

ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DE L'EXTRAIT METHANOLIQUE DES ECORCES DE *MANILKARA MABOKEENSIS*

WOROWOUNGA Xavier¹, LANGO-YAYA Ernest², NAMKONA Armel-Frédéric¹, BOULALA Patrice Firmin², SARAVOLIA Marinette², SYSSA-MAGALÉ Jean-Laurent¹, and KOFFI Boniface²

¹Laboratoire d'Architecture, d'Analyse et de Réactivité des Substances Naturelles (LAARSN),
Faculté des Sciences, Université de Bangui, Central African Republic

²Laboratoire National de Biologie Clinique et de Santé Publique,
Ministère de la Santé Publique, Central African Republic

Copyright © 2019 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: This study carried out on the methanol extract from the bark of the *Manilkara mabokeensis* plant, in order to determine the active principle and its effect on the strains of *Staphylococcus aureus*, *Shigella sp* and *Escherichia coli*. Two methods of antibiogram (dilution and diffusion) were used. The methanol of diffusion in solid medium (Mueller Hinton), induced growth inhibition diameter of 20mm, on *E. coli* and *Shigella sp*, respectively. However, the *S. aureus* strain multiplied around the plant extract disc. For the dilution method, the minimum inhibitory concentration was 0.07 for *E. coli* and 0.09 for *Shigella sp*. Therefore the extract of the plant was found to be active with a bactericidal effect for *E. coli* and bacteriostatic effect for *Shigella sp*. Chemical screening revealed the presence of tannins, flavonoids, the power and quinones. These results confirm the use of this plant to treat some cases of infections observed in the traditional workplace.

KEYWORDS: *Manilkara mabokeensis*, medicinal plants, screening chemical and antibacterial activity.

RÉSUMÉ: Cette étude réalisée sur l'extrait méthanolique des écorces de *Malnikara mabokeensis* dont l'objectif était de doser les familles chimiques et d'évaluer l'activité antimicrobienne sur les souches de *Staphylococcus aureus*, de *Shigella sp* et de *Escherichia coli*. Les deux méthodes d'antibiogramme (dilution et diffusion) ont été utilisées. La méthode de diffusion en milieu solide (Muller Hinton), avait induit des diamètres d'inhibition de croissance de 20mm sur *E. coli* et *Shigella sp*. Par contre, la souche de *Staphylococcus aureus* s'est multiplié autour de disque d'extrait de la plante. Pour la méthode de dilution, la concentration minimale inhibitrice a été de 0,07 pour *E. coli* et 0,09 pour *S. sp*. Par conséquent l'extrait de la plante s'est révélé actif avec un effet bactéricide pour *E. coli* et un effet bactériostatique pour *S. sp*. Le screening chimique a révélé la présence des tanins, des flavonoïdes, des saponosides et des quinones. Ces résultats confirment l'utilisation de cette plante pour le traitement de quelques cas d'infections observées en milieu traditionnel.

MOTS-CLEFS: *Malnikara mabokeensis*, plantes médicinales, screening chimique et activité antibactérienne.

1 INTRODUCTION

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir certaines pathologies infectieuses chez l'homme. Elles sont depuis une source habituelle de remèdes sous forme de préparations traditionnelles ou de principes actifs purs. Les produits naturels provenant des plantes offrent une nouvelle source d'activités biologiques qui ont un grand impact sur la maladie et la santé humaine.

En Afrique la majorité de la population a recours à la médecine traditionnelle pour leur besoin de santé primaire [1]. En République Centrafricaine, la médecine et la pharmacopée traditionnelle sont, en majeure partie, basées sur l'utilisation des plantes médicinales. Cependant, en tant que source de médicaments, les plantes restent encore sous exploitées. La majorité des plantes n'ont pas encore fait l'objet d'évaluations biologiques et chimiques approfondies.

Les antibiotiques depuis leurs apparitions sont restés le moyen privilégié de lutte contre ces infections bactériennes. En République Centrafricaine comme dans les autres pays en voie de développement, les maladies infectieuses d'origine bactériennes et parasitaires constituent un problème de santé publique à cause de leur fréquence et leur gravité. Pour lutter contre ces agressions microbiennes, les chercheurs du monde scientifique ont découvert de nombreux traitements, les antibiotiques pour soulager les patients [2].

