par les végétaux. Par ailleurs, les teneurs en phosphore ne sont pas toujours exprimées sous la même forme, ce qui rend les comparaisons parfois difficiles. Les phosphates sont des composés phosphorés. Cependant, il doit être considéré comme un polluant lorsqu'il est présent à de fortes concentrations dans l'environnement. *Des teneurs dans l'eau supérieures à 0,5 mg.L⁻¹ doivent constituer un indice de pollution (Rodier et al., 1996). Les seuils concernant le phosphate sont articulés autour de la valeur 1 µmol/l correspondant à la concentration d'équilibre eau/sédiment dans les écosystèmes faiblement eutrophisés (Aminot A. et al., 2001).*

Avec des concentrations plus élevées (0,52mg/L à 2,191mg/L) dans les échantillons des sédiments prélevés démontrent qu'une pollution est présente dans le lac Dzilandzé. Les concentrations en phosphore soluble mesurées dans les

sédiments du *lac La Retenue* sont comprises entre 4 μ g/L et 153 μ g/L ou (0,004mg/L à 0,153mg/L) (Mme Lydia & M. Denis Fecteau, 2014). Cela confirme bien que le phosphore dans le Lac Dzilandzé est très élevé par rapport à d'autres lacs. Les critères de qualité de l'eau de surface tiennent compte uniquement du mg phosphore soluble (critère fixé à 0,5mg/L), ce qui fait que nos valeurs mesurées ne peuvent pas être comparées. Cependant, la quantité soluble de phosphore est plus élevée que la fraction biodisponible soluble laquelle indique l'impact potentiel sur le milieu récepteur (Burrus et *al.*, 1990). Le phosphore soluble, aussi nommé phosphore réactif soluble (PRS), est considéré comme immédiatement disponible, et correspond en moyenne au 67-87 % (Tang et *al.*, 2014), 45,5-75,6 % (Xie, 2003), ou 20-30 % (Burrus et *al.*, 1990) du phosphore total, et sa dynamique de concentration est similaire à celle généralement observée pour le phosphore total. La libération du PRS par les sédiments a lieu soit par sa mobilisation à partir des particules remises en suspension, soit après sa mobilisation dans l'eau interstitielle et un transport par les espèces dissoutes. En effet, l'azote dissous favorise l'activité biologique et cette augmentation pourrait affecter positivement la libération du phosphore en solution qui serait donc disponible pour être utilisé comme un élément nutritif. Cette relation a été principalement marquée par les différentes périodes d'échantillonnage, montrant que la concentration d'azote dissous est significativement plus basse à la station Nord par rapport à la station du Sud. De même à la station de l'Ouest la valeur est plus basse par rapport à l'Est. Les analyses effectuées dans les sédiments du lac Dzilandzé montrent que la qualité globale du milieu est acide et polluée et favorise encore une fois le phénomène d'eutrophisation. Les critères de qualité, quand ils sont comparables avec nos données, sont tous respectés.

Evaluation des teneurs en matière organique (MO)

La matière organique (en %) est constituée par des cellules de micro-organismes, restes de végétaux et d'animaux à différents stades de décomposition, humus stable, et des composés tels que le charbon et le graphite. La matière organique est donc un indicateur de l'activité biologique et du statut nutritionnel des sédiments. Certains éléments (Hg, As, Sb, Pb, Cd, Zn) montrent une grande affinité pour la matière organique, tandis que d'autres (Al, Cr, Co, Fe, Mn) montrent peu de tendance à être adsorbés sur la fraction organique (El Bilali et *al.*, 2002). Dans le cas du phosphore, sa sorption dans les sédiments est l'un des processus les plus importants dans la régulation de sa mobilisation et son comportement dynamique. En général, la matière organique est positivement corrélée avec l'adsorption du phosphore (Tang et *al.*, 2014). Les sédiments analysés présentent majoritairement de fortes teneurs en MO, car les valeurs excèdent largement 4 % (Yantikoua et *al.*, 2021). Par ailleurs, les teneurs en MO comprises entre 14,421 et 34,704 % dénotent

que le lac est hautement pourvu en matière organique (MO). De telles teneurs s'observent au Sud 15,993% et Nord de 34,704% du lac ; alors que les secteurs à teneurs en MO à 15,646% et à 14,421 % caractérisent les parties Est et Ouest du lac bien pourvus aussi en MO. La teneur maximale en MO du sédiment (34,704 %) est observée au Nord du lac. Par conséquent, le lac Dzilandzé détient une quantité de Matière Organique (MO) importante à être exploité dans le futur. D'autres lacs comme le lac La Retenue, les valeurs des concentrations de la matière organique dans la phase solide des sédiments des huit carottes prélevées présentent un très grand range de variation, entre 0,5 % (carotte 6) et 43 % (carotte 3) (Mme Lydia & M. Denis Fecteau, 2014).

La granulométrie

La granulométrie des sédiments est déterminée afin de comprendre l'origine des apports sédimentaires du lac. Ce paramètre nous indique la distribution de taille des particules minérales dans les sédiments, c'est-à-dire, la proportion de sable, de limon et d'argile. La granulométrie est essentielle afin d'évaluer la disponibilité immédiate et potentielle des nutriments et des polluants. Cela montre que dans l'ensemble le sable est beaucoup plus exprimé que l'argile et le limon dans les sédiments. Les éléments terrigènes sont abondants et majoritaires. Le faciès terrigène domine sur les sédiments du lac Dzilandzé. Cette expression de ce faciès terrigène démontre que l'envasement du lac est beaucoup alimenté par l'érosion des versants cratériques. Les sédiments sont de nature sableuse, argileuse et limoneuse.

Densité

Selon la dimension des particules et de leur masse, la distribution spatio-temporelle est régie par la densité. Dans ce géosystème fermé du lac Dzilandzé, la répartition des sédiments est systématique circulaire et épouse la géomorphologie du cratère lacustre. La distribution et la répartition des sédiments sont beaucoup plus nettes et obéissent à la loi densimétrique. Du sud vers le centre du lac, les particules se déposent en fonction de la densité des grains : les particules les plus lourdes (les sédiments terrigènes) aux abords du lac et les plus légères vers le centre du lac.

Eutrophisation du lac Dzilandzé

Durant le 20ème siècle, la majorité des lacs a vu la qualité de ses eaux fortement baissées à cause d'un apport excessif de composés organiques, ou nutriments (principalement le phosphore et l'azote qui sont des éléments naturels essentiels à la vie végétale et animale) issus des engrais agricoles et des rejets domestiques (eaux usées). Cet excès de nutriments (qui limitent la croissance de la biomasse) d'origine humaine a augmenté la production algale dans les lacs et la concentration en carbone organique d'origine planctonique dans les eaux de surface, ce qui a fortement réduit

la teneur en oxygène des eaux et donc leur qualité. Ce phénomène d'eutrophisation favorise la prolifération d'autres espèces envahissantes comme les cyanobactéries qui peuvent produire des toxines qui vont s'accumuler dans la chaîne alimentaire et présenter un potentiel danger pour les consommateurs de poissons qui se trouvent en fin de chaîne alimentaire (Theveren, 2014).

L'une des premières conséquences de la pollution des eaux est la propagation anormale d'algues due à la présence excessive d'éléments nutritifs. L'eutrophisation des lacs et des réservoirs se classe parmi les paramètres de pollution des eaux les plus répandus. L'eutrophisation est un processus naturel à l'origine très lent, par lequel les plans d'eau reçoivent une grande quantité d'éléments nutritifs (notamment du phosphore et de l'azote), ce qui stimule la croissance des algues et des plantes aquatiques. Cependant, les activités humaines l'ont accéléré dans de nombreux lacs en augmentant la quantité d'éléments nutritifs qui leur parviennent, provoquant des changements dans l'équilibre de ces écosystèmes aquatiques en quelques décennies voir même en quelques années c'est le cas du lac Dzilandzé. Stimulées par cet apport en éléments nutritifs, certaines algues ou macrophytes se développent de manière excessive et envahissent les couches d'eaux superficielles des plans d'eau. Les variations climatiques provoquant des modifications de la végétation et des conditions pédologiques des bassins versants respectifs peuvent conduire à des transformations des conditions trophiques des masses d'eau.

CONCLUSION

Dzilandzé est un lac de cratère contenant la plus importante réserve hydrique potentielle de l'île d'Anjouan en Union des Comores. Restait fort longtemps sacré et mystérieux, le lac Dzilandzé n'a reçu aucune étude satisfaisante pour identifier les sédiments, analyser et étudier leur répartition au niveau du lac. La détermination des caractéristiques physico-chimiques des sédiments lacustres de Dzilandzé donne les résultats suivants : la température à 22°C, le pH acide (5,50 à 5,88), l'azote (0,657% à 0,777%) ; le phosphore (0,520ppm à 2,192ppm), la matière organique (MO) (14,421% à 34,704%), la densité (0,415g/cm³ à 2g/cm³) et la granulométrie dont les argiles sont beaucoup exprimées de 13%, de 11% de limon au Nord et de 89% de sable au Sud du lac. Ces paramètres physico-chimiques caractérisent l'état acide du lac. L'excès de Matière Organique (MO) et d'éléments nutritifs (N et P) conduit au lac au phénomène d'eutrophisation (Eutrophe). C'est la première fois pour une étude hydro-sédimentaire du lac Dzilandzé. Ainsi, la recherche est à caractère social et innovant. Pour conclure, les campagnes hydro-sédimentaires, l'identification des caractéristiques physico-chimiques des sédiments dans le Lac Dzilandzé témoigne une richesse en base de données et caractérise une signature scientifique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) Abdellaoui, B., Merzouk, A., Pépin, Y., Aberkan, M., & Albergel, J. (2009). Simulation du bilan hydro-sédimentaire d'un barrage collinaire en zone marneuse méditerranéenne (Cas du barrage Saboun, Maroc). *Revue des sciences de l'eau*, 22(4), 487-504. <https://doi.org/10.7202/038327ar>
- 2) Agathe, F. (2005). *Quantification de l'érosion et de la sédimentation dans le bassin de la Sarliève (massif central, France)*.
- 3) Festy, B., Hartemann P, Ledrans M, Levallois P, Payment P, & Tricard D. (2003). *Qualité de l'eau, environnement et santé publique- Fondements et pratiques*, PP 333-368.
https://espum.umontreal.ca/fileadmin/espum/documents/DSEST/Environnement_et_sante_publique_Fondements_et_pratiques/19Chap13.pdf
- 4) Guergueb, S. (2015). *These-Guergueb-Salha.pdf* [Université Badji Mokhtar - Annaba].
<https://biblio.univ-annaba.dz/wp-content/uploads/2017/11/These-Guergueb-Salha.pdf>
- 5) Laval, M., Ferry, L., Coulibaly, N., Martin, D., Muther, N., & Mietton, M. (2012). *Evaluation et analyse de la dynamique sédimentaire dans le barrage-réservoir de Sélingué (Mali)*. 25.
- 6) Legoff, N. (2011). Les Comores et l'aléa cyclonique dans le contexte des changements climatiques : La vulnérabilité différenciée d'Anjouan et de Mayotte. *Vertigo*, Volume 10 Numéro 3. <https://doi.org/10.4000/vertigo.10497>
- 7) Mama, D. (2010). *Méthodologie et résultats du diagnostic de l'eutrophisation du lac Nokoue (Benin)*. 177.
- 8) Mme Lydia, F., & M. Denis Fecteau. (2014). *Caractérisation-sédiments-et-qualité-eau-de-surface (1).pdf* (Québec).
- 9) Myriam, L., Jean-Moulin, U., Luc, F., G-Eau, I.-U., N'Tjie, C., Didier, M., G-Eau, I.-U., Adine, M., G-Eau, I.-U., Michel, M., & Jean-Moulin, U. (2012). *Evaluation et analyse de la dynamique sédimentaire dans le barrage-reservoir de Selingue*. 22.
- 10) Nourddine, M. (2014). *Dynamiques d'évolution des géosystèmes en milieu tropical humide insulaire : Approche par les bassins versants d'Anjouan aux Comores*. 256.
- 12) Ranarijaona, H. L. T. (1999). *Les macrophytes des milieux lenticques de Madagascar : Biotypologie, diversité, espèces envahissantes et mesure de conservation*. 21.

- 13) Sidi, S. (2011). *Université d'Antananarivo (Madagascar) Faculté des lettres et Sciences humaines Département : Géographie*. 137.
- 14) Thevenon, F., Poté, J., Girardclos, S., & Adatte, T. (2014). *Introduction - Lecture des sédiments*. 3, 11.
- 15) Theveren. (2014). *Etude des sédiments lacustres*. 3, 22-31. Ouvert.
- 16) Vollenweider, R. A. (1970). *Les bases scientifiques de l'eutrophisation des lacs et des eaux courantes sous l'aspect particulier du phosphore et de l'azote comme facteurs d'eutrophisation* (p. 217 pages, figures, cartes, bibliographie) [Research Report]. Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE). <https://hal.science/hal-01512931>
- 17) Yantikoua, S., Laïbi, R., Adechina, R., Kaki, C., Mama, D., & Laleye, P. (2021). Dynamique hydrologique et évolution morpho sédimentaire du lac Ahémé au Sud-Ouest du Bénin. *European Scientific Journal ESJ*, 17(10). <https://doi.org/10.19044/esj.2021.v17n10p77>
- 18) Tang, X., Wu, M., Dai, X., Chai, P., 2014. Phosphorus storage dynamics and adsorption characteristics for sediment from a drinking water source reservoir and its relation with sediment compositions. *Ecological Engineering* 64, 276–284.
- 19) Xie, L., 2003. Enhancement of dissolved phosphorus release from sediment to lake water by *Microcystis* blooms—an enclosure experiment in a hyper-eutrophic, subtropical Chinese lake. *Environmental Pollution* 122, 391–399.

EFFETS DES EXTRAITS MÉTHANOLIQUE, DICHLOROMÉTHANIQUE DE *RHOPALOCARPUS SIMILIS* (SPHAEROSEPALACEAE) SUR L'ŒDÈME INFLAMMATOIRE

par

RAMA Michela Stephanie^(1, 2), ROUKIA Djoudi^(1, 2),
RAZAFINDRAMANANA Jeenath F.^(1, 2), RAJAONARISON Jean F.^(1, 2)

(1) Ecole Doctorale Génie du Vivant et Modélisation, Université de Mahajanga, Madagascar

(2) Faculté des Sciences, de Technologies et de l'Environnement, Université de Mahajanga, Madagascar

RESUME

Cette étude a pour objectif de démontrer expérimentalement *in vivo* l'activité anti-œdémateuse des extraits méthanolique et dichlorométhanique des feuilles de *Rhopalocarpus similis* (SPHAEROSEPALACEAE) chez la souris. Pour cela, deux modèles de tests d'œdème inflammatoire ont été utilisés. La carragénine (2% et 1%) a été utilisée pour provoquer des œdèmes au niveau de la patte des souris. L'extrait méthanolique aux doses de 150 et 300 mg/kg, prévient de manière significative (test ANOVA, statistiquement significatif, $p < 0,05$) les œdèmes des pattes de souris des modèles 1 et 2. Les augmentations des œdèmes ont été de $47,26 \pm 4,99\%$ et de $46,56 \pm 4,49\%$ respectivement, $51,71 \pm 5,23\%$ pour l'indométacine (10 mg/kg, produit de référence) *versus* $80,47 \pm 1,76\%$ pour le témoin, quatre heures après injection de la carragénine 2% (modèle 1). Elles ont été de $16,96 \pm 3,26\%$ et $19,37 \pm 2,06\%$ respectivement, $16,18 \pm 2,94\%$ pour l'indométacine *versus* $25,11 \pm 2,70\%$ pour le témoin, quatre heures après injection de la carragénine 1% (modèle 2). L'extrait dichlorométhanique, aux doses de 37,5 ; 75 ; 150 et 300 mg/kg, remédie significativement ($p < 0,05$) aux inflammations des pattes avec des pourcentages d'augmentation des œdèmes de $10,97 \pm 1,55\%$, $11,49 \pm 2,32\%$, $17,93 \pm 2,82\%$ et $10,60 \pm 2,32\%$ respectivement, $8,18 \pm 0,98\%$ pour l'indométacine *versus* $29,05 \pm 3,45\%$ pour le témoin, quatre heures après injection de la carragénine (1%) (modèle 2). Ces résultats montrent que les feuilles de *Rhopalocarpus similis* possèdent une activité anti-œdémateuse et de ce fait, anti-inflammatoire qui justifierait leurs utilisations en médecine traditionnelle pour traiter les signes d'une inflammation exacerbée.

Mots clés : *Rhopalocarpus similis*, Œdème, Inflammation, Carragénine, Anti-inflammatoire

ABSTRACT

This study aims to demonstrate experimentally *in vivo* the anti-edematous activity of methanolic and dichloromethanic extracts of *Rhopalocarpus similis* (SPHAEROSEPALACEAE) leaves in mice. Two models of inflammatory edema tests were used. Model 1 and 2 of which carrageenan 2% and 1%, respectively, were used to cause edema in the paws of mice. The methanolic extract at doses of 150 and 300 mg/kg significantly prevents (ANOVA test, $p < 0,05$) edema in the paws of mice in models 1 and 2. The increases in edema are $47,26 \pm 4,99\%$ and $46,56 \pm 4,49\%$ respectively, $51,71 \pm 5,23\%$ for indomethacin (10 mg/kg, reference product) *versus* $80,47 \pm 1,76\%$ for the control, four hours after injection of carrageenan 2%. They are $16,96 \pm 3,26\%$ and $19,37 \pm 2,06\%$ respectively, $16,18 \pm 2,94\%$ for indomethacin *versus* $25,11 \pm 2,70\%$ for the control, four hours after injection of carrageenan 1%. The dichloromethanic extract, at doses of 37,5 ; 75 ; 150 and 300 mg/kg, significantly ($p < 0,05$) remedies inflammation of the paws with percentage increases in edema of $10,97 \pm 1,55\%$, $11,49 \pm 2,32\%$, $17,93 \pm 2,82\%$ and $10,60 \pm 2,32\%$ respectively, $8,18 \pm 0,98\%$ for indomethacin *versus* $29,05 \pm 3,45\%$ for the control, four hours after injection of carrageenan 1%. These results show that the leaves of *Rhopalocarpus similis* have an anti-edematous and therefore anti-inflammatory activity which would justify their use in traditional medicine to treat the signs of exacerbated inflammation.

Key words : *Rhopalocarpus similis*, Edema, Inflammation, Carrageenan, Anti-inflammatory

FINTINA

Ity fikarohana velona ity dia mikendry ny hampiseho amin'ny fomba andrana ny hetsika manasitrana fivontosana ny fitrandrahana metanôlika sy diklôrômetanika avy amin'ny ravina *Rhopalocarpus similis* (SPHAEROSEPALACEAE) na hazondringitra amin'ny totozy. Araka izany dia modely roa amin'ny fitsapana fivontosana mamaivay no nampiasaina. Modely 1 sy 2 izay ny carragénine 2% sy 1%, tsirairay avy, dia nampiasaina mba hahatonga ny fivontosana amin'ny tongotry ny totozy. Ny fitrandrahana metanôlika amin'ny fatra 150 sy 300 mg/kg dia manakana be ($p < 0,05$) ny fivotontosan'ny tongotry ny totozy amin'ny modely 1 sy 2. Ny fitombony dia $47,26 \pm 4,99\%$ ary $46,56 \pm 4,49\%$ tsirairay avy, $51,71 \pm 5,23\%$ ho an'ny indométacine (10 mg/kg, vokatra fanondro) mifanohitra amin'ny $80,47 \pm 1,76\%$ ho an'ny fanaraha-maso, adiny efatra aorian'ny fampidirana carragénine (modely 1). Izy ireo dia $16,96 \pm 3,26\%$ ary $19,37 \pm 2,06\%$ tsirairay avy, $16,18 \pm 2,94\%$ ho an'ny indométacine mifanohitra amin'ny $25,11 \pm 2,70\%$ ho an'ny fanaraha-maso, adiny efatra aorian'ny fampidirana carragénine (modely 2). Ny fitrandrahana

diklôrômetanika, amin'ny fatra 37,5 ; 75 ; 150 sy 300 mg/kg, dia manasitrana mamaivay ($p < 0,05$) ny tongotra miaraka amin'ny fitomboan'ny isan-jaton'ny fivontosana $10,97 \pm 1,55\%$, $11,49 \pm 2,32\%$, $17,93 \pm 2,82\%$ ary $10,60 \pm 2,32\%$ ho an'ny indométacine, 8,18% tsirairay avy, mifanohitra amin'ny $29,05 \pm 3,45\%$ ho an'ny fanaraha-maso, adiny efatra aorian'ny fampidirana ny carragénine (modely 2). Ireo vokatry ireo dia mampiseho fa ny ravin'ny hazondringitra dia manasitrana fivontosana ary noho izany dia manasitrana ny mamaivay izay mety hanamarina ny fampiasana azy amin'ny fitsaboana nentim-paharazana mba hitsaboana ny famantarana ny fivontosana mihamitombo.

Teny fototra : *Rhopalocarpus similis*, Fivontosana, Manasitrana mamaivay, Carragénine

INTRODUCTION

L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement des maladies est commune depuis l'antiquité jusqu'à nos jours. Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), 80% de la population des pays en développement utilisent de la médecine traditionnelle pour leurs traitements primaires (Kumar et Navaratnam, 2013).

L'inflammation est une réaction de défense innée de l'organisme contre les agressions. Son but est d'éliminer les agents pathogènes afin d'aboutir à la restauration des tissus lésés (Serra et *al.*, 2017). L'inflammation présente quatre signes cardinaux : la chaleur, la rougeur, l'œdème et la douleur (Bellik et *al.*, 2013). Le corps initie une série de signaux chimiques en réponse aux tissus blessés. Ces signaux stimulent la chimiotaxie des leucocytes vers le site d'inflammation. Les leucocytes activés libèrent de nombreuses cytokines qui induisent des réponses inflammatoires (Jabbour et *al.*, 2009). Les cellules du système immunitaire comme les macrophages, les monocytes et les lymphocytes produisent des cytokines inflammatoires comme l'interleukine-1 β (IL-1 β), l'interleukine-6 (IL-6), et le facteur de nécrose tumorale- α (TNF- α) qui favorisent l'inflammation (Turner et *al.*, 2014). La réaction inflammatoire devient pathologique lorsqu'elle est exagérée, d'où le besoin d'utiliser les anti-inflammatoires (Kamau et *al.*, 2016). Beaucoup de médicaments ont été produits pour atténuer l'inflammation, mais la plupart d'entre eux peuvent avoir des effets secondaires importants tels que gastrite, problème rénal et hépatotoxicité (Akkol, 2012). En revanche, le coût des médicaments est le défi majeur pour les pays en développement (Scitovsky, 2005).

