

Evaluation de l'activité antibactérienne des feuilles de *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae) sur la croissance *in-vitro* de souches d'entérobactéries productrices de beta-lactamases à spectre élargi (EBLSE) et tri phytochimique

[Evaluation of the antibacterial activity of leaves *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae) on the in vitro growth of producing Enterobacteriaceae of beta-lactamases at extended spectrum (ESBL) strains and phytochemical screening]

KOUADIO N'guessan Jules¹⁻²⁻³, KONE Mamidou Witabouna¹⁻³, GUESSENND Nathalie Kouadio², KONAN K. Fernique², MOUSSA Bamba¹⁻², YAO KONAN¹, ALLAGBA-ATSAIN Marie Rosine¹, TRA-BI Fezan Honora¹, BAKAYOKO Adama¹, and DOSSO Mireille²

¹UFR des Sciences de la Nature, Université Nangui Abrogoua (UNA), Côte d'Ivoire

²Laboratoire de Bactériologie- Virologie, Institut Pasteur, Côte d'Ivoire

³Centre Suisse de Recherches Scientifiques, Côte d'Ivoire

Copyright © 2017 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: The bacteria producing beta-lactamases extended spectrum are the leading cause of treatment failure observed in the treatment of bacterial infections. This study aims to evaluate the antibacterial effects of extracts hexanical, 70% methanol and aqueous leaf *Spondias mombin* (Desr.) A. Juss. (Anacardiaceae) on six clinical isolates of Enterobacteriaceae producing beta-lactamases with extended spectrum (ESBL) and a reference strain. The study of the antibacterial activity of the extracts was performed by the medium diffusion method and agar dilution Mueller-Hinton. For phytochemical screening extracts, chromatographic characterization method thin layer was used. It emerged from this study that the aqueous and hydro-alcoholic extracts are active. They are bactericidal for the majority of tested strains with MICs ranging from 0.39 to 1.56 mg / mg for the 70% methanol extract and 0,39 to 3.125 mg / ml for the aqueous extract. The phytochemical screening revealed a wealth of secondary metabolites such as saponins, tannins, flavonoids, sesquiterpenes, polyphenols, coumarins may be beneficial in the treatment of many diseases in Enterobacteriaceae.

KEYWORDS: antibacterial activity, *Spondias mombin*, bactericidal, bacteriostatic.

RÉSUMÉ: Les bactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi sont la première cause des échecs thérapeutiques observés dans le traitement des infections bactériennes. Cette étude a pour objectif d'évaluer les effets antibactériens des extraits hexanique, méthanolique 70% et aqueux de feuilles de *Spondias mombin* (Desr.) A. Juss. (Anacardiaceae) sur six souches cliniques d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (EBLSE) et une souche de référence. L'étude de l'activité antibactérienne des extraits a été réalisée par la méthode de diffusion et de dilution en milieu gélosé Muller-Hinton. Pour le criblage phytochimique des extraits, la méthode de caractérisation par chromatographie sur couche mince a été utilisée. Il est ressorti de cette étude que les extraits aqueux et hydro-alcooliques sont actifs. Ils sont bactéricides sur la majorité des souches testées avec des CMI allant de 0,39 à 1,56 mg/mg pour l'extrait méthanolique 70% et de 0,39 à 3,125 mg/ml pour l'extrait aqueux. Le criblage phytochimique a mis en évidence une richesse en métabolites secondaires tels que les saponosides, les tanins, les flavonoïdes, les sesquiterpènes, les polyphénols, les coumarines pouvant être bénéfiques dans la prise en charge de nombreuses pathologies à entérobactéries.

MOTS-CLEFS: activité antibactérienne, *Spondias mombin*, bactéricide, bactériostatique

1 INTRODUCTION

Les maladies infectieuses sont responsables de 1/3 de la mortalité mondiale et de 45% des décès dans les pays en développement [1]. En Côte d'Ivoire, ce taux se situe entre 50 et 60% [2]. Environ 70% des décès causés par les microorganismes sont dus aux bactéries [2]. Parmi les bactéries les plus fréquemment mises en cause, se trouvent les entérobactéries. Elles sont largement citées aussi bien dans les infections communautaires que nosocomiales. Pour traiter ces infections aux entérobactéries, les cliniciens ont recours aux beta-lactamines, notamment, les pénicillines, les céphalosporines à large spectre et les carbapénèmes (imipénème, meropenème, ertapénème), ou encore les fluoroquinolones (ciprofloxacine, pefloxacine, norfloxacine) [3]. Cependant, l'usage incontrôlé et souvent abusif de ces antibiotiques, provoque une résistance de plus en plus accrue des germes vis-à-vis de ces molécules. Ainsi, la résistance des *E. coli* aux céphalosporines de troisième génération (C3G) est comprise entre 1 et 5% en France, en Allemagne, en Pologne et en Suède, entre 5 et 10% dans les pays comme l'Espagne, l'Italie et le Royaume-Uni, et entre 25 à 50% en Turquie et en Roumanie [4]. L'Afrique n'échappe pas à ce fléau planétaire avec un taux de 10,5% en Afrique du Sud [5], 12 % au Cameroun, et 38,5 % en Egypte [5], [6]). En Côte d'Ivoire, selon les travaux de [7], la fréquence des entérobactéries productrices de beta-lactamase à spectre élargi (EBLSE) qui était de 5,3 % en 2005 est passée à 16,8 % en 2009. Cette évolution rapide de la fréquence des EBLSE pose un véritable problème santé publique surtout que ces germes sont responsables de plusieurs pathologies telles que diarrhées, infections urinaires, suppurations, plaies chroniques et autres. Face à cette menace, la recherche de nouvelles molécules est devenue une nécessité aujourd'hui pour le monde scientifique. Dans cette quête, les plantes médicinales demeurent le principal réservoir qui est utilisé par plus de 80% des populations des pays en développement pour leurs soins de santé. C'est dans cette optique que s'inscrit la présente étude qui a pour objectif d'évaluer l'activité antibactérienne des feuilles de *Spondias mombin* sur des entérobactéries productrices de beta-lactamase à spectre élargi suivi d'un criblage phytochimique. *Spondias mombin* est une plante à la famille des Anacardiaceae. Elle est largement utilisée dans la pharmacopée africaine pour traiter des maladies à entérobactéries notamment la diarrhée, les infections urinaires, l'Ulcère de Burili, les plaies chroniques [8].