Depuis leur apparition, les antibiotiques sont restés le moyen privilégié de lutte contre les infections bactériennes. Parmi ces nombreux antibiotiques les bêta-lactamines sont à l'heure actuelle les plus utilisées dans le monde entier et plus particulièrement dans les pays en voie de développement comme la République Centrafricaine. Elles le sont à un tel degré du fait de leur large spectre d'action, leur innocuité, leur efficacité et surtout leurs faibles coûts [3]. Cependant, du fait d'une utilisation anarchique, inadéquate et abusive des antibiotiques en santé humaine, on assiste aujourd'hui à l'émergence de bactéries multi-résistantes. De nombreux cas de multi-résistance ont été rapportés par la côte d'Ivoire et d'autres pays d'Afrique subsaharienne [4, 5].

Les inquiétudes liées aux développements des nouvelles souches bactériennes résistantes aux antibiotiques ont conduit à la recherche des nouvelles molécules bioactives. C'est dans ce contexte que cette étude a été menée, afin d'évaluer l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique des écorces de *Manilkara mabokeensis* (*M. mabokeensis*), plante utilisée dans la pharmacopée traditionnelle en République Centrafricaine.

2 MATERIEL ET METHODES

2.1 MATERIEL UTILISE

2.1.1 MATERIEL VEGETAL

Les écorces de *M. mabokeensis* ont été récoltées le 24 Mars 2018 à Boukoko dans la Lobaye en République Centrafricaine. L'échantillon a été séché à l'air libre au laboratoire et à température ambiante.



Fig. 1. Les feuilles et les écorces de *Manilkara mabokeensis*

2.1.2 MATERIEL BACTERIEN

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude ont été reçues de l'unité de Bactériologie au Laboratoire National de Biologie Clinique et de Santé Publique de Bangui. Ces souches ont été isolées à partir des selles des patients pour *Escherichia coli* (*E. coli*) et *Shigella sp* des urines des patients pour *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*).

2.2 METHODE

2.2.1 PREPARATION DE L'EXTRAIT VEGETAL

Les écorces sont séchées à la température ambiante. 15g des poudres d'écorces de la plante sont mélangées avec 50mL d'éther de pétrole. L'ensemble est placé sous agitation pendant 4 heures sans chauffage. La solution est filtrée et les résidus après filtration sont utilisés pour les extractions successives avec les autres solvants. Ceci respectivement dans l'ordre de polarité croissante de solvants utilisés (éther de pétrole<dichlorométhane<acétate d'éthyle<méthanol). La méthode de Bekir et al [6], est utilisée avec modification, afin d'extraire le maximum de composés. L'extrait méthanolique est utilisé pour les analyses phytochimiques et les activités biologiques.

2.2.2 SCREENING PHYTOCHIMIQUE

Les méthodes standards étaient utilisées avec modifications pour rechercher les familles chimiques. L'extrait a été testé qualitativement pour la présence des constituants chimiques comme les tanins, les saponosides, les flavonoïdes, les stéroïdes et les quinones [7, 8].

2.2.3 ACTIVITÉS ANTIBACTÉRIENNES

2.2.3.1 TESTE DE SENSIBILITÉ DE L'EXTRAIT VÉGÉTAL, MÉTHODE DE DIFFUSION

Nous avons pour ce teste utilisé la méthode de Toty [9] avec modification. Les disques de 4mm de diamètre étaient découpés puis déposés dans une boîte de pétri et stérilisés au four-Pasteur. Ces disques stérilisés étaient ensuite imbibés avec des solutions de l'extrait méthanolique de *M. mabokeensis* de différentes concentrations variant de 1,5; 1 et 0,5 mg/mL pendant 24 h. Des suspensions bactériennes ont été faites avec des souches bactériennes en phase exponentielle de croissance pour obtenir une concentration correspondante à 0.5 Mac farland standard. Concernant le milieu de culture, elle est préparée par inondation (Muller Hinton) suivi d'élimination du surnageant. Après une période de 10 minutes, les disques imprégnés de l'extrait méthanolique ont été déposés à la surface du milieu gélosé (la distance entre un disque et le rebord de la boîte = 15mm). Le contenu de la boîte de Pétri est incubée à 37°C pendant 24 h. La présence ou l'absence d'une zone d'inhibition fournit des informations sur l'activité antibactérienne de l'extrait vis-à-vis de chacune des souches microbiennes utilisées [10, 11]. Trois disques d'antibiotique ont été utilisés comme références [12].