De nombreuses plantes médicinales possèdent des vertus thérapeutiques à l'origine du succès de la phytothérapie et de la médecine traditionnelle. La plante *Rhopalocarpus similis* (SPHAEROPALACEAE), ou « hazondringitra »,

endémique de Madagascar, est utilisée traditionnellement par la population malagasy pour soigner les enflures (œdèmes) et les douleurs articulaires. Cette étude a été entreprise afin de valoriser cette plante en démontrant scientifiquement son potentiel anti-inflammatoire permettant ainsi de mieux appréhender son utilisation en médecine traditionnelle.

MATERIELS ET METHODE

Animaux d'expérimentation

Des souris SWISS mâles et femelles de poids variant de 25 à 30 g et âgées de 6 semaines ont été utilisées. Ces animaux ont été élevés au rythme circadien naturel à l'animalerie du Laboratoire de Recherche en Biotechnologie, Environnement et Santé (LRBES) de l'Ecole Doctorale Génie du Vivant et Modélisation (EDGVM) de l'Université de Mahajanga. Ils ont reçu quotidiennement de la provende Livestock Feed Ltd-1420 (LFL) et de l'eau à volonté.

Matériel végétal

Les feuilles de *Rhopalocarpus similis* ont été récoltées dans la Région SOFIA (Madagascar). Elles ont été séchées dans un endroit sec, à température ambiante et à l'abri de la lumière, puis broyées en fine poudre.

Procédures d'extraction

300 g de poudre de feuilles ont été macérés sous agitation dans 3 L de méthanol, pendant 72 h et à température ambiante. Le macérât a ensuite été filtré puis évaporé à 40° C. Ce procédé a permis d'obtenir un extrait brut méthanolique (EBM) avec un rendement d'extraction de 6,95%. 180 g de poudre de feuilles ont été macérés sous agitation dans 3 L de dichlorométhane, pendant 72 h et à température ambiante. Le macérât a ensuite été filtré puis évaporé à 40° C. Ce procédé a permis d'obtenir un extrait brut dichlorométhanique (EBD) avec un rendement d'extraction de 0,97%.

Tests anti-œdémateux

Test sur œdème de patte provoqué par la carragénine 2%

Le test anti-œdémateux a été réalisé à l'aide d'un modèle expérimental (Modèle 1) d'inflammation aigüe provoquée chez la souris selon la méthode décrite par Udegbunam et *al.* (2012). Pour cela, les souris ont été mises à jeun 16 h avant l'expérience. Elles ont été réparties en 4 lots de 7 souris dont : un lot témoin ayant reçu du DMSO 5% (véhicule), un lot de référence traité avec de l'indométacine (10 mg/kg) et 2 lots traités avec EBM aux doses respectives de 150 et de 300 mg/kg. Une heure après l'administration des produits, la carragénine (2%) dans du NaCl à 0,9% a été injectée au niveau de la voûte plantaire de la patte postérieure de l'animal

à un volume de 100 µl pour provoquer un œdème inflammatoire. Les volumes des pattes des souris ont été mesurés à l'aide d'un pléthysmomètre (UGO BASILE 71) avant l'injection de la carragénine sur les pattes non enflammées (V_o), ensuite juste après l'injection (V_{to}) pour mesurer l'œdème formé, puis à 1h, 2h, 3h et 4h pour l'étude de l'effet anti-inflammatoire (V_t). Les pourcentages d'inflammation et d'inhibition en fonction du temps ont ensuite été respectivement calculés selon les formules :

$$\text{Pourcentage d'inflammation (PI \%)} = \frac{(V_t - V_o)}{(V_{to} - V_o)} \times 100$$

$$\text{Pourcentage d'inhibition de l'inflammation (\%)} = 100 - \text{PI}$$

Test sur œdème de patte provoqué par la carragénine à 1%

Le test anti-œdémateux a été réalisé à l'aide d'un modèle expérimental d'inflammation aigüe (Modèle 2) provoquée chez la souris selon la méthode décrite par Winter et *al.* (1962), avec de légères modifications. Pour cela, les souris ont été mises à jeun 16 h avant l'expérience. D'une part, elles ont été réparties en 5 lots de 5 souris dont : un lot témoin ayant reçu de l'eau distillée (ED), un lot de référence traité avec de l'indométacine (10 mg/kg), 3 lots traités avec EBM aux doses respectives de 75, 150, 300 mg/kg. Une heure après l'administration des produits, la solution de carragénine 1% (dans du NaCl à 0,9%) a été injectée au niveau de la voûte plantaire de la patte postérieure de l'animal à un volume de 50 µl pour provoquer un œdème inflammatoire. Les épaisseurs des pattes des souris ont été mesurées à l'aide d'un pied à coulisse digitale, avant l'injection de la carragénine sur les pattes non enflammées (E_o) puis à 1 h, 2 h, 3 h et 4 h après l'injection, pour l'étude de l'effet anti-inflammatoire (E_t) (Igbe et Inarumen, 2013). D'autre part, les souris ont été réparties en 6 lots de 5 dont : un lot témoin ayant reçu du DMSO 4% (véhicule), un lot de référence traité avec de l'indométacine (10 mg/kg), 4 lots traités avec EBD aux doses respectives de 37,5 ; 75 ; 150 et 300 mg/kg. Trente minutes après l'administration des produits, la carragénine 1% (dans du NaCl à 0,9%) a été injectée au niveau de la voûte plantaire de la patte postérieure de l'animal à un volume de 50 µl pour provoquer un œdème inflammatoire (Puttaswamy et *al.*, 2018). Les épaisseurs des pattes des souris ont été mesurées à l'aide d'un pied à coulisse digitale, avant l'injection de la carragénine sur les pattes non enflammées (E_o) puis à 0,5 h, 1 h, 2 h, 3 h, et 4 h après l'injection, pour l'étude de l'effet anti-inflammatoire (E_t). L'importance de l'œdème a ensuite été appréciée par la détermination de la moyenne du pourcentage d'augmentation (AUG%) de l'épaisseur de la patte de souris suivant la formule :

$$\text{Pourcentage d'augmentation de l'œdème (AUG \%)} = \frac{(Et - Eo)}{Eo} \times 100$$

L'activité anti-inflammatoire a été aussi évaluée par le calcul du pourcentage d'inhibition (INH%) de l'œdème selon la formule :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (INH \%)} = \frac{(AUG\% \text{témoin} - AUG\% \text{traités})}{AUG\% \text{témoin}} \times 100$$

Analyses statistiques

Les résultats sont exprimés en moyenne plus ou moins l'erreur standard à la moyenne ($m \pm \text{e.s.m}$). Les analyses statistiques ont été effectuées sous le logiciel R Studio, et les données ont été analysées par le test d'ANOVA ONE WAY, suivi du test de comparaison multiple de Dunnett. Les valeurs de p value inférieurs à 0,05 ; 0,01 et 0,001 sont considérées significatives.

RESULTATS

Tests anti-œdémateux

L'extrait brut méthanolique (EBM), à la dose de 300 mg/kg, réduit significativement l'œdème inflammatoire provoqué par l'injection de la carragénine à 2% (Modèle 1), dès la première heure après l'injection de cette dernière et à partir de la troisième heure pour la dose de 150 mg/kg (Tableau 1).

Les extraits bruts méthanolique (EBM) et dichlorométhanique (EBD), à différentes doses, réduisent significativement l'œdème inflammatoire provoqué par l'injection de la carragénine à 1% (Modèle 2), dès la première heure après l'injection de cette dernière (Tableau 2 et Tableau 3, respectivement).

Tableau 1 : Effet de l'extrait brut méthanolique de feuilles (EBM) *Rhopalocarpus similis* sur l'œdème provoqué par l'injection de carragénine 2%

Produits	Temps (minutes)							
	60		120		180		240	
	Inf (%)	Inh (%)	Inf (%)	Inh (%)	Inf (%)	Inh (%)	Inf (%)	Inh (%)
Témoin DMSO 5%	92,55 ± 1,35	7,45	90,9 ± 1,30	9,1	84,48 ± 1,53	15,52	80,47 ± 1,76	19,53
EBM 150mg/kg	89,97 ± 2,34	10,03	83,38 ± 2,51	16,62	65,61 ± 3,93 **	34,39	47,26 ± 4,99 ***	52,74
EBM 300mg/kg	73,97 ± 3,80 **	26,03	55,12 ± 2,76 ***	44,88	47,67 ± 4,00 ***	52,33	46,56 ± 4,49 ***	53,44
Indométacine 10mg/kg	85,98 ± 3,04	14,02	75,68 ± 3,06 **	24,32	71,34 ± 3,66 *	28,66	51,73 ± 5,23 **	48,27

Inf : Inflammation ; **Inh :** Inhibition

Les résultats sont exprimés en moyenne ± e.s.m ; n=5 ; les valeurs de p<0,01 (**) et p<0,001 (***) sont considérées comme significatives ; l'indométacine à 10 mg/kg a été utilisé comme médicament de référence.

Tableau 2 : Effet de l'extrait brut méthanolique de feuilles (EBM) *Rhopalocarpus similis* sur l'œdème provoqué par l'injection de carragénine 1%

Produits	Temps (minutes)							
	60		120		180		240	
	Inf (%)	Inh (%)	Inf (%)	Inh (%)	Inf (%)	Inh (%)	Inf (%)	Inh (%)
Témoin Eau distillée	21,71 ± 0,96	---	18,87 ± 2,26	---	25,44 ± 2,84	---	25,11 ± 2,70	---
EBM 150mg/kg	5,27 ± 0,94 ***	77,31	8,54 ± 2,09 *	58,03	11,28 ± 2,04 *	60,65	16,96 ± 3,26 *	34,13
EBM 300mg/kg	6,10 ± 1,04 ***	78,27	9,04 ± 1,14 *	64,53	15,91 ± 1,25 *	49,90	19,37 ± 2,06 *	26,30
Indométacine 10mg/kg	8,15 ± 1,49 ***	63,93	5,45 ± 1,10 **	71,39	5,58 ± 0,92 ***	81,70	16,18 ± 2,94 *	39,04

Inf : Inflammation ; **Inh :** Inhibition

Les résultats sont exprimés en moyenne ± e.s.m ; n=5 ; les valeurs de p<0,05 (*), p<0,01 (**) et p<0,001 (***) sont considérées comme significatives ; l'indométacine à 10 mg/kg a été utilisé comme médicament de référence.

Tableau 3 : Effet de l'extrait brut dichlorométhanique de feuilles (EBD) *Rhopalocarpus similis* sur l'œdème provoqué par l'injection de carragénine 1%

Produits	TEMPS (minutes)									
	30		60		120		180		240	
	Inf (%)	Inh (%)	Inf (%)	Inh (%)	Inf (%)	Inh (%)	Inf (%)	Inh (%)	Inf (%)	Inh (%)
Témoin DMSO 4%	21,09 ± 2,00	---	12,48 ± 2,58	---	19,05 ± 3,43	---	23,94 ± 2,81	---	29,05 ± 3,45	---
EBD 37,5mg/kg	13,11 ± 1,81 **	37,84	6,69 ± 1,68 *	46,44	11,95 ± 3,18 *	37,30	11,21 ± 3,61 **	51,52	10,97 ± 1,55 ***	62,24
EBD 75mg/kg	5,20 ± 1,51 ***	75,34	3,14 ± 0,91 **	74,86	0,74 ± 0,65 ***	96,10	7,90 ± 1,00 ***	67,02	11,49 ± 2,32 ***	60,44
EBD 150mg/kg	10,73 ± 0,80 ***	49,10	5,04 ± 1,57 *	59,63	7,39 ± 0,96 **	61,19	9,46 ± 1,79 ***	60,51	17,93 ± 2,82 *	38,28
EBD 300mg/kg	5,17 ± 0,82 ***	75,26	4,05 ± 0,29 **	67,64	1,20 ± 0,71 ***	93,62	7,63 ± 1,51 ***	67,75	10,60 ± 2,32 **	63,09
Indométacine 10mg/kg	5,57 ± 1,14 ***	73,59	8,88 ± 1,06 *	28,86	2,69 ± 0,41 ***	85,88	3,49 ± 0,63 ***	85,42	8,18 ± 0,98 ***	71,85

Inf : Inflammation ; **Inh** : Inhibition

Les résultats sont exprimés en moyenne ± e.s.m ; n=5 ; les valeurs de p<0,05 (*), p<0,01 (**) et p<0,001 (***) sont considérées comme significatives ; l'indométacine à 10 mg/kg a été utilisé comme médicament de référence.

DISCUSSION

Cette étude a été menée pour explorer l'activité anti-inflammatoire des extraits de *Rhopalocarpus similis* en utilisant des modèles d'inflammation de la patte des souris, provoquée par la carragénine. L'inflammation, qu'elle soit locale ou systémique, est associée à une augmentation de la production des principales cytokines pro-inflammatoires telles que TNF α , IL-1, IL-6 (Necas & Bartosikova, 2013).

La carragénine est un polysaccharide obtenu à partir d'une algue marine et l'œdème provoqué par cette dernière est un modèle d'expérimentation largement utilisé pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire d'un produit (Archera et al., 2015). L'inflammation due à la carragénine est décrite comme étant biphasique (Soro et al., 2015). La phase initiale se produit 1 à 2 heures après injection de carragénine, en raison de la libération de sérotonine et de l'augmentation des prostaglandines, de l'histamine et de la bradykinine (Sadeghi et al., 2011), alors que la 2^{ème} phase se produit 3 à 5 heures après l'injection de carragénine, qui est corrélée avec la production et la libération de kinines et de prostaglandines (Zhou et al., 2008). L'indométacine a été utilisée comme médicament de référence dans cette étude. Auparavant, diverses études utilisaient également ce produit comme médicament standard pour l'étude de l'activité inflammatoire (Ortiz et al., 2017). Chez le lot des souris ayant reçu de l'indométacine qui est un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) de référence, l'activité anti-œdémateuse observée est due à l'inhibition des cyclooxygénases entraînant une inhibition de la production des prostaglandines, du thromboxane A2 ainsi que des prostacyclines (Chopade et al., 2014).

Les résultats de cette étude montrent que les extraits de *Rhopalocarpus similis* présentent une activité inhibitrice significative contre l'œdème de la patte induit par la carragénine, comparable à la référence qui est l'indométacine. L'activité anti-inflammatoire des extraits pourrait être due à un mécanisme qui implique l'inhibition de l'enzyme cyclooxygénase associée à la cascade inflammatoire induite par la carragénine (Reanmongkol et Songkram, 2013).

CONCLUSION

Cette étude a permis de démontrer scientifiquement l'activité anti-inflammatoire des extraits méthanolique et dichlorométhanique de feuilles de *Rhopalocarpus similis* en confirmant leurs activités anti-œdémateuses. Les résultats obtenus constituent une base scientifique qui justifie l'utilisation traditionnelle de cette plante dans la prise en charge des pathologies à composante inflammatoire. Cette étude

contribue à l'amélioration de la santé de la population permettant ainsi un meilleur développement durable. Toutefois, des études plus approfondies restent nécessaires.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) Akkol, E.K. (2012). New strategies for anti-inflammatory drug development. *J Pharmacogenomics Proteomics* (2012) ; 3 : 1-3.
- 2) Archera, A., Muthukumar, S., Halami, P. (2015). Anti-inflammatory potential of probiotic *Lactobacillus* spp. on carrageenan induced paw edema in Wistar rats. *Intl J Biol Macromol*, 81: 530-537.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.08.044>
- 3) Bellik, Y., Boukraâ, L., Alzahrani, H.A., Bakhotmah, B.A., Abdellah, F., Hammoudi, S.M., Iguer-Ouada, M. (2013). Molecular Mechanism Underlying Anti-Inflammatory and Anti-Allergic Activities of Phytochemicals: An Update. *Molecules*, 18: 322-353. <https://doi.org/10.3390/molecules1801032>
- 4) Chopade, A.R., Fahim, J.S., Nilofar, S. Naikwade, (2014). Pharmacological characterization of carrageenan induced heat muscle hyperalgesia in rats using non-selective, preferential and selective COX-2 inhibitors. *Pharmacological Reports*, 66(2014) 353-362.
- 5) Igbe, I., Inarumen, G.O., (2013). The effect of leaf aqueous extract of *Brachystegia eurycoma* harms (Fabaceae) in acute and chronic inflammatory animal models. *Br. J. Pharmaceut. Res.* 3 (3), 391-400.
- 6) Jabbour, H.N., Sales, K.J., Catalano, R.D., Norman, J.E., (2009). Inflammatory pathways in female reproductive health and disease. *Reproduction* 138, 903–919.
- 7) Kamau, J.K., Nthiga, P.M., Mwonjoria, J.K., Ngeranwa, J.J.N., Ngugi, M.P., (2016). Anti-Inflammatory Activity of Methanolic Leaf Extract of *Kigelia africana* (Lam.) Benth and Stem Bark Extract of *Acacia Hockii* De Wild in Mice. *Journal of Developing Drugs*, DOI: 10.4172/2329-6631.1000156.
- 8) Kumar, V. S., Navaratnam, V., Neem (2013), (*Azadirachta indica*): prehistory to contemporary medicinal uses to humankind. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2013;3(7):505-14.
- 9) Necas, J., Bartosikova, L., (2013). Carrageenan: a review. *Veterinari Medicina*, 58, 2013 (4): 187–205.
- 10) Ortiz, M.I., Cariño-Cortés, R., Ponce-Monter, H.A., González-García, M.P., Castañeda-Hernández, G., Salinas-Caballero, M. (2017). Synergistic interaction of *Matricaria chamomilla* extract with diclofenac and indomethacin on carrageenan-induced paw inflammation in rats. *Drug Dev Res* 2017 ; 78 : 360-7.

- 11) Puttaswamy, N., Malojiao, V.H., Mohammed, Y., Sherapura, A., Prabhakar, B.T., Khanum, S.A., (2018). Synthesis and amelioration of inflammatory paw edema by novel benzophenone appended oxadiazole derivatives by exhibiting cyclooxygenase-2 antagonist activity. *Biomed. Pharmacother.* 103, 1446-1455.
- 12) Reanmongkol, W., Songkram, C., (2013). *In vivo* anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of novel thiazolidine-2,4-dione analogs derived from some classical NSAIDs. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 35 (1), 33-4
- 13) Sadeghi, H., Hajhashemi, V., Minaiyan, M., Movahedian, A., Talebi A. (2011). A study on the mechanisms involving the anti-inflammatory effect of amitriptyline in carrageenan-induced paw edema in rats. *Eur J Pharmacol* (2011) ; 667 : 396-401.
- 14) Scitovsky AA. (2005). "The high cost of dying": What do the data show? *Milbank Q* 2005 ; 83 : 825-41.
- 15) Serra, M.B., Barroso, A.W., Silva, N.N., Silva, S.N., Borges, A.C.R., Abreu, I.C. and Borges, M.O.R. (2017). From Inflammation to Current and Alternative Therapies Involved in Wound Healing. *Hindawi International Journal of Inflammation*, Volume 2017, Article ID 3406215, 17 pages. <https://doi.org/10.1155/2017/3406215>.
- 16) Soro, T.Y., Néné-bi, A.S., Zahoui, O.S., Yapi, A. & Traoré, F., (2015). Activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de *Ximenia americana* (Linné) (Olacaceae). *Journal of Animal & Plant Sciences*, Issue 3: 3802-3813. <http://www.m.elewa.org/JAPS>; ISSN 2071-7024.
- 17) Turner, M.D., Nedjai, B., Hurst, T., Pennington, D.J., (2014). Cytokines and chemokines : at the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochim. Biophys. Acta* 1843, 2563–2582.
- 18) Udegbunam Rita, I., Obinna Nwamkpa, K., Sunday Udegbunam, O., Chinaka Nwaehujor, O. & Gregory Offor, E., (2012). Evaluation of anti-inflammatory activities of root extracts of *Stephania dinklagei* (Engl.) Diels. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, Vol. 6(11), pp. 834-839, <http://www.academicjournals.org/AJPP>, DOI: 10.5897/AJPP11.816, ISSN 1996-0816 © 2012 *Academic Journal*.
- 19) Winter, E.A., Risley, E.A., Nuss, G.V. (1962). Carrageenin-induced oedema in hind paw of rats as as an assay for anti-inflammatory drug. *Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine*. 1962; 111: 544-547.
- 20) Zhou, M., Wang, H., Suolangjiba, S., Kou, J., Yu, B., (2008). Antinociceptive and antiinflammatory activities of *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg. Leaves extract. *J. Ethnopharmacol.* 117, 345–35

PERFORMANCE DU SYSTÈME D'IDENTIFICATION BACTÉRIENNE BIS-PLUS-D DANS L'IDENTIFICATION DES STREPTOCOQUES

par

RAKOTOVAO-RAVAHATRA Zafindrasoa Domoina⁽¹⁾,
RANDRIATSARAFARA Fidiniaina Mamy⁽²⁾, RAKOTOVAO-RAVAHATRA
Joely Nirina⁽³⁾, RASOARAHONA Jean Roger⁽³⁾, RAONIZAFINIMANANA
Béatrice⁽³⁾, RAKOTOVAO Andriamiadana Luc⁽¹⁾

(1) Département de Biologie Médicale, Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo, Madagascar

(2) Département de Santé Publique, Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo, Madagascar

(3) Ecole Doctorale Génie des Procédés et des Systèmes Industriels, Agricoles et Alimentaires, Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques, Université d'Antananarivo

RESUME

Les infections bactériennes à streptocoques commencent à devenir de plus en plus fréquentes actuellement et la qualité de leur identification en laboratoire permet d'assurer une bonne prise en charge des patients. L'objectif de la présente étude est d'évaluer la performance du système d'identification bactérienne Bis-Plus-D dans l'identification des streptocoques en laboratoire.

Il s'agit d'une étude évaluative du système d'identification bactérienne Bis-Plus-D à partir de 22 isolats de streptocoques pendant une période de 3 mois, allant de Janvier 2022 à Mars 2022 au Laboratoire du Centre Hospitalier Universitaire Joseph Raseta Befelatanana.

