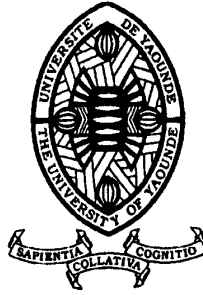


REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I
ECOLE NORMALE SUPERIEURE
DEPARTEMENT DE SCIENCES
BIOLOGIQUES



REPUBLIC OF CAMEROUN

Peace – Work – Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I
HIGHER TEACHER TRAINING COLLEGE
DEPARTMENT OF BIOLOGICAL
SCIENCE

**ACTIVITES ANTIBACTERIENNES DES
COMBINAISONS D'EXTRAITS BRUTS ET DES
FRACTIONS ACTIVES DE *Dissotis multiflora* Triana
(Melastomataceae) ET *Paullinia pinnata* (Sapindaceae)**

Mémoire présenté et soutenu en vue de l'obtention du Diplôme de Professeur
de l'Enseignement Secondaire, 2^e
Grade (D.I.P.E.S. II)

Par :

N'TOUMA NYAMSY Marat Ingrid
Licencié ès -
science

Sous la direction
Pr.Niemenak Nicolas
Professeur

Année Académique
2015-2016





AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire de Yaoundé I. Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : biblio.centrale.uyi@gmail.com

WARNING

This document is the fruit of an intense hard work defended and accepted before a jury and made available to the entire University of Yaounde I community. All intellectual property rights are reserved to the author. This implies proper citation and referencing when using this document.

On the other hand, any unlawful act, plagiarism, unauthorized duplication will lead to Penal pursuits.

Contact: biblio.centrale.uyi@gmail.com

DEDICACE

À mes parents, Mr et Mme NYAMSY

REMERCIEMENTS

En préambule à ce mémoire, je souhaite adresser mes remerciements les plus sincères à **L'Eternel DIEU Tout Puissant**, pour sa protection, pour m'avoir donné la santé, la force.

La réalisation de ce travail n'a été possible que grâce à la générosité et au soutien indéfectible de nombreuses personnes. Je pense notamment :

Au Professeur Maximilienne NYEGUE, qui en tant que mon Encadreur, s'est toujours montrée à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Au Professeur Gabriel ANDJIGA, Directeur de l'Ecole Normale Supérieure de Yaoundé (ENS) pour tout ce qu'il a mis sur pied pour nous favoriser une bonne formation au sein de son école.

Au Professeur Bonaventure SONKE, Chef de Département des sciences biologiques, pour le confort académique, son écoute et ses conseils qu'il nous a montré durant notre formation.

Au Professeur Nicolas NIEMENAK, pour m'avoir orienté dans le choix de l'encadreur, pour ses qualités d'enseignant, sa disponibilité son écoute et ses conseils et son appui dans l'élaboration de ce travail.

A Tous les Enseignants du Département des Sciences Biologiques de l'ENS pour leur engagement, leurs conseils, leur disponibilité et leur collaboration ayant favorisé un bon déroulement des enseignements tout au long de la formation.

A mes enfants bien aimées Onana Asseguena Stéphanie Maeva et Moubea Yongo Cassandra Davina pour leur affection et tous les sacrifices consentis durant la réalisation de ce travail, trouvez ici toute ma reconnaissance et ma gratitude.

A mes frères et sœur à savoir : **Mathurin, Hervé, Léopold, Fred et Liliane** pour leur soutien à tous les niveaux.

Au regretté **MOUBEA Michel** pour son affection, ses conseils, son attention et sa disponibilité qui est parti très tôt sans avoir vu l'aboutissement de ce travail.

A mes aînés de laboratoire à l'instar de **M. AFAGNIGNI Alian ; M. VOUDI Steve et Mlle MONI NDEDI Esther** ; qui ont assuré l'encadrement technique de ce travail.

A tous mes amis **Mlle. OMONO; Mlle MBANG MANI ; Mlle KENFACK; Mlle NYANGONO ; M.MILAWÉ ; M.KANA; et M. PIEUME** pour tous leur réconfort, conseils.

TABLE DES MATIERES

DEDICACE.....	i
REMERCIEMENTS	ii
TABLE DES MATIERES	iii
RESUME.....	vii
ABSTRACT	viii
LISTE DES ABEVATIONS	ix
LISTE DES FIGURES.....	xi
LISTE DES TABLEAUX.....	xii
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE.....	3
I.1. Généralités sur les infections bactériennes.....	4
I.1.1. Réservoir ou habitat des agents infectieux	5
I.1.2. Transmission de l'agent infectieux	5
I.1.3. Traitements utilisés pour les infections	5
I.2. Généralités sur les bactéries.	6
I.2.1. Structure de la bactérie	6
I.2.1.1. Forme végétative.....	6
I.2.1.2. Forme sporulée.....	6
I.2.2. Paroi bactérienne et résistance aux antimicrobiens	7
I.3. Généralités sur les souches bactériennes utilisées.....	9
I.3.1. <i>Bacillus cereus</i>	9
I.3.1.1. Caractères bactériologiques	9
I.3.1.2. Habitat et pouvoir pathogène	9

I.3.2. <i>Escherichia coli</i>	10
I.3.2.1. Caractères bactériologiques	10
I.3.2.2. Habitat et pouvoir pathogène	10
I.3.3. <i>Salmonella thyphi</i>	10
I.3.3.1. Caractères bactériologiques	10
I.3.4. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	11
I.3.4.1. Caractères bactériologiques	11
I.3.4.2. Habitat et pouvoir pathogène	12
I.3.5.2. Habitat et pouvoir pathogène	12
I.3.6. <i>Shigelleflexneri</i>	13
I.3.6.1. Caractères biologiques	13
I.3.6.2. Habitat et pouvoir pathogène	13
I.4. Généralités sur les métabolites secondaires	14
I.4.1. Composés phénoliques	14
I.4.1.1. Phénols simples et les acides phénoliques	14
I.4.1.2. Flavonoïdes	15
I.4.1.3. Tannins	15
I.4.1.4. Quinones	16
I.4.2. Alcaloïdes	17
I.4.3. Terpénoïdes et huiles essentielles	17
I.5. Généralités sur l'étude antibactérienne	18
I.5.1. Méthodes qualitatives	19
I.5.1.1. Méthodes de diffusion sur milieu solide	19
I.5.1.2. Méthode autobiographique	19
I.5.2. Méthodes quantitatives	20
I.6. Généralités sur les plantes utilisées	20

I.6.1. <i>Dissotis multiflora</i> Triana	20
I.6.2. <i>Paullinia pinnata</i>	22
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	24
II.1. Matériel	25
II.1.1. Matériel Végétal	25
II.1.2. Microorganismes utilisés	26
II.1.3. Milieux de culture	26
II.1.4. Agents microbiens de référence	26
II.2. Méthodes	26
II.2.1. Préparation des extraits de <i>Dissotis multiflora</i> Triana et de <i>Paullinia pinnata</i> Linn	26
II. 2.2. Fractionnement des extraits bruts	27
II.2.3. Etude phytochimique des extraits bruts	27
II.2.4. Évaluation antibactérienne des fractions de plantes	29
II.2.4 .1. Renouvellement des souches bactériennes	29
II.2.4.2. Préparation de l'inoculum	29
II.2.4.3. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) des fractions de ces plantes par la méthode de micro dilution en milieu liquide (Eloff, 1998)	30
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	32
III.1. RÉSULTATS	33
III.1.1. Rendement d'extraction des extraits bruts	33
III-1-2- Screening phytochimique	33
III.1.3. Essais antibactériens des extraits bruts, fractions et combinaisons	34
III.1.3.1. Essais antibactérien des extraits bruts	34
III.1.3.2. Essais antibactérien des fractions actives	36
III.3.3. Essais antibactérien des combinaisons	38

III.3.3.1. Résultats des tests de combinaisons des extraits bruts de <i>D. multiflora</i> et de <i>P. pinnata</i>	38
III.3.3.2.1. Résultats des tests de combinaisons des fractions actives F ₁ A/M (7/3) de <i>D. multiflora</i> et F ₂ A/M (7/3) de <i>P. pinnata</i>	40
III.2. Discussion:.....	45
CHAPITRE IV : IMPLICATION DIDACTIQUE	50
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	61
BIBLIOGRAPHIES	63
ANNEXES	75
ANNEXE I : Composition des milieux de culture	76
ANNEXE II : Equipements	76

RESUME

Dissotis multiflora et *Paullinia pinnata* sont deux plantes médicinales utilisées dans la région de l'Ouest Cameroun pour traiter les maladies infectieuses. Ce travail a été entrepris afin d'évaluer l'activité antibactérienne des combinaisons d'extraits éthanoliques et des fractions actives de feuilles de *D. multiflora* et de *P. pinnata* sur six souches bactériennes pathogènes dont à cinq Gram négatif (*Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri* et *Proteus mirabilis*) et un Gram positif (*Bacillus cereus*). Le screening phytochimique a été réalisé selon les méthodes standards. Les méthodes de diffusion en puits et de microdilution ont été utilisées pour l'évaluation des activités antibactériennes. Le criblage phytochimique a révélé la présence des alcaloïdes, des phénols, des tanins, des flavonoïdes, des saponines, des anthraquinones, des anthocyanes et des stéroïdes. Concernant les extraits bruts, les diamètres d'inhibition varient de 10.33 ± 1.2 (*K. pneumoniae*) à 21.5 ± 0.4 mm (*S. typhi*) pour *D. multiflora* et de 8.33 ± 1.24 (*K. pneumoniae*) à 13.67 ± 1.64 mm (*S. typhi*) pour *P. pinnata*. Les CMI varient de 97 (*S. typhi*) à 781 µg/ml (*B. cereus*) pour *D. multiflora* et de 390 (*P. mirabilis* et *K. pneumoniae*) à 781 µg/ml (*E. coli*, *B. cereus*, *S. flexneri* et *S. typhi*). Concernant les fractions actives, les CMI varient de 48 µg/ml (*S. typhi*) à 390,62 µg/ml (*P. mirabilis*) et de 97 (*K. Pneumoniae* et *B. cereus*) à 390,62 µg/ml (*P. mirabilis*) respectivement pour les fractions F₁A/M (7/3) et F₁A/M (3/7) de *D. multiflora*. Tandis que les CMI varient de 97 (*B. cereus*) à 390,62 µg/ml (*E. coli*, *S. flexneri*, *S. typhi* et *P. mirabilis*) F₂A/M (7/3) de *P. pinnata*. Quant aux combinaisons des deux extraits bruts les combinaisons 5 :5 et 6:4 ont présenté un effet synergique sur *E. coli* et *B. cereus* tandis qu'un effet d'indifférence est noté sur *P. mirabilis* et *S. typhi* avec un antagonisme sur *K. Pneumoniae* et *S. flexneri*. Concernant les fractions, la combinaison 6:4 des fractions F₁A/M (7/3) / F₂A/M (7/3) de *D. multiflora* et *P. pinnata* a présenté une synergie sur toutes les souches testées à l'exception de *S. typhi* où on a noté un effet indifférent tandis que les combinaisons F₁A/M (3/7) et F₂A/M(7/3) de *D. multiflora* et *P. pinnata* ont un effet antagoniste sur *B. cereus*, un effet synergique sur *P. mirabilis* et un effet indifférent sur *S. flexneri*. A l'exception des combinaisons 4 :6 et 8 :2 toutes les autres ont présenté un effet synergique sur *K. pneumoniae*. Ces résultats justifient l'usage traditionnel de ces plantes dans le traitement des maladies infectieuses.

