

Activités antibactériennes *in vitro* des extraits d'écorces de racines de *Mezoneuron benthamianum* et de tiges de *Paullinia pinnata* : 2 plantes de la pharmacopée Ivoirienne

Ouattara L.H.¹, Kabran G.R.M.¹, Guessennd N.K.², Konan K.F.², Mamyrbekova-Bekro J.A.^{1*}, Bekro Y.-A.¹

¹Laboratoire de Chimie Bio-Organique et de Substances Naturelles (www.lablcbosn.com), UFR-SFA, Université Nangui Abrogoua, 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire.

²Laboratoire de Bactériologie-Virologie, Institut Pasteur, 01 BP 490 Abidjan 01, Côte d'Ivoire.

Date de réception : 28 octobre 2016 ; Date de révision : 23 Décembre 2016 ; Date d'acceptation : 11 janvier 2017

Résumé:

Les activités antibactériennes des extraits aqueux et méthanoliques des écorces de racines de *Mezoneuron benthamianum* et de tiges de *Paullinia pinnata* ont été évaluées par les méthodes de diffusion et de dilution sur la gélose de Mueller-Hinton (GMH) contre 12 souches multi-résistantes isolées de patients malades et 3 souches de référence. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) ont été déterminées. La zone d'inhibition des staphylocoques utilisés induite par les extraits de *Mezoneuron benthamianum* et de *Paullinia pinnata* à 100 mg/ml est plus importante que celle des antibiotiques de référence (Oxacilline et Céfoxitine). Les CMI des extraits varient entre 3,125 mg/ml et 12,5 mg/ml et CMB entre 0,049 mg/ml et 100 mg/ml. L'effet des extraits méthanoliques contre les staphylocoques ont montré des CMI et CMB faibles, mais plus élevées contre les entérobactéries. Les extraits aqueux de *Mezoneuron benthamianum* et de *Paullinia pinnata* n'ont pratiquement pas eu d'activité contre *P. aeruginosa* et les entérobactéries contrairement aux extraits méthanoliques qui ont exhibé une bonne activité contre *P. aeruginosa*, mais indifférents vis-à-vis des entérobactéries. Les extraits méthanoliques de *P. pinnata* et de *M. benthamianum* ainsi que les extraits aqueux de *P. pinnata* ont signé une activité bactéricide contre toutes les souches de *S. aureus*.

Mots clés: *Mezoneuron benthamianum*, *Paullinia pinnata*, activité antibactérienne CMI, CMB.

In vitro antibacterial activities of extracts of *Mezoneuron benthamianum* root barks and *Paullinia pinnata* stems: 2 plants from the Ivorian pharmacopoeia

Abstract:

The antibacterial activity of the aqueous and methanolic extracts of the root barks of *Mezoneuron benthamianum* and *Paullinia pinnata* stems has been evaluated by the methods of diffusion and dilution on Mueller-Hinton agar (GMH) against 12 isolated multi-resistant strains of patients and 3 reference bacterial strains. Minimal inhibitory concentrations (MICs) and minimal bactericidal concentrations (MBCs) have been determined. The zone of inhibition of staphylococcus induced by *Mezoneuron benthamianum* and *Paullinia pinnata* extracts at 100 mg/ml is higher than that of the reference antibiotics (Oxacillin and Cefoxitin). The MICs of the extracts vary between 3.125 mg/ml and 12.5 mg /ml and the MBCs between 0.049 mg/ml and 100 mg /ml. The methanolic extracts effect against staphylococcus has been showed MICs and MBCs low, but higher against enterobacteriaceae. *Mezoneuron benthamianum* and *Paullinia pinnata* aqueous extracts have been showed virtually no activity against *P. aeruginosa* and enterobacteriaceae, in contrast to methanolic extracts which exhibited good activity against *P. aeruginosa* but were indifferent to enterobacteriaceae. Methanolic extracts of *P. pinnata* and *M. benthamianum* as well as aqueous extracts of *P. pinnata* have been signed bactericidal activity against all strains of *S. aureus*.

Key words: *Mezoneuron benthamianum*, *Paullinia pinnata*, antibacterial activity, MIC, MBC.

Introduction

De nombreuses maladies contractées par les hommes sont liées à des infections bactériennes. Pour y remédier, l'on a recours aux antibiotiques prescrits par la médecine conventionnelle qui peine à contrer les infections bactériennes. Actuellement, l'essor de la résistance microbienne aux antibiotiques a conduit les chercheurs à mener des investigations aux fins de puiser dans le règne végétal des remèdes naturels efficaces pour faire face à diverses pathologies (Guessennd *et al.*, 2009). Toutefois pour les identifier, il est indispensable de mener des études régulières sur des matrices végétales à vertus médicinales. Entre autres plantes,

Mezoneuron benthamianum et *Paullinia pinnata* ont été choisies pour le présent travail.

Mezoneuron benthamianum Baill. ou *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi) (Herendeen & Zarucchi, 1990) est une Fabaceae distribuée de l'Afrique Occidentale jusqu'en Afrique Centrale (du Sénégal au Gabon). Quant à *Paullinia pinnata* L. (Sapindaceae), elle est répandue dans les régions forestières secondaires en voie de reforestation ainsi qu'aux bords des cours d'eau dans les savanes. On la trouve depuis le Sénégal jusqu'au Cameroun, à Madagascar et en Amérique tropicale (Adjanohoun & Aké-Assi, 1979).