En termes de résultats, concernant les bactéries identifiées, les isolats de streptocoques D étaient les plus nombreux représentant 86,4% des cas. Pour les résultats du système d'identification bactérienne Bis-Plus-D, les qualités obtenues étaient de niveau excellent pour 36,4% des cas, niveau très bon pour 36,4% des cas, niveau bon pour 22,7% des cas et niveau intermédiaire pour 4,5% des cas. Concernant les scores de probabilité révélés par le logiciel Bis, ils ont varié entre 63% et 100%. Les scores de probabilité de 67% et de 87% ont été les plus nombreux, représentant chacun 13,6% des cas.

L'étude a conclu que le système d'identification bactérienne Bis-Plus-D doit être recontrôlé par son fabricant pour pouvoir être utilisé dans les laboratoires d'analyses médicales car le niveau de ses performances remet en doute la fiabilité de ses résultats lors de l'identification des isolats de streptocoques.

Mots clés : Bis, Identification, Probabilité, Score, Streptocoque

ABSTRACT

Currently, streptococcal infections are starting to become more and more frequent and the quality of their identification in a laboratory ensures good patient care. The objective of the present study is to evaluate the performance of the Bis-Plus-D bacterial identification system in the identification of streptococci in the laboratory.

This is an evaluative study of the Bis-Plus-D bacterial identification system from 22 isolates of streptococci over a period of 3 months from January to March 2022 at the University Hospital Center Laboratory Joseph Raseta Befelatanana.

In terms of results, concerning the bacteria identified, isolates of streptococci D were the most numerous representing 86.4% of cases. For the results of the Bis-Plus-D bacterial identification system, the identification qualities were excellent for 36.4% of cases, very good for 36.4% of cases, good for 22.7% of cases and intermediate level for 4.5% of cases. Regarding the probability scores revealed by the Bis software, they varied between 63% and 100%. Probability scores of 67% and 87% were the most numerous, each accounting for 13.6% of cases.

The Bis-Plus-D bacterial identification system must be checked again by its manufacturer in order to be used in medical analysis laboratories because the level of its performance calls into question the reliability of its results during the identification streptococcal isolates.

Key words : Bis, Identification, Probability, Score, Streptococci

INTRODUCTION

Les maladies infectieuses à streptocoques commencent à devenir fréquentes actuellement. On estime que les streptocoques causent 700 millions d'infections humaines chaque année dans le monde, avec un total estimé à 500 000 décès. Louis Pasteur a reconnu les streptocoques comme l'un des premiers micro-organismes à causer des maladies contagieuses en 1879 (Rohde et Cleary, 2016). La plupart sont des commensaux, des agents pathogènes, ou pathogènes opportunistes pour l'homme et l'animal (Zhang et al., 2020).

Le rôle du laboratoire de microbiologie est de bien identifier les streptocoques et de réaliser correctement l'antibiogramme afin d'assurer une bonne prise en charge de la maladie infectieuse du patient. La microbiologie s'est largement développée grâce à la découverte et à l'optimisation des systèmes d'identification bactérienne (Singhal et *al.*, 2015). Cependant, dans les pays en développement comme Madagascar, les systèmes manuels d'identification bactérienne sont encore utilisés. Ainsi, le laboratoire de bactériologie du Centre Hospitalier Universitaire Joseph Raseta Befelatanana (CHUJRB) utilise le système d'identification bactérienne Api 20 Strep pour les identifier. Cependant, l'utilisation de ce kit présente quelques inconvénients. Ainsi, il a été décidé d'utiliser d'autres systèmes d'identification bactérienne proposés par les fournisseurs. Il s'agit du Bis-Plus-D. Avant son utilisation, il est nécessaire d'évaluer ses performances.

Ainsi, l'objectif de la présente étude est d'évaluer la performance du système d'identification bactérienne Bis-Plus-D dans l'identification des streptocoques.

MATERIELS ET METHODE

Cadre d'étude

La présente étude a été effectuée au sein du laboratoire du CHUJRB situé à Antananarivo ville, dans la Région Analamanga. Ce laboratoire d'analyses médicales polyvalent fonctionne jour et nuit. Il reçoit tous les prélèvements biologiques des malades provenant des différents hôpitaux d'Antananarivo et de ses environs. Des patients venant en consultation externe y effectuent également des analyses biologiques. Ces derniers comprennent les analyses hématologiques, biochimiques, immunologiques, virologiques, parasitologiques et bactériologiques. Les prélèvements bactériologiques comprennent les prélèvements de liquides biologiques (liquide céphalo-rachidien, liquide pleural, liquide d'ascite, liquide péricardique, liquide articulaire, ...), les urines, les selles, le sang, les prélèvements génitaux, les prélèvements de gorge, les prélèvements de pus et les autres types de prélèvements provenant du corps humain.

Type et période d'étude

Il s'agissait d'une étude évaluative du système d'identification bactérienne Bis-Plus-D à partir de 22 isolats de streptocoques pendant une période de 3 mois allant de Janvier à Mars 2022 au laboratoire du CHUJRB.

Variables d'étude

La variable dépendante a été représentée par l'identification d'un streptocoque par le système d'identification bactérienne Bis-Plus-D. Les variables indépendantes

ont été représentées par les espèces de streptocoques identifiées par Bis-Plus-D, les qualités d'identification bactérienne du Bis-Plus-D révélées par le logiciel Bis et les différents scores de probabilité obtenus lors de l'identification bactérienne révélés par le logiciel Bis.

Critères d'inclusion et d'exclusion

Ont été inclus dans l'étude tous les streptocoques dont le genre a été confirmé par les couleurs des colonies bactériennes caractéristiques, la coloration de Gram montrant des cocci à Gram positif et le test à la catalase négatif.

Ont été exclues de l'étude toutes les bactéries dont les colonies bactériennes n'étaient pas caractéristiques des streptocoques, la coloration de Gram montrant des bacilles ou des cocci à Gram positif mais ayant un test à la catalase positive.

Analyses en laboratoire

Lorsque les prélèvements arrivent au laboratoire de bactériologie, ils sont mis en culture dans des boîtes de pétri ou des tubes en verre contenant des milieux de culture spécifiques pour chaque bactérie suspectée. Un milieu de culture chromogène est également utilisé pour voir les différentes couleurs des colonies spécifiques pour certaines espèces bactériennes. La culture est suivie d'autres types d'examen comme l'examen direct entre lame et lamelle, la coloration de Gram, le comptage cellulaire sur cellule de Kova, la coloration au MGG (May Grunwald et Giemsa) ... Le lendemain, le technicien de laboratoire va observer les colonies bactériennes qui ont poussé dans les milieux de culture et y effectuer une coloration de Gram. Si la couleur de la colonie bactérienne est spécifique d'un cocci à Gram positif et si la coloration de Gram montre des cocci à Gram positif, le test à la catalase est effectué. Si le test à la catalase est négatif, il est probable que la bactérie soit un streptocoque. Si le test à la catalase est positif, il est probable que la bactérie soit un staphylocoque. Le technicien effectue ainsi l'identification d'espèce des streptocoques sur le système d'identification bactérienne Bis-Plus-D.

Concernant le Bis-Plus-D, il peut identifier 241 bactéries Gram positif et bactéries anaérobies. Il utilise des méthodes biochimiques miniaturisées pour les identifier. Son panel est composé de 24 puits de micro titration, chacun d'eux avec différents réactifs déshydratés pour un test de biochimie spécifique. Lors de l'ajout de la suspension bactérienne, les réactifs dans le puits sont constitués. Lors de l'incubation, l'activité métabolique des bactéries inoculées est couplée à une certaine réaction colorimétrique en fonction du test spécifique (Figure 1).

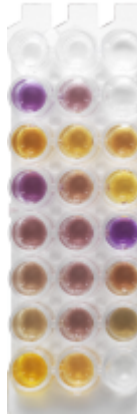


Figure 1 : Puits de micro titration du système d'identification bactérienne Bis-Plus-D avec les réactions biochimiques colorées

Un guide de code couleur supplémentaire permet à l'utilisateur de déterminer si chaque test est positif ou négatif. Ceci, en dernier lieu, dépend du fait que les bactéries de l'inoculum possèdent ou non une certaine activité métabolique. Sur la base du profil de résultats acquis, l'identification de l'espèce bactérienne peut être obtenue en introduisant le profil de résultats dans le logiciel d'identification Cypress. De plus, la fiabilité du résultat peut être accrue par des tests supplémentaires.

Considérations éthiques

L'autorisation de cette étude par un comité d'éthique n'était pas nécessaire car les analyses concernaient des isolats de streptocoques. Néanmoins, l'autorisation du directeur de l'établissement a été obtenue avant la collecte des données dans les registres. De même, la saisie a été effectuée de manière anonyme afin de préserver la confidentialité.

Analyse statistique

L'analyse statistique a été effectuée sur Microsoft excel 2016 et sur logiciel Epi-info 3.5.2.

RESULTATS

Concernant les bactéries identifiées, les isolats de streptocoques D (entérocoques) étaient les plus nombreux représentant 86,4% des cas (Figure 2).

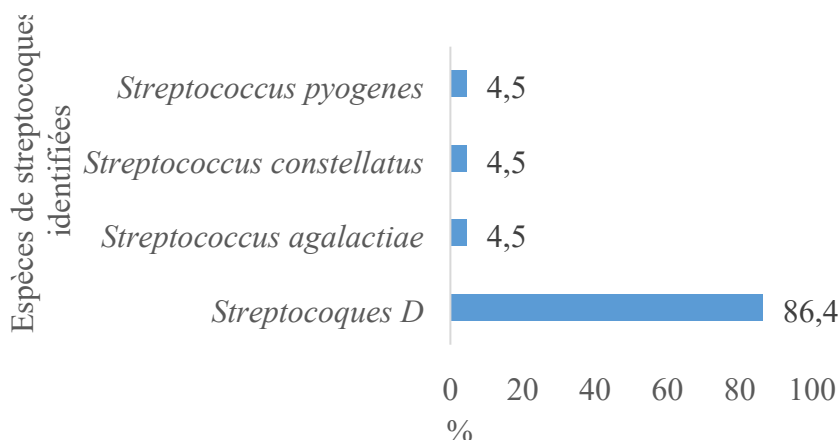


Figure 2 : Espèces de streptocoques identifiées par le système d'identification bactérienne Bis-Plus-D

Pour les résultats du système d'identification bactérienne Bis-Plus-D, les qualités d'identification étaient de niveau excellent pour 36,4% des cas, niveau très bon pour 36,4% des cas, niveau bon pour 22,7% des cas et de niveau intermédiaire pour 4,5% des cas (Figure 3).

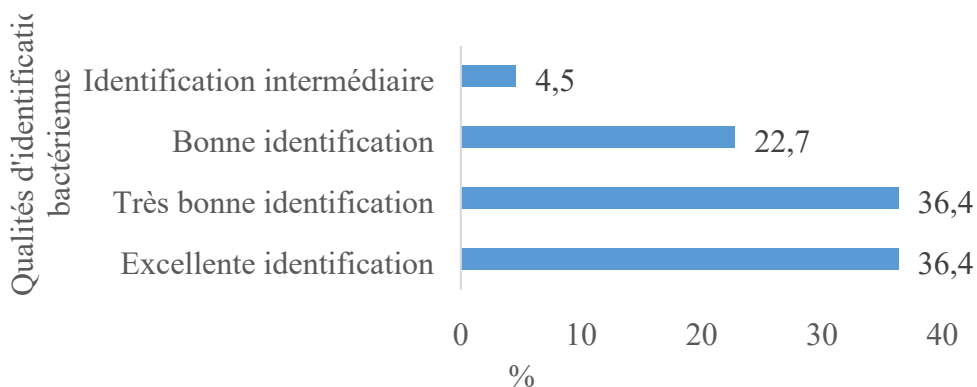


Figure 3 : Qualités d'identification bactérienne du système d'identification bactérienne Bis-Plus-D

Concernant les scores de probabilité révélés par le logiciel Bis, ils ont varié entre 63% et 100% (Figure 4). Les scores de probabilité de 67 % et de 87% ont été les plus nombreux, représentant chacun 13,6% des cas.

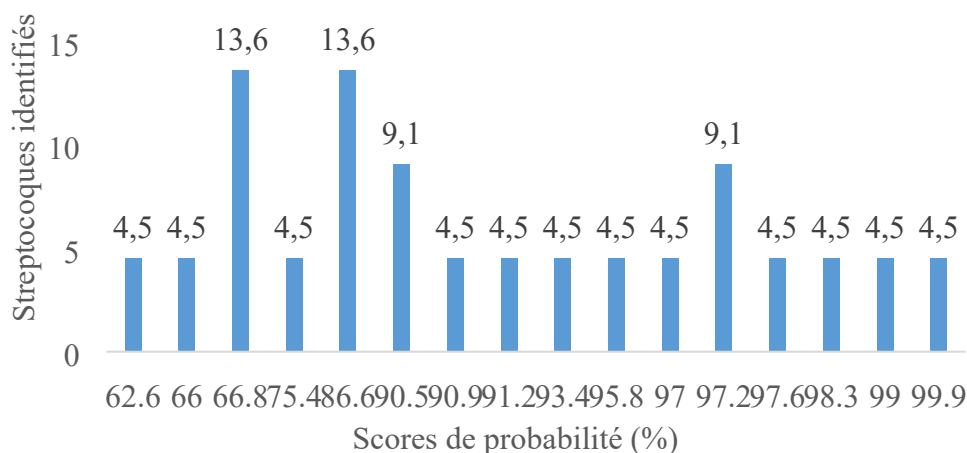


Figure 4 : Scores de probabilité d'identification exacte d'espèce bactérienne révélés par le logiciel Bis

DISCUSSION

Au cours de la période d'étude, les isolats d'entérocoques ont été les plus fréquents. Selon une autre étude, la prévalence hospitalière des entérocoques était de 6,2% en Éthiopie. Et 41,7% (10/24) des isolats d'entérocoques étaient des entérocoques résistants à la vancomycine (Yilema et *al.*, 2017). Les entérocoques sont des micro-organismes ubiquitaires que l'on pourrait trouver partout : dans l'eau, les plantes, le sol, les aliments et le tractus gastro-intestinal des humains et des animaux (Ben Braïek et Smaoui, 2019). Cela pourrait expliquer leur prédominance dans la présente étude.

Concernant les qualités d'identification bactérienne, elles étaient intermédiaires pour 4,5% des cas. Même si ce taux est faible, il doit être pris en compte car une identification intermédiaire signifie qu'il pourrait y avoir une erreur dans l'identification de l'espèce bactérienne concernée.

Concernant les scores de probabilité révélés par le logiciel Bis, ils ont varié entre 63% et 100%. Comme les qualités d'identification, les scores de probabilité devraient être également proches de 100% pour être fiables. Ici, les scores de probabilité supérieurs à 90% n'étaient pas très nombreux. Ce sont les scores de probabilité de 67% et de 87% qui ont été les plus nombreux. Ainsi, la fiabilité du système d'identification bactérienne Bis-Plus-D est remise en cause une deuxième fois. Selon la littérature, un score de probabilité entre 60 et 100% signifie que le niveau de confiance est élevé et que l'identification est fiable. Pour un score inférieur à 60%, le niveau de confiance est faible, le logiciel propose alors entre deux et quatre

identifications (Chen et *al.*, 2013) (Moon et *al.*, 2013) (Patel, 2013) (Westblade et *al.*, 2013).

Néanmoins, pour le laboratoire du CHUJRB, un système d'identification bactérienne donnant des scores de probabilité de moins de 90% est considéré comme un test non fiable. En effet, tous les systèmes d'identification utilisés au laboratoire donnent des scores avoisinant les 100%.

Malgré tout, l'utilisation du système d'identification bactérienne Bis-Plus-D présente quand même de nombreux avantages. D'abord, il peut identifier toutes les bactéries à Gram positif sans exception. Ensuite, ses dates de péremption sont très larges. Et enfin, son coût est moins cher sur marché.

Les résultats de la présente étude permettent d'émettre quelques recommandations. (i) Les fabricants du système d'identification bactérienne Bis-Plus-D devraient revoir ce kit et vérifier les éventuelles erreurs qui entraînent une baisse de la qualité d'identification et des scores de probabilité. (ii) Les techniciens de laboratoire doivent suivre scrupuleusement le mode opératoire pour réaliser le test Bis-Plus-D car toute erreur dans la manipulation donne des résultats non fiables. (iii) Après la vérification et la correction des erreurs par les fabricants, les petits laboratoires de bactériologie qui ne reçoivent pas suffisamment de demandes d'examens bactériologiques peuvent utiliser le test Bis-Plus-D grâce à ses dates de péremption très large et son coût plus attractif sur le marché.

CONCLUSION

Le système d'identification bactérienne Bis-Plus-D doit être recontrôlé par son fabricant pour pouvoir être utilisé dans les laboratoires d'analyses médicales, car le niveau de ses performances remet en doute la fiabilité de ses résultats lors de l'identification des isolats de streptocoques. Ses nouvelles performances doivent ainsi être réévaluées par un laboratoire de bactériologie avant son utilisation.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) Ben Braïek, O., Smaoui, S. (2019). Enterococci : Between Emerging Pathogens and Potential Probiotics. *Biomed. Res. Int.*, (2019): 5938210.
- 2) Chen, J. H., Ho, P. L., Kwan, G. S., She, K. K., Siu, G. K., Cheng, V. C. *et al.* (2013). Direct bacterial identification in positive blood cultures by use of twocommercial matrix-assisted laser desorption ionization-time of flightmass spectrometry systems. *J. Clin. Microbiol.*, 51 : 1733-1739.

- 3) Moon, J. Y., Kim, S. J., Moon, M. H., Chung, B. B., Choi, M. H. (2013). Differential estimation of isomeric 2- and 4-methoxylated estrogens in serum by matrix-assisted laser desorption ionization-tandem mass spectrometry. *Analytical sciences. JSAC.*, 29 : 345-351.
- 4) Patel, R. (2013). Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in clinical microbiology. *Clinical infectious diseases, IDSA.*, 57 : 564-572.
- 5) Rohde, M., Cleary, P. P. (2016). Adhesion and invasion of *Streptococcus pyogenes* into host cells and clinical relevance of intracellular streptococci. In : Ferretti, J. J., Stevens, D. L., Fischetti, V. A., editors. *Streptococcus pyogenes: Basic Biology to Clinical Manifestations* [Internet]. Oklahoma City (OK): University of Oklahoma Health Sciences Center.
- 6) Singhal, N., Kumar, M., Kanaujia, P.K., Viridi, J.S. (2015). MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Front. Microbiol.*, 6 : 791.
- 7) Westblade, L. F., Jennemann, R., Branda, J. A., Bythrow, M., Ferraro, M. J., Garner, O. B., *et al.* (2013). Multicenter study evaluating the Vitek MS system for identification of medically important yeasts. *J. Clin. Microbiol.*, 51 : 2267-2272.
- 8) Yilema, A., Moges, F., Tadele, S., Endris, M., Kassu, A., Abebe, W., *et al.* (2017). Isolation of enterococci, their antimicrobial susceptibility patterns and associated factors among patients attending at the University of Gondar Teaching Hospital. *BMC Infect. Dis.*, 17 : 276.
- 9) Zhang, T., Zhu, J., Xu, J., Shao, H., Zhou, R. (2020). Regulation of (p)ppGpp and Its Homologs on Environmental Adaptation, Survival, and Pathogenicity of *Streptococci*. *Front. Microbiol.*, 11 : 1842.

ETUDE DE L'ACTIVITÉ ANTI-INFLAMMATOIRE DE L'EXTRAIT MÉTHANOLIQUE DE *ANTIDESMA MADAGASCARIENSE* (PHYLLANTACEAE)

par

RAZAFINDRAMANANA Jeenath Francelline⁽¹⁾, ROUKIA Djoudi⁽¹⁾,
RAMA Michela Stephanie⁽¹⁾, RAJAONARISON Jean François ⁽¹⁾

(1) Ecole Doctorale Génie du Vivant et Modélisation, Laboratoire de Recherche en Biotechnologie,
Environnement et Santé, Université de Mahajanga, Madagascar

RESUME

Les feuilles de la plante *Antidesma madagascariense* (PHYLLANTACEAE) est utilisée empiriquement pour soigner les œdèmes et les douleurs à Madagascar. Cette étude a pour objectif d'évaluer *in vivo* les activités anti-inflammatoires de cette plante. Pour cela, la carragénine (1%) a été utilisée pour induire l'œdème inflammatoire et la douleur a été provoquée en injectant du formaldéhyde (2%) à la patte de la souris. Une heure après l'injection, chez les souris ayant reçu des extraits de plante aux doses de 150 et de 300 mg/kg *per os*, la carragénine induit des œdèmes des pattes de $9,94 \pm 1,62\%$, $6,89 \pm 1,1\%$ (statistiquement significatif, test ANOVA, $p < 0,05$), respectivement et $7,83 \pm 1,97\%$ pour l'indométacine (10 mg/kg) utilisé comme produit de référence, *versus* $21,71 \pm 1,97\%$ pour le lot témoin (ayant reçu de l'eau distillée). Dès la deuxième phase de l'expérience pour le test sur la douleur (soit de 15 à 30 minutes), l'extrait végétal montre pour les doses de 75 et de 150 mg/kg, une activité analgésique importante avec des temps de léchage des pattes endolories respectifs de $25,04 \pm 9,11$ secondes, $25,38 \pm 7,19$ secondes ($p < 0,05$), $12,48 \pm 5,76$ secondes ($p < 0,05$) pour l'indométacine (10 mg/kg), *versus* $103,32 \pm 8,39$ secondes pour le lot témoin négatif. Ces résultats justifient l'utilisation traditionnelle des feuilles de *Antidesma madagascariense* en tant que remède anti-œdémateuse et analgésique. Cette étude contribue à la valorisation de la biodiversité végétale malagasy et pourrait conduire au développement d'un phytomédicament pour une amélioration de la santé de la population.

Mots clés : *Antidesma madagascariense*, Anti-inflammatoire, Œdème, Analgésique

ABSTRACT

The leaves of the plant *Antidesma madagascariense* is used empirically to treat edema and pain in Madagascar. This study aims to evaluate *in vivo* the anti-inflammatory activities of the leaves of this plant. For this, carrageenan (1%) was used to induce inflammatory edema, and pain was experimentally induced by injecting formaldehyde (2%) into the mouse's paw. One hour after the injection of the phlogogenic agent, in the mice that received plant extracts at doses of 150 and 300 mg/kg orally, carrageenan induces edema of the paws respectively of $9,94 \pm 1,62\%$, $6,89 \pm 1,1\%$ (statistically significant, ANOVA test, $p < 0,05$), $7,83 \pm 1,97\%$ for indomethacin (10 mg/kg, reference drug), *versus* $21,71 \pm 1,97\%$ for the control batch (having received distilled water). For the pain test, at the second phase of the experiment (*i.e.* from 15 to 30 minutes), the plant extract shows for the doses of 75 and 150 mg/kg significant analgesic activity with licking times of the sore paws of $25,04 \pm 9,11$ seconds, $25,38 \pm 7,37$ seconds ($p < 0,05$) respectively, $12,48 \pm 5,76$ seconds ($p < 0,05$) for indomethacin (10 mg/kg, reference drug), *versus* $103,32 \pm 8,39$ seconds for the control group (having received distilled water). These results justify the traditional use of the leaves of *Antidesma madagascariense* as an anti-edematous and analgesic remedy. This study contributes to the enhancement of plant biodiversity and in the long term, leads to the development of a phytomedicine for an improvement of the health of the population.