Mots clés : *Dissotis multiflora* Triana, *Paullinia pinnata*, métabolites secondaires, activités antibactériennes, combinaisons des extraits bruts, fractions actives

ABSTRACT

Dissotis multiflora Triana (*Mélastomaceae*) and *Paullinia pinnata* (*Sapindaceae*) are two medicinal plants used in the West Region of Cameroon for the treatment of infectious diseases without scientific support. This work was undertaken to evaluate the antibacterial activity for the combination of the ethanolic extract and the active fractions of leaves of *Dissotis multiflora* and *Paullinia pinnata* on six pathogenic bacterial strains among which were five in Gram-negative bacteria (*Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri* and *Proteus mirabilis*) and one Gram positive (*Bacillus cereus*). A phytochemical screening was performed according to the standard methods. The well-variant of the diffusion test and microdilution assay were used for the evaluation of antibacterial activities. Qualitative phytochemical analysis reveals the presence of alkaloids, polyphenols, saponins, alkaloids, anthraquinones, anthocyanes, tanins and steroids. The susceptibility test on solid medium the two crude extracts have inhibited all the strains with the diameter ranged from 8.33 ± 1.24 (*K. pneumoniae*) ranged to 13.67 ± 1.64 mm (*S. typhi*) from *P. pinnata* and 10.33 ± 1.2 (*K. pneumoniae*) ranged to 21.5 ± 0.4 mm (*S. typhi*) from *D. multiflora*. Furthermore the active fractions show that the CMI ranged to (48 µg/ml) from *S. typhi* and (390, 62 µg/ml) from *P. mirabilis* respectively from the fractions F₁A/M (7/3) and F₁A/M (3/7) for *D. multiflora*. So the CMI ranged to 97 (*B. cereus*) from 390, 62 µg/ml (*E. coli*, *S. flexneri*, *S. typhi* and *P. mirabilis*) F₂A/M (7/3) to *P. pinnata*. About the combinations of the two crude extracts the combination 5:5 and 6:4 have presented synergic effect on *E. coli* and *B. cereus* so an indifferent effect has noted to *P. mirabilis* and *S. typhi* with an antagonism on *K. pneumoniae* and *S. flexneri*. About the fractions the combination 6:4 from the fractions F₁A/M (7/3) / F₂A/M (7/3) the *D. multiflora* and *P. pinnata* have presented a synergic on all the strains tested in exception of *S. typhi* where had noted an indifferent effect so that the combinations F₁A/M (3/7) and F₂A/M (7/3) the *D. multiflora* and *P. pinnata* have an antagonist effect on *B. cereus*, a synergic effect on *P. mirabilis* and indifferent effect on *S. flexneri*. In exception, the combinations 4:6 and 8:2 all of another have presented a synergic effect on *K. pneumoniae*. These results confirm the traditional utilisation from these plants in the treatment of the infectious diseases.

Keywords: *Dissotis multiflora* Triana, *Paullinia pinnata*, secondary metabolites, antibacterial activity, combinations of crude extracts, active fractions.

LISTE DES ABEVATIONS

A:	Additif
AE-Me OH :	Acétate d'éthyle-méthanol
AN:	Antagoniste
<i>B. cereus :</i>	<i>Bacillus cereus</i>
CCM :	Chromatographie sur couche mince
CMB :	Concentration minimale bactéricide
CMI :	Concentration minimale inhibitrice
<i>E. coli :</i>	<i>Escherichia coli</i>
E1:	<i>D. multiflora</i>
E2:	<i>P. pinnata</i>
F₁A/M (7/3) :	Fraction acétate d'éthyle/méthanol (7/3) de <i>D. multiflora</i>
F₁A/M (3/7) :	Fraction acétate d'éthyle/méthanol (3/7) de <i>D. multiflora</i>
F₂A/M (7/3) :	Fraction acétate d'éthyle/méthanol (7/3) de <i>P. pinnata</i>
FIC:	concentrations inhibitrices fractionnelles
Hex-AE:	Hexane-acétate d'éthyle
I :	Indifférent
<i>K. pneumonia :</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>
<i>P. mirabilis :</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
S :	synergique

S. flexneri :

Shigella flexneri

S. typhi :

Salmonella typhi

TTC :

2, 3,5-Triphenyl Tetrazolium Chloride

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure d'une cellule bactérienne typique	6
Figure 2 : Structure de la paroi bactérienne Gram+	8
Figure 3 : Structure de la paroi bactérienne Gram-	8
Figure 4 : <i>D.multiflora</i>	25
Figure 5 : <i>P.pinnata</i>	25
Figure 6: Chromatographie flash des extraits éthanoliques de <i>D. multiflora</i> et <i>P. pinnata</i>	27

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Rendements d'extraction des extraits bruts.....	33
Tableau 2: Résultats du criblage phytochimique des extraits de <i>D. multiflora</i> et <i>P. pinnata</i>	33
Tableau 3: Diamètres des zones d'inhibition des extraits éthanoliques de <i>D. multiflora</i> et de <i>P. pinnata</i>	34
Tableau 4: Concentration minimale inhibitrice (CMI), bactéricide (CMB) des extraits éthanoliques de <i>D. multiflora</i> et de <i>P. pinnata</i>	35
Tableau 5: Diamètres des zones d'inhibition des fractions actives de <i>D. multiflora</i> et de <i>P. pinnata</i>	36
Tableau 6: Concentration minimale inhibitrice (CMI), bactéricide (CMB) des fractions actives de <i>D. multiflora</i> et de <i>P. pinnata</i>	38
Tableau 7: Résultats des concentrations minimales inhibitrices des combinaisons d'extraits bruts de <i>D. multiflora</i> et <i>P. pinnata</i>	39
Tableau 8: Résultats des concentrations inhibitrices fractionnelles (FIC) des combinaisons d'extraits bruts de <i>D. multiflora</i> et <i>P. pinnata</i>	39
Tableau 9: Concentration minimale inhibitrice des combinaisons des fractions F ₁ A/M (7/3) / F ₂ A/M (7/3) de <i>D. multiflora</i> et <i>P. pinnata</i>	41
Tableau 10: Résultats des concentrations inhibitrices fractionnelle (FIC) des combinaisons des fractions F ₁ A/M (7/3) et F ₂ A/M (7/3) de <i>D. multiflora</i> et <i>P. pinnata</i>	41
Tableau 11: Concentration minimale inhibitrice des combinaisons F ₁ A/M (3/7) et F ₂ A/M(7/3)	43
Tableau 12: Résultats des concentrations inhibitrices fractionnelle (FIC) des combinaisons des fractions F ₁ A/M (3/7) et F ₂ A/M (7/3) de <i>D. multiflora</i> et <i>P. pinnata</i>	43

INTRODUCTION

Les maladies infectieuses sont responsables de 25 % des décès dans le monde. Elles sont considérées comme un véritable problème de santé publique à cause de la non disponibilité des vaccins ou de la limite de l'antibiothérapie. La plupart des antibiotiques courants ont considérablement des limites à cause du faible spectre antimicrobien et des effets secondaires. Leur emploi excessif a induit la résistance clinique croissante des microorganismes auparavant sensibles aux antibiotiques (**Cos et al. 2006**). Face à l'émergence des souches bactériennes résistantes il y a une augmentation correspondante dans la demande universelle pour les antimicrobiens efficaces permettant de lutter contre les infections associées. Les difficultés rencontrées dans le combat contre ces maladies sont aggravées par la pauvreté qui sévit dans de nombreux pays. La misère des populations dénuées de tout y entretient des foyers infectieux difficiles à neutraliser pour des raisons à la fois scientifiques et économiques. Pour pallier à cela les populations du tiers monde surtout en Afrique ont recours à l'utilisation des plantes médicinales (phytothérapie) qui depuis des siècles sont utilisées par l'homme pour soulager et traiter les maladies avec différents extraits et formulations de plantes dont les produits dérivés sont utilisés pour leurs vertus médicinales (**Hema et al. 2009**). La recrudescence de la résistance des souches bactériennes est l'une des entraves au succès des traitements des maladies microbiennes (**Tepe et al. 2004**). Elle a augmenté la demande universelle pour la phytothérapie qui constitue aujourd'hui une part intégrale des soins primaires dans la plupart des pays (**Jules et al. 2011**) et la majorité de la population mondiale en dépend. Les stratégies courantes utilisées pour vaincre le problème global de résistance antimicrobienne incluent la recherche de nouvelles molécules antimicrobiennes à partir des plantes et dont l'usage permettra de contrôler les infections globales. De plus, les combinaisons thérapeutiques sont recommandées dans la prévention de l'émergence des résistances pour atteindre une grande efficacité dans le traitement des infections et autres maladies. Le mode d'action des combinaisons diffère significativement de celui du même médicament pris individuellement. Ainsi, la sélection d'une combinaison appropriée est cruciale et essentielle ce qui requiert la compréhension du potentiel d'interactions entre les extraits des plantes et l'agent antimicrobien. À cet effet, un travail préliminaire a été mené sur l'évaluation des activités antibactérienne et antioxydante de *D. multiflora* et *P. pinnata*, deux plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel des diarrhées à l'ouest Cameroun. Le criblage phytochimique des extraits bruts éthanoliques de ces deux plantes a révélé la

présence de nombreux métabolites secondaires (alcaloïdes, flavonoïdes, phénols totaux, tannins et stéroïdes). Les propriétés antibactérienne et antioxydante ont également été établies (Afagnigni *et al.* 2014 ; Afagnigni *et al.* 2016a ; Afagnigni *et al.* 2016b). De plus les tests anti diarrhéiques *in vivo* sur des modèles animaux ont révélé d'intéressants résultats et la toxicité sub-aiguë montre que les doses efficaces de *P. pinnata* et de *D. multiflora* sont non toxiques (Afagnigni *et al.* 2016c). Ces résultats encourageants nous ont permis de procéder au fractionnement des extraits bruts de ces deux plantes afin de pousser la recherche vers les molécules responsables de ces activités biologiques. Dans le but d'amplifier cette activité des combinaisons ont été faites entre ces deux plantes dans le traitement des maladies infectieuses pour mettre en évidence leurs différents effets (antagoniste, synergique, indifférent et additif) lorsque ces infections deviennent résistantes aux antibiotiques.

Dans l'optique d'apporter notre modeste contribution dans l'exploration de nouvelles sources de molécules antibactériennes issues des plantes médicinales, nous nous sommes proposés d'évaluer *in vitro* les activités antibactériennes des combinaisons d'extraits bruts et des fractions *Dissotis multiflora* Triana actives de et de *Paullinia pinnata* Linn.