(*) Correspondance : Mamyrbekova-Bekro J.A. ; e-mail : kojanova1926@hotmail.fr ; Tel : (00225) 07 96 12 11

M. benthamianum et *P. pinnata* sont deux plantes médicinales de la biodiversité floristique Ivoirienne. En effet, *M. benthamianum* (Aké-Assi, 2011; Dickson *et al.*, 2011; Osho, 2014) et *P. pinnata* (Aké-Assi, 2011; Ior *et al.*, 2011; Lunga *et al.*, 2014) sont largement employés en thérapie traditionnelle. La présence de métabolites secondaires dans les racines de *M. benthamianum* (Binutu & Cordell, 2000; Békro *et al.*, 2007; Dickson *et al.*, 2007; Zamblé *et al.*, 2008; Dickson *et al.*, 2012; Ouattara *et al.*, 2016) et dans les feuilles et tiges de *P. pinnata* (Abourashed, *et al.*, 1999; Miemanang *et al.*, 2006; Dongo *et al.*, 2009; Annan & Houghton, 2010; Ior *et al.*, 2011; N'Guessan *et al.*, 2011a) a été rapportée.

Les extraits de racines de *M. benthamianum* ont signé une action prometteuse contre des souches multi-résistantes de *Staphylococcus aureus* en comparaison avec des antibiotiques de référence (norfloxacine, tétracycline, érythromycine)

(Dickson *et al.*, 2006). L'extrait éthanolique des racines de l'espèce nigériane a montré une activité comparable à celle de nystatine, une drogue commercialisée contre les souches responsables de la candidose (Fayemi *et al.*, 2012). Les extraits des feuilles de *P. pinnata* manifestent des propriétés analgésiques importantes et anti-inflammatoires significative (Ior *et al.*, 2011). En sus, une importante activité inhibitrice du DPPH• de ses extraits de tiges a été signalée et ils ont également exhibé une activité anti proliférative manifeste contre les cellules cancéreuses du sein (N'guessan *et al.*, 2011b).

L'objectif principal de ce travail est la continuité de la recherche systématique sur *M. benthamianum* et *P. pinnata*, consacrée à l'étude des propriétés antibactériennes des extraits bruts aqueux et méthanoliques de leurs organes (racines et tiges).

2- Matériel et méthodes

2.1. Matrice végétale : Elle est constituée d'écorces de racines de *M. benthamianum* (Mb) et de tige de *P. pinnata* (Pp), a été sélectionné à partir d'enquêtes ethnobotaniques menées auprès de tradithérapeutes exerçant dans les contrées du Centre de la Côte d'Ivoire. Elle a été récoltée en juillet 2014 à Dabakala (Département de Dabakala, Région du Hambol). Après authentification à l'herbier du Centre National de Floristique (CNF) de l'Université Félix Houphouët-Boigny (Abidjan-Cocody), elle a été nettoyée, séchée à l'abri du soleil pendant 2 jours, ensuite maintenue sous climatisation (18°C) pendant 7 jours, puis conservée à l'étuve (45°C) durant 3 jours. Des poudres obtenues après broyage de la matrice végétale, ont servi à préparer les extraits à tester.

2.2. Souches bactériennes : 15 souches bactériennes dont 5 Staphylocoques (*S. aureus* 475 UB/15, *S. aureus* 412 YO/15, *S. aureus* 487 UB/15, *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* 564 UB/15), 5 *P. aeruginosa* (*P. aeruginosa* 385 LC/15, *P. aeruginosa* 255 C/12, *P. aeruginosa* 885 C/15, *P. aeruginosa* 956 C/13, *P. aeruginosa* ATCC 27853) et de 5 Entérobactéries (*Salmonella Typhimurium*, *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* 890 C/15, *E. Cloacae* 806 C/15, *Klebsiella pneumoniae* 566 YO/15) provenant de l'Unité des Antibiotiques, des Substances Naturelles et de la Surveillance des Microorganismes Anti-Infectueux (ASSURMI) du département de Bactériologie et Virologie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI) ont été utilisées pour les tests antibactériens.

2.3. Préparation des extraits de Mb et Pp :

- **Extraits aqueux :** Une décoction est préparée en 30 min à partir de 10 g de poudre de chaque organe dans 75 ml d'eau distillée. Un extrait sec obtenu après séchage du filtrat à l'étuve (50°C), est conservé dans un bocal fermé hermétiquement au réfrigérateur (4 °C) (Zirihi *et al.*, 2003).

- **Extraits méthanoliques :** 10 g de poudre de chaque drogue sont macérés dans 75ml de méthanol pendant 24 h sous agitation permanente. Après élimination du solvant, l'extrait sec obtenu, est conservé dans un bocal fermé hermétiquement au réfrigérateur (4 °C) (Zirihi *et al.*, 2003).

2.4. Test antibactérien de Mb et Pp :

- **Préparation de l'inoculum bactérien :** Les souches bactériennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de pétri contenant de la gélose nutritive. Après 18 h d'incubation à 37°C, des suspensions bactériennes ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine, homogénéisées dans 10 ml de bouillon Mueller-Hinton (BMH) et incubées pendant 3 h à 37°C pour avoir une pré-culture. 0,1 ml du bouillon de pré-culture opalescent a été prélevé et délayé avec 10 ml de BMH. La suspension bactérienne obtenue a permis d'avoir environ 10⁶ UFC/ml (condition standard) qui a constitué l'inoculum bactérien de dilution 10⁰ ou l'inoculum pur (Carroll & Weinstein, 2007).

- **Numération de l'inoculum bactérien :** L'inoculum bactérien a été homogénéisé puis dilué de 10 en 10 jusqu'à la dilution 10⁻⁴.

Ainsi, les dilutions successives 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4} ont été obtenues. L'inoculum pur et les 4 dilutions successives ont été ensuite ensemencés à l'aide d'une anse calibrée (2 µl) par des stries parallèles de 5 cm de long dans des boîtes gélosées de MH puis incubés pendant 24 h à 37°C. Cette préparation a constitué la boîte A qui sera utilisée à déterminer la concentration minimale bactéricide (CMB) (Konan, 2015).