Key words : *Antidesma madagascariense*, Anti-inflammatory, Edema, Analgesic

FINTINA

Ny ravin'ny zava-maniry *Antidesma madagascariense* (PHYLLANTACEAE) dia ampiasaina amin'ny fitsaboana nentim-paharazana ny fivontosana sy ny fanaintainana eto Madagasikara. Ity fikarohana velona ity dia mikendry ny hanombanana ny fanoheran'ity zavamaniry ity io karazan'aretina mamaivay io. Araka izany, ny carrageenan (1%) dia nampiasaina mba hiantiana ny fivontosana ary ny fanaintainana dia nampidirina tamin'ny alalan'ny formaldehyde (2%) eo amin'ny tongotry ny totozy. Adiny iray aorian'ny tsindrona, tamin'ny totozy nahazo ny fatran'ny zavamaniry amin'ny fatra 150 sy 300 mg / kg am-bava, dia hita fa nitondra fivontosana teo amin'ny tongotra ny carrageenan, $9.94 \pm 1.62\%$, $6.89 \pm 1.1\%$ (statistika manan-danja, fitsapana ANOVA, $p < 0.05$), ary $7.83 \pm 1.97\%$ ho an'ny indomethacin (10 mg/kg) ampiasaina ho vokatra fanondro, mifanohitra amin'ny $21.71 \pm 1.97\%$ ho an'ny andiany fanaraha-maso (nahazo rano voadio). Amin'ny dingana faharoa amin'ny fanandramana ho an'ny fitsapana fanaintainana (izany hoe 15 ka hatramin'ny 30 minitra), ny fatran'ny zavamaniry 75 sy 150 mg / kg, dia mampiseho hetsika fampitoniana fanaintainana manan-danja miaraka

amin'ny fe-potoana filelafana ny tongotra ho an'ny tsirairay avy 25.04 ± 9.11 segondra, 25.38 ± 7.19 segondra ($p < 0.05$), 12.48 ± 5.76 segondra (statistika manandanja, $p < 0.05$) ho an'ny indomethacin (10 mg / kg), mifanohitra amin'ny 103.32 ± 8.39 segondra ho an'ny vondrona nahazo rano voadio. Ireo vokatry ireo dia manamarina ny fampiasana nentim-paharazana ny ravin'ny *Antidesma madagascariense* ho fanafody mampihena fivontosana sy manala fanaintainana. Ity fikarohana ity dia manampy amin'ny fanomezan-danja ny zava-maniry isankarazany ary mety hitarika amin'ny famolavolana raokandro hanatsarana ny fahasalaman'ny mponina.

Teny fototra : *Antidesma madagascariense*, Miady amin'ny mamaivay, Fivontosana, Manala fanaintainana

INTRODUCTION

L'inflammation est un processus de défense immunitaire de l'organisme contre les agressions d'origine physique, chimique, biologique ou infectieuse, indispensable à son intégrité (Cheriti *et al.*, 2016). Cette réaction bénéfique pour l'organisme peut persister si elle n'est pas contrôlée et devenir facteur étiologique de diverses maladies chroniques comme l'arthrite rhumatoïde, l'athérosclérose, le cancer et les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (Weill *et al.*, 2003) (Medzhitov, 2010).

Le traitement actuel de l'inflammation fait appel aux anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) et non stéroïdiens (AINS). Ces molécules, bien qu'étant efficaces, présentent le plus souvent des effets indésirables qui peuvent gêner leur utilisation au long cours (Risser *et al.*, 2009). Ainsi, la recherche de nouvelles molécules dotées d'activités anti-inflammatoires sans risque d'effets secondaires s'avère indispensable pour les traitements des sujets.

A Madagascar, les décoctions des feuilles accompagnées ou pas de l'écorce de *Antidesma madagascariense* (PHYLLANTACEAE) est consommée pour soigner les règles douloureuses (Nicolas, 2012). Elles sont également utilisées dans le traitement de fièvre et douleurs rhumatismales. C'est dans ce contexte que s'inscrit le présent travail de recherche dont l'objectif consiste à évaluer l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique des feuilles de *Antidesma madagascariense*.

MATERIELS ET METHODE

Matériel végétal

La récolte des feuilles de *Antidesma madagascariense* a été faite à Ambilobe, Région DIANA, en Juin 2021. Elles ont ensuite été séchées à l'ombre dans la salle

de séchage du Laboratoire de Recherche en Biotechnologie, Environnement et Santé (LRBES) pendant deux semaines, et découpées en petits morceaux pour faciliter le broyage qui a été fait à l'aide d'un broyeur électrique.

Matériel animal

Des souris Swiss adultes dont le poids est compris entre 25 et 30 g ont été utilisées pour cette étude. Elles ont été élevées à l'animalerie du même laboratoire avec un libre accès à la nourriture et à l'eau.

Préparation de l'extrait végétal

La poudre de feuilles de *Antidesma madagascariense* (300 g) a été macérée dans du méthanol (3 litres) pendant 72 heures. Le macérât a été ensuite filtré et porté à évaporation dans une étuve pendant 48 heures afin d'obtenir l'extrait sec.

Criblage phytochimique

Un criblage phytochimique a été effectué sur l'extrait de *Antidesma madagascariense* pour déterminer les familles chimiques qu'il contient. La méthode utilisée a été basée sur la réaction entre un réactif spécifique et la famille chimique correspondante. Cette réaction se traduit par un changement de coloration ou par la formation de précipité (Fong *et al.*, 1977).

Etude de l'activité anti-œdémateuse de l'extrait de *Antidesma madagascariense*

Afin d'étudier l'activité anti-œdémateuse de l'extrait méthanolique de la plante *Antidesma madagascariense*, la carragénine (1%) a été injectée sur la patte de la souris pour induire le gonflement (Winter *et al.*, 1962). Les souris réparties en 4 lots de 7 souris chacun, ont été mis à jeun 18 h avant l'expérimentation.

Le volume initial de la patte postérieure a été déterminé à l'aide d'un pied à coulisse numérique avant l'administration des traitements (Bukhari, 2013). Ces derniers ont été administrés par gavage :

- Lot 1 : témoins œdémateux ayant reçu 10 ml/kg d'eau distillée
- Lot 2 : les animaux ont reçu 150 mg/kg d'extrait méthanolique de *Antidesma madagascariense*
- Lot 3 : les souris ont reçu l'extrait méthanolique de *Antidesma madagascariense* à la dose de 300 mg/kg.
- Lot 4 : témoins positifs ayant reçu de l'Indométacine à la dose de 10 mg/kg.

Trente minutes après l'administration orale des différentes solutions, chaque souris a reçu une injection de 50 µl de solution de carragénine à 1% sous le

coussinet plantaire de la patte postérieure. L'évolution de l'œdème a été déterminée à 1h, 2h, 3h, 4h, 5h et 6h (Anupana *et al.*, 2012).

L'importance de l'œdème a été appréciée par la détermination de la moyenne du pourcentage d'augmentation (%AUG) du volume de la patte de la souris suivant la formule :

$$\%AUG = \frac{V_t - V_0}{V_0} \times 100$$

V_t : volume de la patte à l'instant t

V₀ : volume initial de la patte

Etude de l'activité analgésique de l'extrait de *Antidesma madagascariense*

Le test est basé sur l'irritation de la patte de la souris induite par le formaldéhyde selon la méthode de Dubuisson *et al.* (1977), et modifiées par Tjolsen *et al.* (1992).

Les animaux ont été repartis en 4 lots de 5 souris :

- Lot 1 : témoins ayant reçu 10 ml/kg d'eau distillée
- Lot 2 : les animaux ont reçu 75 mg/kg d'extrait méthanolique de *Antidesma madagascariense*
- Lot 3 : les souris ont reçu l'extrait méthanolique de *Antidesma madagascariense* à la dose de 150 mg/kg.
- Lot 4 : témoins positifs ayant reçu du Paracétamol à la dose de 10 mg/kg.

Trente minutes après administration par gavage de la substance appropriée selon le lot, 20 µl de formaldéhyde (2%) ont été injectés dans l'aponévrose plantaire de la patte arrière de la souris. Le temps de léchages de patte a été chronométré durant les 5 premières minutes et continuer à partir de 15 à 30 min.

Analyse statistique des résultats

Les résultats ont été exprimés en moyenne accompagnés des erreurs standards sur la moyenne (Moyenne ± ESM). L'analyse statistique des résultats a été réalisée en utilisant l'analyse des variances (ANOVA ONE WAY). Les différences entre les moyennes ont été déterminées selon le test de Dunnett et la valeur de p < 0,05 a été considéré comme significative.

RESULTATS

Composition en famille chimique

Le criblage phytochimique effectué sur l'extrait des feuilles de *Antidesma madagascariense* révèle la présence d'une forte teneur en tanins (catéchiques et galliques) et en composés phénoliques. Les alcaloïdes et les saponines sont présents également mais en moyenne teneur (Tableau 1).

Tableau 1 : Familles chimiques présentes dans l'extrait de feuilles de *Antidesma madagascariense*

FAMILLES CHIMIQUES	TENEUR
TANINS CATECHIQUES	+++
TANINS GALLIQUES	+++
COMPOSES PHENOLIQUES	+++
ALCALOIDES	++
SAPONINES	++

+++ : Forte teneur ; ++ : Faible teneur

Effet de l'extrait méthanolique des feuilles de *Antidesma madagascariense* sur l'œdème inflammatoire

L'administration de l'extrait à la dose de 150 mg/kg prévient de manière significative ($p < 0,05$) l'œdème de la patte de la souris induite par la carragénine. L'augmentation du pourcentage de l'œdème inflammatoire de la patte est de $9,94 \pm 1,62$; $10,68 \pm 2,46$ et $15,11 \pm 2,71$ comparé au groupe contrôle traité avec de l'eau distillée dont l'augmentation de l'œdème est de $21,71 \pm 1,05$; $26,71 \pm 3,07$ et $27,06 \pm 2,18$ respectivement aux temps t, 1h, 3h et 6h après injection de la carragénine (Figure 1).

Effet de l'extrait méthanolique des feuilles de *Antidesma madagascariense* sur la douleur inflammatoire

Dès la deuxième phase de l'expérience sur la douleur induite par le formaldéhyde (soit de 15 à 30 minutes), l'extrait végétal montre pour les doses de 75 et de 150 mg/kg, une activité analgésique importante avec des temps de léchage des pattes endolories respectifs de $25,04 \pm 9,11$ secondes, $25,38 \pm 7,19$ secondes

($p<0,05$). Tandis que pour le lot traité à l'Indométacine (10 mg/kg), le temps de léchage de pattes est de $12,48 \pm 5,76$ secondes (statistiquement significatif, $p<0,05$), versus $103,32 \pm 8,39$ secondes pour le lot ayant reçu de l'eau distillée (Figure 2).

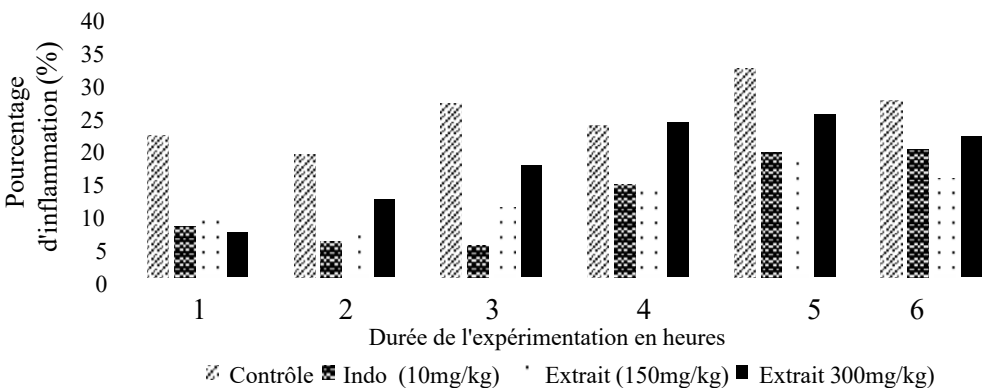


Figure 1 : Variation du pourcentage d’inflammation induite par la carragénine

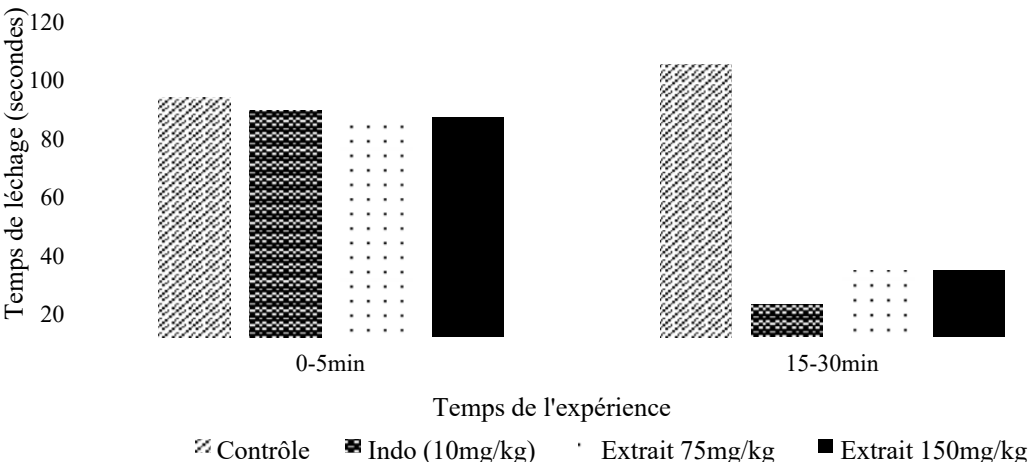


Figure 2 : Variation du temps de léchage de la patte endolorie par le formaldéhyde

DISCUSSION

L'étude phytochimique basée sur les réactions entre réactifs et familles chimiques correspondantes a révélé la présence de tanins galliques, tanins catéchiques, composés phénoliques, alcaloïdes et saponines dans l'extrait méthanolique de *Antidesma madagascariense*.

Ces molécules sont impliquées dans la gestion de plusieurs maladies telles que les tumeurs, les cancers, le diabète, les inflammations, la drépanocytose et le stress oxydatifs (Guerrero et Reiter, 2002) (Ndukwe et *al.*, 2005) (Arisawa et *al.*,

2006) (Sahu et Saxena, 2013) (Kplé et *al.*, 2020).

L'administration *per os* de l'extrait méthanolique de *Antidesma madagascariense* s'est montrée efficace aux doses de 150 et de 300 mg/kg, dans la prévention de l'œdème inflammatoire à la carragénine. Cet effet anti-inflammatoire est très important dans la phase initiale de l'expérience (1h).

L'œdème de la patte de rat induit par la carraghénine fait participer beaucoup de médiateurs qui induisent la réaction inflammatoire dans deux phases différentes (Garcia et *al.*, 2004). Une phase initiale qui se produit entre 0 et 2,5 heures après l'injection de l'agent phlogogène attribuée à la libération de l'histamine et de la sérotonine à partir des mastocytes. Ces facteurs provoquent des modifications vasculaires qui conduisent à l'exsudation plasmatique (Subhan et *al.*, 2007) (Akindele et Adeyemi, 2007). La phase tardive, qui est le résultat de la surproduction des prostaglandines dans les tissus, médiée par la cyclo-oxygénase (COX) et qui peut continuer au-delà de 5 heures après injection de la carragénine (Perez-Guerrero et *al.*, 2001). La très forte activité de l'extrait de *Antidesma madagascariense* sur la première phase suggère donc que la plante inhibe la libération des médiateurs tels que l'histamine et la sérotonine.

Le test au formaldéhyde est un modèle expérimental souvent utilisé pour provoquer la douleur inflammatoire. Deux phases sont observables au cours de ce test, l'une précoce (0 à 5 min), liée à une stimulation chimique directe des terminaisons nerveuses libres (nocicepteurs) avec libération de médiateurs de la douleur comme la substance P et la bradykinine (Tjolsen, 1992).

La deuxième phase se manifeste par des phénomènes inflammatoires (œdème, chaleur, douleur) occasionnés par la libération des médiateurs comme l'histamine, les amines sympathomimétiques, le facteur de nécrose tumorale, les interleukines et les prostaglandines (Parada, 2001). L'extrait de la plante *Antidesma madagascariense* agit dans cette dernière phase et combiné au résultat de l'évaluation sur l'œdème inflammatoire, nous arrivons à la suggestion selon laquelle l'extrait est un inhibiteur de la libération d'histamine, de la sérotonine et de la bradykinine. Il s'agirait donc d'un anti-inflammatoire stéroïdien.

En effet, cette propriété est spécifique des glucocorticoïdes qui traversent librement les membranes cellulaires, se fixent sur des récepteurs spécifiques des stéroïdes et migrent vers l'ADN. Ce complexe réduit la perméabilité capillaire, la production de facteurs chimiotactiques, la phagocytose, bloquant ainsi la libération d'histamine, de sérotonine et de bradykinine.

CONCLUSION

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales afin de trouver des nouvelles molécules bioactives. L'extrait méthanolique de la plante *Antidesma madagascariense* diminue l'œdème inflammatoire induite par la carragénine et soulage la douleur provoquée par le formaldéhyde. L'une des différentes familles chimiques présentes dans l'extrait ou encore la synergie de toutes, à savoir le tanin gallique, tanin catéchique, les composés phénoliques, les alcaloïdes et les saponines est à l'origine de cette activité anti- inflammatoire. Bien qu'à première vue, il semble agir comme un anti-inflammatoire stéroïdien. Des études complémentaires sont nécessaires afin de comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires, ainsi que les composés actifs liés à cette activité anti-inflammatoire.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) Akindele, A. J. & Adeyemi, O. (2007). Antipyretic activity of *Byrsocarus coccineus* Schum and Thonn. *Internat J Pharmaocol*, 4 : 357-612.
- 2) Anupama, A. S., Kishor, N.R., Rahul, D. K, et Kanchan, S. M. (2012). Evaluation of antiinflammatory and analgesic activities of *Tamarindus indica* seeds. *Int J Pharm Sci Drug Res* ; 4(3) : 213-217.
- 3) Arisawa, K., Soda, M. & Akahoshi, M. (2006). Human T-cell lymphotropic virus type-1 infection and risk of cancer : 15.4 year longitudinal study among atomic bomb survivors in Nagasaki, Japan. *Cancer Sci*, 97, 535-9.
- 4) Burkhari (2013). The central analgesic and anti-inflammatory activities of the methanolic extract of *Carthamus oxycantha*. *Journal of physiology and*, 64(3), 369-375.
- 5) Cheriti, A., Wurzner, G. & Burnier, M. (2000). Evaluation de l'activité antiinflammatoire d'extraits aqueux de feuilles de *Limoniastrum feei* (Plumbaginaceae). *Algerian Journal of Arid Environment « AJAE »*, 6(1), 80-86.
- 6) Garcia, M. D., Fernandez, M. A., Alvarez, A., SAENZ, M. T. (2004). Anti-nociceptive and anti-inflammatory effect of the aqueous extract from leaves of *Pimenta racemosa* var. Ozua (Myrtaceae). *J. Ethnopharmacol.*, 91(1) : 69-73.
- 7) Guererro, J. M. & Reiter, R. J. (2002). Melatonin-immune system relationships. *Curr Top Med*.

- 8) Kple, T. K. M., Akakpo-Akue, J., Golly, J. K., Fofié, Y., Ahon, M. G., Kra, M. A., *et al.*, (2020). Phytochemical characterization of three plants and their antisickling activity in the management of sickle cell disease ; *Journal of Biosciences and Medecine*, V8 : 100-112.
- 9) Medzhitov, R. (2010). Inflammation 2010 : new adventures of an old flame. *Cell*, 140(6), 771-776.
- 10) Ndukwe, K. C., Okeke I. N., Lamikanra A., Adesina, S. K. & Aboderin, O. (2005). Antibacterial activity of aqueous extract of selected chewing sticks. *J. Contemp. Dent. Pract* ; 3(6) : 86-94.
- 11) Nicolas, J-F., Florence, C. et Jean, T. (2001) : Immunologie clinique et allergologie. Aspirine et AINS : intolérance et allergie. *John Libbey Eurotext*, p.55-58.
- 12) Parada, C. A., Tambeli, C. H., Cunha, F. Q., *et al.* (2001) : The major role of peripheral release of histamine and 5-hydroxytryptamine in formalin-induced nociception. *Neuroscience*, 102 (4), 937-944.
- 13) Perez-Guerrero, C., Herrera, M. D., Ortiz, R., De Sotomayor, M. A., Fernandez, M. A. (2001). A pharmacological study of *Cecropia obtusifolia* Betrol aqueous extract. *J. of Ethnopharmacol.*, 76(3) : 279-284.
- 14) Sahu, R. & Saxena, J. (2013). Screening of total phenolic and flavonoid content in conventional and non-conventional species of *Curcuma*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(1) : 176-179.
- 15) Subhan, N., Alam, A., Ahmed, F. & Shahid, I. Z. (2008). Antinociceptive and gastroprotective effect of the crude ethanolic extracts of *Excoecaria agallocha* linn. *Turk J. Pharm. Sci.* 5(3) : 143-154.
- 16) Tjolsen, A., Berge, O.G., Hunskar, S., *et al.* (1992). The formalin test : an evaluation of the method. *Pain* ; 51 : 5-17.
- 17) Risser, A., Donovan, D., Heintzman, J., & Page, T. (2009). NSAID prescribing precautions. *American family physician*, 80(12), 1371-8.
- 18) Weill, B., Batteux, F. & Dhainaut, J. (2003). Immunopathologie et réactions inflammatoires. Eds, De Boeck Université (Paris), 12-23.
- 19) Winter, C. A., Risley, F. A., Nuss, G. (1962). Carrageenin induced oedema in hand paw of the rat as assays anti-inflammatory drugs. *Procs. Soc. Exp. Biol. Med.*, 111(62) : 544-547.