Il s'agit plus spécifiquement de :

- réaliser le fractionnement des extraits éthanoliques de *Paullinia pinnata* Linn et *Dissotis multiflora* Triana ;
- évaluer l'activité antibactérienne des combinaisons d'extraits bruts et des fractions actives de *Paullinia pinnata* Linn et *Dissotis multiflora* Triana

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE

I.1.Généralités sur les infections bactériennes

➤ Définition

Une infection désigne la pénétration et/ou la multiplication d'un agent pathogène (bactérie) dans un organisme hôte, avec pour conséquence la rupture d'équilibre qui existe entre le germe et l'hôte (**Baron et al. 1986**). Ce déséquilibre provient, soit d'une diminution des défenses du sujet, soit d'un accroissement de virulence de germes.

➤ Agent infectieux

Il existe différents agents infectieux classés dans différentes catégories (familles).

Tous les microorganismes n'ont pas les mêmes capacités à provoquer des infections, certains étant pratiquement toujours associés à des manifestations cliniques (maladies) alors que d'autres ne provoquent qu'exceptionnellement des maladies (**Joly 2003**).

Un agent infectieux pathogène obligatoire est soit :

- Soit un microorganisme qui ne fait pas partie de notre flore normale et qui provoque une infection. Son identification est toujours pathologique, ce qui veut dire que sa présence provoque en règle générale des manifestations cliniques (exemple : le vibron cholérique) (**Hahn et al. 2003**) ;

- Un microorganisme pouvant faire partie de notre flore mais dont la présence dans certains sites entraîne en règle générale des manifestations cliniques (exemple : la bactérie de la méningite peut être retrouvée dans la gorge sans infection alors que sa présence dans le liquide céphalorachidien provoque toujours une méningite) (**Hahn et al. 2003**).

Un **agent infectieux pathogène occasionnel** est un micro-organisme qui peut faire partir de notre flore normale sans entraîner de manifestation clinique mais qui peut dans certaines circonstances être responsable de maladies (exemple : *Staphylocoque épidermidis* de la peau peut infecter occasionnellement une blessure) (**Hahn et al. 2003**).

Un **agent infectieux opportuniste** est un germe qui est habituellement peu agressif mais qui peut le devenir et provoquer des infections graves dans certaines circonstances, en particulier chez des patients présentant une altération des défenses immunitaires (exemple : *Pneumocystis carini* provoque des pneumonies chez les patients à VIH positif) (**Hahn et al. 2003**).

I.1.1. Réservoir ou habitat des agents infectieux

Les agents infectieux sont présents dans différents types de réservoirs : l'homme, l'animal et l'environnement (eau, air, surfaces).

Les réservoirs des microorganismes peuvent donc être :

- Endogènes pour les germes se trouvant chez le patient ;
- Exogènes pour les germes présents dans l'environnement du patient, **(Joly 2003)**.

I.1.2. Transmission de l'agent infectieux

Il existe différents modes de transmission :

- La transmission directe de la personne malade à la personne réceptive qui est soit un autre malade ou un personnel ;
- La transmission indirecte en passant par l'intermédiaire des supports contaminés (eau, nourriture, objets souillés, mains sales) ; des vecteurs (insectes), personnel médical. **(Heller 2008)**.

La voie de transmission dépend du germe. Les voies les plus fréquentes sont : cutanéomuqueuse (transmission de germes cutanés dans la bouche), orofécale (conditions d'hygiène non respectées), respiratoire (émission de micro-gouttelettes lors d'éternuement, de toux et réception de ces micro-gouttelettes lors de l'inspiration), sexuelle, parentérale (transmission de germes dans le sang lors de blessure, transfusion), par l'intermédiaire de vecteurs vivants (malaria transmise lors de piqûre de moustiques infectés), verticale (voie mère-enfant durant la grossesse) et digestive en mangeant des aliments contaminés (hépatite A), en contaminant les aliments ou sa cigarette par des mains sales (*Staphylocoques, Salmonelles*) **(Heller 2008)**.

I.1.3. Traitements utilisés pour les infections

Pour le traitement des infections on va utiliser les antibiotiques qui sont définis comme étant des substances d'origine naturelle, hémi-synthétique ou synthétique capables d'inhiber la croissance ou d'entraîner la mort des bactéries. Ils ont une activité sélective et spécifique liée à un mécanisme d'action précis **(Bryskier 1999)**. Ce sont les principales armes médicamenteuses les plus efficaces utilisées contre les infections bactériennes. On peut citer par exemple les fluoroquinolones, le cotrimoxazole, l'ampicilline, l'acide nalidixique, clavunalate, ticarcilline, céfalothine et céfamandole.

I.2. Généralités sur les bactéries.

Une bactérie ou *bacteria*, est un organisme vivant caractérisé par une absence de noyau et d'organites. Les bactéries les plus grosses mesurent plus de 2 μm et les plus petites mesurent 0,2 μm , mais il existe des « ultramicrobactéries », y compris en eau douce (**Hahn, 2003**). Les bactéries présentent de nombreuses formes : sphériques (coques), allongées ou en bâtonnets (bacilles), des formes plus ou moins spiralées. Les bactéries sont ubiquitaires et sont présentes dans tous les types de biotopes rencontrés sur terre. (**Fredrickson et al. 2004**).

I.2.1. Structure de la bactérie

I.2.1.1. Forme végétative

C'est la forme sous laquelle la bactérie croît, se multiplie et a un métabolisme hautement fonctionnel.

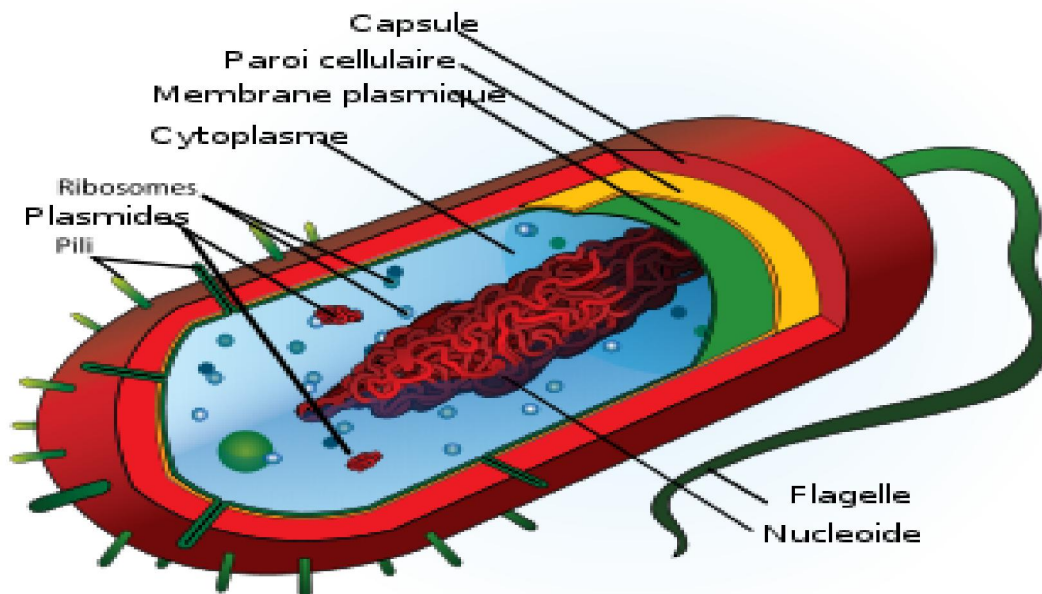


Figure 1: Structure d'une cellule bactérienne typique (**Berg et al. 2002**)

I.2.1.2. Forme sporulée

Quelques bactéries, Gram positif, comme *Bacillus*, *Clostridium*, *Sporohalobacter*, *Anaerobacter* et *Heliobacterium* peuvent fabriquer des endospores leur permettant de survivre

dans des conditions physiques et chimiques extrêmes, tels que des niveaux élevés de rayonnement UV, les rayons gamma, les détergents, les désinfectants, une forte chaleur ou pression et à la dessiccation(Nicholson *et al.* 2002).

I.2.2. Paroi bactérienne et résistance aux antimicrobiens

Les bactéries sont divisées en deux grands groupes en fonction de la composition de la paroi : les bactéries Gram + et les bactéries Gram –.

Chez les bactéries à Gram+, le peptidoglycane est très épais, associé à des protéines pariétales exposées et à des structures polyosidiques (acides lipoteichoïques, acides teichoïques) (**Figure 2**). Par contre chez les bactéries à Gram-, le peptidoglycane est très fin et associé à une enveloppe externe complexe définissant un espace périplasmique) (**Figure 3**). Cette membrane externe est une bicouche lipidique asymétrique hydrophobe constituée de phospholipides, de protéines (porines) et lipopolysaccharides (LPS). L'espace périplasmique est rempli d'enzymes qui dégradent les substances complexes pour qu'elles puissent traverser la membrane cytoplasmique, et inactivent les produits chimiques toxiques (antibiotiques, métaux lourds). La paroi donne à la bactérie sa forme et la protège contre l'éclatement sous l'effet de la très forte pression osmotique du cytosol. Le peptidoglycane assure la rigidité de la paroi. Il existe toutefois des bactéries sans paroi : ce sont les mycoplasmes(**Fauchère &Avril 2002**). La résistance des bactéries à Gram- aux glycopeptides et aux macrolides est due à l'incapacité de ces molécules de franchir la membrane externe (**Berche 2003**).

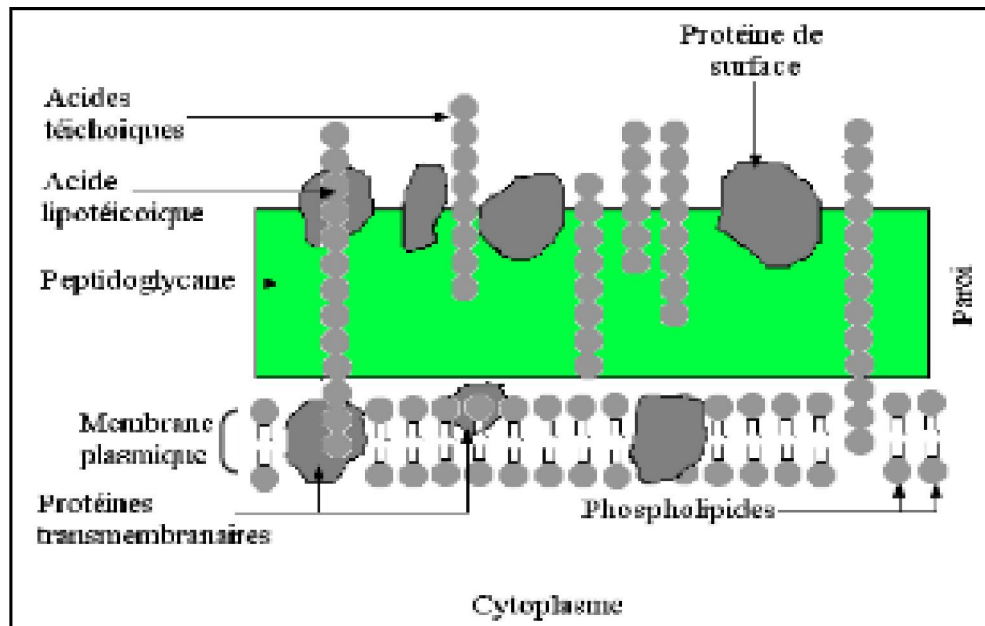


Figure 2: Structure de la paroi bactérienne Gram+ (Lavigne 2007).