2 MATERIEL ET METHODE

2.1 SOUCHES BACTÉRIENNES

Les souches ont été fournies par l'Unité des Antibiotiques, des Substances Naturelles et de la Surveillance des Microorganismes aux Anti-Infectieux (ASSURMI) du Département de Bactériologie et Virologie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI). Ce sont six souches cliniques d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi et une souche de référence *E. coli* ATCC 25922 (Tableau 1).

2.2 PRÉPARATION DES EXTRAITS DE PLANTES

Les extraits de plantes ont été obtenus à partir des feuilles des *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae). Ils ont été préparés par la méthode décrite par [9] en utilisant l'hexane, le méthanol 70% et l'eau distillée. Dans 1 L d'hexane, 125g de poudre végétale ont été macérés pendant 24 h. Les filtrats obtenus ont été évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40°C puis séchés sous la hotte pour obtenir l'extrait hexanique. Le marc résiduel a été séché sur du papier buvard et pesé puis introduit dans 1L de méthanol 70%. Après 24 h de macération, le filtrat a été évaporé au rotavapor pour éliminer l'alcool puis séché à l'étuve à 50 °C pour donner l'extrait méthanolique 70%. Quant à l'extrait aqueux, il a été obtenu par macération de 125 g de poudre végétale dans 1 L d'eau distillée pendant 24 h. Le filtrat obtenu a été séché à 50 °C à l'étuve. Ces extraits ont été conservés au réfrigérateur à 4 °C.

2.3 ETUDE ANTIBACTÉRIENNE

2.3.1 PRÉPARATION D'INOCULUM POUR LES TESTS EN MILIEU SOLIDE

L'inoculum a été préparé à partir de deux colonies jeunes de 24 h. Elles ont été émulsionnées dans 2 ml de suspension NaCl 85%. Ensuite, la densité optique a été ajustée à 0,5 Mac Farland à l'aide d'un densimat. Un volume de 100 µl de cette suspension a été délayé dans 10 ml d'eau physiologique (0,9% de NaCl).

Tableau 1 : liste des souches étudiées

Bactéries	Codes	Origines	Phénotypes de résistance
Souches cliniques			
<i>Escherichia coli</i>	478C/14	Urine	BLSE ; RCFQ
<i>Escherichia coli</i>	533C/14	Urine	BLSE ; RCFQ
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	421C/14	Urine	BLSE ; RCFQ
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	486Y/14	Bout de sonde	BLSE ; RCFQ
<i>Citrobacter koseri</i>	242C/14	Aspiration bronchique	BLSE ; RCFQ ; KTG
<i>Citrobacter koseri</i>	608C/14	Urine	BLE213 ; RCFQ
Souches de référence			
<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922	Sensible	

BLSE: Beta-lactamases à spectre élargi ; RCFQ: Résistance croisée aux fluoroquinolones ; BLE213: Cephalosporinase plamidique probable ; KTG: Kanamycine, Gentamycine, tobramycine

2.3.2 TESTS DE SENSIBILITÉ

Ces tests ont été réalisés par la méthode de diffusion en milieu solide utilisée par [10]. Pour le faire, une solution de concentration 100 mg/ml d'extrait a été préparée. Des boîtes de Pétri contenant de la gélose Muller-Hinton ont étéensemencées par inondation avec l'inoculum préparé. Ensuite, des cupules de 6 mm de diamètre ont été creusées en enfonçant le gros bout d'une pipette Pasteur dans la gélose. Ces cupules ont été ensuite remplies avec 50 µl de la solution d'extraits. L'ensemble a été incubé à 37 °C pendant 24 h. Après ce délai, le diamètre d'inhibition autour de chaque cupule a été mesuré à l'aide d'un pied à coulisse. L'appréciation de la sensibilité des souches bactériennes aux extraits a été faite selon le critère de [11]. Ainsi, une bactérie est dite résistante si le diamètre d'inhibition est inférieur ou égal à 8 mm. A l'inverse, elle est dite sensible si le diamètre est compris entre 9 et 14 mm et très sensible lorsque le diamètre est compris entre 15 et 19 mm puis extrêmement sensible si le diamètre est supérieur ou égal à 20 mm.

2.3.3 PRÉPARATION DE L'INOCULUM POUR LES TESTS EN MILIEU LIQUIDE

Deux colonies bactériennes de 24 h ont été prélevées à l'aide d'une pipette Pasteur munie d'une poire et émulsionnées dans un tube à essai contenant 10 ml de bouillon Muller-Hinton stérile. Le mélange a été incubé à 37 °C pendant 3 h. Après cette incubation, 0,3 ml de cette pré-culture a été prélevée et dilué dans 10 ml de bouillon Müller-Hinton stérile puis homogénéisé.