- **Test de stérilité de Mb et Pp** : 0,1 g de l'extrait à tester dans 10 ml de bouillon thioglycolate est incubé à 37°C pendant 24 h. Le mélange a été ensuite ensemencé dans une boîte de pétri contenant la gélose ordinaire, puis incubé à 37°C pendant 24 h. La substance est déclarée stérile si aucune colonie n'est visible dans la boîte gélosée (Akers, 1985).
- **Test de sensibilité par diffusion en milieu solide** : 50 µl de l'extrait à tester ont été déposés dans un puits creusé dans une gélose ensemencée et inoculée par une souche bactérienne cible (Wiegand *et al.*, 2007). L'ensemble a été incubé pendant 24 h à 37°C, puis le diamètre des disques d'inhibition autour de chaque cupule a été mesuré à l'aide d'un pied à coulisse. La souche est résistante à la substance lorsque le diamètre mesuré est inférieur à 8 mm, sensible, lorsqu'il est compris entre 9 et 14 mm, très sensible, lorsqu'il est compris entre 15 et 19 mm et extrêmement sensible, lorsqu'il est supérieur à 20 mm (Ponce *et al.*, 2003).
- **Préparation des gammes de concentration** : Une solution initiale (100 mg/ml) de chaque extrait a été préparée. À partir de cette solution mère, une série de la double dilution selon une progression géométrique de raison $\frac{1}{2}$ a été effectuée afin d'obtenir 11 gammes de concentrations allant de 100 mg/ml à 0,049 mg/ml (Konan, 2015).

3. Résultats

3.1. Rendements des extractions de Mb et Pp : L'âge Nous avons utilisé deux techniques d'extraction pour l'échantillonnage des extraits végétaux à analyser. Les rendements des décoctions à l'eau sont 10,35% (Mb) et 8,5% (Pp) et ceux des macérations au méthanol sont 6,35% (Mb) et 6,62% (Pp).

3.2. Test de stérilité de extrais végétaux : Les tests de stérilité effectués ont montré que tous les

- **Inoculation** : Les essais antibactériens ont été réalisés selon la méthode de dilution en milieu liquide (Dosso & Fayé-Kété, 2000 ; Koné *et al.*, 2004). Ainsi dans la première colonne d'une microplaque de 8×12 puits, les extraits végétaux (50 µl) sont introduits dans les 7 premiers puits numérotés de la plus élevée à la plus faible concentration. Ensuite sont ajoutés 50 µl de l'inoculum bactérien de dilution 10^0 précédemment préparé dans chaque puits. Dans le 8^{ème} puits, 50 µl de BMH additionnés à 50 µl de l'inoculum bactérien de dilution 10^0 ont servi de témoin de croissance (Tc). De plus, 100 µl de BMH stérile mis dans un autre puits (Ts) ont servi de puits témoin de contrôle de stérilité.

- **Détermination de la CMI par dilution en milieu liquide** : Après incubation, la plus faible concentration pour laquelle aucun trouble n'est observé à l'œil nu, correspond à la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).

- **Détermination de la CMB** : A l'aide d'une anse calibrée (2 µl) le contenu des puits de la plus faible concentration a été prélevé et ensemencé sur une gélose MH par stries parallèles de 5 cm de long en commençant par le puits de la CMI. Cette boîte B a été incubée pendant 24 h à 37 °C puis le nombre de colonies sur les stries de cette boîte a été comparé à celui de la boîte A. Ainsi, le premier puits dont le nombre de germes présents sur sa strie est inférieur ou égal à celui de la dilution 10^{-4} correspondra à la CMB (concentration minimale bactéricide la plus faible de substance qui laisse au plus 0,01 % de germes survivants).

2.5. Analyse statistique : L'exploitation statistique des données a été faite avec le logiciel Excel 2007.

extraits végétaux ne présentent aucun signe de contamination au regard de l'absence de colonies dans les différentes boîtes gélosées après 24 h.

3.3. Activité antibactérienne en milieu solide : Les résultats de la sensibilité des bactéries vis-à-vis des extraits à l'eau et au méthanol de *M. benthamianum*, de *P. pinnata* et des antibiotiques présentés dans la figure 1 et résumés dans les Tableaux I-IV.

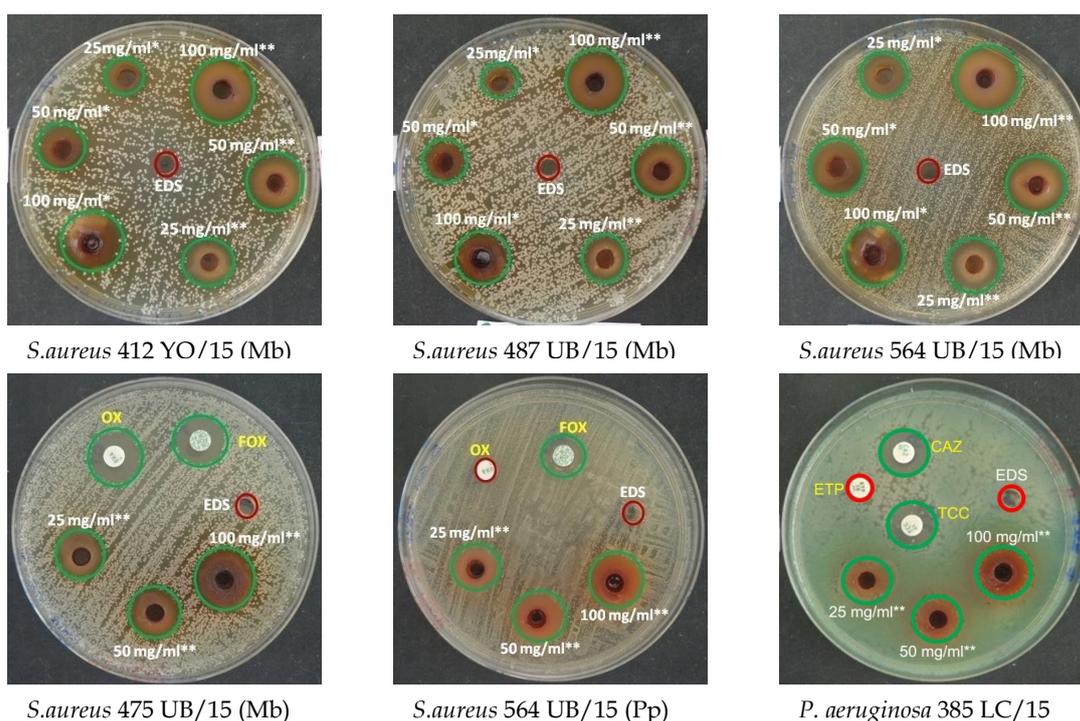


Figure 1 : Test de sensibilité des extraits d'étude aux antibiotiques

* : Extrait aqueux ; ** : Extrait méthanolique ;  : Sensible ;  : Résistant

Tableau I : Diamètres (mm) des zones d'inhibition de *S. aureus* par les extraits végétaux.