EFFICACITÉ DES NÉMATODES ENTOMOPATHOGÈNES, *STEINERNEMA* ET *HETERORHABDITIS* POUR LE CONTRÔLE DES VERS BLANCS DU GENRE *HETERONYCHUS* (DYNASTIDAE)

par

ANDRIAMAMPIANINA Mandaniaina⁽¹⁾, RAVAOMANARIVO Lala H.⁽²⁾,
RAKOTOARIMANGA Christophe⁽¹⁾, RAZAFINDRANAIVO Victor⁽²⁾

(1) Centre National de Recherches sur l'Environnement, Antananarivo, Madagascar

(2) Mention Entomologie–Culture, Environnement, Santé, Université d'Antananarivo, Madagascar

RESUME

A Madagascar, les vers blancs appartenant au genre *Heteronychus* infestent les cultures sur les tanety principalement le riz et le maïs. Ils attaquent les racines des plantes et, sans traitement, peuvent décimer tout un champ de culture. L'utilisation des champignons entomopathogènes et des produits végétaux pour contrôler ces ravageurs n'arrive pas à éliminer le problème. Dans plusieurs pays, les nématodes entomopathogènes sont très recommandés contre les vers blancs, ce qui n'est pas le cas de Madagascar. Cette étude a pour objectif d'évaluer l'efficacité des espèces locales de nématodes entomopathogènes pour contrôler les larves d'*Heteronychus*. Des échantillonnages de sol ont donc été réalisés à Antsirabe pour obtenir des nématodes, qui sont ensuite élevés au laboratoire avec des larves de fausses teignes comme hôtes. Des tests de virulence des souches ont été faits sur des larves saines de troisième stade de *Heteronychus* collectées dans une riziculture irriguée dans la commune rurale d'Ambatolampy, région d'Itasy. Différentes concentrations de nématodes ont été testées sur des vers blancs : C0 (témoin sans nématodes), C1 (250 nématodes /ver blanc), C2 (500), C3 (100), C4 (2000) ; les tests ont été répliqués 3 fois. Le nombre de vers blancs morts a été relevé 2, 4 et 7 jours après infestation. L'inventaire a permis de recenser deux espèces de nématodes : *Steinernema* et *Heterorhabditis*. *Steinernema* a induit un taux de mortalité de 0% pour les témoins, 0 à 60%, 0 à 86,66% respectivement en 2, 4 et 7 jours après infestation avec un CL50 de 706,2 nématodes/ver blanc. Pour *Heterorhabditis*, ces taux sont de 0 à 46.67%, 26.67 à 73.33% et 33.33 à 93.33%, les mortalités maximales ont été obtenues avec C4. La CL 50 est de 407,6 nématodes/ver blanc. Des résultats comparables ont été obtenus en Inde sur des vers blancs ravageurs de pomme de terre ; des taux de mortalité de 68-93% avec *Steinernema* et 39-71% avec *Heterorhabditis* avec des concentrations de 500, 1000 et 2000 nématodes/ver

blanc, ont été observés. D'autres études sur le contrôle d'*Heteronychus* ont été réalisés au Zimbabwe mais avec *Metharizium anisopliae* (champignons entomopathogènes), la mortalité a été de 60-85% mais après 16 semaines d'infestations. Ainsi, des nématodes du Genre *Steinernema* et *Heterorhabditis* sont présents à Madagascar et peuvent être exploités pour le contrôle des vers blancs en alternatives des produits chimiques et même des champignons entomopathogènes.

Mots clés : Nématodes entomopathogènes, *Steinernema*, *Heterorhabditis*, *Heteronychus*, Virulence, Madagascar

ABSTRACT

In Madagascar, white grubs belonging to the genus *Heteronychus* infest crops on the tany, mainly rice and maize. They attack plant roots and, without treatment, can decimate an entire crop field. The use of entomopathogenic fungi and plant products to control these pests does not reduce the problem. In many countries, entomopathogenic nematodes are highly recommended against grubs, which is not the case in Madagascar. The objective of this study was to evaluate the effectiveness of local entomopathogenic nematode species in controlling *Heteronychus* larvae. Soil sampling was therefore carried out in Antsirabe to obtain nematodes, which are then reared in the laboratory with wax moth larvae as hosts. Virulence tests of the strains were carried out on healthy third instar *Heteronychus* larvae collected from an irrigated rice field in the rural commune of Ambatolampy, Itasy region. Different concentrations of nematodes were tested on grubs: C0 (control without nematodes), C1 (250 nematodes/grub), C2 (500), C3 (100), C4 (2000); the tests were replicated 3 times. The number of dead grubs was recorded 2, 4 and 7 days after infestation. The inventory allowed us to identify two species of nematodes: *Steinernema* and *Heterorhabditis*. *Steinernema* induced a mortality rate of 0% for controls, 0 to 60%, 0 to 86.66% respectively at 2, 4 and 7 days after infestation with an LC50 of 706.2 nematodes/grub. For *Heterorhabditis*, rates are 0 to 46.67%, 26.67 to 73.33% and 33.33 to 93.33%, the maximum mortality was obtained with C4. The LC50 is 407.6 nematodes/grub. Comparable results were obtained in India on potato grubs; mortality rates of 68-93% with *Steinernema* and 39-71% with *Heterorhabditis* at concentrations of 500, 1000 and 2000 nematodes/grub were observed. Other studies on the control of *Heteronychus* were carried out in Zimbabwe but with *Metharizium anisopliae* (entomopathogenic fungi), mortality was 60-85% but after 16 weeks of infestation. Thus, nematodes of the genus *Steinernema* and *Heterorhabditis* are present in Madagascar and can be exploited for grub control as alternatives to chemicals and even entomopathogenic fungi.

Key words : Entomopathogenic nematodes, *Steinernema*, *Heterorhabditis*, *Heteronychus*, Virulence, Madagascar

INTRODUCTION

A Madagascar, *Heteronychus spp* (Coléoptères, Dynastidae) fait partie des ravageurs les plus nuisibles en s'attaquant non seulement aux graminées (Riz, maïs, canne à sucre), mais peuvent aussi faire des ravages sur d'autres plantes (Randriamanantsoa, 2010). Les larves, appelées communément vers blancs, perforent les parties souterraines des tiges des plantes âgées, rongent les collets des plantules, provoquant ainsi le dessèchement et la mort des plantes (Randriamanantsoa et *al.*, 2010). Les vers blancs limitent le développement du secteur agricole concerné. Les pesticides chimiques utilisés pour leur contrôle posent également un important problème pour l'environnement. En effet, ces pesticides chimiques entraînent un risque d'intoxication des utilisateurs et des consommateurs (Kouassi, 2001), un risque élevé de pollution des sols, de l'atmosphère, des eaux et des nappes phréatiques par la présence de produits toxiques (Kouassi, 2001), ainsi qu'une toxicité envers les insectes non cibles. En outre, leur utilisation prolongée peut générer l'apparition d'une souche résistante d'insectes cibles (El Guili et *al.*, 2009).

Malgré la pratique de méthodes biologiques telles les champignons ou bactéries entomopathogènes, les systèmes de cultures variés, le problème des infestations par les vers blancs persiste. D'un autre côté, la potentialité des nématodes entomopathogènes (NEP) comme agent biologique offre une nouvelle perspective de lutte. L'utilisation de ces derniers a considérablement évolué dans de nombreux pays grâce aux avantages qu'ils ont montré : la rapidité de la mort de l'hôte après infestation, leur capacité à se déplacer pour chercher l'hôte, leur persistance dans l'environnement, leur compatibilité avec une large gamme de pesticides chimiques et biologiques (Lacey et Georgis, 2012). A Madagascar, aucune investigation sur ces NEP n'a encore été réalisée.

L'objectif principal de cette étude est donc d'évaluer l'efficacité des espèces locales de nématodes entomopathogènes pour contrôler les larves d'*Heteronychus*.

MATERIELS ET METHODE

Collecte des nématodes entomopathogènes

Les NEP sont des microorganismes vivant dans le sol, donc leur collecte se fait par des échantillonnages du sol. Les échantillonnages ont été effectués dans 3 zones à Antsirabe dont 2 zones boisées situées respectivement au -19.9186317 Sud (Zone An1), 47.0483612 Est et -19.9121958 Sud, 47.0475428 Est (Zone An2) ; et une

prairie située au -19.9218655 Sud, 47.0510355 Est (Zone An3). Les collectes des échantillons dans chaque zone ont consisté à couvrir une superficie de 5m² et de prélever aléatoirement 10 échantillons d'environ 15 cm de profondeur. Chaque échantillon a été placé dans un sac plastique et a été étiqueté avec le nom du site, le code la zone, le code de l'échantillon, la date d'échantillonnage, les paramètres climatiques. Les échantillons ont été placés à température ambiante jusqu'au laboratoire.

Isolement des nématodes entomopathogènes

L'isolement des NEP a été réalisé par la méthode d'insectes-pièges de Bedding et Akhrust en 1975, avec des larves de *Galleria mellonella* (Pyralidae) comme appâts. Cette méthode consiste à placer les échantillons préalablement tamisés et humidifiés dans des pots, dont un pot pour chaque échantillon, puis 5 larves de *G. mellonella* ont été placées sur la surface du sol et le pot a été fermé et retourné. Les récipients ont été ensuite placés au laboratoire à température ambiante (25°C) et vérifiés tous les jours pour voir si des larves ont été infectées.

Identification et récupération des nématodes entomopathogènes

L'identification de NEP a été faite morphologiquement au niveau Famille et genre. L'identification au niveau des espèces requiert des techniques génétiques et n'a pas été possible faute de matériels et de réactifs. L'identification des NEP se fait par observation de l'aspect des larves de *G. mellonella* infectée pendant le piégeage. Les bactéries symbiontes de Steinernematidae et de Heterorhabditidae, respectivement *Xenorhabdus* et *Photorhabdus* provoquent une coloration différente chez les larves de *G. mellonella* ; les larves infectées par Steinernematidae sont de couleur brun jaune, tandis que celles infectées par Heterorhabditidae sont de couleur rouge brique (Mauléon *et al.*, 2006). Ces deux Familles de NEP n'ont chacun qu'un seul genre, respectivement le genre *Steinernema* et le genre *Heterorhabditis*.

Pour récupérer les NEP des larves infectées, le dispositif modifié de White a été utilisé (White, 1927) (Kaya et Stock, 1997). Le dispositif consiste à placer les larves infectées sur un papier filtre humidifié et les mettre dans une petite boîte de Pétri, celle-ci est ensuite mise dans une boîte de Pétri de plus grande taille contenant de l'eau distillée. La grande boîte de Pétri a ensuite été fermée. Lorsque les ressources fournies par la larve sont épuisées, les NEP de troisième stade sortent du cadavre et sont ensuite attirés dans l'eau distillée et peuvent être récupérés.

Tests de virulence sur les vers blancs

Collecte des vers blancs

Pour cette étude, des larves de 3^{ème} stade de *Heteronychus spp* ont été collectées par des captures à main dans une riziculture à Ambatolampy, région Itasy (Lat : -18,8828446 S ; Long :46,7106268 E). Ils ont été identifiés avec une loupe binoculaire, puis, ont été conservés 5 jours au laboratoire, dans du sol stérilisé avec des racines de plantes comme nourriture, avant les analyses afin de s'assurer qu'ils n'ont pas été infectés par d'autres entomopathogènes.

Tests

RESULTATS ET DISCUSSION

Collecte et identification des nématodes entomopathogènes

Au total, 30 échantillons ont été collectés dans les 3 zones dont 10 pour chaque zone. 4 échantillons ont été testés positifs dont 2 obtenus dans la zone An1 et 2 dans la zone An3. Les aspects des larves de *G. mellonella* infectées ont montré que les nématodes obtenus dans la zone An1 appartiennent à la Famille Steinernematidae tandis que ceux obtenus dans la zone An3 appartiennent à la Famille Heterorhabditidae, respectivement aux genres *Steinernema* et *Heterorhabditis* (Figure 1).

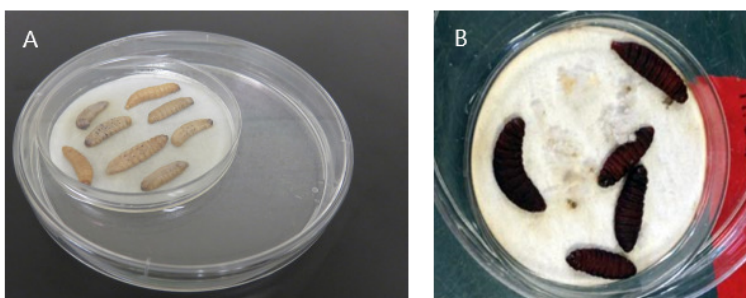


Figure 1 : Larves infectées par *Steinernema* (A) et *Heterorhabditis* (B)

Virulence sur *Heteronychus*

30 tests ont été réalisés avec 150 larves de *Heteronychus*, y compris les témoins et les répétitions, dont 15 tests avec un isolat de *Steinernema* et 15 avec un isolat de *Heterorhabditis*. Les taux de mortalité sont représentés dans la figure suivante (Figure 2).

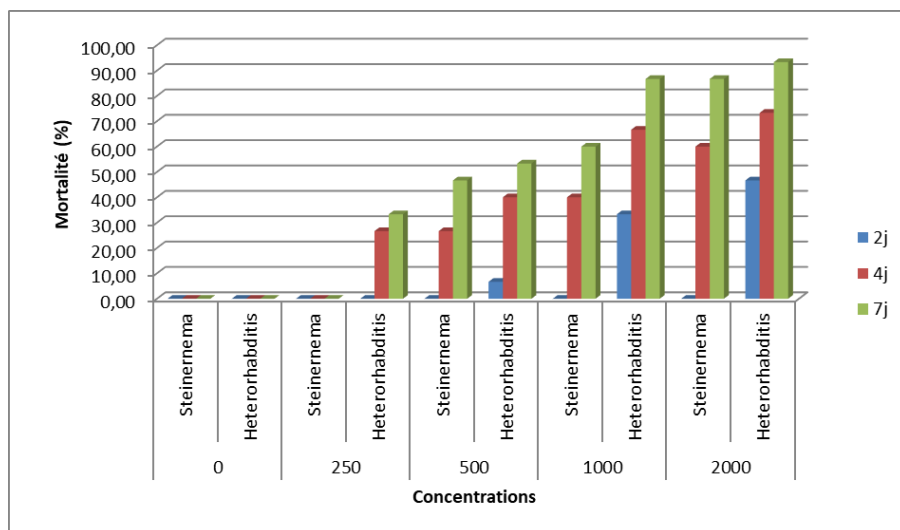


Figure 2 : Histogramme représentant la mortalité de *Heteronychus* en fonction du temps et des concentrations

Le taux de mortalité de tous les témoins a été de 0%. Pour les traitements, *Steinernema* a induit une mortalité de 0%, 0 à 60%, 0 à 86,66% respectivement en 2, 4 et 7 jours après infestation, tandis que *Heterorhabditis* a induit 0 à 46.67%, 26.67 à 73.33% et 33.33 à 93.33%. Les taux augmentent donc avec le temps et les concentrations. Les tests statistiques montrent qu'il y a une différence significative entre les mortalités en fonction du temps (*Steinernema* : $df=2$, $F= 5.731$, $p = 0.019$; *Heterorhabditis* : $df=2$, $F= 7.453$, $p = 0.09$) et des concentrations (*Steinernema* : $df=1$, $F= 14.301$, $p = 0.003$; *Heterorhabditis* : $df=1$, $F= 39.473$, $p = 5.98 \times 10^{-5}$). La souche d'*Heterorhabditis* a été plus efficace avec un taux de 93.33% 7 jours après infestation avec C4 et la CL50 est de 407.60 JI/ver blanc, tandis que 86.66% pour *Steinernema* pour la même concentration et après 7 jours également, avec une CL50 de 706.193 JI/ ver blanc. Mais l'analyse statistique montre que la différence n'est pas significative entre les deux souches ($t = 1.4082$, $df = 27.789$, $p\text{-value} = 0.1702$).

Peu d'études ont été réalisées avec l'efficacité des NEP sur *Heteronychus*, mais des résultats assez similaires ont été obtenus avec un taux de mortalité d'environ 25% avec *Steinernema feltiae* et environ 50% avec *Heterorhabditis bacteriophora* avec un taux de 600 JI/ver blanc (Wilson *et al.*, 2016) ; d'autres études ont montré des mortalités de 35.3% et 89.3% respectivement avec *Steinernema* et *Heterorhabditis* 8 jours après infestation à une concentration de 200 JI/ver blanc et avec comme substrat un mélange de gel et de sol (Abate *et al.*, 2019), ce qui pourrait expliquer la différence entre les résultats.

Néanmoins, des études sur le contrôle d'autres vers blancs ont été réalisés et ayant également confirmé l'efficacité des NEP, par exemple, en Inde, des tests ont été réalisés sur des vers blancs ravageurs de pomme de terre, *Brahmina coriacea*, et des taux de mortalité de 68 à 93% avec *Steinernema* et 39 à 71% avec *Heterorhabditis* avec des concentrations de 500, 1000 et 2000 nématodes/ver blanc, ont été observés (Sharma et al., 2009) ; ou sur des vers blancs ravageurs du canne à sucre, *Holotrichia serrata*, dont les résultats ont été de 60.56% et 2.67% de mortalité avec respectivement *Steinernema* et *Heterorhabditis* 15 jours après infestation et une concentration de 450JI/ml (Supekar et Mohite, 2015).

Comparés aux autres agents de lutte biologique, des études ont montré que les NEP présentent plus d'avantages. En effet, des résultats de test d'utilisation de *Metharizium anisopliae* (champignons entomopathogènes) sur *Heteronychus* ont présenté une mortalité de 60-85% seulement après 16 semaines d'infestations (Mazodze et Zvoutete, 1999), démontrant ainsi la rapidité d'activité des NEP.

CONCLUSION

Cette étude a permis de découvrir que les NEP du genre *Steinernema* et *Heterorhabditis* existent à Madagascar. Les différents tests ont montré leur efficacité contre les vers blancs du genre *Heteronychus* au laboratoire. Néanmoins, des tests à grande échelle devraient encore être réalisés pour confirmer leur efficacité et leur potentialité d'être utilisé comme alternative aux pesticides chimiques et afin de pourvoir déterminer une formulation pour un usage commercial.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) Abate, B. A., Slippers, B., Wingfield, M. J., Conlong, D. E., Burger, D. A., Hurley, B. P. (2019). Virulence and survival of native entomopathogenic nematodes for the management of white grubs in South Africa. *Biological Control* 137. USA: Elsevier
- 2) Adly, D., Nouh, G., Eid, A., (2022). Application of Entomopathogenic Nematodes to Control Larvae of *Temnorhynchus baal* (Reiche and Saulcy) Under Laboratory Conditions and In Strawberry Fields. *Acad. J. Biol. Sci. Entomol.* 15, 67–77. Egypt.
- 3) Bedding, R. A., Akhurst, R. J., (1975). A simple technique for the detection of insect paristic rhabditid nematodes in soil. *Nematologica* 21, 109–110.
- 4) El guili, M., Achbani, E., Fahad, K., Jijakli, H. (2009). Biopesticides, alternatives à la lutte chimique ? In *Symposium international "Agriculture durable en région Méditerranéenne (AGDUMED)"*. 266 – 267. Maroc

- 5) Kaya, H. K., Patricia, S., (1997). Techniques in insect nematology, in: Manual of Techniques in Insect Pathology. 281–324. Londres : Academic Press.
- 6) Kouassi, M. (2001). La lutte biologique : une alternative viable à l'utilisation des pesticides, dans VertigO – *La revue électronique en sciences de l'environnement*. Vol.2 N°2. Québec.
- 7) Lacey, L. A., Georgis, R., (2012). Entomopathogenic Nematodes for Control of Insect Pests Above and Below Ground with Comments on Commercial Production. *Journal of Nematology* 44(2): 218–225. USA Nancy: Kokalis-Burelle
- 8) Mauléon, H., Boemare, N., Denon, D., Briand, S., (2006a). Les Nématodes Entomopathogènes 31. France : INRA
- 9) Mazodze, R., Zvoutete, P., (1999). Efficacy of *Metarhizium anisopliae* against *Heteronychus licas* (Scarabaeidae: Dynastinae) in sugarcane in Zimbabwe. *Crop protection* 18: 571-575.
- 10) Patil, J., Rangasamy, V., Lakshmi, L., (2017). Efficacy of entomopathogenic *Heterorhabditis* and *Steinernema* nematodes against the white grub, *Leucopholis lepidophora* Blanchard (Coleoptera: Scarabaeidae). *Crop Protection* 101, 84–89.
- 11) Randriamanantsoa, R., (2010). Systématique des vers blancs Coleoptera, Scarabaeoidea en riziculture pluviale des régions de haute et moyenne altitudes du centre ouest de Madagascar: bioécologie du ravageur *Heteronychus arator* Rugifrons (Fairmaire, 1871- Coleoptera, Scarabaeoidea, Dynastidae) (thesis). Université d'Antananarivo.
- 12) Randriamanantsoa, R., Aberlenc, H.-P., Bakoly Ralisoa, O., Ratnadass, A., Vercambre, B., (2010). Les larves des Scarabaeoidea (Insecta, Coleoptera) en riziculture pluviale des régions de haute et moyenne altitudes du Centre de Madagascar. *Zoosystema* 32, 19–72. Paris : MNHN
- 13) Sharma, A., Thakur, D. R., Chandla, V. K., (2009). Use of *Steinernema* and *Heterorhabditis* Nematodes for control of white grubs, *Brahmina coriacea* hope (coleoptera: Scarabaeidae) in potato crop. *Potato J.* 36 (3 - 4): 160-165.
- 14) Stock, P. S., Goodrich-Blair, H., (2012). Nematode parasites, pathogens and associates of insects and invertebrates of economic importance, in: Manual of Techniques in Invertebrate Pathology. Oxford ; New York: *Academic Press*
- 15) Supekar, S., Mohite, P., (2015). Utilization of entomopathogenic nematodes against white grub, *Holotrichia serrata* Fab. Infesting Sugarcane. *Journal of Global Biosciences* 4(8) : 3178-3181.
- 16) White, G. F., (1927). A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. *Science* 66, 302–303.