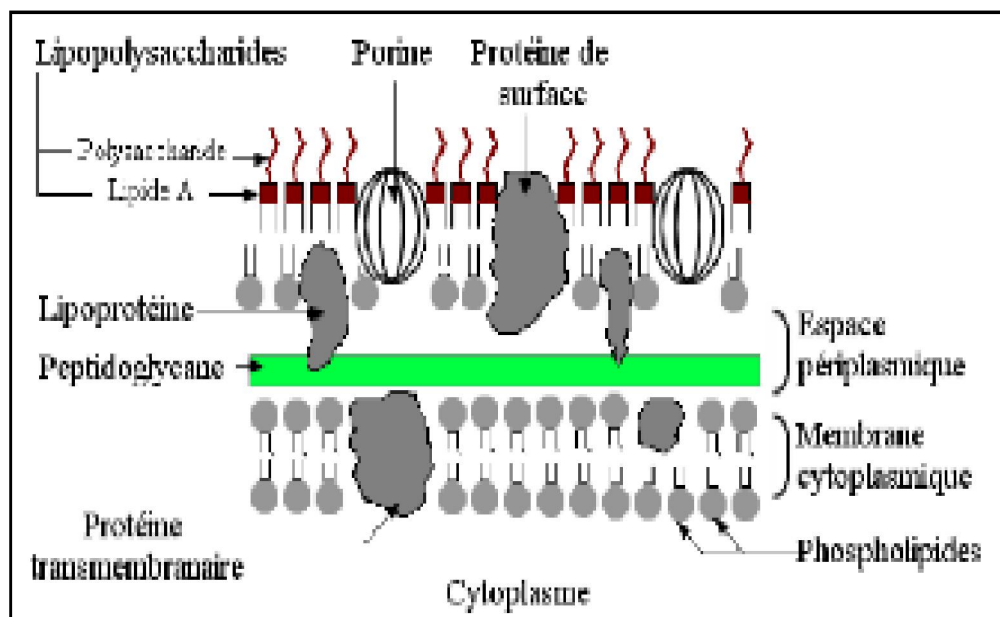


Figure 3: Structure de la paroi bactérienne Gram- (Lavigne, 2007).

I.3. Généralités sur les souches bactériennes utilisées

I.3.1. *Bacillus cereus*

I.3.1.1. Caractères bactériologiques

Les *B. cereus* sont des bactéries aux extrémités arrondies, d'une longueur supérieure à 3µm et d'un diamètre moyen de 1,4 µm. Ce sont des bacilles Gram positifs (culture fraîche), catalases positives, souvent regroupées en chaînettes de tailles variables et généralement mobiles grâce à une ciliature péritriche (**Euzeby 2003**). Les souches de *Bacillus cereus* sont constituées de bacilles (**Euzeby 2008**). Sa gamme de températures de croissance s'échelonne entre 5 et 50°C ; il se développe à des pH de 4,3 à 9,3 (**Reed 1994**) pour des activités en eau supérieures à 0,912 . Sa tolérance au sel est relativement élevée puisqu'il peut croître à des teneurs en NaCl atteignant 18% (**Prendhan et al. 1985**). Les colonies de *B. cereus* ont un diamètre compris entre 2 et 7 mm. Elles sont soit circulaires, soit de forme irrégulière avec des bords ondulés, crénelés ou filamenteux ; leur aspect est crémeux et lisse, mat ou granuleux (**Euzéby 2008**).

I.3.1.2. Habitat et pouvoir pathogène

B. cereus est un germe ubiquiste. Elle vit dans les sols et dans les eaux, peut survivre dans l'environnement sous forme de spores. Elle peut contaminer surtout des aliments d'origine végétale (riz, épices) et de nombreux plats cuisinés. *B. cereus* se comporte comme un pathogène opportuniste et cette espèce est également responsable de toxi-infections alimentaires. La présence de spores de *B. cereus* pose de sérieux problèmes dans les industries agroalimentaires (notamment les industries laitières). *B. cereus* est également un contaminant des drogues (héroïne) et de médicaments tels que les topiques qui peuvent alors contaminer des plaies (**Euzeby, 2008**).

I.3.2. *Escherichia coli*

I.3.2.1. Caractères bactériologiques

Escherichia coli est l'espèce type du genre *Escherichia* des entérobactéries. Ce sont des bacilles Gram négatifs qui sont, soit mobiles avec une ciliature péritriche, soit immobiles et non sporulés. Elles sont aérobies et anaérobies facultatives et se développent sur des milieux ordinaires à base d'extrait de viande ou de peptone. Elles fermentent le glucose avec ou sans production de gaz et possèdent une nitrate réductase. Elles sont oxydase-négatives et catalase-positives (**Brooks et al. 2004; Denis et al. 2007**).

I.3.2.2. Habitat et pouvoir pathogène

Cette bactérie est connue depuis longtemps comme commensale du tube digestif (présente à raison de 10^7 à 10^9 corps bactériens/g de selle des anaérobies) et pathogène pour l'appareil urinaire et qui se transmet par voie orofécale. Les aliments incriminés étant l'eau (dans certains pays), les viandes et lait cru (**Delarras 2007**). Les infections à *E. coli* sont de types opportunistes très fréquents touchant principalement les voies génitales et biliaires ; infections pouvant se compliquer en septicémie. Les infections du tractus digestif sont responsables des gastro-entérites infantiles et des syndromes dysentériques (**Carbonelle et al. 1987**). *E. coli* est sensible à l'ampicilline et cotrimoxazole (**Cheesbrough 2000, Dupeyron, 1997**).

I.3.3. *Salmonella thyphi*

I.3.3.1. Caractères bactériologiques

Le genre *Salmonella*, qui appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*, doit son nom au Dr. Vétérinaire Salmon, bactériologiste américain du XIXe siècle (**Euzeby 2008**). Ce genre est caractérisé par des bacilles à coloration Gram-, non sporulantes, la plupart du temps doués d'une mobilité propre grâce à des flagelles péritriches (à l'exception de *Salmonella gallinarum*). Elles sont catalase +, glucose +, oxydase -, H₂S + et lactose +/- . La taille des bâtonnets varie entre 2 et 5 µm de longueur sur 0,7 à 1,5 µm de largeur (**Dellaras 2007**). Elle est bacille mobile, aéro-anaérobie, pathogène, à transmission oro-fécale, responsable de

salmonelloses (fièvre typhoïde, infections intestinales). L'homme étant son seul réservoir, les principales sources de contamination sont l'eau, les aliments (produits laitiers, œufs.), les animaux familiers porteurs.

I.3.3.2. Habitat et pouvoir pathogène

Les Salmonelles sont des bactéries de l'intestin. Chez de nombreux sujets, elles peuvent être présentes sans entraîner de symptômes (porteurs sains). Quelques sérovars sont spécifiquement humains: *typhi* et *paratyphi*. D'autres ne se rencontrent que chez l'animal. Chez l'homme, elles colonisent la muqueuse intestinale et l'iléum. Le principal réservoir des salmonelles est le tractus gastro-intestinal des hommes et des animaux, en particulier les porcs et les volailles. Elles sont excrétées dans les déjections animales et se retrouvent ainsi libérées dans l'environnement. Les aliments représentent le principal vecteur des salmonelles à l'homme en particulier les viandes crues et les œufs. Les symptômes apparaissent environ 24 à 48 h après digestion de l'aliment contaminé et se traduisent par des nausées, des vomissements, des maux de tête et des diarrhées (**Dellaras 2007**). *S. typhi* est l'espèce la plus importante du genre *Salmonella* et fait partie des espèces strictement infectants à l'homme (**Brooks et al. 2004**). Elle est responsable de la fièvre typhoïde chez l'homme, avec une incidence annuelle mondiale selon les estimations d'au moins 21 millions de cas, dont 1 à 4 % ont une issue fatale (**OMS 2008**). Elle est sensible au chloramphénicol, à l'ampicilline, aux céphalosporines de troisième génération, aux tétracyclines et au triméthoprime-sulfaméthoxazole, (**OMS 2008**) il existe aussi un vaccin acellulaire spécifique de la fièvre typhoïde (TYPHIM) qui est disponible depuis 1988 (**Chups 2003**).

I.3.4. *Klebsiella pneumonia*

I.3.4.1. Caractères bactériologiques

Les bactéries *K. pneumonia* sont des Gram négatives, non mobiles, encapsulées, lactofermentaires, anaérobies facultatives, bactéries en forme de bâtonnet présentes dans la flore normale de la bouche, de la peau, et de l'intestin. Elles synthétisent de l'uréase, de la lysine décarboxylase, et ont la capacité à pousser dans les milieux au citrate. Ces bactéries ne produisent pas du H₂S, du tryptophane désaminase et de l'ornithine décarboxylase. La production d'indole est négative chez *K. pneumonia* (**Brooks et al. 2004 ; Denis et al. 2007**).

I.3.4.2. Habitat et pouvoir pathogène

Typiquement *Klebsiella* infecte généralement les personnes immunodéprimées quand un sujet aspire les microbes colonisant l'oropharyngée dans le tractus respiratoire inférieur. *K. pneumoniae* peut causer la Klebsiella pneumonia. Elle cause des changements destructifs dans l'inflammation du poumon humain et l'hémorragie avec mort cellulaire (nécrose) qui quelquefois produisent une pâte ensanglantée, des crachats. *K. pneumonia* et *K. oxytoca* sont des germes impliqués dans les infections urinaires, les septicémies et les infections broncho-pulmonaires. Ce sont des espèces fréquemment isolées en milieu hospitalier où elles seraient responsables de 10% des infections nosocomiales (Denis *et al.* 2007). Elle est sensible à la colistine, aux quinolones, aux aminosides, aux furanes et à l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole (Decré *et al.* 2004).

I.3.5. *Proteus mirabilis*

I.3.5.1. Caractères biologiques

Bacilles mobiles à Gram négatif c'est un bacille généralement mobile, polymorphe, mesurant 0,4 à 0,8 µm de diamètre sur 1,0 mm à 80 mm de longueur et pourvu de flagelles.

Elle n'a pas d'exigence particulière, *P. mirabilis* pousse bien sur milieux ordinaires (c'est une Entérobactérie) à 37°C.

Elles forment de colonies grosses, non hémolytiques, envahissant la surface de la gélose au sang en ondes concentriques (cette propriété est liée à la mobilité exceptionnelle que lui confèrent plusieurs centaines de flagelles). Elles sont aero-anaerobies (vivent en présence ou en absence d'oxygène).

I.3.5.2. Habitat et pouvoir pathogène

Les *Proteus* sont répandues dans la nature, dans l'eau, et le sol. *P. mirabilis* est une bactérie commensale de l'intestin de l'homme et des animaux dont la présence dans les selles est normale (Chups 2003). *P. mirabilis* est responsable des infections urinaires communautaires ou nosocomiales grâce à son uréase puissante peut alcaliniser les urines. Elles ont une incubation très courte : 24 à 48 heures après ingestion. Après invasion elles causent :

Des infections localisées surtout cutanées.