Extrait	Souche	Concentration (mg/ml)		
		C ₁ = 100	C ₂ =50	C ₃ =25
Mb (H ₂ O)	<i>S. aureus</i> 475 UB/15	15,3±1,1	14,0±1,7	12,7±2,3
	<i>S. aureus</i> 412 Yo/15	16,0±1,0	14,3±1,1	12,3±0,6
	<i>S. aureus</i> 487 UB/15	15,3±1,1	13,0±1,0	11,0±1,0
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	14,3±1,1	13,0±1,0	11,7±0,6
	<i>S. aureus</i> 564 UB/15	17,3±1,1	14,7±0,6	12,3±0,6
Mb (MeOH)	<i>S. aureus</i> 475 UB/15	19,3±0,6	16,7±1,5	13,7±0,6
	<i>S. aureus</i> 412 Yo/15	19,0±1,7	17,0±2,0	15,0±1,0
	<i>S. aureus</i> 487 UB/15	18,3±1,5	16,3±0,6	14,0±1,0
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	18,7±2,3	15,7±1,5	14,3±2,1
	<i>S. aureus</i> 564 UB/15	18,3±2,1	16,7±1,5	13,7±0,6
Pp (H ₂ O)	<i>S. aureus</i> 475 UB/15	16,0±1,0	14,0±0,0	11,7±1,1
	<i>S. aureus</i> 412 Yo/15	15,0±0,0	14,0±0,0	12,0±0,0
	<i>S. aureus</i> 487 UB/15	14,7±0,6	12,0±0,0	10,7±0,6
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	14,7±0,6	12,0±0,0	11,0±0,0
	<i>S. aureus</i> 564 UB/15	17,3±2,9	14,7±1,1	11,3±1,1
Pp (MeOH)	<i>S. aureus</i> 475 UB/15	18,7±1,5	16,7±0,6	15,3±0,6
	<i>S. aureus</i> 412 Yo/15	20,0±2,6	16,7±1,5	13,0±1,0
	<i>S. aureus</i> 487 UB/15	18,7±0,6	16,7±0,6	14,0±0,0
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	17,3±0,6	16,0±0,0	14,3±0,6
	<i>S. aureus</i> 564 UB/15	19,7±2,3	18,3±2,1	14,7±1,5

Mb H₂O, Mb MeOH: extraits aqueux et méthanolique de *M. benthamianum* ; Pp MeOH, Pp H₂O: extraits aqueux et méthanolique de *P. pinnata* ; EDS : eau distillée stérilisée ; ATCC : American Type Culture Collection.

Tableau II : Diamètres (mm) des zones d’inhibition de *P. aeruginosa* par les extraits végétaux.

Extrait	Souche	Concentration (mg/ml)		
		C ₁ = 100	C ₂ =50	C ₃ =25
Mb (H ₂ O)	<i>P. aeruginosa</i> 385 LC/15	6±0,0	6±0,0	6±0,0
	<i>P. aeruginosa</i> 255 C/12	6±0,0	6±0,0	6±0,0
	<i>P. aeruginosa</i> 885 C/15	14,5±2,6	12,5±0,5	11±0,0
	<i>P. aeruginosa</i> 956 C/13	6±0,0	6±0,0	6±0,0
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	6±0,0	6±0,0	6±0,0
Mb (MeOH)	<i>P. aeruginosa</i> 385 LC/15	15,0±1,1	12,5±1,0	9,5±0,5
	<i>P. aeruginosa</i> 255 C/12	14,0±0,6	12,0±0,0	10,5±0,5
	<i>P. aeruginosa</i> 885 C/15	17,5±1,5	15,5±0,5	12,5±0,5
	<i>P. aeruginosa</i> 956 C/13	15,0±2,5	13,5±2,6	12,5±0,5
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	16,0±1,0	14,5±0,5	13,5±0,5
Pp (H ₂ O)	<i>P. aeruginosa</i> 385 LC/15	13,0±1,7	11,0±2,0	10,0±1,0
	<i>P. aeruginosa</i> 255 C/12	6±0,0	6±0,0	6±0,0
	<i>P. aeruginosa</i> 885 C/15	15,0±1,7	14,0±1,7	13,0±0,0
	<i>P. aeruginosa</i> 956 C/13	13,0±1,1	12,0±1,1	11,0±0,0
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	6±0,0	6±0,0	6±0,0
Pp (MeOH)	<i>P. aeruginosa</i> 385 LC/15	14,7±1,5	13,7±1,5	12,7±1,5
	<i>P. aeruginosa</i> 255 C/12	14,5±1,0	12,0±1,1	10,0±0,0
	<i>P. aeruginosa</i> 885 C/15	17,7±0,6	15,7±0,6	12,7±2,3
	<i>P. aeruginosa</i> 956 C/13	14,3±0,6	13,0±0,0	12,0±0,0
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	17,3±1,5	14,3±1,1	11,7±2,3

Mb H₂O, Mb MeOH: extraits aqueux et méthanolique de *M. benthamianum* ; MeOH, Pp H₂O: extraits aqueux et méthanolique de *P. pinnata* ; ATCC : American Type Culture Collection.