2.2.3.2 TESTE DE SENSIBILITÉ DE L'EXTRAIT VÉGÉTAL, MÉTHODE DE DILUTION

PRÉPARATION DE L'INOCULUM

L'inoculum bactérien a été préparé à partir de colonies de moins de 24 h en bouillon Mueller Hinton (BMH). Un volume de suspension bactérienne de 0,1mL a été prélevé respectivement pour les souches de *E. coli et Shigella sp* et 1mL pour celles des souches de *S. aureus*. Ces suspensions ont été ajoutées à 10mL de BMH stérile dans des différents tubes pour chacune de ces germes. Cette suspension bactérienne réalisée est évaluée à environ 10^6 cellules/mL et constitue la dilution 10^0 ou le l'inoculum pur. La numération de l'inoculum a été réalisée selon la méthode de Toty et al [9].

PRÉPARATION DE LA GAMME DE CONCENTRATION DES EXTRAITS VÉGÉTAUX

A partir d'une solution d'extrait méthanolique de *M. mabokeensis* à 1,5mg/mL, nous avons obtenu deux solutions filles à 1 et 0,5mg/mL

DILUTION

La méthode de Toty [9] était utilisée avec modification. Quatre tubes à hémolyse contiennent chacun un volume de 1mL de l'inoculum pur. Ensuite, nous avons ajouté dans les 3 premiers tubes à hémolyse, 1mL d'extrait végétal des concentrations 1,5; 1 et 0,5mg/mL respectivement. Le 4^{ème} tube, qui a servi de témoin de croissance, a reçu 1mL de BMH stérile. Par conséquent, la concentration dans les tubes a été réduite de moitié du fait de la dilution volume/volume ainsi réalisée. Ces tubes ont été incubés à 37 °C pendant 24 h.

Pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et celle de la concentration minimale bactéricide (CMB), la méthode de Byumanine et al [10] était appliquée avec modification.

2.3 ANALYSES DES DONNÉES

Les résultats ont été traités à l'aide du logiciel Excel Version 2007 et Stata version 1,4. Certains résultats ont été exprimés en pourcentage.

3 RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 RENDEMENT

Les rendements des extraits varient de 0,11 à 21,75%. L'extrait d'éther de pétrole, de chloroforme et d'acétate d'éthyle ont un rendement similaire. Nous notons que celui de l'extrait méthanolique qui est de 21,75% est plus élevé que les trois autres extraits (Figure 2). Les variations de rendements des extractions peuvent se justifier par l'effet de solvant et la nature des composés.

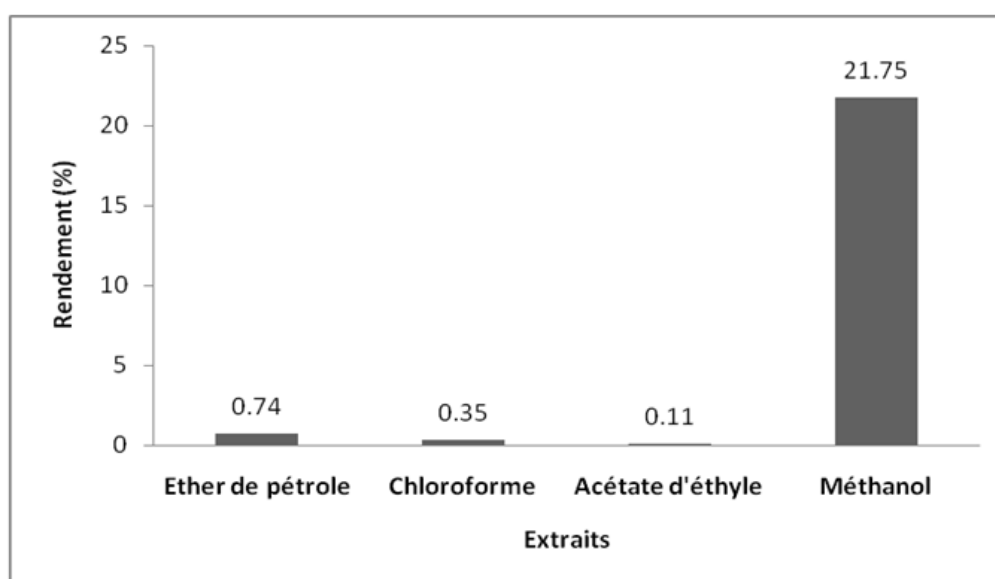


Fig. 2. Rendements d'extraction d'extrait d'écorces de *Manilkara mabokeensis*

3.2 SCREENING PHYTOCHIMIQUE

Les résultats de screening chimique ont révélé la présence des grands groupes de familles chimiques dans les extraits acétate d'éthyle et méthanol (Figure 3). Il s'agit des tannins, des flavonoïdes, des saponosides et des quinones (Tableau 1), à des proportions diverses. Cependant, on note l'absence de ces composés dans l'extrait d'éther de pétrole et de chloroforme. Aucune étude n'a été menée pour mettre en évidence la présence de ces familles chimie.