Mais d'autres localisations sont possibles (abcès du cerveau, infections pleurales et péritonéales,)

Des infections des voies respiratoires surtout en milieu hospitalier : infections ORL et pneumopathies.

· Des septicémies et bactériémies puissantes qui peuvent alcaliniser les urines et être responsables des lithiases. Ces lithiases se comportent comme du matériel étranger qui permet à l'infection de devenir chronique, entraînant ainsi une destruction progressive du parenchyme rénal.

Proteus mirabilis a une résistance naturelle à la colistine aux cyclines (spécificité de l'espèce mirabilis) et furanes. Les autres antibiotiques testés sur les bacilles à Gram- type Entérobactéries sont habituellement actifs (lactamines, aminosides, quinolones, cotrimoxazole, chloramphénicol)(Archambaud 2004).

I.3.6. *Shigelle flexneri*

I.3.6.1. Caractères biologiques

Ce sont des entérobactéries à tropisme exclusivement digestif, très proche d'*E. coli* mais qui ne fermentent pas le lactose. Les *Shigelles* sont des entérobactéries à Gram-, immobiles, qui provoquent des dysenteries bacillaires (Cheesbrough 2000). Elles sont uréase-, mannose+, et ne produisent pas de gaz (Betsy & Keogh, 2005).

I.3.6.2. Habitat et pouvoir pathogène

Ce sont des bactéries strictement humaines a transmission féco-orale. Elles sont des agents d'une maladie diarrhéique aigue à transmission direct (Dellaras 2007). L'incubation est très courte : 24 à 48 heures après ingestion. Après invasion dans l'intestin, elle cause une intense inflammation tissulaire et détruit la muqueuse avec ulcérations et hémorragies (Berche 2003). Elle est sensible à l'ampicilline, cotrimoxazole, et fluoroquinolones (Dupeyron 1997).

I.4.Généralités sur les métabolites secondaires

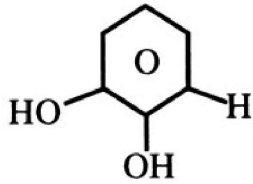
Par opposition aux métabolites primaires qui sont des protéines, des glucides et des lipides, les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires ». Innées ou acquis, ces substances servent aux plantes de mécanismes de défense contre des stress qui peuvent être biotiques (micro-organismes pathogènes, insectes, herbivores) ou abiotiques (lumière UV, température élevée). Aujourd'hui, il y a un intérêt grandissant dans la corrélation entre ces composés phytochimiques des plantes et leurs activités pharmacologiques (**Muanda, 2010**). Les groupes majeurs de composés antimicrobien et antioxydant sont : les phénols et polyphénols ; les terpénoïdes et huiles essentielles ; les alcaloïdes, les lectines et polypeptides (**Sher2009**)

I.4.1.Composés phénoliques

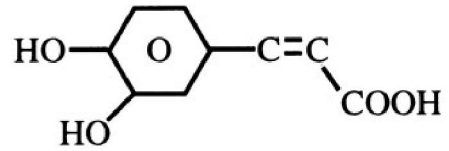
Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de substances. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'un cycle aromatique portant au moins un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une autre fonction (éther, ester, hétéroside). Avec plus de 8000 structures phénoliques identifiées, la structure de ces composés naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) (**Macheix et al. 2005**). On peut citer :

I.4.1.1.Phénols simples et les acides phénoliques

Les phénols simples (catéchol) sont constitués d'un seul cycle phénolique substitué et les acides phénols sont des dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. Ils se sont révélés toxiques vis-à-vis des microorganismes et la toxicité relative de chaque dérivé est fonction du site et du nombre de groupements hydroxyles sur le cycle aromatique, ils sont aussi anti-inflammatoires, antiseptiques urinaires, anti-radicalaires, hépatoprotecteurs, (**Bruneton & Cowan 1999**).



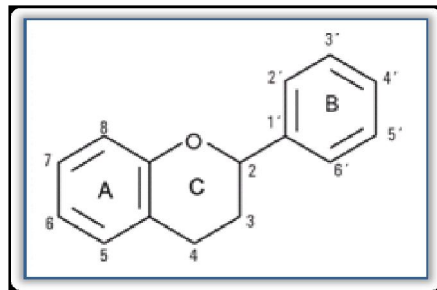
Catéchol



Acide caféique

I.4.1.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus important avec plus de 5000 composés (**Francesco *et al.*, 2007**). Ce sont des composés phénoliques possédant un squelette carboné à 15 atomes de carbones dont 2 noyaux aromatiques reliés par une chaîne carbonée linéaire à 3 atomes. Ils sont doués de propriétés anti oxydantes efficaces (**Mohamed *et al.* 2005, Jun *et al.* 2005, John *et al.* 2007**). Comme les quinones, ils forment des complexes avec les protéines solubles et extracellulaires microbiennes et également avec les polypeptides de la paroi ; leur activité reste de nos jours plus prononcée vis-à-vis des virus. Cependant ils inhibent aussi les bactéries ; c'est le cas du vibron cholérique (**Boris 1996**)

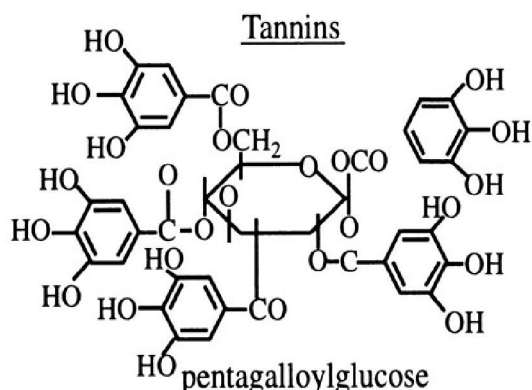


Structure de base des flavonoïdes

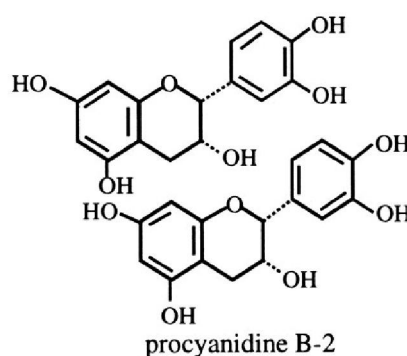
I.4.1.3. Tannins

Les tanins sont des composés phénoliques solubles dans l'eau et caractérisés par leur astringence (**Peronny 2005**). On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs deux groupes basés sur des différences structurales : les tanins hydrolysables et les tanins non

hydrolysables ou tanins condensés (**Ghestem 2001**). Ils ont un effet anti diarrhéique; ils sont vasoconstricteurs et limitent la perte en fluides. Ces propriétés, ajoutées par ailleurs à leur effet antiseptique, en font des molécules intéressantes pour la régénération des tissus en cas de blessures superficielles ou de brûlures, et les rendent utilisables dans le traitement des diarrhées infectieuses (**Bruneton 1999**). Certains tanins sont aussi antioxydants.



Tanin condensé



Tanin hydrolysable

I.4.1.4. Quinones

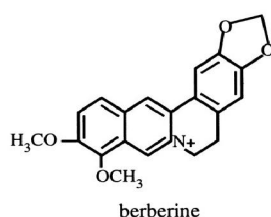
Les quinones sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou oranges et possédant deux fonctions cétones. On les trouve chez les végétaux et les bactéries (**Bruneton 1999**). En plus d'être une source de radicaux libres stables, les quinones sont capables de se complexer de façon irréversible aux aminoacides des protéines et pour cette raison, ils possèdent un potentiel antimicrobien élevé (**Stern et al. 1996**).



Quinone

I.4.2. Alcaloïdes

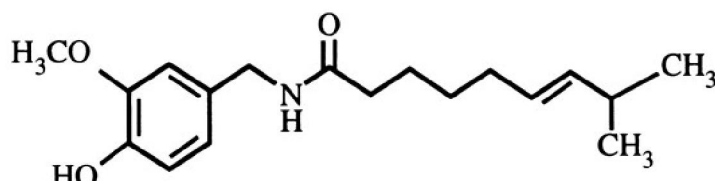
Ce sont les composés hétérocycliques azotés qui se cristallisent en présence des tannins (**Kuiate 2005**). Ils possèdent presque tous une molécule d'azote (-N-) qui les rend pharmacologiquement très actifs (**Brunetton 1999**). La Berbérine et ses dérivés sont les composés représentatifs du groupe des alcaloïdes. Ils sont potentiellement actifs contre les trypanosomes, les plasmodiums (**Omulokoli et al. 1997**), mais également contre les bactéries gram-négatifs et les bactéries gram-positifs (**Faizi et al. 2003**, **Gonzaga et al. 2003**). Leur action antimicrobienne est attribuée à leur habilité à s'intercaler entre le DNA et/ou les cellules membranaires.

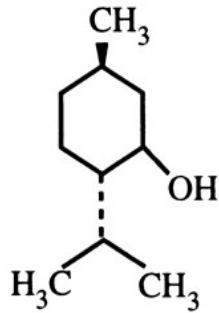


Alcaloïde

I.4.3. Terpénoïdes et huiles essentielles

Les terpènes constituent un ensemble de composés organiques, dont l'unité structurale de base est l'isoprène (2-methylbutadiène). Ils existent sous forme de monoterpènes, diterpènes, triterpènes, tétraterpènes, sesquiterpènes. Les terpènes et terpénoïdes comme le lupéol sont actifs contre les bactéries (**Ahmed et al. 1993**, **Tene et al. 2008**). Bien que le mécanisme d'action ne soit pas élucidé, on pense qu'ils accomplissent leur activité antimicrobienne en effectuant une lipolyse membranaire (**Sher 2009**). Les huiles essentielles constituées principalement des mono et sesquiterpènes possèdent des propriétés antiseptiques (**Kuiate et al. 2005**). Elles ont aussi des propriétés antibactérienne, antifongique et antivirale (**Ayafor 1994**, **Amaral et al. 1998**). Leur mécanisme d'action n'est pas complètement élucidé. Elles perturberaient la structure membranaire des microorganismes à travers leurs composants lipophiles. (**Cowan 1999**).





Menthol
Capscaïne

Terpénoides

I.5. Généralités sur l'étude antibactérienne

Plusieurs méthodes sont aujourd'hui disponibles pour déterminer l'activité antimicrobienne des extraits de plantes. Le choix du test à utiliser dépend non seulement de la nature de la substance à tester et celle du microorganisme mais également des paramètres recherchés. **Vanden *et al.* (1991)** regroupe ces différents tests en deux catégories :

- Les tests qualitatifs, permettant de déterminer la présence ou non des substances à activité antimicrobienne. Ils renferment les méthodes de diffusion et les méthodes autobiographiques ;
- Les tests quantitatifs, permettant quant à eux de déterminer les paramètres d'inhibition (CMI, CMB) d'un extrait sur un germe.

I.5.1. Méthodes qualitatives

I.5.1.1. Méthodes de diffusion sur milieu solide

Ces méthodes regroupent la technique de diffusion en puits et la technique de diffusion sur disques.