Tableau III : Plantes Diamètres (mm) des zones d’inhibition des entérobactéries par les extraits végétaux.

Extrait	Souche	Concentration (mg/ml)		
		C ₁ = 100	C ₂ =50	C ₃ =25
Mb (H ₂ O)	<i>SalmonellaTyphimirium</i>	6±0,0	6,0±0,0	6±0,0
	<i>E. coli</i> ATCC 29522	6±0,0	6±0,0	6±0,0
	<i>E. coli</i> 890 C/15	6±0,0	6±0,0	6±0,0
	<i>E. cloacae</i> 806 C/15	6±0,0	6±0,0	6±0,0
	<i>K. pneumoniae</i> 566 YO/15	6±0,0	6±0,0	6±0,0
Mb (MeOH)	<i>SalmonellaTyphimirium</i>	9,5±0,8	8,0±0,0	6±0,0
	<i>E. coli</i> ATCC 29522	8,5±0,5	7,0±0,0	6±0,0
	<i>E. coli</i> 890 C/15	8,5±0,5	6±0,0	6±0,0
	<i>E. cloacae</i> 806 C/15	12,0±0,0	10,7±0,6	8,3±0,6
	<i>K. pneumoniae</i> 566 YO/15	10,0±0,0	8,7±0,6	6±0,0
Pp (H ₂ O)	<i>SalmonellaTyphimirium</i>	6±0,0	6±0,0	6±0,0
	<i>E. coli</i> ATCC 29522	6±0,0	6±0,0	6±0,0
	<i>E. coli</i> 890 C/15	6±0,0	6±0,0	6±0,0
	<i>E. cloacae</i> 806 C/15	6±0,0	6±0,0	6±0,0
	<i>K. pneumoniae</i> 566 YO/15	6±0,0	6±0,0	6±0,0
Pp (MeOH)	<i>SalmonellaTyphimirium</i>	13,7±0,6	11,7±0,6	9,7±0,6
	<i>E. coli</i> ATCC 29522	10,7±0,6	9,3±1,1	6±0,0
	<i>E. coli</i> 890 C/15	11,0±1,0	9,7±1,5	6±0,0
	<i>E. cloacae</i> 806 C/15	12,7±0,6	10,3±0,6	6±0,0
	<i>K. pneumoniae</i> 566 YO/15	10,5±0,6	8,5±0,5	6±0,0

Mb H₂O, Mb MeOH: extraits aqueux et méthanolique de *M. benthamianum*; Pp MeOH, Pp H₂O: extraits aqueux et méthanolique de *P. pinnata*; ATCC: American Type Culture Collection.

Tableau IV : Diamètres (mm) d'inhibition de *S. aureus* et des entérobactéries par les antibiotiques.

Souches	EDS	OX (5µg)	FOX (30µg)
<i>S. aureus</i> 475 UB/15	6±0,0	14,7±1,0	15,0±0,0
<i>S. aureus</i> 412 Yo/15	6±0,0	11,2±1,0	13,2±0,5
<i>S. aureus</i> 487 UB/15	6±0,0	10,7±1,0	15,0±0,8
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	6±0,0	10,7±1,0	12,7±1,0
<i>S. aureus</i> 564 UB/15	6±0,0	6±0,0	10,2±0,5

Souches	EDS	ETP (10µg)	CAZ (30µg)	TCC (75/10µg)
<i>P. aeruginosa</i> 385 LC/15	6±0,0	6±0,0	14,0±1,0	15,0±0,0
<i>P. aeruginosa</i> 255 C/12	6±0,0	6±0,0	11,0±0,0	12,0±0,0
<i>P. aeruginosa</i> 885 C/15	6±0,0	6±0,0	11,0±0,0	14,7±0,6
<i>P. aeruginosa</i> 956 C/13	6±0,0	6±0,0	13,7±0,6	14,7±1,1
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	6±0,0	6±0,0	12,3±0,6	15,3±0,6

Souches	EDS	CTX (30µg)	ATM (30µg)	CCAZ (30/10µg)
<i>Salmonella</i> Typhimurium	6±0,0	29,7±0,6	27,0±1,0	15,0±0,0
<i>E. coli</i> ATCC 29522	6±0,0	31,7±1,5	29,7±0,6	16,7±0,6
<i>E. coli</i> 890 C/15	6±0,0	34,0±0,0	33,3±0,6	19,7±0,6
<i>E. cloacae</i> 806 C/15	6±0,0	10,0±0,0	17,3±0,6	6±0,0
<i>K. pneumoniae</i> 566 YO/15	6±0,0	15,0±0,0	20,0±0,0	6±0,0

EDS : eau distillée stérilisée; OX : Oxacilline; FOX : Cefoxitine; ETP : Ertapénène ; CAZ : Ceftozidime; TCC : Ticarcilline + acide clavulanique; CTX : Céfotaxime; ATM: Aztreonome; CCAZ : ceftazidime + acide clavulanique

3.4. Activité antibactérienne en milieu liquide : CMB/CMI sont mentionnés dans les tableaux V- Les CMI et CMB obtenues et les rapports VII.

Tableau V : Paramètres antibactériens des extraits végétaux contre *S. aureus*.