Fig. 3. Tests de coloration des extraits de *Manilkara mabokeensis*

Tableau 1. Résultat du screening phyto-chimique

Principe actif	Extraits des écorces de <i>Manilkara mabokeensis</i>			
	Ether de pétrole	Chloroforme	Acétate d'éthyle	Méthanol
Flavonoïdes	-	-	++	+++
Stéroïdes	++	-	-	-
Tannins	-	-	+	+++
Saponosides	-	-	++	+++
Quinones	-	-	++	+++

Légende:

+++ : Très abondant ;

++ : Présence ;

+ : Trace ;

- : Négatif.

3.3 RÉSULTAT DU TEST ANTIBACTÉRIEN

3.3.1 TEST DE SENSIBILITÉ

Les résultats consignés dans le tableau 2 ont montré que l'extrait au méthanol de *M. mabokeensis* a une bonne activité inhibitrice sur les souches bactériennes avec des diamètres d'inhibition supérieure ou égale à 10mm selon cette méthode de dilution. Les deux solutions de l'extrait méthanol de concentrations 1,5 et 1 mg/mL ont inhibé de manière similaire les souches de *E. coli* et de *Shigella sp* avec une zone d'inhibition de 20 mm (Tableau 2). Cependant, la souche de *S. aureus* a émis une résistance vis-à-vis de l'extrait méthanol, par conséquent il n'y avait pas de zone d'inhibition.

Les travaux menés *in vitro* par Okombe et al [13] ont mis en évidence l'efficacité des tanins contre les parasites intestinaux. Ce qui confère aux tannins les propriétés de lutter contre les infections bactériennes. L'utilisation des écorces de *M. mabokeensis* contre la diarrhée parasitaire pourrait être justifiée.

Tableau 2. Diamètre d'inhibition des disques imprégnés de l'extrait de *M. mabokeensis* des différentes souches bactériennes

Extrait et médicament témoins	Concentration	Diamètre de zone d'inhibition (mm)		
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Eischerichia coli</i>	<i>Shigella sp</i>
Extrait méthanol	1,5mg/mL	0	20	20
	1mg/mL	0	20	20
	0,5mg/mL	0	0	0
Kanamicyne (KAN)	30µg	25	NR	NR
Cefotaxime (CTX)	30µg	NR	25	25

NR : non réalisé

Le rapport CMB/CMI (Tableau 3) a donné une valeur de 1,22 pour *E. coli* (effet bactéricide) et une valeur de 2,14 pour *Shigella sp* (effet bactériostatique). L'extrait au méthanol de *M. mabokeensis* s'est révélé le plus actif sur *E. coli* et *Shigella sp*, cela pourrait expliquer l'utilisation de cette plante par la population dans le cadre des troubles digestifs, des douleurs abdominales et des diarrhées parasitaires. Les germes tels que *E. coli* et *Shigella sp* sont des entérobactéries qui sont souvent à l'origine des gastroentérites et quelques maladies urogénitales. Cet extrait végétal n'a aucun effet sur la souche de *S. aureus*, cela pourrait s'expliquer pour le fait qu'il existe des antibiotiques qui agissent sur les bactéries à Gram négatif et d'autres sur des bactéries à Gram positif (Gram positif).

Comparativement à d'autres études réalisées en Côte d'Ivoire et au Cameroun sur quelques plantes médicinales testés sur quelques souches bactériennes, telles que l'extrait de *Maesopsis eminii* qui par contre avait présenté une bonne action sur les souches *S. aureus* [14]. Tandis que les souches de *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa* ont présenté une résistance vis-à-vis de cet extrait [10]. La littérature ne fait mention d'aucune étude antimicrobienne sur cette plante.

Tableau 3. Paramètres antibactériens de l'extrait méthanol

Germes	CMI (mg/mL)	CMB (mg/mL)	CMB/CMI	Extrait végétal
<i>E. coli</i>	0,09	0,11	1,22	<i>Manilkara mabokeensis</i>
<i>Shigella sp</i>	0,07	0,15	2,14	<i>Manilkara mabokeensis</i>
<i>S. aureus</i>	0	0	0	<i>Manilkara mabokeensis</i>

L'utilisation de *M. mabokeensis* dans la pharmacopée traditionnelle centrafricaine pourrait se justifier par la présence de certaines molécules bioactives.