➤ Technique de diffusion sur disques

Sur un milieu de culture solidifié et au préalable inoculé avec le microorganisme, des disques de papier Whatman n°1 de 6 mm de diamètre imprégnés d'extraits à tester sont déposés à la surface du gel. Après 24 à 48 heures d'incubation, si le composé a une activité contre le germe, l'inhibition s'observe par l'apparition d'auréoles claires autour des disques constituant ainsi les zones d'inhibition. Ces zones représentant les diamètres d'inhibition seront mesurées à l'aide d'un pied à coulisse. La sensibilité microbienne sur des extraits est classée, selon le diamètre des zones d'inhibition, comme suit : non sensible (-) pour un diamètre moins de 8 mm ; sensible (+) pour un diamètre compris entre 9-14 mm ; très sensible (++) pour un diamètre entre 15 – 19 mm et extrêmement sensible (+++) pour un diamètre ≥ 20 mm (Moreira *et al.* 2005).

➤ Technique de diffusion en puits

Elle est réalisée de la même manière que la méthode précédente à la seule différence qu'ici les substances à tester diffusent plutôt à partir des puits de 6 mm de diamètre, réalisés à l'aide du bout large d'embouts (Valgas *et al.* 2007).

I.5.1.2. Méthode autobiographique

Elle consiste à réaliser une chromatographie sur couche mince (CCM) de l'extrait à tester et ensuite incuber la plaque en présence du germe contre lequel l'activité est évaluée. Après culture dans les conditions appropriées, on observe aisément la croissance des microorganismes si l'extrait n'a pas d'activité ; dans le cas contraire, l'absence de croissance des cellules se traduit par l'apparition d'une zone claire qui indique de par sa surface la présence d'une ou de plusieurs molécules. La révélation est quant à elle effectuée au moyen d'un indicateur coloré (Valgas *et al.* 2007).

I.5.2. Méthodes quantitatives

➤ Méthode de dilution en milieu liquide

L'inoculum bactérien est cultivé en présence d'une série de concentration décroissante d'extrait selon une dilution géométrique de raison 2. Cette méthode présente plusieurs variantes selon que la série de dilution des extraits se fait dans une série de tubes (macrométhode de dilution) ou dans des cupules d'une microplaque (microméthode de dilution) contenant le milieu de culture. L'inoculum bactérien est équitablement distribué dans chaque tube ou cupule. Deux témoins sont réalisés; un témoin positif (bouillon nutritif + microorganisme) et un témoin négatif (bouillon nutritif + extrait). Après incubation, la concentration minimale inhibitrice (CMI) est considérée comme étant la plus petite concentration ayant inhibée toute croissance visible à l'œil nu (**Vanden et al.1991**). La croissance bactérienne se traduit par le trouble du milieu ou par le changement de couleur d'un indicateur coloré préalablement introduit dans le bouillon.

➤ Méthode d'incorporation dans la gélose

Cette méthode est généralement utilisée pour mesurer l'activité des substances hydrophobes et les microorganismes non sporulants (**Hadacek et al, 2000**). Elle consiste à mélanger avec le milieu de culture, l'extrait ou la substance dont on veut évaluer l'activité et ensuite le couler dans des boîtes de pétri. Après solidification, le milieu est inoculé et les pourcentages d'inhibition sont mesurés au cours de l'incubation à des intervalles de temps bien définis (**Ngono 1999**).

I.6. Généralités sur les plantes utilisées

I.6.1. *Dissotis multiflora* Triana

➤ Famille des *Melastomataceae*

Les Mélastomataceae sensu stricto (à l'exclusion de Memecylaceae) comprennent environ 3000 espèces en Amérique, 1000 en Asie, 240 en Afrique et 230 au Madagascar. Toutes ces études sont synthétisées par (**Lebrun & Stork 2003**) qui montrent que les Mélastomataceae d'Afrique comptent 25 genres et 279 espèces.

➤ **Genre *Dissotis***

Le sous genre *Dissotis*, est composé des herbes, arbrisseaux ; rarement petits arbres. Inflorescence en cimes paniculées ou racémeuses parfois capituliformes, rarement bifurcées. Fleurs à 4-5 sépales parfois accrescent, diversement indumenté de poils simples ou étoilés, ou encore d'émergences sétuleuses et de formes variées, rarement glabre; sépales de poils simples ou étoilés, généralement caducs; étamines normalement dimorphes; les externes plus développées, surtout par le pédoconnetif, avec 2 appendices linéaires ou subulés, ou bien un appendice bilobé, bifide à bipartite (**Lebrun & Stork 2003**)

➤ **Espèce *Dissotismultiflora* Triana**

Arbrisseau peu ramifié, dressé jusqu'à 1,50 m ; rameaux 4-angulaires étroitement ailés, strigileux surtout sur les angles, puis arrondis et glabrescents. Feuilles à pétiole grêle, long de 1 à 3 cm, sétulo-strigileux ; limbe 3 – 12 cm, lancée à lancéolé, obtus ou arrondi, rarement subcordé à la base aigu à vaguement acuminé au sommet ; poils courts et apprimés, dispersés au-dessus ; plus fins mous et ± hérissés dessous ; 3 – 5 nervures saillantes et stringilleuses dessous ; marges subentières, densément ciliés. Espèce répandue en Afrique par ses feuilles beaucoup plus longues, à 7 et non 5 nervures, ses bractées lancéolées-aiguës et non ovales-oblongues, ses fleurs non sessiles ou subsessiles.

Au Cameroun l'espèce *Dissotis multiflora* Triana se retrouve dans plusieurs régions notamment le Sud (Kribi ; Sangmélima), l'Est (Yokadouma, Abong-Mbang ; Lomié ; Lolodorf), le Centre (Mbalmayo ; Akonolinga), l'Ouest (Noun).

a- Systématique

Règne : *Végétal*

Embranchement : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Ordre : *Myrtales*

Famille : *Melastomataceae*

Genre : *Dissotis*

Espèce : *Dissotis multiflora triana* (**Lebrun & Stork 2003**)

b-Usages et travaux antérieurs

A l'Ouest Cameroun le macéré des rameaux feuillés est utilisé traditionnellement comme antidiarrhéique. A ce jour très peu d'études justifient son usage traditionnel. Néanmoins les propriétés antibactériennes, antioxydantes et antidiarrhéiques ont été démontrées ainsi que les tests de toxicité. Et l'analyse phytochimique faite sur des extraits bruts à l'éthanol des feuilles de cette plante a révélé la présence des métabolites secondaires tels que : les stéroïdes, les alcaloïdes, les saponines, les tannins, les anthraquinones, les flavonoïdes et les polyphénols (**Afagnigni et al. 2016a**).

I.6.2. *Paullinia pinnata*

a- Systématique

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division: Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : *Rosidae*

Ordre : *Sapindales*

Famille : *Sapindaceae*

Genre : *Paullinia*

Espèce : *Paullinia pinnata* (**Afagnigni et al. 2016b**)

b- Usages et travaux antérieurs

Les lianes et l'arbre de *P. pinnata* est utilisés dans l'ouest du Cameroun dans le traitement des infections bactériennes à savoir : typhoïde, syphilis, gonorrhée, mal d'estomac, mal de reins, diarrhée, dans le traitement des infections microbiennes des blessures. Les

propriétés antioxydantes des extraits de méthanol contenus dans les feuilles et l'activité anti bactérienne des acides gras de *P.pinnata* avaient été étudiés (**Jimoh et al. 2007** , **Annan et al. 2009** , **Afagnigni et al. 2016b**) , les feuilles et les racines de cette plante sont utilisées en médecine traditionnelle dans le dysfonctionnement érectile, la Malaria et aussi que ces extraits riche en phénols permette de promouvoir la relaxation vasculaire via les mécanismes dépendants de l'endothélium (**Zamble et al.2016**)

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel Végétal

Les feuilles de *Dissotis multiflora* Triana(**Figure 11**) et de *Paullinia pinnata*(**Figure10**) Linn ont été collectées dans la localité de Koupa-Matapit dans le département du Noun (Ouest-Cameroun) en Août 2015. L'identification botanique et l'authentification ont eu lieu à l'Herbier National du Cameroun à Yaoundé (HNC) en comparaison avec l'échantillon numéro 20022/SRF Cameroun de Leeuwemberg 6205 de *Paullinia pinnata* Linn et l'échantillon numéro HNC 20950 de *Dissotis multiflora* Triana J.J. Bos 3182 respectivement.



Figure 4 : *P. pinnata* (photographie prise par Afagnigni en Aout 2015)



Figure 5: *D. multiflora* (photographie prise par Afagnigni en Aout 2015)

II.1.2. Microorganismes utilisés

Six souches bactériennes dont cinq Gram négatif (*Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri* et *Proteus mirabilis*) et un Gram positif (*Bacillus cereus*) toutes isolées des patients de l'Hôpital Général de Yaoundé ont été fournies par le Laboratoire de Microbiologie du Département de Microbiologie de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I. Les souches conservées à +4°C sur gélose nutritive inclinée ont été activées sur milieu gélosé avant la réalisation des tests antimicrobiens.

II.1.3. Milieux de culture

Le Mueller Hinton Agar (MHA) et le bouillon nutritif glucosé (BNG) ont été utilisés pour le renouvellement des souches bactériennes et la détermination des diamètres et des paramètres d'inhibition (CMI et CMB) des extraits. Les milieux de culture ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 min pour la réalisation des tests.

II.1.4. Agents microbiens de référence

La Gentamicine 40 mg/mL a été utilisé comme antibactérien de référence.