2.3.4 PRÉPARATION DE LA GAMME DE CONCENTRATION

Une solution de concentration à 50 mg/ml des extraits retenus pour la détermination des paramètres antibactériens a été préparée. Une série de dilutions a été effectuée à partir de cette solution afin d'obtenir, des gammes de concentrations allant de 50 à 0,097 mg/ml.

2.3.5 DÉTERMINATION DES PARAMÈTRES ANTIBACTÉRIENS

La détermination des paramètres antibactériens a été réalisée par la dilution en milieu liquide selon la méthode utilisée par [12]. Ainsi, dans 10 tubes à hémolyse expérimentaux, 1 ml de chaque gamme de concentration d'extrait de plante, a été mis en contact avec 1 ml d'inoculum bactérien. Le tube témoin de croissance a reçu 1 ml d'eau distillée stérile en plus de l'inoculum alors que le témoin de stérilité n'a reçu que du Bouillon Muller-Hinton (BMH) stérile. Les tubes ont été incubés pendant 24h à 37 °C. Après ce temps d'incubation, une observation à l'œil nu a été effectuée et la plus faible concentration pour laquelle aucune croissance bactérienne n'a été observée correspond à la Concentration Minimale inhibitrice (CMI) (Figure 2a). Quant à la Concentration minimale Bactéricide (CMB), elle désigne la concentration d'une substance permettant d'obtenir, après 24 h d'incubation à 37°C, 0,01% de bactéries viables. Sa détermination a commencé par la numération. Celle-ci a consisté à diluer l'inoculum de départ de 10^{-1} à 10^{-4} et à ensemencer ces différentes dilutions à l'aide d'une anse calibrée de 2 µl en stries de 5 cm de long, sur une Gélose Muller-Hinton (GMH) puis incubé pendant 24 h. Ces boîtes de Pétri ont été nommées A. Après la lecture des CMI, le contenu des tubes dans lesquels il n'y a pas eu de croissance visible a été ensemencé sur la gélose Muller-Hinton sur des stries de 5 cm. Cette série de boîtes de Pétri a été nommée B. La CMB a été déterminée en comparant à l'œil nu la croissance bactérienne des boîtes A et B (Figure 2b). Ainsi, la plus petite concentration

du tube qui a moins de 0,01% de bactéries viables par rapport à l'inoculum initial est la CMB. Le rapport CMB/CMI a permis de préciser le pouvoir antibactérien des extraits [13]. Si le rapport CMB/CMI est inférieur ou égal à deux, la substance est dite bactéricide. Par contre, s'il est supérieur à deux, la substance est dite bactériostatique.

2.4 CRIBLAGE PHYTOCHIMIQUE

La mise en évidence des grands groupes de composés chimiques dans les extraits s'est faite par chromatographie sur couche mince (CCM) et observé dans le visible ou à une longueur d'onde de 254 nm ou de 366 nm. Le criblage phytochimique a été réalisée sur les extraits actifs c'est-à-dire les extraits méthanolique 70% et aqueux. Pour le faire, 10 µg d'extraits ont été dissouts dans 1 ml de méthanol absolu pour obtenir une solution d'une concentration de 10 µ/ml. Une quantité de 10 µl de cette solution a été déposée en spot sur une plaque de silicagel F254 (phase stationnaire) à l'aide de tube micropillaire. Les chromatogrammes ont été développés dans des cuves préalablement saturées d'éluant ou phase mobile Chloroforme-Méthanol-Eau (60: 35 : 5 v/v/v). A la fin de la migration, les chromatogrammes ont été séchés puis observés avant et après révélation soit dans le visible ou sous une lampe U.V. Les rapports frontaux (Rf) des différentes tâches observées sont calculés selon la formule suivante :

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par le composé}}{\text{Distance parcourue par le solvant}}$$

2.4.1 MISE EN ÉVIDENCE DES TERPÉNOÏDES ET SAPONOSIDES

Ces composés sont mis en évidence avec le réactif de Godin. Après pulvérisation de la plaque au réactif de Godin suivi du chauffage à 100 °C pendant 10 min, diverses colorations sont observées. Dans le visible, l'observation des taches violettes, bleues et rouge indique la présence des monoterpènes.

Après chauffage de la plaque révélée avec l'hydroxyde de potassium, par exemple les terpènes sont indiqués en violet et les saponines en bleu.

2.4.2 MISE EN ÉVIDENCE DES ALCALOÏDES

Après pulvérisation au réactif de Dragendorff et chauffage du chromatogramme à 100 °C pendant 10 min, les alcaloïdes apparaissent sous forme de taches orangées dans le visible.

2.4.3 MISE EN ÉVIDENCE DES POLYPHÉNOLS

Après pulvérisation du chromatogramme par le réactif de Folin-Ciocalteu 10%, puis chauffage à 100 °C pendant 10 min, les taches bleues observées dans le visible attestent la présence des polyphénols.

2.4.4 MISE EN ÉVIDENCE DES FLAVONOÏDES ET LACTONES SESQUITERPÉNIQUES

Après pulvérisation du chromatogramme avec du chlorure d'aluminium à 5% (m/v) et chauffage, la présence de flavonoïdes est indiquée par les taches jaunes observables dans le visible ou sous UV à 366 nm. A l'UV 366 nm, l'observation de fluorescence jaune ou orange en présence du réactif de Godin indique la présence de flavonoïdes. Quant aux lactones sesquiterpéniques, elles sont indiquées par des fluorescences de diverses couleurs à 366 nm.