- 17) Wilson, M. J., Wilson, D. J., Rodgers, A., Gerard, P. J. (2016). Developing a strategy for using entomopathogenic nematodes to control the African black beetle (*Heteronychus arator*) in New Zealand pastures and investigating temperature constraints. *Biological Control* 93, 1–7

EFFECT OF GEOGRAPHICAL ORIGIN ON THE NUTRITIONAL COMPOSITION OF MORINGA OLEIFERA LEAF POWDER FROM MADAGASCAR

par

RAMAROSON Vonimihango⁽¹⁾

(1) Laboratoire d'Analyse Sensorielle d'Ambatobe, DRT – FOFIFA, Antananarivo, Madagascar

ABSTRACT

The nutritional composition of *Moringa oleifera* (MO) leaf powder as a function of origin was investigated. The leaves were collected from five different areas of Madagascar. Standard analytical methods were used to determine the contents of crude fat (CF), amino acids, fatty acids and minerals (Ca, Mg and Fe). Analysis of crude protein (CP) used alternative method (Dumas method). This study confirmed that there are variations in the chemical composition of *Moringa oleifera* leaves from different locations in Madagascar. The proportion of CP varied from 23.5 to 29.7%, CF from 5.2 to 7.5%, Ca from 974.5 to 2714.3 mg/100g, Mg from 271.5 to 460.7 mg/100g and Fe from 3.8 to 8.3 mg/100g. The sample from Antananarivo had a higher quantity of polyunsaturated fatty acids (linoleic acid or $\omega 6$: 1704.9 $\mu\text{g.g}^{-1}$, α -linolenic acid or $\omega 3$: 7940.9 $\mu\text{g.g}^{-1}$) than the one from Antsiranana ($\omega 6$: 693.6 $\mu\text{g.g}^{-1}$, $\omega 3$: 2629.7 $\mu\text{g.g}^{-1}$). The content of essential amino acids in 100g of Moringa leaf powder were sufficient to cover the needs for adults. This finding might be a reference point in the selection and formulation of plant-based nutrient supplements in human nutrition in Madagascar.

Key-words : *Moringa oleifera*, Chemical composition, Nutrients, Madagascar

RESUME

La composition nutritionnelle de la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* (MO) en fonction de son origine a été étudiée. Les feuilles ont été collectées dans cinq régions différentes de Madagascar. Des méthodes analytiques standard ont été utilisées pour déterminer la teneur en matières grasses brutes (CF), en acides aminés, en acides gras et en minéraux (Ca, Mg et Fe). Les analyses des protéines brutes (CP) utilisaient une méthode

alternative (Méthode Dumas). Cette étude a confirmé qu'il existe des variations dans la composition chimique des feuilles de MO selon les régions de Madagascar. La proportion de CP variait de 23,5 à 29,7%, CF de 5,2 à 7,5%, Ca de 974,5 à 2714,3 mg/100g, Mg de 271,5 à 460,7 mg/100g et Fe de 3,8 à 8,3 mg/100g. L'échantillon d'Antananarivo présentait une quantité d'acides gras polyinsaturés plus élevée (acide linoléique ou $\omega 6$: 1704,5 $\mu\text{g.g}^{-1}$, acide α -linolénique ou $\omega 3$: 7940,9 $\mu\text{g.g}^{-1}$) que celui d'Antsiranana ($\omega 6$: 693,6 $\mu\text{g.g}^{-1}$, $\omega 3$: 2629,7 $\mu\text{g.g}^{-1}$). La teneur en acides aminés essentiels de 100 g de poudre de feuilles de Moringa était suffisante pour couvrir les besoins des adultes. Cette découverte pourrait constituer un point de référence dans la sélection et la formulation de suppléments nutritionnels à base de plantes pour l'alimentation humaine à Madagascar.

Mots-clés : *Moringa oleifera*, Composition chimique, Nutriments, Madagascar

INTRODUCTION

Moringa oleifera (MO), Lam. (Moringaceae), commonly known as “The Miracle Tree” (Fuglie, 1999), is a member of the Moringaceae family which is grown world-wide in the tropics and subtropics (Booth and Wickens, 1988). The most undernourished regions (in Africa, Asia, Latin America, and the Caribbean) all share the characteristic of growing and utilizing MO (Fuglie, 1999).

Madagascar's climate provides the necessary growing conditions for cultivating this plant. However, the leaves of this wild plant are only consumed by a limited proportion of the Malagasy population as these leafy vegetables are not sufficiently valued. This situation exists not only in Madagascar but also in certain African countries where food habits play a more important role in food consumption than positive attitudes and beliefs (Hedhili et al., 2022).

Previous studies have shown that MO leaves have multiple benefits to human health (e.g. Iqbal, 2006) (Anwar, 2007), such as providing of numerous nutrients (Thurber and Fahey, 2009). These leaves have been shown to be rich in protein, amino acids, minerals and vitamins (Barminas, 1998) (Thurber and Fahey, 2009) (Sánchez-Machado, Núñez-Gastélum et al., 2010). According to Kidmose, Yang et al., (2006), MO leaves have the highest vitamin A content of a wide range of wild leafy vegetables. These leaves should therefore be widely exploited because they can

contribute to combatting undernutrition (Thurber and Fahey, 2009). They have already been incorporated into some formulated supplemented foods, such as cookies (Varghese & Srivastav, 2022) (Dachana et al., 2012), pasta (Kamble et al., 2022), and a beverage (Olusanya et al., 2020).

Nevertheless, like all plants, different factors such as genetic background, environment and cultivation methods can influence the nutritional composition of MO leaves (Brisibe, Umoren et al., 2009). In addition, (Broin, 2006) (Thurber and Fahey, 2009), showed that there is a wide variation in nutritional composition of these leaves depending on the country of origin. Some other studies reported the variation in mineral composition of these leaves between different regions within the same country (Iqbal, 2006) (Anjorin, Ikokoh et al., 2010). There are however limited reports on the variation of other nutrients in MO leaves depending on regions within a given country. Furthermore, while data on MO nutritional compositions are useful, information on leaves grown in Madagascar is lacking.

The ultimate objective of the current study was to investigate the role of location on nutritional composition of MO leaf powder from Madagascar. To try to obtain the largest possible variability, leaf powder originating from five distant regions were studied. This present paper aims to verify if any variations exist in nutritional composition of Moringa leaves from different regions without considering the parameters which may be the source of these variations.

MATERIALS AND METHODS

Plant preparation

The fresh MO leaves were collected from five distant towns in Madagascar: Antananarivo (center), Antsiranana (northern coast), Toamasina (eastern coast), Mahajanga (western coast) and Toliara (southern coast). Two series of harvests were performed. The first batches of fresh leaves were harvested in April 2012 in the five locations, to determine dry matter, ash, and mineral content, and to analyze crude proteins, and crude fat. The second batches, for the analysis of fatty acids and amino acids, were collected only at Antananarivo and Antsiranana in June 2013. The green leaves were first sun-dried. The dried leaves were cleaned and ground to powder using a traditional household grinder. Handling of the leaves when drying and grinding were similar to avoid variation due to this sample preparation method. They were then stored in dry plastic containers, protected from the light at about 6°C.

Moisture content was determined by using an oven at 45°C for 24h and ash content was obtained after incineration at 600°C for 3h.

Major macronutrient, amino acid and fatty acid quantification

Crude protein content (CP) was determined using a Dumas Nitrogen Analyzer NDA 701 (Velp® Scientifica, Italy) (Wiles, Gray *et al.*, 1998). The nitrogen-to-protein conversion factor was 4.4 (factor used for tropical plant samples).

Crude fat (CF) was quantitatively extracted with a Randall Extractor SER 148 (Fisher Bioblock Scientific, France) which was used by Thiex, Anderson *et al.*, (2003), and accepted as the AOAC Official Method 991.36. Before extraction, acid hydrolysis was performed for 1h and the hydrolyzed samples were dried. Petroleum ether solvent (Carlo Erba) was used to extract fats.

The crude fat fractions obtained from leaf powder were submitted to transmethylation of the fatty acids using boron trifluoride in methanol according to (Morrison and Smith, 1964). Fatty acid methyl esters were subsequently extracted with hexane and analyzed using gas chromatography on a Hewlett Packard Model 5890 gas chromatograph (Palo Alto, CA, USA) and a CPSIL-88 column (100 m, 0.25 mm i.d., 0.20 µm film thickness, Varian, Les Ulis, France) equipped with a flame ionization detector. Hydrogen was used as the carrier gas (inlet pressure, 210 kPa). The oven temperature was held at 60°C for 5 min, increased to 165°C by 15°C/min and held for 1 min and then to 225°C by 2°C/min and finally held at 225°C for 17 min. The injector and the detector were maintained at 250°C. Fatty acid methyl esters were identified by comparison with commercial and synthetic standards (Sigma Aldrich, L'Isle d'Abeau, France). The data were processed using the EZChrom Elite software (Agilent Technologies, Massy, France) and reported as a percentage of the total fatty acids. All other reagents and solvents were of analytical grade and obtained from CARLO ERBA Reagents S.A.S. (Val de Reuil, France).

For total amino acid quantification, the method used follows the Commission Regulation (EC) N°152/2009. The samples were hydrolyzed with HCl for 23 h under vacuum. The hydrolysate was adjusted to a pH of 2.2. The amino acids were separated by ion exchange chromatography and quantified by reaction with ninhydrin using photometric detection at 570 nm.

For tryptophan determination, the norm NF EN ISO 13904 was followed. After basic hydrolysis at 110°C for 20 h using Barium hydroxide, tryptophane was quantified by reversed-phase high-performance liquid chromatography with UV detection.

Mineral determination

500 mg of leaf powder were incinerated at 600°C, weighed and desilicated with 1 ml of 37 % hydrochloric acid (Panreac Quimica, Castellar del Vallès, Spain) and 1 ml of 1 mol.L⁻¹ of HCl (Panreac Quimica, Castellar del Vallès, Spain). The obtained solution was then evaporated at high temperature. The residue was mixed with distilled water and filtered. Detection of calcium (Ca), magnesium (Mg) and iron (Fe) were performed using flame atomic absorption spectrophotometry. Element concentrations were determined using specific calibration of 6 points for Ca and Mg and 7 points for Fe, in the range 0 to 5 mg/L for Ca, 0 to 2,5 mg/L for Mg and 0 to 30 mg/L for Fe.

Data analysis

Each analysis was performed in triplicate and all the data are reported as mean, except the one concerning amino acids. Data were analyzed using one-way ANOVAs or Student t-tests. The Newman Keuls test (SNK) was used to identify significant differences among treatment means. The software XLSTAT 2013 (Addinsoft) was used for statistical analysis. Data was considered significant at $p < 0.05$.

RESULTS

Protein content in MO leaves from the five locations was from 23.5 to 29.7%. CF varied from 5.2 to 7.5%, Ca from 974.5 to 2714.3 mg/100g, Mg from 271.5 to 460.7 mg/100g and Fe from 3.8 to 8.3 mg/100g (Table 1). The ash contents were from 9.7 to 11.5% and the moisture content from 6.34 to 8.46%. Total carbohydrates proportion was estimated by deduction to be from 44.7 to 57.1%. All the values are expressed on dry matter (DM).

The sample from Antsiranana had the highest quantity of CP (29.7%) and the leaf powder from Mahajanga had the lowest quantity of CP (23.5%). The sample from Toliara had the highest quantity of CF (7.5%), whereas the dried leaves from the other locations did not have significantly different quantities of CF. The dried leaves from Antananarivo had the highest quantity of calcium (2714.3 mg/100g), but there was no significant difference in quantity of Ca in the other four samples. The highest quantity of magnesium was observed with the sample from Mahajanga (460.7 mg/100g), and the lowest quantity of Mg was observed with the samples from Antsiranana, Toamasina and Antananarivo. The highest quantity of iron was observed with the sample from Antsiranana (8.3 mg/100g) and the dried leaves from Toliara had the lowest quantity of Fe (3.8 mg/100g).

Table 1 : Macronutrient and mineral composition of Malagasy *Moringa oleifera* leaf powder from different locations (means +/- S.D.)

Nutrient	Antananarivo	Toliara	Mahajanga	Toamasina	Antsiranana
Ash (g/100g DM)	10.9 ^b	10.5 ^c	9.7 ^d	10.6 ^c	11.5 ^a
CP (g/100g DM)	28.4 ^b	26.6 ^c	23.5 ^d	27.0 ^c	29.7^a
CF (g/100g DM)	5.5 ^b	7.5^a	5.3 ^b	5.2 ^b	5.7 ^b
Ca (mg/100g DM)	2714.3^a	974.5 ^b	1327.7 ^b	1387.7 ^b	1156.7 ^b
Mg (mg/100g DM)	289.9 ^c	360.8 ^b	460.7^a	280.0 ^c	271.5 ^c
Fe (mg/100g DM)	6.2 ^b	3.8 ^c	6.2 ^b	5.4 ^b	8.3^a

(The highest values for each nutrient are in bold. Means with the same letter are not significantly different from Neuman Keuls test at $\alpha = 0.05$. DM: Dry Matter, CP: Crude Protein and CF: Crude Fat)

In the next set of analysis, we decided to determine fatty and amino acid contents only from the Antananarivo and Antsiranana samples because results above showed that the protein and iron contents in samples from these two locations were the highest.

The dried MO leaf powder were found to contain 14 fatty acids of which seven are saturated and five monosaturated (Table 2). Fatty acids in MO leaf powder were dominated by alpha-linolenic acid (56 and 35.3% in samples from Antananarivo and Antsiranana respectively). Both of the two samples were rich in palmitic acid (more than or equal to 18.97%). Dried *M. oleifera* from Antsiranana contained about twice the quantity of oleic acid (656.7 $\mu\text{g.g}^{-1}$ of powder HM) than the one from Antananarivo (380.2 $\mu\text{g.g}^{-1}$ of powder HM). The quantities of the other fatty acids were lower (less than 400 $\mu\text{g.g}^{-1}$ of powder HM).

Table 2 : Fatty acids composition of dried *Moringa oleifera* from two locations

Fatty acids	Proportion (% of total fatty acids)		Quantity (µg.g-1 of powder HM)	
	Antananarivo	Antsiranana	Antananarivo	Antsiranana
Myristic acid (C14:0)	1.4	1.8	204.7	133.3 **
Palmitic acid (C16:0)	19.0	27.4	2690.0	2040.7 *
Palmitoleic acid (C16:1c9)	1.4	2.0	195.2	150.0 *
Palmitoleate (C16:1c7)	0.2	0.5	24.5	36.0 1 *
Margaric acid (C17:0)	0.2	0.4	26.2	28.9 n.s.
Stearic acid (C18:0)	2.5	4.9	361.0	361.1 n.s.
Oleic acid (C18:1c9)	2.7	8.9	380.2	656.7 ***
Vaccenic acid (C18:1c7)	0.2	0.6	35.5	47.1 *
Linoleic acid * (C18:2c9,12(n-6))	12.0	9.3	1704.5	693.6 ***
Arachidic acid (C20:0)	0.7	1.8	103.7	129.9 n.s.
Alpha-linolenic acid* (C18:3c9,12,15(n-3))	56.0	35.3	7940.9	2629.7 ***
Behenic acid (C22:0)	1.3	2.6	186.3	193.4 n.s.
Docosanoic acid (C22: 1c9)	0.3	0.2	38.5	14.3 7 **
Lignoceric acid (C24:0)	2.0	4.3	282.7	318.9 n.s.
Total SFA	27.2	43.1	3854.6	3206.0
Total MUFA	4.7	12.2	674.0	904.1
Total PUFA	68.0	44.7	9645.4	3323.3

(Essential fatty acids are marked “*”). HM : Humid Matter)

n.s.: quantities not significantly different from t-test at $\alpha = 0.05$

*: significantly different quantity at $\alpha = 0.05$

**: significantly different quantity at $\alpha = 0.01$

***: significantly different quantity at $\alpha = 0.001$

SFA : saturated fatty acids, MUFA: mono-unsaturated fatty acids,

PUFA : poly-unsaturated fatty acids

The quantity of each amino acid in the two samples is relatively similar. The most abundant amino acid was glutamic acid + glutamine 3.99 and 3.90% in the Antsiranana and Antananarivo samples respectively. The least abundant ones were cysteine (0.39 and 0.56% respectively) and methionine (0.48 and 0.57% respectively). The eight essential amino acids were observed (threonine, methionine, valine, phenylalanine, isoleucine, leucine, lysine and tryptophane) in the samples from Antsiranana and Antananarivo (Table 3).

Table 3 : Amino acid composition of dried *Moringa oleifera* leaves from two locations (g/100g DM)

Amino acids	Antsiranana	Antananarivo
Tryptophane	0.67	0.76
Cysteine	0.39	0.56
Aspartic acid + asparagine	3.09	3.44
Proline	1.05	1.22
Methionine	0.48	0.57
Threonine	1.26	1.47
Serine	1.31	1.43
Glutamic acid + glutamine	3.99	3.90
Glycine	1.27	1.50
Alanine	1.62	1.78
Valine	1.58	1.73
Isoleucine	1.21	1.39
Leucine	2.26	2.76
Phenylalanine	1.91	1.86
Lysine	1.47	1.75
Histidine	0.64	0.71
Arginine	1.80	1.91

(Essential general amino acids are in bold. DM: Dry Matter)

DISCUSSION

Variations were observed depending on the geographical origin of *Moringa oleifera* leaves. When comparing nutritional composition of MO leaves with previous studies, the protein content of the five samples from Madagascar was higher than dried leaves from Mexico (Sánchez-Machado, Núñez-Gastélum *et al.*, 2010). On the contrary, the quantities of CP observed in this study were lower than that of dried leaves collected in South Africa where the protein content was 30.3% (Moyo, Masika *et al.*, 2011), or 33% (Bopape-Mabapa *et al.*, 2020). The leaves from Nicaragua (Makkar and Becker, 1997), had about the same protein content (26.4%) as the samples from Toliara and Toamasina, but it was lower than the samples from Antsiranana and Antananarivo and higher than the sample from Mahajanga.

Dried leaves analyzed by Moyo, Masika *et al.* (2011), contained 6.5% of CF, lower than in the Toliara sample but higher than CF quantities found in four of our samples. 7.85% of CF was found in *Moringa oleifera* leaf powder from Senegal

(Ndong, Wade et al., 2007), which is close to the amount found in the sample from Toliara.

Some fatty acid contents in MO leaves vary significantly from one location to another, as showed when comparing *Moringa oleifera* leaves from Antananarivo and Antsiranana. The most important difference was observed with the polyunsaturated fatty acids (α -linolenic and linoleic acids). The quantities of these polyunsaturated fatty acids in these leafy vegetables were viewed as very interesting. This characteristic makes this food effective, on a nutritional level, to prevent various diseases (Fahey, 2005).

Dried MO leaves have a high concentration of mineral elements, such as calcium, magnesium and iron. This finding is in accordance with Moyo, Masika et al., (2011) observation. Calcium content in MO leaves is higher than the level observed in other non-conventional leafy vegetables (Barminas, 1998). The level of iron was low in MO leaves (less than 10 mg/100g DM). This does not concern only leaves from Madagascar but this status was already observed by other researchers, for example, Barminas (1998), Nkafamiya, Osemeahon et al., (2010). The result of Moyo, Masika et al. (2011), was not in accordance with our findings on the iron level (49 mg/100g).

The work confirms previous findings showing that the nutritional composition of *Moringa oleifera* leaves is interesting. These leaves can be used to provide deficient nutrients for undernourished people in Madagascar. Compared to other protein foods such as meat, *Moringa oleifera* leaves can be considered as protein concentrate. For example, meat from goats fed on grass hay in Limpopo Province in South Africa, had a protein content of 14.08% DM (Qwele, Hugo et al., 2013). In this study, the results show that dried *Moringa oleifera* leaves had about twice the quantity of protein compared to this meat. This justifies the use of MO leaves as a potential source of supplementary protein for undernourished people in developing countries such as Madagascar.

According to the daily requirements of essential amino acids recommended by WHO (Table 4), the quantity of each essential amino acid in 100 g of DM of *Moringa oleifera* leaf powder is sufficient to satisfy the needs for adults.

Table 4 : Adult essential amino acid requirements expressed in mg/kg per day (WHO 2007)

Lysine	Leucine	Isoleucine	Valine	Threonine	Phenylalanine + Tyrosine	Tryptophane	Methionine + Cysteine	Histidine
30	39	20	26	15	25	4	15	10

This study cannot identify the sample having the highest quantities of all nutrients compared to the samples from the other origins. To choose the optimum leaves according to nutritional interest, the selection should focus on the nutrient which is the most deficient in the population. If the aim is to enrich a diet or a product with protein, it is adequate to choose *Moringa oleifera* leaves from Antsiranana or Antananarivo. To promote essential fatty acid consumption by populations to decrease the risk of cardiovascular diseases, MO leaf powder from Antananarivo can be used as a good source of this category of fatty acids. 50 g of dried MO powder from Antananarivo can complete the recommended daily intake of calcium suitable for a child between 9 to 13 years old (Institute of Medicine, 2011).

CONCLUSION

Nutrient characterization of *Moringa oleifera* clearly indicates that the Malagasy plant leaves are rich in nutrients and have potential to be used as a food ingredient with multiple purposes. These include serving as a source of protein, unsaturated fatty acids, essential amino acids and minerals for human food formulations. Drying the leaves concentrates the nutrients, facilitating conservation and consumption. They can therefore be used during periods of food shortage or transported to areas where it is not cultivated. In addition to the medicinal and therapeutic properties of *Moringa oleifera*, the leaves can be used to improve health and nutrition in Sub-Saharan countries such as Madagascar.

The variation of nutritional composition of *Moringa oleifera* leaves between different locations can be due to environmental factors (soil composition and climate), age of the leaves, and mode of conservation between collection and analysis. None of these parameters were manageable in this study, so they require further in the future.