II.2. Méthodes

II.2.1. Préparation des extraits de *Dissotis multiflora* Triana et de *Paullinia pinnata* Linn

Après la récolte, les feuilles des deux plantes ont été séchées à température ambiante, ensuite moulues jusqu'à obtention d'une poudre fine. Deux cent grammes (200 g) de poudre issue du broyage des différents échantillons des feuilles de plante séchés ont été macérés dans l'éthanol à 95° (600 mL) pendant 48 heures sous agitation temporaire à raison de trois macérations par échantillon. Après macération, le mélange a été filtré au moyen du papier filtre Whatman n°1 ; le filtrat obtenu a été concentré à l'évaporateur rotatif jusqu'à obtention d'une pâte représentant ainsi notre extrait brut dont la conservation s'est faite à 4°C jusqu'à l'utilisation. La formule suivante nous a permis de calculer le rendement d'extraction :

$$\text{Rendement d'extraction(\%)} = \frac{\text{Masse de l'extrait obtenu(g)}}{\text{Masse de poudre initiale (g)}}$$

II. 2.2. Fractionnement des extraits bruts

Le fractionnement a été effectué par chromatographie flash des extraits bruts en utilisant quatre solvants à polarité croissante : Hexane, Hexane/Acétate (7/3), Hexane/ Acétate d'éthyle (3/7), Acétate d'éthyle, Acétate d'éthyle /Méthanol (7/3), Acétate d'éthyle /Méthanol (3/7) et le Méthanol. Il a été effectué selon le protocole suivant :

Cent grammes (100 g) d'extrait brut de feuilles de *D. multiflora* et *P. pinnata* ont été fractionnés par chromatographie flash sur colonne de silice 60 (0,063- 0,200 mm) en utilisant un gradient Hexane-acétate d'éthyle (Hex-AE) et Acétate d'éthyle-méthanol (AE-MeOH). Les fractions ont été collectées et concentrées à l'évaporateur rotatif (Büchi rotavapor R-114)

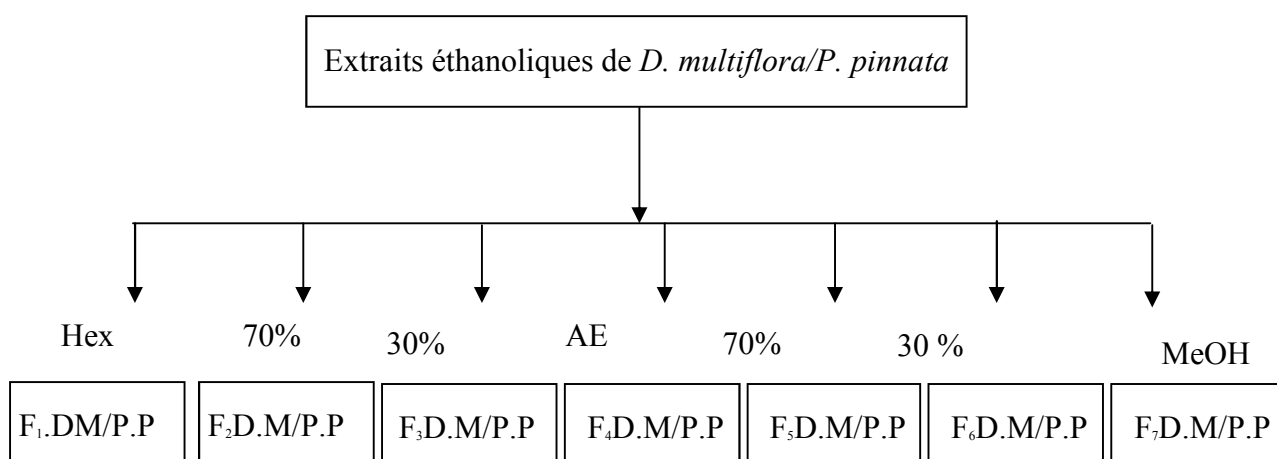


Figure 6: Chromatographie flash des extraits éthanoliques de *D. multiflora* et *P. pinnata*

Légende : F₁.DM/P.P à F₇.D.M/P.P représente de la 1^{ère} à la 7^{ième} fraction de *D. multiflora* et *P. pinnata*.

II.2.3. Etude phytochimique des extraits bruts

Les extraits bruts de plantes ont été analysés pour déterminer les groupes de composés chimiques présents selon les méthodes décrites par **Harbone (1998)**.

Test des phénols

3 ML d'une solution de chlorure ferrique 5 % fraîchement préparée pendant 5 min est ajoutée à 0,5 g d'extrait dissout dans 2 ML d'eau. Après homogénéisation, quelques gouttes d'une solution de ferricyanure de potassium sont ajoutées. L'observation d'un précipité vert indique un test positif et révèle la présence de ce composé (**Harbone 1998**).

Test des tanins

500 mg d'extrait sont ajoutés à 5 ML d'eau distillée. Le mélange est chauffé au bain marie pendant 5 min, puis filtré après refroidissement. Ensuite, on ajoute au filtrat quelques gouttes de chlorure ferrique 3 %. La présence des tanins se traduit par l'apparition de la coloration noire bleue (bleue sombre) (**Harbone 1998**).

Test des saponines

500 mg d'extrait sont ajoutés dans 5 mL d'eau distillée. Après homogénéisation, le mélange est chauffé pendant 5 min jusqu'à ébullition. La présence des saponines se traduit par l'apparition d'une mousse persistante après 1 min (**Harbone 1998**).

Test des flavonoïdes

50 mg d'extrait sont dissous dans 0,5 mL de NaOH 1N. La décoloration de la couleur jaune obtenue après addition d'acide chlorhydrique 1N indique la présence des flavonoïdes (**Harbone 1998**).

Test des anthocyanines

50 mg d'extrait sont mélangés à 15 mL de HCl 1% et le mélange porté à ébullition. La variation de la coloration du rouge orangé au bleu orangé caractérise la présence des anthocyanines (**Odebeyi & Sofowora, 1978**).

Test des alcaloïdes

50 mg d'extrait sont chauffés dans 1 ml d'acide sulfurique 1% pendant 2 à 3 min, puis filtré. A 1 mL du filtrat, on ajoute quelques gouttes du réactif de Mayer. L'obtention d'un précipité blanc indique la présence des alcaloïdes (**Sofowara 1993**).

Test des triterpènes et des stéroïdes

50 mg d'extrait sont dissouts dans 20 mL de chlorure de méthylène. A cette solution, on ajoute successivement 4 gouttes d'anhydride acétique et de l'acide sulfurique. La présence des

triterpènes se manifeste par un changement de la couleur rouge violacée, alors que la couleur bleue verdâtre est caractéristique des stéroïdes (Sofowara 1993).

II.2.4. Évaluation antibactérienne des fractions de plantes

L'étude de l'activité antimicrobienne a consisté à déterminer les diamètres et paramètres d'inhibition (CMI, CMB) des fractions actives de *D. multiflora* et *P. pinnata* et molécules isolées sur les souches bactériennes.

➤ Préparation du milieu de culture Mueller Hinton Agar

Le milieu de culture gélosé Mueller Hinton Agar est préalablement préparé en dissolvant 38g de milieu lyophilisé dans 1L d'eau distillée, puis porté à ébullition pour la stérilisation à 121°C pendant 15 min à l'autoclave. Le milieu est ensuite coulé dans différentes boîtes de Pétri de 90 mm à raison de 5 mL par boîte puis laissé pour solidification sous la hôte stérile pendant 15 minutes.

II.2.4.1. Renouvellement des souches bactériennes

A l'aide d'une anse de platine, une colonie pure de microorganismes a été prélevé et ensemencé par stries sur milieu gélosé MHA coulé dans les boîtes de Pétri. Les boîtes ainsi ensemencées ont été incubées à 37°C pendant 48 heures (Carbonnelle *et al.* 1987).

II.2.4.2. Préparation de l'inoculum

➤ Préparation de la suspension bactérienne.

Pour chaque microorganisme testé, une colonie bactérienne, provenant d'une culture pure ensemencée sur milieu gélosé MHA et incubée à 37°C de moins de 24 heures, a été mise en suspension dans des tubes à essai contenant 1 mL d'eau distillée stérile. Cette suspension a été préparée à la charge de $1,5 \times 10^6$ cellules/mL.

➤ Préparation des solutions d'extraits et d'antibiotique de référence

100 mg des différents extraits ont été dissous dans 1 mL d'eau distillée de façon à obtenir une solution mère d'extraits bruts de concentration 100 mg/mL. Les fractions ont été préparées à la concentration de 50 mg/mL. Les solutions de combinaisons d'extraits bruts et

des fractions actives ont été préparées dans les proportions 1 :9 ; 2 :8 ; 3 :7 ; 4 :6 ; 5 :5 ; 6 :4 ; 7 :3 ; 8 :2 et 9 :1 de *D. multiflora* et *P. pinnata* respectivement. L'antibiotique de référence (Gentamicine) a été préparé à la concentration de 0,2 mg /mL.

➤ **Ensemencement de la solution d'inoculum et réalisation des puits**

Après solidification des milieux gélosés, les différentes boîtes de Pétri seront ensemencées par écouvillonnage avec la solution d'inoculum de différentes souches préalablement préparées à la charge de 10^6 cellules/mL **Téreshuck *et al.* 1996**).

Les puits de 6 mm de diamètre seront réalisés à l'aide du bout large d'un embout. On déversera dans ces puits un volume de 75 μ L des substances à tester. Les boîtes ainsi ensemencées seront mises à sécher pendant 15 minutes (pré diffusion) sous la hotte puis incubées à 37°C pendant 48 heures. Chaque essai est réalisé en triple et les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne \pm erreur standard de la moyenne.

Les diamètres des zones d'inhibition autour des puits seront mesurés à l'aide du pied à coulisse. La sensibilité aux différents extraits sera classée selon le diamètre des zones d'inhibition comme suit : non sensible pour le diamètre de moins de 8 mm ; sensible (+) pour un diamètre compris entre 9-14 mm ; très sensible (+ +) pour un diamètre compris entre 15-19 mm et extrêmement sensible (+++) pour le diamètre plus que 20 mm (**Moreira *et al.* 2005**).

II.2.4.3. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) des fractions de ces plantes par la méthode de micro dilution en milieu liquide (Eloff, 1998)

➤ **Préparation des microplaques**

100 μ L de milieu liquide seront introduits dans les cupules de la deuxième à la dernière ligne et 200 μ L d'extrait dans la première cupule de la plaque. A partir des cupules de la deuxième ligne, on effectuera une série de 10 dilutions décroissantes obéissant à une progression géométrique de raison 2 pour chaque extrait. On prélèvera 100 μ L de solution de la première cupule qu'on introduira dans les 100 μ L de la deuxième cupule. Après homogénéisation, 100 μ L de cette nouvelle solution seront introduits dans la troisième cupule ainsi de suite jusqu'à obtenir 100 μ L de solution dans toutes les cupules excepté celle de la première ligne qui contiennent encore 200 μ L de solution. On versera ensuite 100 μ L de la solution de la dernière cupule. Un volume d'inoculum de 10^6 cellules/mL (**Tereshuck *et al.* 1997**) sera par la suite ensemencé et le volume complété à 200 mL avec le milieu nutritif. Les

témoins ne renfermant pas d'extraits (témoin négatif) et ceux ne contenant que les microorganismes (témoin positif) seront réalisés et les microplaques seront incubées pendant 24 heures à 37 °C. Après incubation, 40µL de 0.01%w/v 2, 3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) préparé dans l'eau distillée seront ajoutés dans chaque microcupule puis la microplaque est couverte et incubée à 37°C pendant 30 min. Le virage du TTC au rouge indiquera l'effet antibactérien des substances testées. La CMI sera considérée comme la plus petite concentration ayant inhibée toute croissance visible des microorganismes dans les conditions appropriées de culture.

➤ **Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) des extraits par subculture en milieu liquide**

Pour la détermination de l'effet bactéricide des extraits 150 µL de bouillon nutritif seront distribués dans les cupules. Après avoir repéré les cupules dans lesquelles aucune croissance de levures n'est observée, des volumes de 50 µL seront prélevés dans chacune des cupules sans TTC et introduits dans les cupules de 150 µL puis les microplaques seront incubées à 37°C pendant 48 heures. Après incubation, 40µL de TTC seront ajouté dans chaque microcupule puis la microplaque est couverte et incubée à 37°C pendant 30 min. Le virage du TTC au rouge formazan indique la viabilité ou l'activité des cellules. La non reprise de la croissance bactérienne indique une activité bactéricide et la reprise indique une activité bactériostatique. La CMB correspondra à la plus petite concentration en extrait pour laquelle on n'observe aucune croissance visible de microorganismes (Eloff 1998).