2.4.5 MISE EN ÉVIDENCE DES COUMARINES

L'acétate de plomb basique à 5% (m/v) a été pulvérisé sur le chromatogramme. Les spots de colorations vertes et bleues sous UV à 366 nm indiquent la présence des coumarines.

2.4.6 MISE EN ÉVIDENCE DES TANINS

L'apparition de taches de diverses couleurs (bleues, vertes, noires), observables dans le visible, après pulvérisation du chromatogramme par une solution de chlorure ferrique à 10%, montre la présence de tanins.

2.4.7 MISE EN ÉVIDENCE DES ANTHRAQUINONES ET ANTHRONES

Une solution éthanolique de l'hydroxyde de potassium à 5% a été giclée sur le chromatogramme. Les taches rouges observables dans le visible et à 366 nm confirment la présence des anthraquinones. Les anthrones par contre sont visibles à 366 nm sous forme de taches jaunes.

2.5 ANALYSE STATISTIQUE DES RÉSULTATS

L'analyse statistique a été faite à partir de l'analyse de la variance à un facteur (ANOVA 1) à l'aide du logiciel Statistica 8. Cette analyse a permis de comparer l'activité des extraits hexanique, aqueux, et méthanolique 70 % des feuilles de *Spondias mombin* sur chaque souche d'entérobactéries étudiée. Elle a aussi permis de comparer l'activité des extraits et celle des témoins (eau distillée et ceftriazone). Il a été procédé d'abord à la vérification de l'égalité des variances à l'aide du test de Bartlett. Lorsqu'une différence significative est observée entre les activités pour une souche bactérienne, l'ANOVA a été complétée par des comparaisons multiples en effectuant le test de Turkey. Ce test permet d'identifier le ou les traitement(s) qui diffère(nt) significativement des autres. La plus petite différence significative entre les activités a été fixée à $P \leq 0,05$ [14].

3 RESULTATS

3.1 RENDEMENT

L'extrait brut aqueux a donné le meilleur rendement qui est de 3 %. Pour les partitions, le plus fort rendement est de 40,8 %. Il est obtenu avec le résidu aqueux (Tableau 2).

Tableau 2 : Rendement des extraits de feuilles de *Spondias mombin*

Extraits et partitions	Poudre végétale(g)	Extraits (g)	Rendement (%)
Extrait hexanique	125	3,75	3,00
Extrait méthanolique 70%	113	7,55	6,68
Extrait aqueux	125	8,47	6,77

g : grammes

3.2 ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE

Les extraits hydroalcoolique et aqueux sont actifs sur toutes les souches étudiées. Les diamètres d'inhibition sont compris entre $12,33 \pm 1,15$ et $14,33 \pm 1,15$ mm pour l'extrait méthanolique 70% et entre $10,66 \pm 1,15$ et $12,66 \pm 1,15$ mm pour l'extrait aqueux (Tableau 2). A l'inverse, l'extrait hexanique n'a aucune activité (Figure 2). Les concentrations minimales inhibitrices et les concentrations minimales bactéricides déterminées ont montré que l'extrait méthanolique 70 % est bactéricide sur 100% des souches avec des CMI comprise entre 0,39 et 1,56 mg/ml (Tableau 3) alors que les CMB vont de 0,78 à 3,125 mg/ml (Tableau 3). Quant à l'extrait aqueux, il est bactéricide sur 57,15% des souches avec des CMI comprises entre 0,39 et 3,125 mg/ml alors que les CMB évoluent de 1,56 à 12,5 mg/ml (Tableau 3). La figure 3 est une illustration de la détermination des paramètres antibactériens sur la souche de *Klebsiella pneumoniae* 421C/14: CMI (Figure 3a) et la CMB (Figure 3b)