REFERENCES

- 1) Anjorin, T. S., Ikokoh, P., Okolo, S. (2010). Mineral Composition of *Moringa oleifera* Leaves, Pods and Seeds from Two Regions in Abuja, Nigeria. *International Journal of Agriculture and Biology*, 12(3): 431-434.
- 2) Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M., Gilani, A. H. (2007). *Moringa oleifera*: A Food Plant with Multiple Medicinal Uses. *Phytotherapy Research* 21: 17-25. [https://doi.org/ 10.1002/ptr.2023](https://doi.org/10.1002/ptr.2023).
- 3) Barminas, J. T., Charles, M., Emmanuel, D. (1998). Mineral composition of non-conventional leafy vegetables. *Plant Foods for Human Nutrition* 53: 29–36. [https://doi.org/ 10.1023/a:1008084007189](https://doi.org/10.1023/a:1008084007189).
- 4) Booth, F.E.M. and Wickens, G. E. (1988). Non-timber uses of selected arid zone trees and shrubs in Africa. Food and Agriculture Organisation. F. C. Guide. Rome: 176.
- 5) Bopape-Mabapa, M. P., Avisi, K. K., Mariga, I. K. (2020). Biomass production and nutritional composition of *Moringa oleifera* under different planting spacings in a semi-arid condition of the northern South Africa. *African Journal of Food Agriculture, Nutrition and Development* 20 (3): 15857-15875. <https://doi.org/10.18697/ajfand.91.19085>.
- 6) Brisibe, E. A., Umoren, U. E., Brisibe, F., Magalhães, P. M., Ferreira, J. F. S., Luthria, D., Wu, X., Prior, R. L. (2009). Nutritional characterisation and antioxidant capacity of different tissues of *Artemisia annua* L. *Food Chemistry* 115: 1240-1246. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.033>.
- 7) Broin, M. (2006). The nutritional value of *Moringa oleifera* Lam. leaves: what can we learn from figures? Moringanews Workshop.
- 8) Dachana, K. B., Jyotsna, R., Indrani, D., Jamuna, P. (2010). Effect of dried *Moringa* (*Moringa oleifera* Lam) leaves on rheological, microstructural, nutritional, textural and organoleptic characteristics of cookies. *Journal of Food Quality* 33, 660-677. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2010.00346.x>.
- 9) Fahey, J. W. (2005). *Moringa oleifera*: Review of the Medical evidence for its nutritional, therapeutic and prophylactic properties. Part 1. *Trees for Life Journal* 1(5).
- 10) Fuglie, L. J. (1999). The Miracle Tree; *Moringa oleifera*, Natural Nutrition for the Tropics. ECHO.

- 11) Hedhili, A., Akinyemi, B. E. Otunola, G.A., Ashie-Nikoi, P.A., Kulkarni, M., Husson, F., Valentin, D. (2022). *Moringa oleifera* Lam.: A comparative survey on consumer knowledge, usage, attitude and belief in Africa and India. *South African Journal of Botany* 147: 153-162.
<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.01.009>.
- 12) Iqbal, S., Bhanger, M. I. (2006). Effect of season and production location on antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaves grown in Pakistan. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 544-551.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.05.001>.
- 13) Kamble, D. B., Bashir, K., Singh, R., Rani, S. (2022). Effect of *Moringa oleifera* pod addition on the digestibility, cooking quality, and structural attributes of functional pasta. *Journal of Food Processing and Preservation* 46(1): 1-11.
<https://doi.org/10.1111/jfpp.16163>.
- 14) Kidmose, U., Yang, R. Y., Thilsted, S. H., Christensen, L. P., Brandt, K. (2006). Content of carotenoids in commonly consumed Asian vegetables and stability and extractability during frying. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 562-571. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.011>
- 15) Makkar, H. P. S. and Becker, K. (1997). Nutrients and antiquality factors in different morphological parts of the *Moringa oleifera* tree. *Journal of Agricultural Science* 128: 311-322. <https://doi.org/10.1017/S0021859697004292>.
- 16) Institut of Medecine (2011). Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington, National Academies Press.
- 17) Morrison, W. R. and Smith, L. M. (1964). Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. *Journal of Lipid Research* 5(4): 600-608. [https://doi.org/10.1016/S0022-2275\(20\)40190-7](https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)40190-7).
- 18) Moyo, B., Masika, P. J., Hugo, A., Muchenje, V. (2011). Nutritional characterization of *Moringa* (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *African Journal of Biotechnology* 10(60): 12925-12933. <https://doi.org/10.5897/AJB10.1599>.
- 19) Ndong, M., Wade, S., Dossou, N., Guiro, A. T., Gning, R. D. (2007). Valeur nutritionnelle du *Moringa oleifera*, étude de la biodisponibilité du Fer, effet de l'enrichissement de divers plats traditionnels sénégalais avec la poudre des feuilles. *African Journal of Food Agriculture Nutrition and Development* 7(3): 1-17.
- 20) Nkafamiya, I. I., Osemeahon, S. A., Modibbo, U. U., Aminu, A. (2010). Nutritional status of non-conventional leafy vegetables, *Ficus asperifolia* and *Ficus sycomorus*. *African Journal of Food Science* 4(3): 104-108. <https://doi.org/10.5897/ajfs.9000206>.

- 21) Olusanya, R. N., Kolanisi, U., Van Onselen, A., Ngobese, N. Z., Siwela, M. (2020). Nutritional composition and consumer acceptability of *Moringa oleifera* leaf powder (MOLP)-supplemented mahewu. *South African Journal of Botany* 129: 175-180. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.04.022>.
- 22) Qwele, K., Hugo, A., Oyedemi, S. O., Moyo, B., Masika, P. J., Muchenje, V. (2013). Chemical composition, fatty acid content and antioxidant potential of meat from goats supplemented with Moringa (*Moringa oleifera*) leaves, sunflower cake and grass hay. *Meat Science* 93(3): 455-462. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.11.009>.
- 23) Sánchez-Machado, D. I., Núñez-Gastélum, J. A., Reyes-Moreno, C., Ramirez-Wong, B., Lopez-Cervantes, J. (2010). Nutritional Quality of Edible Parts of *Moringa oleifera*. *Food Analytical Methods* 3(3): 175-180. <https://doi.org/10.1007/s12161-009-9106-z>.
- 24) Thiex, N. J., Anderson, S., Gildemeister, B. (2003). Crude fat, hexanes extraction, in feed, cereal grain, and forage (Randall/Soxtec/submersion method): collaborative study. *Journal of AOAC INTERNATIONAL* 86(5): 899-908.
- 25) Thurber, M. D. and Fahey, J. W. (2009). Adoption of *Moringa oleifera* to combat under-nutrition viewed through the lens of the "Diffusion of innovations" theory. *Ecology of Food and Nutrition* 48(3): 212-25. <https://doi.org/10.1080/03670240902794598>.
- 26) Varghese, C., Srivastav, P. P. (2022). Formulation and sensory characterization of low-cost, high-energy, nutritious cookies for undernourished adolescents: An approach using linear programming and fuzzy logic. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 75: 102904. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102904>
- 27) WHO (2007). Protein and amino acid requirements in human nutrition. WHO Technical Report Series 935. WHO. India, WHO: 284.
- 28) Wiles, P. G., Gray, I. K., Kissling, R. C. (1998). Routine analysis of proteins by Kjeldahl and Dumas methods: review and interlaboratory study using dairy products. *Journal of AOAC INTERNATIONAL* 81(3) : 620-632. <https://doi.org/10.1093/jaoac/81.3.620>

ANALYSE COMPARATIVE DE LA TOXICITÉ DES CHAMPIGNONS ENTOMOPATHOGÈNES DE LA FORÊT DE TAPIA ENVERS LE VER À SOIE *BOROCERA CAJANI* (LASIOCAMPIDAE)

par

RAVELOMANANA Andrianjaka⁽¹⁾, DRENY Lobert R.⁽²⁾,
RAHARIJAONA Sariaka F.⁽¹⁾, TSIRINIRINDRAVO Herisetra L.^(2,3)

(1) Mention Entomologie Elevage et Santé, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, Madagascar

(2) Biochimie Fondamentale Appliquée, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, Madagascar

(3) Indian Ocean Island University, Antananarivo, Madagascar

RESUME

La sériciculture produite à partir de la soie sauvage *Borocera cajani* souffre de manque de matière première. La compréhension des microorganismes parasites dont les champignons entomopathogènes, demeure peu étudiée à ce jour. L'objectif de cette étude est d'évaluer la potentialité des champignons entomopathogènes sur la survie et la biologie reproductive de cette espèce. Les travaux ont d'abord porté sur la toxicité de cinq souches selon deux modes d'inoculation : par contact et par ingestion. Ensuite, la biologie reproductive de *B. cajani* a été également évaluée. Le test de toxicité a montré que la mortalité des larves est significative entre les lots traités. Les larves une fois exposées aux souches se sont montrées très vulnérables avec plus de 80% de mortalité même au stade post imaginal. Les isolats utilisés bien que spécifiques des hôtes, montrent une diversité spécifique élevée mais qui n'a pas pu être relevé par faute de moyen moléculaire pour les trois genres (*Cladosporium*, *Fusarium* et *Drecheslera*). Il en découle de cette étude que les champignons Hypocréales tiennent une place importante comme facteur de mortalité du landibe surtout pendant la saison hivernale où l'espèce entre en contact direct avec ces germes dans la litière où elle se nymphose. En raison de la sensibilité des champignons au feu et la présence de feu naturelle dans les forêts de tapia, cette voie pourrait être explorée comment un régime de feu défini favoriserait la redynamisation la sériciculture sauvage de landibe.

Mots clés : Ver à soie, Microorganisme, Feu, Tapia.

ABSTRACT

Wild silk production from *Borocera cajani* suffers from a lack of raw material. The role of parasitic microorganisms, including entomopathogenic fungi, remains underexplored to date. This study aims to evaluate the potential impact of entomopathogenic fungi on the survival and reproductive biology of this species. The research focused first on the toxicity of five fungal strains using two inoculation methods: contact and ingestion. Subsequently, the reproductive biology of *B. cajani* was also assessed. Toxicity tests revealed that larval mortality was significantly higher in treated groups. Larvae exposed to the fungal strains showed extreme vulnerability, with mortality rates exceeding 80%, even at the post-imaginal stage. The isolates, though host-specific, exhibited significant species diversity. However, due to the lack of molecular tools, it was not possible to characterize the three fungal genera (*Cladosporium*, *Fusarium*, and *Drechslera*) more precisely. This study highlights that Hypocreales fungi play a critical role as a mortality factor for *B. cajani*, especially during the winter season when the species comes into direct contact with these pathogens in the litter where it pupates. Given the sensitivity of fungi to fire and the occurrence of natural fires in tapia forests, further investigation into how specific fire regimes could enhance the sustainability of wild *landibe* sericulture is warranted.

Key words : Silkworm, Microorganism, Fire, Tapia

INTRODUCTION

Les communautés Merina et Betsileo de Madagascar perpétuent une tradition séculaire en utilisant des tissus en soie, notamment le fameux « lamba landy », un élément distinctif de leur culture. Cette soie est produite à partir du fil élaboré par une espèce endémique de ver à soie sauvage, *Borocera cajani*, qui se nourrit d'une grande variété de plantes et colonise principalement la forêt de Tapia, présente sur les hauts plateaux centraux de Madagascar (Lajonquière, 1972) (Kull et *al.*, 2005). Depuis longtemps, les produits dérivés de cette soie constituent des biens de luxe, symboles de prestige et de distinction sociale au sein de ces communautés (Peigler, 1993). Cependant, cette production connaît un déclin significatif en raison de la raréfaction de la matière première, elle-même mise en péril par plusieurs menaces. Parmi les principales menaces figurent les activités anthropiques responsables d'une dégradation progressive de l'habitat naturel de *B. cajani* (Rakotondrasoa et *al.*, 2012), et les menaces biologiques, en particulier celles posées par les parasitoïdes et les champignons pathogènes (Ravelomanana et *al.*, in press) (Razafimanantsoa et *al.*, 2022). Si aucun engagement significatif n'est pris pour atténuer ces pressions, cette composante de l'identité culturelle malagasy pourrait disparaître. En effet, les

dommages causés par les champignons pathogènes sont déjà bien documentés pour le ver à soie domestique, *Bombyx mori*, en particulier la muscardine blanche provoquée par *Beauveria bassiana* (Clavicipitaceae), qui entraîne une réduction de la qualité de la soie en production industrielle (Kumar et *al.*, 1999) (Seema et *al.*, 2019). Ce champignon, de par sa large distribution et sa capacité à se propager au sein des populations d'insectes, présente un danger accru.

Les recherches sur l'impact des facteurs biologiques, notamment les champignons entomopathogènes sur le ver à soie sauvage malagasy restent limitées. Les quelques données disponibles indiquent que les Hypocreales, largement présents dans le sol de la forêt de Tapia, sont la plupart des entomopathogènes (Dreny et *al.*, 2023). Cependant, leur rôle potentiel dans la régulation des populations de *B. cajani* demeure mal défini. Par ailleurs, l'arbre de Tapia (*Uapaca bojeri*), une composante essentielle de cet écosystème, dépend fortement d'associations mycorhiziennes (Ramanankierana et *al.*, 2007), rendant nécessaire l'étude de l'interaction entre ces mycorhizes et la biologie du ver à soie sauvage, d'autant plus que la nymphose de *B. cajani* a lieu dans la litière de la forêt exposant les pupes aux agents pathogènes du sol, tels que les Hypocreales. Dans cette perspective de conservation, la commune d'Ambatofinandrahana a bénéficié en 2020, d'un soutien communautaire via le projet SAHALA (Protection de la forêt de tapia d'Ambatofinandrahana et développement de la filière soie sauvage), avec pour objectif principal la revitalisation de la filière séricicole. Parmi les actions menées, le repeuplement en vers à soie sauvage a permis une augmentation notable de la densité naturelle de *B. cajani*, qui est passée de 80 individus par hectare à 10 000 individus par hectare (Razafinjatovo, 2023). Cette densité accrue constitue une opportunité idéale pour une étude microbiologique approfondie.

Ainsi, l'objectif de la présente étude est d'évaluer la toxicité et le rôle potentiel des champignons entomopathogènes sur la biologie reproductive de *B. cajani*. Les travaux de laboratoire se concentreront sur la sensibilité des larves à différentes souches de champignons entomopathogènes et sur l'évaluation de leurs éventuels effets sur la fécondité des femelles.

MATERIELS ET METHODE

Sites d'étude et origine des souches

L'étude a été réalisée en avril 2021 pendant la première génération estivale du ver à soie *Borocera cajani*. La densité sauvage du ver à soie se trouve à son pic maximal de 8 000 à 10 000 individus par hectare dans le bloc forestier d'Ambatomenaloha en cette période, suite au projet de repeuplement effectué par l'ONG Ny Tanintsika (2019-2022). Les souches de champignons testées pour cette

étude de toxicité proviennent de la forêt de Tapia d'Ambatofinandrahana isolée à partir de différents substrats : sol, larve de *Borocera* morte, feuille et branche de Tapia. Les cinq espèces entomopathogènes préalablement étudiées par Dreny et *al.* (2023), ont été les espèces cible de cette étude : *Drecheslera sp*, *Cladosporium sp*, *Aspergillus sp*, *Fusarium sp* et *Lecanicillium sp* (Tableau 1). Les travaux de laboratoires, dont l'isolement des souches – cultures et contaminations ont été réalisées dans le laboratoire microbiologique Indian Ocean University, Itaosy. Cependant les larves de stades 4 (L4) ont été l'objet de test, et elles sont issues de l'élevage du centre de grainage d'Ambohimanjaka, Antsirabe.

Tableau 1 : Souches de champignons utilisées pour le test de pathogénicité.
c : contamination par contact et « i » : contamination par ingestion

Espèces	1- Contact "C"			2- Ingestion "I"		
	Isolats	Conidies.ml ⁻¹	Nbr. larves	Isolats	Conidies.ml ⁻¹	Nbr. larves
-	Témoin	-	45	Témoin	-	45
<i>Drecheslera sp</i>	CD-1016	4,32.10 ⁷	90	ID-1018	4,32.10 ⁷	90
<i>Cladosporium sp</i>	CC-1036	6,43.10 ⁷	90	IC-1038	6,43.10 ⁷	90
<i>Aspergillus sp</i>	CA-1056	1,17.10 ⁷	90	IA-1058	1,17.10 ⁷	90
<i>Fusarium sp</i>	CF-1076	9,87.10 ⁷	90	IF-1078	9,87.10 ⁷	90
<i>Lecanicillium sp</i>	CL-1096	3,23.10 ⁷	90	IL-1098	3,23.10 ⁷	90

Souche testée et préparation de la solution entomopathogène

La récente investigation sur la diversité des champignons microscopiques de la forêt de Tapia a facilité sur le choix des germes à tester (Dreny et *al.*, 2023) (Ramanankierana et *al.*, 2007). Bien que l'identification au niveau espèce n'ait pas été possible, des caractérisations des traits morphologiques ont été réalisée pour chaque souche identifiée (mycélien, phialides). La culture a été faite sur un milieu de culture Sabouraud et l'identification des souches a été faite en utilisant la méthode conventionnelle sous microscope (Humber, 2012). Une concentration unique de la solution entomopathogène de 1 X 10⁷ conidies.ml⁻¹ pour chaque germe a été utilisée pour le test sur les larves.

Calcul des conidies germées et présentation des deux modes de traitement des larves (bio-essai)

Chaque solution conidienne a été inoculée suivant deux méthodes : (a) par contact direct sur la partie dorsale du thorax des larves du 4^{ème} stade de *B. cajani* et

(b) par ingestion en trempant les feuilles de *U. bojeri* dans des solutions fongiques. Les larves et les feuilles préalablement contaminées par les différentes souches de champignons ont été placées dans les cages d'élevage distinctes. Pour ce test de toxicité, par souci de logistique et de moyen financier, six germes identifiés comme entomopathogènes pour le *B. cajani* (Dreny et *al.*, 2023), ou sur les lépidoptères en général (Araújo & Hughes, 2016), ont été testés. Pour chacun des germes avec une concentration unique, 30 larves par traitement ont été retenues avec trois répétitions et le témoin a été au nombre de 45. Soit un total de 495 larves ont été mobilisées pour le test. Les symptômes et les mortalités apparus ont été relevés quotidiennement jusqu'à la nymphose et à l'émergence de l'adulte.

Méthode de comptage des larves mortes

Les observations suivies de comptage des individus morts permettent d'obtenir la sensibilité larvaire et de calculer le taux de mortalité (%) en fonction du temps d'exposition et de la concentration du champignon. Si le taux de mortalité des témoins est compris entre 5 et 20%, une correction est effectuée selon la formule Abbott (1925). Cette formule permet d'éliminer la mortalité naturelle et de connaître la toxicité réelle du larvicide.

Analyse des données

Le test de Newman Keuls au seuil de probabilité 0,05 est appliqué pour la comparaison de moyennes par paires et qui sont représentées par une même lettre au risque de première espèce ($\alpha = 0,05$). La droite de régression a été tracée pour déterminer le temps d'exposition nécessaire pour avoir un taux de mortalité supérieur ou égal à 20%, 50% et 80%. Les analyses ont été réalisées sur le logiciel XLSTAT.

RESULTATS

Mortalité larvaire en fonction de souches entomopathogènes

Les souches sélectionnées ont démontré une toxicité significative envers les larves de *B. cajani* traitées, avec des taux de mortalité variant selon la méthode et la souche utilisées (Figure 1). Le suivi quotidien a révélé que la méthode de contamination par ingestion était globalement plus efficace, entraînant en moyenne la mort de plus de 70 % des larves, contre 45 % pour la méthode par contact. Le test de Newman-Keuls a confirmé une différence significative entre les deux méthodes de contamination ($p \leq 0,05$). Indépendamment de la souche, la contamination par ingestion s'est avérée la plus performante. Les résultats détaillés sont les suivants :

Méthode de contamination par ingestion

Le trempage des feuilles de Tapia dans la solution conidienne de *Cladosporium sp.* a généré le taux de mortalité le plus élevé (93,3 %). *Fusarium sp.* a également montré une efficacité marquée, avec un taux de mortalité de 91,1 %. La souche *Lecanicillium sp.* a présenté l’efficacité la plus faible, avec un taux de mortalité de 16,7 %.

Méthode de contamination par contact

Fusarium sp. a maintenu un taux de mortalité élevé (84,4 %), confirmant son efficacité même par contact. *Lecanicillium sp.* a montré la mortalité la plus basse (12,2 %).

En moyenne, la contamination par ingestion a causé la mort de 27 larves de plus que celle par contact, à l’exception de *Fusarium sp.*, pour lequel les taux de mortalité étaient similaires entre les deux méthodes (respectivement 86,6 % pour l’ingestion et 84,4 % pour le contact).

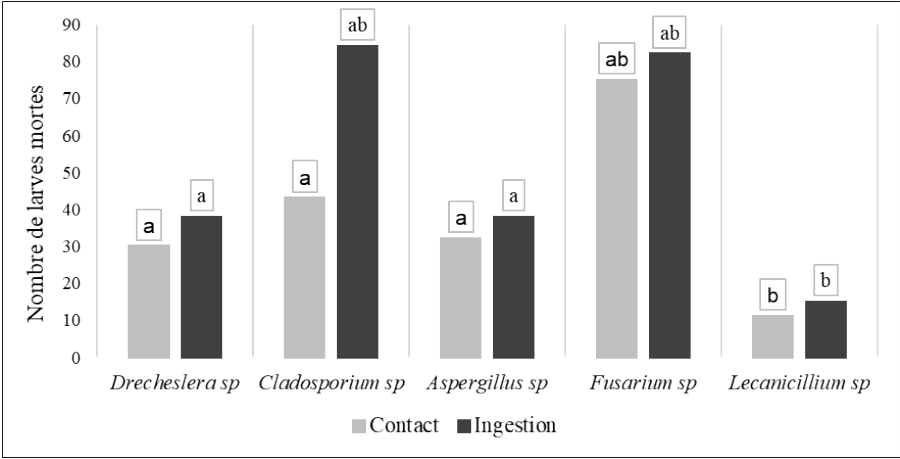


Figure 1 : Nombre de larves au stade L4 mortes de *B. cajani* en fonction du mode de contamination et de souche de champignon choisie

La virulence des champignons qui s’est manifestée à travers la cuticule de l’insecte et la muscardine caractérisée par le feutrage mycélien blanc a été observée sur une partie des larves mortes (Figure 1). Sur l’ensemble des 30 jours d’observation, trois souches ont été évaluées et ont montré un degré significatif de mortalité avec plus de 50% de larves mortes : *Cladosporium sp* (LC-1038), et avec *Fusarium sp* (LF-1076 et LF-1078). Le taux de mortalité observé en fonction du temps pour 20%, 50% et 80% d’individus ont été obtenus (Tableau 2). Les coefficients de détermination (R^2) pour ces dernières ont été tous proches de 1, ce qui montre un meilleur modèle d’analyse de corrélation.