4 CONCLUSION

Cette étude menée au Laboratoire d'Architecture, d'Analyse et Réactivité des Substances Naturelles (LAARSN) et au Laboratoire National de Biologie Clinique et de Santé Publique a permis de mettre en évidence les presences de familles chimiques telles que les flavonoides, les tanins, les saponosides et les quinones et d'évaluer l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de *M. mabokeensis* sur les souches identifiées. L'activité biologique, menée montre une bonne activité antimicrobienne de l'extrait acétate éthylique et méthanolique sur *E. coli* et *S. sp*. L'extrait méthanolique a un effet bactéricide sur *E. coli* et effet bactériostatique sur *Shigella sp*, Par contre la souche de *S. aureus* résiste à cet extrait végétal. Cette étude permet de justifier l'utilisation traditionnelle dans le traitement des infections microbiennes en République Centrafricaine.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Noë Landry M'BOUANA for its participation in the completion of this work.

REFERENCES

- [1] OMS, Stratégie de l'OMS pour la médecine Traditionnelle pour 2002-2005, 2002.
- [2] J. F. Yala, V. Ntsameso-Mve-Mba, Y. Azzizet Issembe, N. A. Lepengue, A. Souza, "Évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d'Eryngium foetidum récolté dans la ville de Franceville," *Journal of Applied Biosciences*. 103, pp. 9886– 9893, 2016.
- [3] D. M. Livermore and D. F. J. Brown, "Detection of β -lactamase-mediated resistance," *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48 (1), pp. 59–64, 2001.
- [4] Guessennnd N., Gbonon V.C, Tiekoura K. B., Kakou-N'douba A., Ouattara D.N., Boni-Cisse C., Dosso M., Évolution 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, p.7, 2009.
- [5] J. Davies, D. Davies, "Origins and Evolution of Antibiotic Resistance," *Microbiology and Molecular Review*. 74(3), pp. 417-433, 2010.
- [6] J. Bekir, M. Mars, J. P. Souchard, J. Bouajila, "Assessment of antioxidant, anti-inflammatory, anti-cholinesterase and cytotoxic activities of pomegranate (*Punica granatum*) leave," *Food Chem Toxicol* 55, pp. 470–475, 2013.
- [7] J. Parekh, S. Chanda, "In vitro Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of Some Indian Medicinal Plants," *Turk J Biol*, 31, pp. 53-58, 2017.
- [8] Trease, G. E., Evans, W. C., *Pharmacognosy*, 15th Ed. Saunders: pp. 214-393, 2002.
- [9] A. A. Toty, N. Guessennnd, C. Bahi., A. M. Kra, D. A. Otokore et M. Dosso "Évaluation *in-vitro* de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Harungana madagascariensis* sur la croissance de souches multi-résistantes," *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 82, pp. 12–21, 2013.
- [10] J. R. Byumanine, Ntabaza, D. Kwibe Mayunga, M. Bwami Musombwa, M. T. Flesi Nshobole et D. Kaishusha Mboni, "Screening phytochimique et évaluation de l'activité anti-diarrhéique des extraits aqueux et éthanoïques de *leucas martinisensis*: une plante médicinale du bush," *International Journal of Innovation and Scientific Research*, Vol. 34 (2), pp. 70-78, 2018.
- [11] Faucher, J. L., Avril, J. L., *Bactériologie générale et médicale*. Tome 1, Ellipses. Ed, Paris, p. 214, 2002.
- [12] CASFM, Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, recommandations 2010, Paris (France), p.50, 2010.
- [13] V. E. Okombe, T. Mbumba, C. S. Pongombo, "Efficacité antiparasitaire de la poudre de graines de courge (*Cucurbita moschata* L.) sur les helminthes gastro-intestinaux de la chèvre locale élevée à Lubumbashi en République Démocratique du Congo," *Int. J. Biol. Chem. Sci*, 7(3), pp. 953-960, 2013.
- [14] K. Ananil, J. B. Hudson, C. Souzal, K. Akpaganal, G. H. N. Towe, J. T. Amason and Gbeassor "Investigation of medicinal plants of TOGO for antiviral and antimicrobial activities," *Phannaceutical Biology* 38 (1), pp. 40-45. 2000.