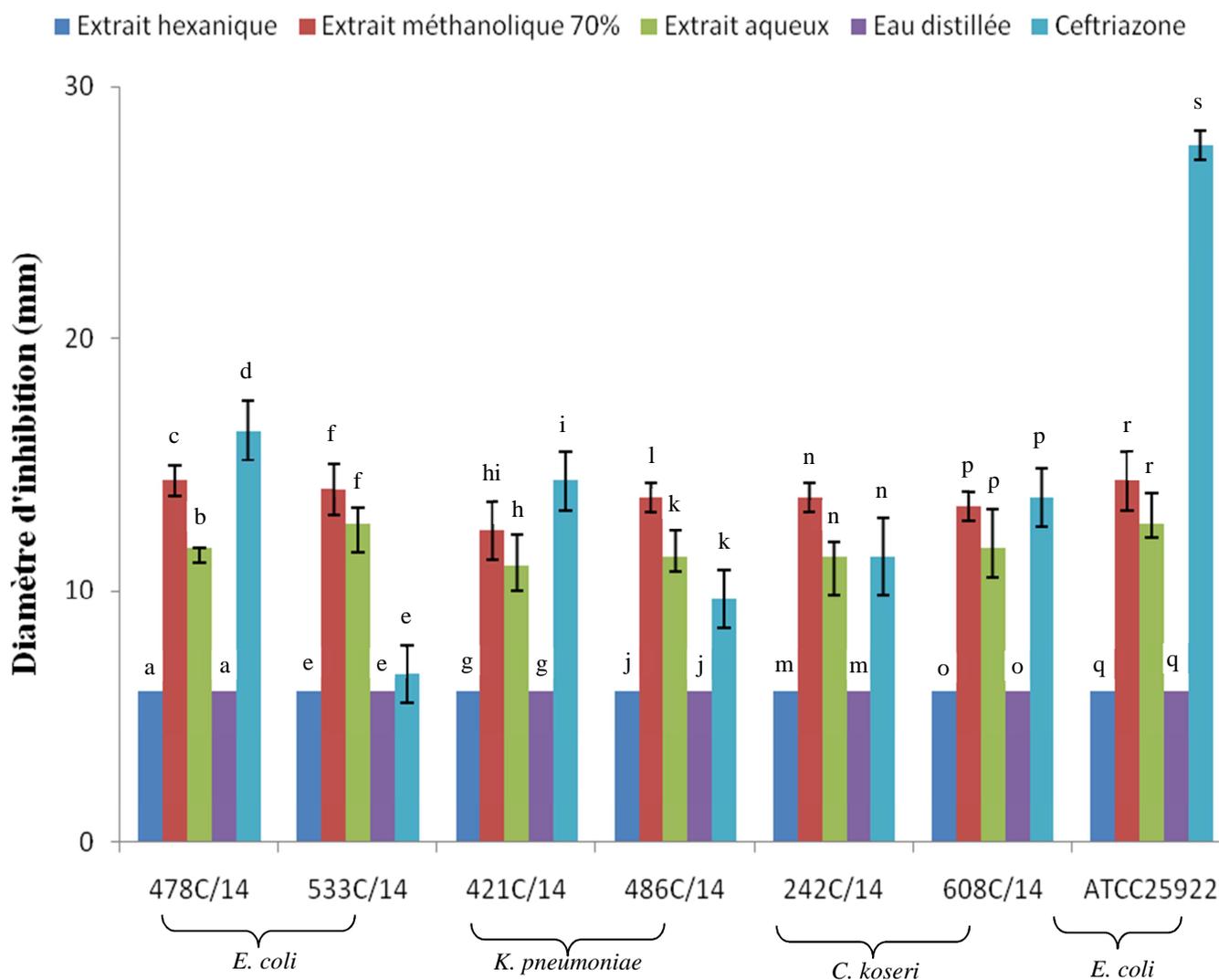


Figure 1: Activité des extraits de *Spondias mombin* (moyenne \pm SD) sur les souches d'entérobactérie.

Les barres avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de $\alpha = 5\%$.

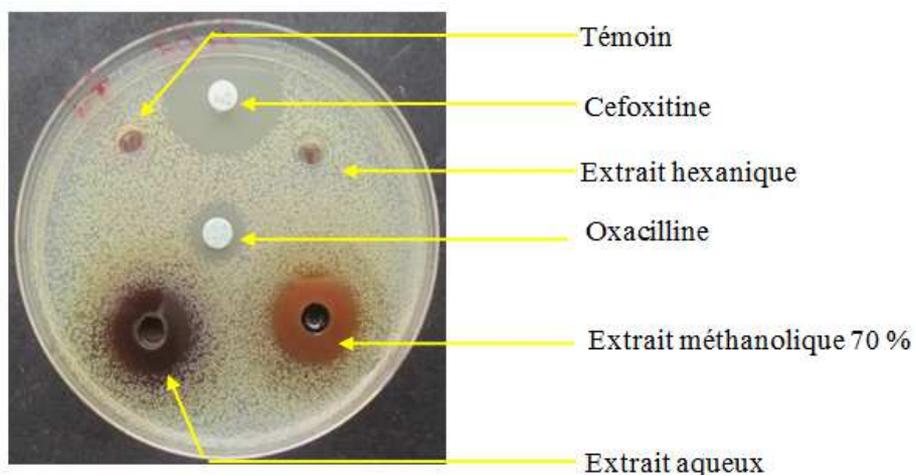


Figure 2 : Activité des extraits *Spondias mombin* sur la souche 1000C/14

Tableau 3: CMI et CMB des extraits bruts

Bactéries	Extrait méthanol 70% (mg/ml)				Extrait aqueux (mg/ml)			
	CMI	CMB	$\frac{CMB}{CMI}$	pouvoir	CMI	CMB	$\frac{CMB}{CMI}$	Pouvoir
<i>E. coli</i> 478C/14	0,39	0,78	2	Bactéricide	0,78	1,56	2	Bactéricide
<i>E. coli</i> 533C/14	0,78	1,56	2	Bactériostatique	0,39	1,56	4	Bactériostatique
<i>K. pneumoniae</i> 421C/14	0,78	1,56	2	Bactéricide	1,56	3,125	2	Bactéricide
<i>K. pneumoniae</i> 486Y/14	0,78	1,56	2	Bactéricide	1,56	3,125	2	Bactéricide
<i>C. koseri</i> 242C/14	0,78	1,56	2	Bactéricide	1,56	3,125	2	Bactéricide
<i>C. koseri</i> 608C/14	1,56	3,125	2	Bactéricide	3,125	12,5	4	Bactériostatique
<i>E. coli</i> ATCC25922	0,39	0,78	2	Bactéricide	0,39	1,56	4	Bactériostatique

CMI : Concentration minimale inhibitrice; CMB: Concentration minimale bactéricide;