Extrait	Souche	CMI (mg/ml)	CMB (mg/ml)	CMB/CMI	Effet
Mb (H ₂ O)	<i>S. aureus</i> 475 UB/15	6,25	25	4	Bactériostatique
	<i>S. aureus</i> 412 YO/15	3,125	6,25	2	Bactéricide
	<i>S. aureus</i> 487 UB/15	6,25	25	4	Bactériostatique
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	6,25	25	4	Bactériostatique
	<i>S. aureus</i> 564 UB/15	3,125	6,25	2	Bactéricide
Mb (MeOH)	<i>S. aureus</i> 475 UB/15	12,5	0,098	< 2	Bactéricide
	<i>S. aureus</i> 412 YO/15	6,25	0,049	< 2	Bactéricide
	<i>S. aureus</i> 487 UB/15	12,5	25	2	Bactéricide
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	3,125	0,098	< 2	Bactéricide
	<i>S. aureus</i> 564 UB/15	3,125	0,195	< 2	Bactéricide
Pp (H ₂ O)	<i>S. aureus</i> 475 UB/15	6,25	6,25	1	Bactéricide
	<i>S. aureus</i> 412 YO/15	3,125	3,125	1	Bactéricide
	<i>S. aureus</i> 487 UB/15	6,25	6,25	1	Bactéricide
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	3,125	6,25	2	Bactéricide
	<i>S. aureus</i> 564 UB/15	3,125	6,25	2	Bactéricide
Pp (MeOH)	<i>S. aureus</i> 475 UB/15	6,25	0,098	< 2	Bactéricide
	<i>S. aureus</i> 412 YO/15	3,125	0,049	< 2	Bactéricide
	<i>S. aureus</i> 487 UB/15	3,125	0,098	< 2	Bactéricide
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	6,25	0,098	< 2	Bactéricide
	<i>S. aureus</i> 564 UB/15	3,125	0,098	< 2	Bactéricide

Tableau VI : Paramètres antibactériens des extraits végétaux contre *P. aeruginosa*.

Extrait	Souche	CMI (mg/ml)	CMB (mg/ml)	CMB/CMI	Effet
Mb (H ₂ O)	<i>P. aeruginosa</i> 885 C/15	25	100	4	Bactériostatique
Mb (MeOH)	<i>P. aeruginosa</i> 385 LC/15	12,5	50	4	Bactériostatique
	<i>P. aeruginosa</i> 255 C/12	12,5	100	8	Bactériostatique
	<i>P. aeruginosa</i> 885 C/15	12,5	25	2	Bactéricide
	<i>P. aeruginosa</i> 956 C/13	12,5	100	8	Bactériostatique
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	6,25	100	16	Bactériostatique
Pp (H ₂ O)	<i>P. aeruginosa</i> 385 LC/15	6,25	100	16	Bactériostatique
	<i>P. aeruginosa</i> 885 C/15	6,25	100	16	Bactériostatique
	<i>P. aeruginosa</i> 956 C/13	6,25	100	16	Bactériostatique
Pp (MeOH)	<i>P. aeruginosa</i> 385 LC/15	12,5	25	2	Bactéricide
	<i>P. aeruginosa</i> 255 C/12	12,5	25	2	Bactéricide
	<i>P. aeruginosa</i> 885 C/15	12,5	25	2	Bactéricide
	<i>P. aeruginosa</i> 956 C/13	6,25	50	4	Bactériostatique
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	6,25	50	4	Bactériostatique

Tableau VII : Paramètres antibactériens des extraits végétaux contre les entérobactéries

Extrait	Souche	CMI (mg/ml)	CMB (mg/ml)
Mb MeOH	<i>E. cloacae</i> 806 C/15	3,125	50
	<i>K. pneumoniae</i> 566 YO/15	3,125	50
Pp MeOH	<i>Salmonella</i> Typhimurium	6,25	50
	<i>E. coli</i> ATCC 29522	6,25	50
	<i>E. coli</i> 890 C/15	6,25	100
	<i>E. cloacae</i> 806 C/15	6,25	50
	<i>K. pneumoniae</i> 566 YO/15	6,25	100

L'analyse des rapports CMB/CMI > 2 met en évidence respectivement en évidence l'effet

bactériostatique des extraits testés contre les entérobactéries.

4. Discussion

4.1. Rendements des extractions de Mb et Pp :

Les extraits ont été obtenus avec des rendements compris entre 6,35% et 10,35%. Au regard des résultats, nous notons que les rendements des décoctions à l'eau (10,35% et 8,5% respectivement de Mb et de Pp) sont nettement supérieurs aux rendements des macérations au méthanol (6,35% et 6,62% respectivement de Mb et de Pp). Ce qui laisse penser à une meilleure extractibilité de certains phytoconstituants par l'eau que par le méthanol.

4.2. Activité antibactérienne en milieu solide :

Les diamètres des zones d'inhibition des bactéries testées par les extraits aqueux et méthanoliques d'écorces de racines de *M. benthamianum* et de tiges de *P. pinnata* sont compris entre 11,0±1,0 et 20,0±2,6 mm (Tableau I); et sont supérieurs au diamètre limite de la zone d'inhibition (10 mm) en dessous duquel un extrait est considéré inactif selon Biyiti *et al.*, (2004). De ce point de vue, tous les extraits que nous avons testés montrent une efficacité vis-à-vis des staphylocoques utilisés. Par ailleurs, nous

constatons que les extraits méthanoliques sont en général plus actifs que les extraits aqueux. Ce qui semble raisonnable de penser que les extraits aqueux contiendraient des phytoconstitués qui inhiberaient ses effets antibiotiques.

Comparativement à la céfoxitine qui a manifesté l'activité la plus élevée au nombre des antibiotiques testés (Tableau VI), les extraits végétaux ont présenté des diamètres d'inhibition nettement supérieurs. En revanche, l'oxacilline n'a signé aucune activité contre *S. aureus* 564 UB/15.

L'activité des extraits végétaux contre *P. aeruginosa* (Tableau II) varie en fonction des souches. En effet, les extraits méthanoliques de Mb et de Pp sont efficaces contre toutes les souches de *P. aeruginosa*. Cependant, l'extrait aqueux de Mb n'est actif que contre *P. aeruginosa* 885 C/15. Quant à l'extrait aqueux de Pp, il est efficace contre *P. aeruginosa* 385 LC/15, *P. aeruginosa* 885 C/15 et *P. aeruginosa* 956 C/13. Par ailleurs, tous les extraits étudiés (diamètres des zones d'inhibition compris entre 6,0±0,0 et

17,7±0,6 mm), sont moins actifs contre *P. aeruginosa* comparativement aux staphylocoques. Les extraits méthanoliques de Mb et Pp présentent une efficacité sélective contre certaines souches de *P. aeruginosa*, cependant ils sont plus efficaces que l'antibiotique le plus efficace testé (ticarcilline + acide clavulanique (Tableau IV). Nous notons tout de même que cet antibiotique et la ceftozidime (CAZ) sont actifs contre toutes les souches de *P. aeruginosa*; ce qui n'est pas le cas pour l'ertapénème qui n'a aucune activité contre ces souches.