Tableau 2 : Taux de mortalité observé en fonction du temps sur les trois souches virulentes. **TM** : Taux de mortalité (%), **CL** : Concentration du champignon (conidie.ml⁻¹), **TL** : Temps létal (jour)

Isolats	TM (20%)		TM (50%)		TM (80%)		TM
	CL20	TL20	CL50	TL50	CL80	TL80	
IC-1038	6,43.10 ⁷	9	6,43.10 ⁷	18	6,43.10 ⁷	28	93,33%
CF-1076	9,87.10 ⁷	8	9,87.10 ⁷	21	9,87.10 ⁷	29	83,33%
IF-1078	9,87.10 ⁷	6	9,87.10 ⁷	16	9,87.10 ⁷	26	91,11%

Les valeurs des concentrations létal (CL20, CL50) et des temps létal (TL20, TL50, TL80) de ces trois isolats ont montré une corrélation positive et une significativité élevée sur les variables étudiées (Figure 2). En moyenne, il a fallu 15 à 20 jours d'incubation pour que le germe atteigne plus de 50% de mortalité sur les larves.

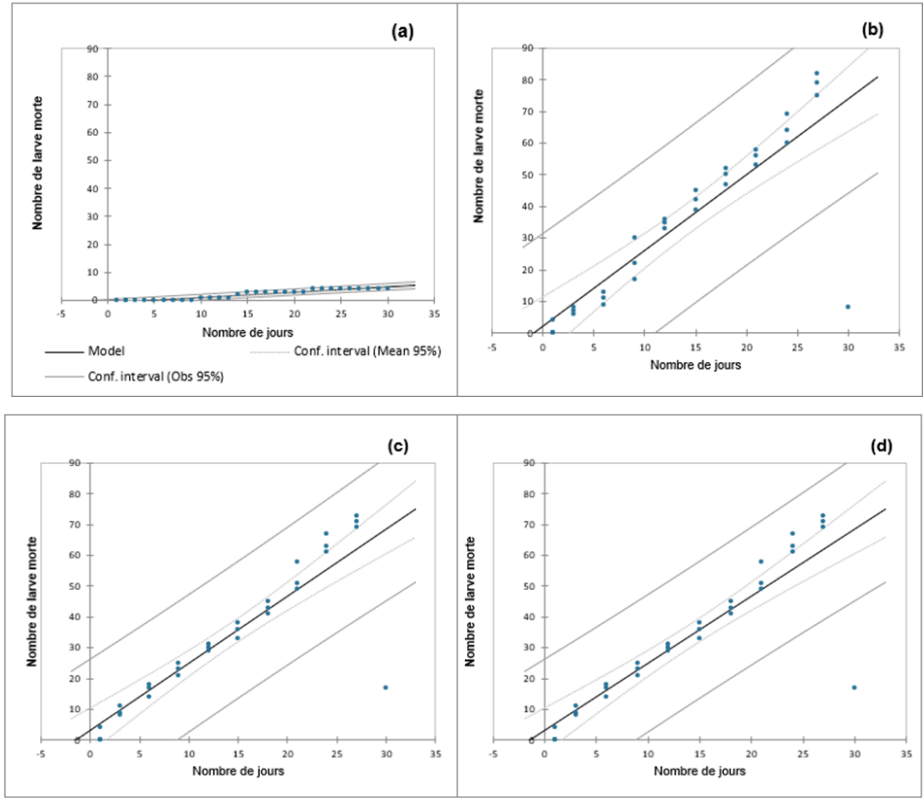


Figure 2 : Cinétique de mortalité des 90 larves de *B. cajani* en fonction des différentes espèces de champignon entomopathogène et du temps d'exposition.

(a): témoin ; (b) : *Cladosporium sp* LC-1038 ; (c) : *Fusarium sp* LF-1076 ;
(d) : *Fusarium sp* LF-1078

L'effet cumulé sur la contamination des larves L4 et les stades post larvaires de *B. cajani* a été très néfaste. Presque toutes les souches de champignons ont infligé une mortalité > 80% pour la totalité des différents stades de développement de *B. cajani*.

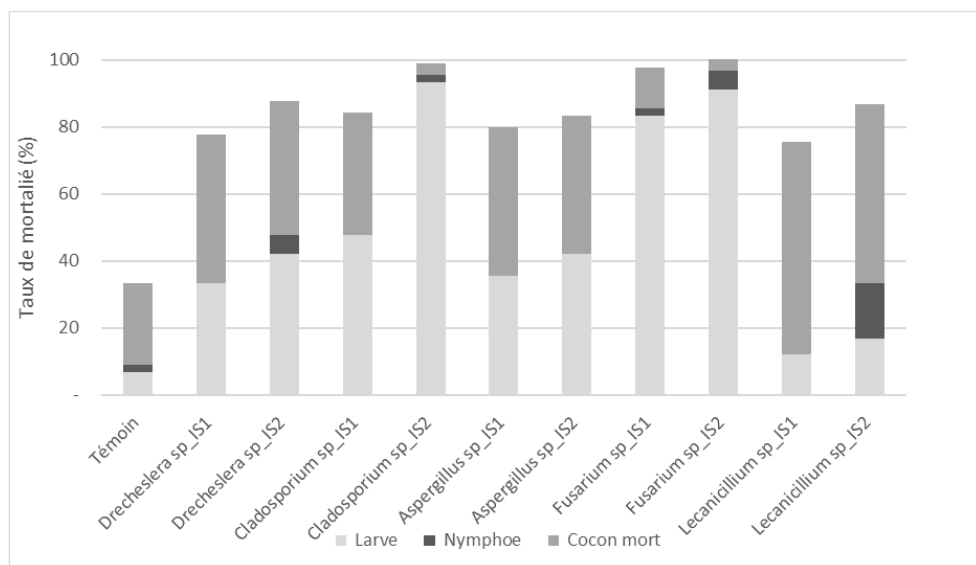


Figure 3 : Taux de mortalité pendant et post exposition en fonction des différentes souches de champignons entomopathogènes sur les larves L4 de *B. cajani*

Le mode d'action des isolats sur les larves de *B. cajani* s'est présenté sur différent aspect après la mort de l'individu de couleur blanchâtre pour le mycélium avec *Fusarium* et de couleur noirâtre avec *Cladosporium* (Figure). Avec ce dernier cas, des individus morts présentant cet aspect a été observé sur terrain à l'état naturel ($n < 5$) comparé aux autres attaques de champignons qui ont été rares à observer dans la nature.

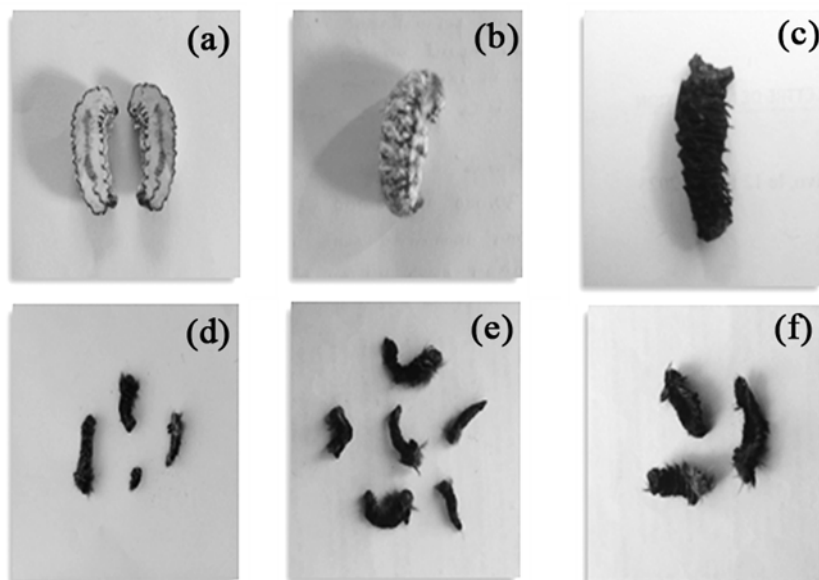


Figure 4 : Aspect des larves mortes de *B. cajani* après exposition aux différentes souches de champignons entomopathogènes.

(a-b) : *Fusarium sp* ; (c) : *Cladosporium sp* ; (d) : *Aspergillus sp* ;
(e) : *Drecheslera sp* et (f) : *Lecanicillium sp*

Effets des isolats sur la biologie reproductive de *B. cajani*

Le taux de survie de 68% des individus témoins montre que l'élevage s'est bien passé malgré la difficulté de mener en parallèle le test de toxicité à proximité dans un seul cadre de travail. L'effet post exposition des larves aux différentes souches de champignons entomopathogènes a eu ses effets. Cette étape consistait à connaître les effets des isolats sur la fécondité et le taux d'éclosion (F1). Au total, 202 adultes émergent à l'issue de ce test (témoin et bio-essai). Pour cette dernière étape de l'étude, l'observation a été réalisée sur 50 individus sélectionnés au hasard par souci de logistique et de temps d'observation (ex : anomalie de ponte, ou lors de l'éclosion). Ainsi, il s'agit de 20 femelles pour le témoin et 30 femelles pour le test. Les résultats d'élevage ont démontré que le nombre d'œufs et le taux d'éclosion d'œufs par ponte enregistré ne diffèrent pas de façon significative entre les deux traitements testés (témoin et bio-essai) (Tableau 3). Une femelle a une durée de vie moyenne de 5 à 7 jours, et la première ponte a eu lieu le même jour de l'émergence après ou sans accouplement. La ponte se poursuit jusqu'au quatrième jour. D'après les observations dans la salle d'élevage, cette étape a généralement eu lieu vers 19h chez la femelle fécondée. Ce dernier pond 3/4 de ses œufs pendant la première nuit et le reste pendant les 3 nuits restantes. Les œufs issus de la même date n'éclosent pas le même jour. Parfois, certains prennent jusqu'à 4 jours de retard par rapport à

d'autres. En général, c'est la tête des chenilles qui sort en premier, mais des exceptions ont également été observées lorsque leur queue sort en premier.

Le taux de survie des individus témoins, établi à 68 %, confirme que les conditions d'élevage étaient globalement satisfaisantes, malgré les contraintes imposées par la réalisation parallèle des tests de toxicité dans un environnement de travail commun. L'évaluation de l'effet post exposition des larves aux différentes souches de champignons entomopathogènes a permis d'étudier leur influence sur la fécondité et le taux d'éclosion (génération F1). Au total, 202 adultes ont émergé à l'issue des tests combinant les groupes témoins et bio-essais. Pour cette étape, un échantillon de 50 femelles a été sélectionné au hasard pour observation, en raison des contraintes logistiques et du temps nécessaire pour suivre chaque individu. Parmi ces femelles, 20 provenaient du groupe témoin et 30 du groupe bio-essai. Les résultats obtenus montrent que ni le nombre d'œufs pondus ni le taux d'éclosion des œufs par ponte ne diffèrent de manière significative entre les deux groupes étudiés (Tableau 3).

Les femelles ont une durée de vie moyenne de 5 à 7 jours. La première ponte a lieu le jour même de l'émergence, qu'il y ait eu accouplement ou non, et se poursuit jusqu'au quatrième jour. Les observations réalisées en salle d'élevage indiquent que les pontes se produisent généralement autour de 19 h chez les femelles fécondées. Environ 75 % des œufs sont pondus au cours de la première nuit, le reste étant réparti sur les trois nuits suivantes.

Les œufs issus de la même ponte n'éclosent pas tous simultanément : certains accusent un retard pouvant aller jusqu'à 4 jours par rapport aux autres. En général, la tête des chenilles émerge en premier, bien que des cas d'émergence par la queue aient également été observés.

Ces résultats montrent que l'exposition aux isolats n'a pas affecté significativement la reproduction des femelles ni le développement embryonnaire des œufs, apportant ainsi des informations essentielles sur l'impact potentiel de ces agents biologiques sur la biologie de *B. cajani*.

Tableau 3 : Nombre d'œufs et le taux d'éclosion par ponte de *B. cajani*.

ET : Ecart-Type ; Max : Maximum. Min : Minimum ; Moy : Moyenne ;
Drechslera sp (n=13), *Aspergillus sp* (n=8) et *Lecanicillium sp* (n=9)

Traitements	Nombre d'œufs				Taux d'éclosion d'œufs (%)			
	Min	± ET	Moy	Max	Min	± ET	Moy	Max
Témoin (20 femelles)	84	± 56,8	182,9	265	32,8	± 16,9	77,7	94,7
Bio-essai (30 femelles)	78	± 51,5	181,3	259	30,2	± 15,6	76,5	90,5

DISCUSSION

Pathogénicité des champignons entomopathogènes et dynamique de population de landibe

Cette étude s'est penchée sur la pathogénicité des champignons entomopathogènes et leur influence sur la population du ver à soie *Borocera cajani*. Les résultats montrent que trois genres fongiques - *Cladosporium*, *Drechslera* et *Fusarium* - provoquent une mortalité larvaire supérieure à 75 % à partir du stade L4, que ce soit par ingestion ou contact. Ces souches isolées de cadavres de *B. cajani*, ont démontré une forte virulence. Bien que la concentration conidienne utilisée (10^7 conidies.ml⁻¹) soit comparable à d'autres études sur *Metarhizium* et *Beauveria* (Canassa et al., 2019) (Kuzhuppillymyal-Prabhakaran Kutty et al., 2021), *B. cajani* se présente particulièrement vulnérable à cette dose. Une concentration inférieure à celle-ci mérite d'être évaluée pour affirmer ce résultat. Dans la nature, une partie de la biologie de l'espèce l'expose à ces germes. Les larves en fin de stade L5 quittent leurs plantes hôtes pour se nymphoser dans la litière ou sous les graminées en hiver, ce qui les expose directement aux germes telluriques. Selon le résultat, ces champignons agissent à deux niveaux : (1) en diminuant le taux de survie et l'émergence des adultes après contamination et (2) en affectant le potentiel reproductif de *B. cajani* (réduction du taux d'éclosion) (Tableau 3 et Figure 3). Ce double impact souligne leur rôle potentiel comme régulateur biologique naturel du ver à soie. Malgré cette découverte, certaines limites méthodologiques subsistent. Les caractères morphologiques utilisés pour identifier les souches fongiques manquent de précision, et l'absence d'approches moléculaires pour définir les espèces freine la caractérisation fine des agents pathogènes. Il est possible que des espèces distinctes coexistent au sein des genres étudiés, complexifiant l'interprétation d'une partie de ces résultats. Cependant, en termes de spécificité des hôtes, ces champignons identifiés à partir des cadavres de *B. cajani*, se révèlent être

des ennemis naturels redoutables pour cet insecte. Ils affectent directement sa reproduction et représentent un facteur de déclin pour ses populations dans la forêt de Tapia. Toutefois, il est impératif de poursuivre les recherches dans ce sens pour évaluer leur spécificité d'hôte et leur mode d'action à l'aide d'isolats mieux caractérisés.

Gestion durable du feu

Le bois de Tapia, *Uapaca bojeri*, est une plante associée à une grande diversité de champignons mycorrhiziens. La compréhension de cette symbiose a joué un rôle clé dans la réussite des projets de reboisement du SAHALA. Aujourd'hui, la reforestation de cette espèce est une priorité pour le gouvernement, car elle constitue l'un des rares écosystèmes endémiques résistants au feu à Madagascar. Une amélioration rationnelle de la gestion des feux a été observée dans la forêt de Tapia de la commune d'Ambatofinandrahana, grâce au projet SAHALA (2020-2022). Par ailleurs, Les observations sur terrain montrent un épaississement de la litière, qui est l'habitat privilégié de ces champignons et de nombreux microorganismes. Selon Razafindrakoto et *al.* (2010), une augmentation significative de la densité des champignons du sol est constatée dans les parcelles couvertes de végétation, contrairement aux parcelles labourées ou nettoyées des résidus de culture. Ce phénomène peut être similaire et observable dans les forêts de Tapia non brûlées > 4ans, où la litière et l'humidité sont plus abondantes. Bien que le sol soit le principal réservoir naturel des champignons entomopathogènes, plusieurs contraintes limitent leur activité régulatrice. Des facteurs tels que la température, l'humidité, et la composition minérale, organique et microbiologique influencent leur persistance, leur activité biologique et leur comportement épizootique, en particulier en ce qui concerne la prolifération de la muscardine (*Fusarium sp.*). A titre d'information, le rayonnement solaire est une composante naturelle limitant leur propagation et qui s'avère défavorable à la survie des propagules fongiques (Riba et *al.*, 1991) ; le pH du sol est aussi facilement modulable suite à l'invasion des espèces de plantes comme le *Pinus khesya* qui commence à envahir certaines forêts de Tapia.

Les résultats simulent une forte activité toxique des champignons entomopathogènes dans cette forêt de Tapia. Il est probable que ces champignons contribuent alors significativement à la diminution de la densité sauvage du ver à soie, en complément des facteurs anthropiques. Les travaux de Razafinjatovo (2023), ont d'ailleurs révélé qu'un essai de pulvérisation de fongicide à petite échelle a entraîné une augmentation significative de la densité de *landibe* dans les zones traitées, comparativement aux zones témoins. En effet, dans certaines localités d'Ambatofinandrahana, telles que Hazofotsy, Marovalahava et Ambatomenaloha, les forêts de Tapia brûlées moins de deux ans avant le projet de réintroduction des vers à

soie ont montré un succès de repeuplement significatif, contrairement aux sites non brûlés depuis plus de quatre ans. En raison de la fréquence des incendies dans les biomes de savane, ces perturbations façonnent significativement l'abondance des champignons dans le sol avant et après les incendies (Hansen et *al.*, 2019). Ici, le feu peut agir comme un agent tuant/contrôlant la propagation des champignons comme les fongicides. Il devient alors crucial d'évaluer dans quelle mesure les feux (non contrôlée ou naturel), par leurs bienfaits, pourraient contribuer à la prolifération des vers à soie, ou à l'inverse, entraver leur développement.

CONCLUSION

La sériciculture de la soie sauvage est peu développée à Madagascar en raison d'une production insuffisante de matière première qui ne couvre plus les besoins locaux depuis plus de 30 ans. La réussite des activités de réintroduction en *Borocera* nécessite une compréhension mutuelle des facteurs biotiques comme les champignons entomopathogènes et abiotiques comme le feu pour être durable. Ce document offre ainsi un support pour commencer une étude plus avancée des champignons entomopathogènes de la forêt de Tapia.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. econ. Entomol.*, 18(2), 265-267.
- 2) Araújo, J., & Hughes, D. P. (2016). Diversity of Entomopathogenic Fungi: Which Groups Conquered the Insect Body? In (Vol. 94). <https://doi.org/10.1016/bs.adgen.2016.01.001>
- 3) Canassa, F., Tall, S., Moral, R. A., Lara, I. A. R. d., Delalibera, I., & Meyling, N. V. (2019). Effects of bean seed treatment by the entomopathogenic fungi *Metarhizium robertsii* and *Beauveria bassiana* on plant growth, spider mite populations and behavior of predatory mites. *Biological Control*, 132, 199-208. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.02.003>
- 4) Dreny, L. R., Tsirinirindravo, H. L., Andrianirina, D. B., Ranaivomanana, H. V. C., Raharisoa, E., & Ravelomanana, A. (2023). *Diversité et toxicité des champignons entomopathogènes associés au ver à soie sauvage Borocera cajani* Vinson (1863) dans la forêt de Tapia de la région Amoron'i Mania Forum de la recherche One Health, Fianarantsoa, 29 et 30 juin 2023, Fianarantsoa.
- 5) Hansen, P. M., Semenova-Nelsen, T. A., Platt, W. J., & Sikes, B. A. (2019). Recurrent fires do not affect the abundance of soil fungi in a frequently burned pine savanna. *Fungal Ecol.*, 42. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2019.07.006>

- 6) Humber, R. A. (2012). Chapter VI - Identification of entomopathogenic fungi. In L. A. Lacey (Ed.), *Manual of Techniques in Invertebrate Pathology (Second Edition)* (pp. 151-187). Academic Press.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386899-2.00006-3>
- 7) Kumar, V., Singh, G. P., Babu, A. M., Ahsan, M. M., & Datta, R. K. (1999). Germination, penetration, and invasion of *Beauveria bassiana* on silkworm, *Bombyx mori*, causing white muscardine. *Italian Journal of Zoology*, 66(1), 39-43. <https://doi.org/10.1080/11250009909356235>
- 8) Kuzhuppillymyal-Prabhakarankutty, L., Ferrara-Rivero, F. H., Tamez-Guerra, P., Gomez-Flores, R., Rodríguez-Padilla, M. C., & Ek-Ramos, M. J. (2021). Effect of *Beauveria bassiana*-seed treatment on *Zea mays* L. response against Spodoptera frugiperda file:///C:/Users/NetRavel/Downloads/applsci-11-02887.pdf. *Applied sciences*, 11(7), 2887.
- 9) Rakotondrasoa, O., Malaisse, F., Rajoelison, G., Razafimanantsoa, T., Rabearisoa, M., Ramamonjisoa, B., Raminosoa, N., Verheggen, F., Poncelet, M., Haubruge, E., & Bogaert, J. (2012). Tapia forest, endemic ecosystem to Madagascar: Ecology, functions, causes of degradation and transformation: A review. *Biotechnology, Agronomy and Society and Environment*, 16, 541-552.
- 10) Ramanankierana, N., Ducouso, M., Rakotoarimanga, N., Prin, Y., Thioulouse, J., Randrianjohany, E., Ramaroson, L., Kisa, M., Galiana, A., & Duponnois, R. (2007). Arbuscular mycorrhizas and ectomycorrhizas of *Uapaca bojeri* L.(Euphorbiaceae): sporophore diversity, patterns of root colonization, and effects on seedling growth and soil microbial catabolic diversity. *Mycorrhiza*, 17(3), 195-208.
- 11) Razafindrakoto, C., Rakotoarisoa, H., Razafindrakotomamonjy, A., Ratnadass, A., & Vercambre, B. (2010). Lutte biologique intégrée contre des insectes terricoles, *Heteronychus* spp à Madagascar, par un champignon entomopathogène sur riz pluvial en semis direct sous couverture végétale.
- 12) Razafinjatovo, M. N. (2023). *Essai d'élevage et de lutte antifongique pour repeupler le ver à soie borocera cajani (lepidoptera : Lasiocampidae) dans la forêt de tapia d'ambatofinandrahana* University of Antananarivo]. Antananarivo.
- 13) Riba, G., Hamdaoui, F., Vercambre, B., & Bournoville, R. (1991). Écologie des champignons entomopathogènes dans le sol.
- 14) Seema, K., Priti, M., Shubhangi, S., & Vitthalrao, B. (2019). The influence of infection of *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill, a fungal species (Family: Clavicipitaceae) on quality of the cocoons of spinned by the larval instars of *Bombyx mori* (L) (Race: PMx CSR2). *Journal of bacteriology*, 7, 14-18.

MISSIONS DU CIDST

- ⇒ Valorisation et diffusion des résultats de recherches
- ⇒ Appui des acteurs du développement en information scientifique et technique pour une meilleure prise de décision