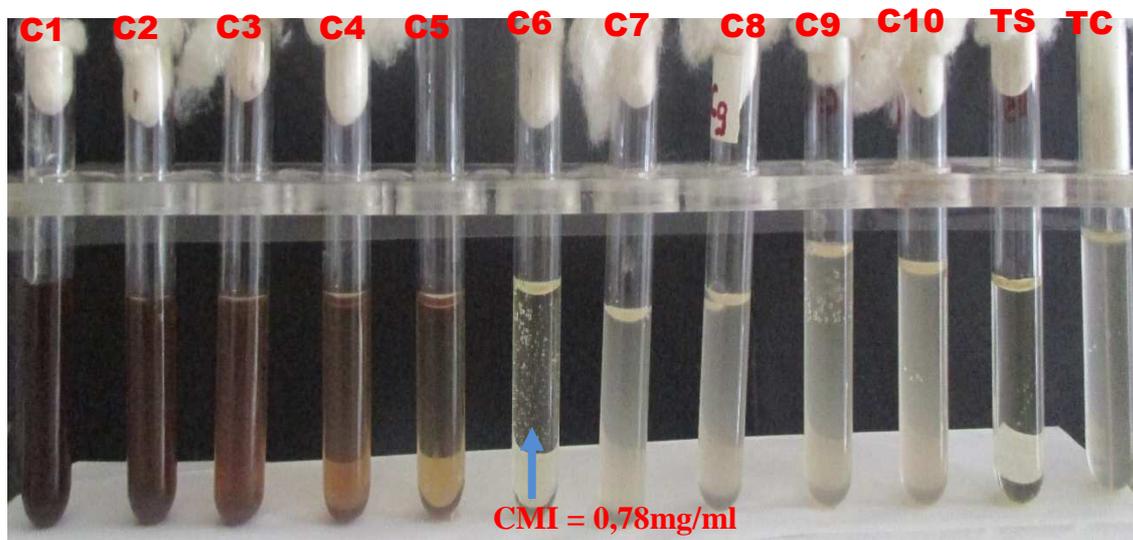


Figure 3a: Détermination de la CMI de l'extrait méthanolique 70% sur *K. pneumoniae* 421C/14

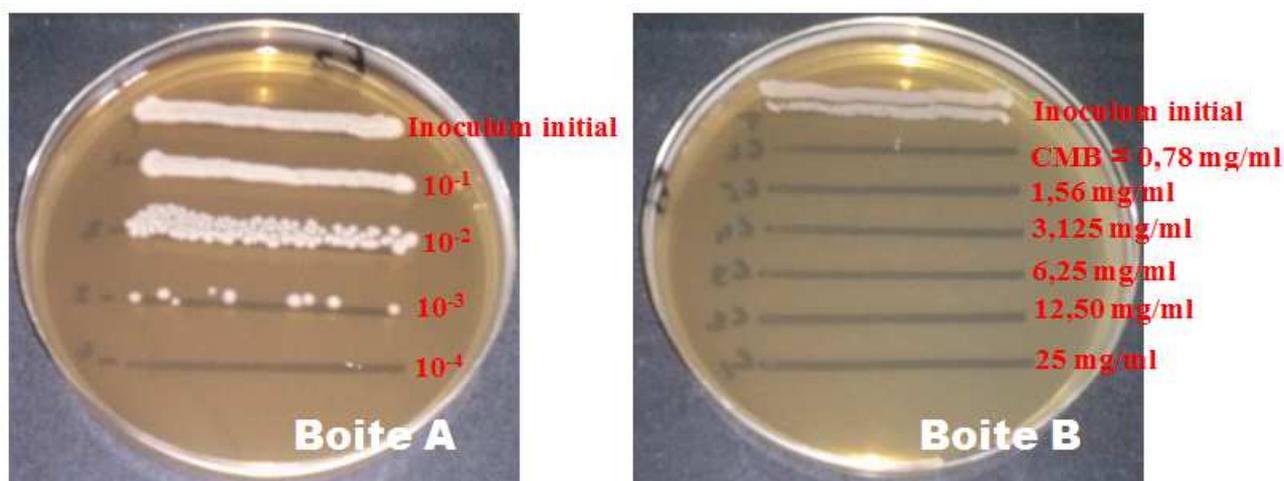


Figure 3b : Détermination de la CMB de l'extrait méthanolique 70% sur *K. pneumoniae* 421C/14

Figure 3 : Détermination des paramètres antibactériens

Tableau 4 : Composés chimiques mis en évidence dans les feuilles de *Spondias mombin*

Composés chimiques	Extrait méthanolique 70%	Extrait aqueux
Saponosides	+	+
Tanins	+	+
Coumarines	+	+
Alcaloïdes	--	--
Flavonoïdes	+	+
Terpènes	+	+
Lactones sesquiterpéniques	+	+
Polyphénols	+	+
Anthrones	+	+

-- : Absence ; +: Présence

4 DISCUSSION

L'étude avait pour objectif d'évaluer l'activité des extraits hexanique, méthanolique 70% et aqueux des feuilles de *Spondias mombin* sur des souches d'entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi (EBLSE). La détermination du rendement des extraits a montré que l'extrait aqueux a le rendement le plus élevé (6,77%). Le meilleur rendement de l'extraction aqueuse pourrait justifier en partie la préférence de l'eau comme solvant de préparation en médecine traditionnelle [11].

Cette étude a montré que les extraits aqueux et hydroalcooliques sont actifs sur les bactéries étudiées. A l'inverse, l'extrait hexanique ne présente aucune activité. Cela signifierait que les composés responsables de cette activité sont solubles dans le méthanol et l'eau mais très peu solubles dans l'hexane [13]. Les diamètres d'inhibition sont compris entre 12,5±1,2 et 14,5±3,5 mm pour l'extrait méthanolique 70% et entre 11,1±1,2 et 12,7±2,5 mm pour l'extrait aqueux. L'extrait méthanolique 70% est significativement plus actif que l'extrait aqueux. C'est le cas observé sur la souche de *E. coli* 478C/14 où diamètre d'inhibition est de 14,5±0,7 pour l'extrait hydroalcoolique alors que celui de l'extrait aqueux est de 11,7±0,5 mm. Cela pourrait se justifier par une synergie d'activité entre un composé extractible dans l'eau et un autre extractible dans le méthanol [13]. Ces résultats sont en adéquation avec ceux obtenus par [15] qui ont aussi montré que cette même plante exerce une activité inhibitrice sur la croissance *in vitro* des souches sensibles de ces mêmes espèces bactériennes.