Le tableau III fait remarquer des diamètres des zones d'inhibition des entérobactéries sont nettement inférieurs à ceux des staphylocoques et de *P. aeruginosa*. Par ailleurs, les extraits aqueux des deux plantes sont inactifs contre les entérobactéries tandis que les extraits méthanoliques de Pp sont actifs contre toutes les entérobactéries; et ceux de Mb le sont contre *E. cloacae* 806 C/15 et *K. pneumoniae* 566 YO/15. Les extraits ayant une activité contre les entérobactéries sont moins efficaces que cefotaxime, aztreoname et ceftazidime + acide clavulanique) (Tableau IV). Quant aux extraits méthanoliques, ils présentent des diamètres de zones actives significatives contre *E. cloacae* 806 C/15 et *K. pneumoniae* 566 YO/15 par rapport à ceftazidime + acide clavulanique.

Conclusion

Dans l'optique de comprendre l'usage de *Mezoneuron benthamianum* et de *Paullinia pinnata* en thérapie folklorique dans la prise en charge de certaines pathologies infectieuses, nous avons évalué l'activité antibactérienne de leurs extraits à l'eau et au méthanol.

Les tests en milieu liquide desdits extraits ont révélé que les extraits organiques ont exhibé un effet antibactérien plus accru que les extraits aqueux, au demeurant, les extraits issus de

4.3. Activité antibactérienne en milieu liquide :

Le rapport CMB/CMI indique la nature de l'activité antibactérienne. Ainsi, en nous référant aux travaux de Fauchere & Avril (2002), CMB/CMI ≤ 2, CMB/CMI > 2 indiquent respectivement une activité bactéricide absolue, bactéricide, et bactériostatique. De ce point de vue, l'extrait méthanolique de Mb est bactéricide vis-à-vis de tous les staphylocoques et de *P. aeruginosa* 885 C/15, quand l'extrait aqueux, il ne s'est que montré bactéricide sur *S. aureus* 412 YO/15 et *S. aureus* 564 UB/15. Ce qui concerne les entérobactéries, les extraits méthanoliques n'ont signé que des activités bactériostatiques contre *E. coli* 890 C/15 et *E. Cloacae* 806 C/15. Concernant *P. pinnata*, ses extraits aqueux et méthanolique ont exhibé une action bactéricide contre tous les staphylocoques. Aussi, son extrait méthanolique est-il bactéricide contre *P. aeruginosa* 385 LC/15, *P. aeruginosa* 255 C/12 et *P. aeruginosa* 885 C/15. En revanche, les extraits méthanoliques sont bactériostatiques vis-à-vis des entérobactéries.

Les résultats que nous avons obtenus sont dans l'ensemble comparables à ceux déjà publiés par (Dickson *et al.*, 2007; Fayemi *et al.*, 2012) sur les mêmes espèces végétales, toutefois récoltées au Ghana et au Nigéria.

Paullinia pinnata sont plus efficaces que ceux de *Mezoneuron benthamianum*. Ces différences marquées entre les effets antibiotiques des deux plantes, sont certainement dues à la nature phytochimique des substances qu'elles contiennent; ce qui ouvre par conséquent des pistes de réflexion pour faire de ces deux matrices végétales des réservoirs potentiels de matières premières pour la mise au point de médicaments.

Références

Abourashed E.A., Toyang N.J., Choinski J., Khan I.A., 1999. Two new flavone glycosides from *Paullinia pinnata*. Journal of Natural Products, 62, 1179-1181.

Adjanohoun E., Aké-Assi L., 1979. Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte d'Ivoire. Centre National de Floristique, Abidjan, Côte d'Ivoire, 358 p.

Aké-Assi L., 2011. Abrégé de médecine et de pharmacopée africaine. Quelques plantes employées traditionnellement dans les couvertures des soins de santé primaire. NEI/CEDA, 157 p.

Akers M.J., 1985. Parenteral Quality Control: Sterility, Pyrogen, Particulate and package Integrity Testing. Marcel Dekker Inc., New York, 253 p.

Annan K., Houghton P.J., 2010. Two novel lupane triterpenoids from *Paullinia pinnata* L: with fibroblast stimulatory activity. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 62, 663-668.

Békro Y-A., Mamyrbékova-Békro J.A., Boua B.B., Tra Bi F.H., Éhilé E.E., 2007. Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. Et