La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) a montré que les extraits méthanolique 70% et aqueux de feuilles de *S. mombin* sont bactéricides sur la majorité des souches bactériennes. Les CMI sont comprises entre 0,39 et 1,56 mg/ml pour l'extrait hydroalcoolique et entre 0,39 et 3,125 mg/ml pour l'extrait aqueux. Quant aux CMB, elles vont de 0,78 à 3,125 mg/ml pour l'extrait méthanolique 70% et de 1,56 et 12,5 mg/ml pour l'extrait aqueux. Ces résultats confirment ceux [16] qui ont mis en évidence l'activité antibactérienne des feuilles et d'écorce de tige de *S. mombin* sur des souches sensibles de ces mêmes espèces de bactérie.

Ce pouvoir bactéricide des feuilles de *S. mombin* contre toutes les bactéries étudiées pourrait justifier en partie l'utilisation de cette plante en pharmacopée africaine contre certaines pathologies. C'est le cas de l'utilisation de cette plante dans le traitement de la diarrhée [9], une pathologie dans laquelle, *E. coli* est très souvent impliqué. Il en est de même pour l'utilisation de *S. mombin* dans le traitement de l'Ulcère de Burili [9], pathologie dans laquelle *E. coli* est reconnu comme un germe de surinfection.

Le criblage phytochimique des extraits actifs de feuilles de *S. mombin* a permis de mettre en évidence des tanins, des saponosides, des flavonoïdes, des coumarines, des lactones sesquiterpéniques. Par contre, les alcaloïdes n'y ont pas été caractérisés. Ces résultats sont différents de ceux de [17] qui ont montré la présence des alcaloïdes dans les feuilles de *S. mombin* récoltées au Brésil. Cette différence pourrait se justifier par le fait que les méthodes ont été employées pour la mise en évidence des composés sont différentes. Dans les travaux de [17], la caractérisation a été réalisée en tube alors que dans cette étude, elle s'est faite par la chromatographie sur couche mince. En effet, la méthode de chromatographie sur couche mince est plus précise voire fiable que la caractérisation en tube qui peut donner de faux positifs. La présence des tanins, des saponosides, des flavonoïdes, des coumarines serait à l'origine de l'activité bactéricide mise en évidence dans cette étude, justifiant ainsi son utilisation dans le traitement de certaines pathologies bactériennes dans lesquelles sont impliqués ces germes [18].

Outre l'activité antibactérienne, ces mêmes composés pourraient justifier d'autres indications thérapeutiques de *S. mombin*. Ce qui donnerait un fondement scientifique à l'utilisation de cette plante dans la pharmacopée. Ainsi, la présence des tanins qui sont dotés de pouvoir coagulant pourraient justifier l'emploi des feuilles de *S. mombin* pour stopper les hémorragies d'où son utilisation pour traiter les métrorragies [19]. L'activité diurétique des coumarines et des lactones sesquiterpéniques, composés caractérisés dans la plante pourrait être à l'origine de l'utilisation des feuilles de *S. mombin* dans le traitement traditionnel des rétentions d'urine [20]. Les saponines caractérisées dans cette plante pourraient justifier son utilisation chez les femmes en travail grâce aux propriétés abortives des saponosides [21].

5 CONCLUSION

En définitive, cette étude a permis de montrer l'activité antibactérienne des feuilles de *Spondias mombin* sur des souches entérobactéries productrices de beta-lactamase à spectre élargi. Cette activité est de nature essentiellement bactéricide. Par ailleurs, les groupes de composés chimiques, probablement responsables de cette activité ont été mis en évidence et sont mieux concentrés dans le solvant hydro-alcoolique. La partition de l'extrait hydroalcoolique a montré que les partitions à l'acétate d'éthyle et au butanol sont les plus actives. Ces travaux doivent se poursuivre afin de prouver l'innocuité de la plante et réaliser un fractionnement bioguidé afin d'isoler la ou les molécules responsables de cette activité bactéricide.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire (CSRS) le Département de Bactériologie et de Virologie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI) pour leur soutien technique dans la réalisation de ce travail.

REFERENCES

- [1] J. Simporé, B. Zeba, D. Karou, D. Ilboudo, M. Esposito, A. D'agata, S. Pignatelli, O.G. Nacoulma, S. Musumeci, "Bacterial epidemiology and emergence of multi-drug-resistance in Burkina Faso", *Microbial drug-resistance*, vol 5, n° 64, pp 38-42, 2006.
- [2] OMS, 2007. Maladies transmissibles, profil épidémiologique (Côte d'Ivoire). [online] http://whqlib.doc.int/hq/2010/WHO_HSE_GAR_DCE_2010.3.fre.pdf. (mars 2013).
- [3] V. Samir, and A. Raymond, "Que signifie «bêta-lactamases à spectre élargi» en pratique" *Revue Médicale Suisse*. n°5, pp 1991-1994, 2009.
- [4] R. Canton, A. Novais, A. Valverde, E. Machado, L. Peixe, F. Baquero and T. M. Coque, "Prevalence and spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe." *Clinical Microbiology and Infection*, Vol. 14, n° 1, pp 144-153, 2008.
- [5] S. K. Bouchillon, B. M. Johnson, D. J. Hoban, J. L. Johnson, M. J. Dowzicky, D. H. Wu, M. A. Visalli and P. A. Bradford, "Determining incidence of extended spectrum bêta-lactamase producing Enterobacteriaceae, vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in 38 centres from 17 countries: the PEARLS study 2001-2002." *International Journal Antimicrobial Agents*, n° 24, pp 119-124, 2004.
- [6] J. Gangoué-Piéboji, B. Bedenic and S. Koulla-Shiro, "Extended-Spectrum-b-lactamase producing *Enterobacteriaceae* in Yaounde, Cameroon". *Journal of Clinical Microbiology*, n° 43 pp 3273-3277, 2005.
- [7] N. K. Guessennd, A. Kacou-N'douba, V. Gbonon, D. Yapi, E. Ekaza, M. Dosso et P. Courvalin, "Prévalence et profil de résistance des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) à Abidjan Côte d'Ivoire de 2005 à 2006." *Journal Sciences of Pharmacology and Biology*, vol. 9, n°1, pp 63-70, 2008.
- [8] E.J. Adjanohoun, M.R.A. Ahyi, L. Aké-Assi, K. Akpagana, P. Chibon, A. El-Adji, J. Eymé, M. Garba, J.N. Gassita, M. Gbeassor, E. Goudoté, S. Ginko, K. K. Hodouto, P. Hounnon, A. Kéita, Y. Kouela, W. P. Hodouto, Issa-lo, K. M. Siamévi et K. K. Taffamé : Contribution aux études ethnobotaniques floristiques au TOGO. ACCT, 1986.
- [9] G. Zirihi, A. K.M. Kra and F. Guédé-Guina, "Evaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* (Lamarck O. Kuntze Asteraceae) «PYMI» sur la croissance *in-vitro* de *Candida albicans*." *Revue de Médecine et de Pharmacologie Africaine.*, n° 17, pp 11-18, 2003.
- [10] K. F. Konan, K. N. Guessennd, K. R. Oussou, C. Bahi, A. Coulibaly, A. J. Djaman et M. Dosso, "Effet antibactérien de l'extrait aqueux de l'écorce de *Terminalia glaucescens* Planch ex Benth (Combretaceae) sur la croissance *in vitro* des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (EBLSE)" *International Journal of Biology and Chemical Sciences*, vol. 8, n° 3, pp 1192-1201, 2014.

- [11] A. G. Ponce, R. Fritz, C. Del Alle and S. I. Roura, "Antimicrobial activity of essential oil on the native microflora of organic Swiss chard." *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologic journal*, n° 36, pp 679-684, 2003.
- [12] N. J. Kouadio, N. K. Guessennd, M. W. Koné, B. Moussa, Y. M. Koffi, K.B. Guédé, K. Yao, A. Bakayoko, F. H. Tra Bi et M. Dosso, "Evaluation de l'activité des feuilles de *Mallotus oppositifolius* (Geisel.) Müll.-Arg (Euphorbiaceae) sur des bactéries multirésistantes et criblage phytochimique." *International Journal of Biology and Chemical Sciences*, vol. 9, n° 3, pp 1252-1262, 2015.
- [13] L. Fauchere et J. L. Avril : Bactériologie générale et médicale, *Editions Ellipses*, Paris, 2002.
- [14] A. Vessereau : Méthodes statistiques en biologie et en agronomie, *TEC & DOC*, Lavoisier, Paris, 1992.
- [15] C. B. Aké, M.W. Koné, A. K. Kamanzi, et M.Aké, "Evaluation de quelques propriétés biologiques de produits de cueillette non ligneux vendus sur les marchés d'Abidjan et environs." *Pharmacologie et Médecine Traditionnelle Africaine.*, n° 14, pp 1-17, 2006.
- [16] K. A. Abo, O. V. Ogunleye and J. S. Ashidi, "Antimicrobial Potential of *Spondias mombin*, *Croton zambesicus* and *Zygotritonia crocea*." *Phytotherapie Research.*, n° 13: 494-497, 1999.
- [17] J. H. Tiburski, A. Rosenthal, R. Delizab, R. L. O. Godoyb and S. Pachecob, "Nutritional Properties of *Yellow Mombin* (*Spondias mombin* L.) Pulp". *Food Research. International*, n° 44, pp 2326-2331, 2010.
- [18] E. J. Adjanohoun, V. Adjakidje, M. R. A. Ahyi, L. Ake-Assi, A. Akoegninou, J. Dalmaida, F. Apovo, K. Bouker, M. Chadare et G. Cusset, Contribution aux Etudes Ethnobotaniques et Floristiques en République Populaire du Benin, Médecine Traditionnelle et Pharmacopée. Agence de Coopération Culturelle et Technique (ACCT), Paris, 1989.
- [19] K. N'guessan, K. Kouadio, et N. F. Kouamé, "Plantes emmenagogues utilisées en médecine traditionnelle par les peuples Abbey et Krobou d'Agboville (Côte D'ivoire)." *Pharmacologie et Médecine Traditionnelle Africaine*, n° 14, pp 137-158, 2006.
- [20] N.S. Reddy, K. Gumireddy and M.R. Mallireddigari, "Noovel coumarin-3-(N-aryl) carboxamides arrest breast cancer cell growth by inhibiting ErbB-2 and ERK1." *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, n° 13 pp 3141-3147, 2005.
- [21] F. M. Djah and F. R. N. Danho, "Traditional Practices and Medicinal Plants Use during Pregnancy by Anyi-Ndenye Women (Eastern Côte d'Ivoire)." *African Journal of Reproductive Health*, vol. 15, n° 1, pp 85-94, 2011.