- Zarucchi (Caesalpinaceae). *Sciences & Nature*, **4** (2), 217-225.
- Binutu O.A., Cordell G.A., 2000.** Gallic Acid Derivatives from *Mezoneuron benthamianum* leaves. *Pharmaceutical Biology*, **38**(4), 284-286.
- Biyiti L.F., Meko'o D.J.L., Tamze V., Amvam Zollo P.H., 2004.** Recherche de l'Activité Antibactérienne de quatre plantes médicinales camerounaises. *Pharmacie Médicale Traditionnelle Africaine*, **13**, 11-20.
- Carroll K. C., Weinstein M.P., 2007.** Manual and automated systems for detection and identification of microorganisms, In Murray P. R., editor.(ed.), *Manual of clinical microbiology*, 9th ed., vol. 1, American Society for Microbiology Press, Washington, DC: p. 192-217.
- Dickson R. A., Koffi A., Komlaga G., 2011.** Pharmacognostic standardization of the Leaves and Root Bark of *Caesalpinia benthamiana*. *Pharmacognosy. Journal*, **3**(24), 29-36.
- Dickson R.A., Kofi A., Fleischer T.C., Houghton P. J., 2012.** Benthaminin 3, a Novel Antibacterial Cassane-Type Furanoditerpenoid from *Caesalpinia benthamiana*. *Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences*, **2**, 21-26.
- Dickson R.A., Houghton P.J. & Hylands P.J., 2007.** Diterpenoides de cassane antibactériennes et antioxydantes de *Caesalpinia benthamiana*. *Phytochimie*, **68**(10), 1436-1441.
- Dickson R.A., Houghton P.J, Hylands P.J., Gibbons S., 2006.** Antimicrobial, resistance-modifying effects, antioxidant and free radical scavenging activities of *Mezoneuron benthamianum* Baill. *Securinegaviosa* Roxb. & Willd and *Microglossa pyrifolia* Lam. *Phytotherapy Research*, **20**, 41-45.
- Dongo E., Hussain H., Miemanang R.S., Tazoo D., Schulz B., Krohn K., 2009.** Chemical constituents of *Klainedoxagabonenses* and *Paullinia pinnata*. *Records Natural Products*, **3**: 165-169.
- Dosso M., Faye-Kette H., 2000.** Contrôle de qualité de l'antibiogramme en pratique Courante: Expérience du laboratoire de bactériologie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. *Bactériolo int*, n°spécial: 53 p.
- Fauchere I.L., Avril J.L., 2002.** Bactériologie générale et médicale. *Editions Ellipses*. 122 p.
- Fayemi S.O., Osho A., Atolani O., 2012.** *In vitro* anticandidal and antioxidant potential of *Mezoneuron benthamianum*. *Journal of Acute Disease*, 120-125.
- Guessennd K.N., Gbonon V.C., Tiékoura K.B., Kakou-N'douba A., Ouattara D.N., Boni-Cissé C., Dosso M., 2009.** Le GER-BMR. Evolution de la résistance bactérienne à l'imipénème en Côte d'Ivoire de 2005 à 2009. Colloque scientifique de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire: pathologies émergentes et biologie intégrative, 17 p.
- Herendeen P.S., Zarucchi J.L., 1990.** Validation of *Caesalpinia* subgenus *Mezoneuron* (Desf.) vidal and new combinations in *Caesalpinia* for two species from Africa. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **77**, 854-855.
- Ior L., Uguru M., Olotu P., Ohenu T., Ukpe A., 2011.** Evaluation of analgesic and antiinflammatory activities and phytochemical screening of the leaves extract of *Paullinia pinnata* (Sapindaceae). *Journal of Chemical Pharmaceutical Research*, **3**(4), 351-360.
- Konan K.F., 2015.** Activité antibactérienne sur les enterobactéries productrices de bêta-lactamases a spectre élargi, et potentiel antioxydant *in vitro* de *Terminalia glaucescens* planch ex benth. (Combretaceae), une plante médicinale ouest-africaine. Thèse de doctorat, Université d'Abidjan (Côte d'Ivoire), 183 p.
- Koné W.M., Kamanzi A.K., Terreaux C., Hostettmann K., Traore D., Dosso M., 2004.** Traditional medicine in North Côte d'Ivoire: screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, **93**, 43-49.
- Lunga P.K., Qin Xu-Jie., Yang Xing W., Kuiate J.-R., Du Z.Z., Gatsing D., (2014).** Antimicrobial steroidal saponin and oleanane-type triterpenoid saponins from *Paullinia pinnata*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **14**, 369 p.
- Miemanang R.S., Krohn K., Hussain H., Dongo E.Z., 2006.** Paullinoside A: a new cerebroside and a new ceramide from leaves of *P. pinnata*. *Z. Naturforsch.*, **61b**, 1123-1127.
- N'Guessan A.H.O., Dago C.E.D., Mamyrbékova-Békro J.A., Békro Y-A., 2011a.** CCM d'extraits sélectifs de 10 plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'hypertension artérielle en Côte d'Ivoire. *European Journal of Scientific Research*, **66**(4), 575-585.
- N'Guessan A.H.O., Dago C.E.D., Mamyrbékova-Békro J.A., Békro Y-A. (2011b).** Teneurs en composés phénoliques de 10 plantes médicinales employées dans la tradithérapie de l'hypertension artérielle, une pathologie émergente en Côte d'Ivoire. *Revue de génie industriel*, **6**, 55-61.
- Osho A., 2014.** Ethnopharmacological properties of *Caesalpinia benthamiana*-A mini Review. *British Microbiology Research Journal*. **4**(2), 206-213.
- Ouattara L.H., Kabran M.G.R., Kadja A.B., Tano B. M., Mamyrbekova-Békro J. A., Békro Y-A., 2016.** Etude phytochimique activité, anti-

oxydante d'extraits de plantes de Côte d'Ivoire utilisés dans le traitement traditionnel des hémorroïdes. *International Journal of Innovation and Applied Studies*. **15**(4), 881-893.

Ponce A.G., Fritz R., Del Alle C., Roura S.I. (2003). Antimicrobial activity of essential oil on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologic*, **36**, 679-684.

Wiegand I., Hilpert K., Hancock R. E. W. (2007). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature protocols*, **3**, 163-175.

Zamblé A., Martin-Nizard F., Sahpaz S., Hennebelle T., Staels B., Bordet R., Duriez P., Brunet C., Bailleul F., 2008. Vasoactivité, antioxydantes et aphrodisiaques de racines *Caesalpinia benthiana*. *Journal Ethnopharmacology* **28**, **116**(1), 112 -119.

Zirih G., Kra A.K.M., Guédé-Guina F., 2003. Evaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* (Lamarck O. Kuntze Asteraceae) «PYMI» sur la croissance *in-vitro* de *Candida albicans*. *Medecin & Pharmacology African*, **17**, 11-18.