Le calcul du rapport CMB/CMI permettra de déterminer l'effet bactéricide ($CMB/CMI \leq 4$) ou bactériostatique ($CMB/CMI >4$) des substances testées (Oussou *et al.* 2008). Les tests sont réalisés en triplicate pour avoir des résultats précis.

L'interaction entre les extraits et les fractions a été évaluée algébriquement en déterminant l'index de concentration inhibitrice fractionnelle (FIC) selon les équations suivantes :

$$FIC \text{ index} = FIC_{\text{Extrait1/fraction1}} + FIC_{\text{Extrait2/fraction2}} \quad \text{Equation 1}$$

$$FIC \text{ Extrait} = \text{Concentration inhibitrice fractionnelle de l'extrait}$$

$$= \frac{\text{CMI de l'extrait/fraction dans la combinaison}}{\text{CMI de l'extrait pris seul}} \quad \text{Equation 2}$$

$$\text{CMI de l'extrait pris seul}$$

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. RÉSULTATS

III.1.1. Rendement d'extraction des extraits bruts

Le tableau ci-après présente les rendements d'extraction des extraits bruts de *D. multiflora* et *P. pinnata*.

Tableau 1: Rendements des extraits bruts

Extraits bruts	Masse sèche (g)	Masse d'extraits(g)	Rendement d'extraction (%)
<i>D. multiflora</i>	500	66,6	13.32
<i>P. pinnata</i>	500	43 ,8	08.76

III-1-2- Screening phytochimique

Les résultats des tests phytochimiques consignés dans le tableau 2 ont révélé la présence des phénols, tannins, alcaloïdes, saponines, anthraquinones, stéroïdes et flavonoïdes. Les anthocyanes sont présents dans les extraits de *P. pinnata* et absents chez *D. multiflora*.

Tableau 2: Résultats du criblage phytochimique des extraits de *D. multiflora* et *P. pinnata*

Métabolites secondaires	<i>D. multiflora</i>	<i>P. pinnata</i>
Phénols	+	+
Anthraquinones	+	+
Tannins	+	+
Anthocyanes	-	+
Saponines	+	+
Flavonoïdes	+	+
Alcaloïdes	+	+
Stéroïdes	+	+

+ = présent ; - = absent

III.1.3. Essais antibactériens des extraits bruts, fractions et combinaisons

III.1.3.1. Essais antibactérien des extraits bruts

III.1.3.1.1. Détermination des diamètres des zones d'inhibition

La présence des zones d'inhibition (extrait/gentamicine) après incubation révèle les activités des extraits sur les bactéries testées (Tableau3). L'extrait éthanolique de *D. multiflora* inhibe la croissance de toutes les bactéries testées (*B. cereus*, *K. pneumoniae*, *S.flexneri*, *S. typhi* et *E. coli*). Les diamètres des zones d'inhibition varient entre 10.33 ± 1.2 (*K. Pneumoniae*) et $21,5 \pm 0.4$ mm (*S. typhi*).L'extrait éthanolique de *P. pinnata* inhibe la croissance de cinq souches sur les six testées avec des diamètres d'inhibition variant de 8.33 ± 1.24 (*K. pneumoniae*) à 13.67 ± 1.64 mm (*S. typhi*). L'extrait de *P. pinnata* est relativement moins actif que celui de *D. multiflora* à la même concentration.

Tableau 3: Diamètres des zones d'inhibition des extraits éthanoliques de *D. multiflora* et de *P. pinnata*

Substances	Diamètres des zones d'inhibition (mm)					
	ST	KP	SF	BC	EC	PM
<i>D.multiflora</i>	21.5 ± 0.40	10.33 ± 1.24	28 ± 2.94	13.5 ± 1.47	18 ± 4.6	13.17 ± 2.49
<i>P. pinnata</i>	13.67 ± 1.64	08.33 ± 1.24	00 ± 00	13.33 ± 1.43	$10,66 \pm 1.69$	12.33 ± 3.29
Gentamicine	25.83 ± 0.62	24.5 ± 2.67	29 ± 0.81	22.33 ± 0.94	21.5 ± 0.40	29.55 ± 0.42

ST : *S. typhi* ; KP : *K. Pneumoniae*; BC : *B. cereus* ; EC : *E. coli* ; PM : *P. mirabilis* ; SF : *S. flexneri*

III.1.3.1.2. Paramètres d'inhibition: concentration minimale inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB) des extraits éthanoliques de *D. multiflora* et de *P. pinnata*

Les CMI des extraits et de la gentamicine sont présents dans le tableau 4. Il en ressort que *D. multiflora* inhibe la croissance de toutes les bactéries testées avec des CMI variant de 97 (*S. typhi*) à 781 µg/mL (*B. cereus*). Concernant les extraits éthanoliques de *P. pinnata*, les CMI varient de 390 (*P. mirabilis* et *K. pneumoniae*) à 781 µg/mL (*E. coli*, *B. cereus*, *S. flexneri* et *S. typhi*). Les activités des extraits de *D. multiflora* ($10.33 \pm 1.24 \leq ID \leq 21.5 \pm 0.4$ mm et $97 \leq MIC \leq 781$ µg/mL) et de *P. pinnata* ($08.33 \pm 1.24 \leq ID \leq 13.67 \pm 1.64$ mm et $390 \leq MIC \leq 1562$ µg/ml) sont toutefois inférieures à celles de la gentamicine ($17.5 \pm 0.57 \leq ID \leq 29.5$ mm et $0.195 \leq MIC \leq 12.5$ µg/mL). Les rapports MBC/MIC ≤ 4 révèlent une activité bactéricide sur toutes les bactéries testées à l'exception de *K. pneumoniae* où les extraits ont présenté un effet bactériostatique.

Tableau 4: Concentration minimale inhibitrice (CMI), bactéricide (CMB) des extraits éthanoliques de *D. multiflora* et de *P. pinnata*

Tests (µg/ml)	Paramètres	ST	SF	KP	BC	EC	PM
<i>D. multiflora</i>	CMI	97.65	195.31	195.31	781.25	390.62	390.62
	CMB	195.31	781.25	1562.5	3215	390.62	390.62
	CMB/CMI	2	4	8	4	1	1
<i>P. pinnata</i>	CMI	781.25	195	390.62	781.25	781.25	390.62
	CMB	3215	781.25	3215	3215	1562.5	390.6
	CMB/CMI	4	4	8	4	2	1
Gentamicine	CMI	0.390	0.390	0.390	0.195	3.125	12.5
	CMB	0.781	0.781	0.781	0.390	12.5	25
	CMB/CMI	2	2	2	2	4	2

ST : *S. typhi* ; KP : *K. Pneumoniae* ; BC : *B. cereus* ; EC1 : *E. coli* ; PM : *P. mirabilis* ; SF : *S. flexneri* ;

III.1.3.2. Essais antibactérien des fractions actives

III.1.3.2.1. Détermination des diamètres des zones d'inhibition des fractions actives

Sachant que la complexité des extraits bruts peut réduire leur efficacité nous avons entrepris le fractionnement de ces extraits et le résultat du test antibactérien des fractions actives est consigné dans le tableau 5. Seules les fractions à l'acétate d'éthyle/méthanol ont présenté la plus grande activité antimicrobienne. Les résultats du tableau 5 montrent que ces trois fractions ont sensiblement la même activité sur chacune des souches prises individuellement avec des fractions variant de 25,33 à 11,33. *S. typhi* et *P. mirabilis* sont les souches les plus sensibles alors que *K. pneumoniae* est la souche la moins sensible. *S. typhi*, *B. cereus* et *P. mirabilis* ont montré une activité supérieure à celle des extraits bruts éthanoliques de *D. multiflora* et *P. pinnata*. Cependant le fractionnement n'a pas modifié l'activité des extraits sur *K. pneumoniae* qui est toujours bactériostatique.

Tableau 5: Diamètres des zones d'inhibition des fractions actives de *D. multiflora* et de *P. pinnata*

Fractions	ST	SF	KP	BC	EC	PM
F ₁ A/M (7/3)	25,33	21,50	11,33	18	12,16	22
F ₁ A/M (3/7)	23	22,33	09,6	16,66	12	20
F ₂ A/M (3/7)	19	19,5	11,50	20,33	12	23

ST : *S. typhi* ; KP : *K. Pneumoniae* ; BC : *B. cereus* ; EC : *E. coli* ; PM : *P. mirabilis* ; SF : *S. flexneri* ; F₁A/M (7/3) : Fraction acétate d'éthyle/méthanol (7/3) de *D. multiflora* ; F₁A/M (3/7) : Fraction acétate d'éthyle/méthanol (3/7) de *D. multiflora* ; F₂A/M (7/3) : Fraction acétate d'éthyle/méthanol (7/3) de *P. pinnata*

III.1.3.2.2. Paramètres d'inhibition: Concentration minimale inhibitrice (CMI), bactéricide (CMB) des fractions actives de *D. multiflora* et de *P. pinnata*

De façon générale le fractionnement contribue à augmenter l'activité inhibitrice des extraits. En ce qui concerne *D. multiflora* ses deux fractions ont présenté des activités différentes et on note que la fraction F₁A/M (3/7) est plus active que la fraction F₁A/M (7/3).

Le tableau 6 nous montre que par rapport aux extraits bruts de *D. multiflora*, F₁A/M (3/7) a présenté une plus grande activité sur *S. typhi* (48 µg/mL) et *B. cereus* (195 µg/mL) contre 97,5 et 781,25 µg/mL pour les extraits bruts respectivement. F₁A/M (3/7) est moins active (195 µg/mL) que l'extrait brut (97,65 µg/mL) sur *B. cereus* tandis que son activité sur *P. mirabilis* est identique à celle de l'extrait brut (390,62 µg/mL). Son activité est cependant supérieure à celle de l'extrait brut sur *K. pneumoniae*, *B. cereus* et *E. coli*.

Concernant *P. pinnata*, la fraction F₂A/M (7/3) présente une activité relativement faible par rapport à celle de l'extrait brut. En effet seule *B. cereus* est plus sensible à la fraction par rapport à l'extrait brut avec des CMI de 97 et 781,25 µg/mL respectivement. Son activité est plus faible 781 µg/mL que celle de l'extrait brut 390 µg/mL sur *P. mirabilis* tandis qu'elle est identique sur *K. pneumoniae*, *E. coli* et *S. typhi*. Dans l'ensemble les fractions de *D. multiflora* ont présenté une activité supérieure à celle de *P. pinnata*. Les résultats obtenus montrent que les fractions les plus actives sont celles obtenues à partir des systèmes de solvants polaires.

Tableau 6: Concentration minimale inhibitrice ($\mu\text{g}/\text{mL}$) (CMI), bactéricide (CMB) des fractions actives de *D. multiflora* et de *P. pinnata*

Fractions	Microorganismes						
	Paramètres	ST	SF	KP	BC	EC	PM
F ₁ A/M (7/3)	CMI	48	781	195	195	390	390
	CMB	390	6250	390	781	1562	1562
	CMB/CMI	8	8	2	4	4	4
F ₁ A/M (3/7)	CMI	195	390	97	97	195	390.62
	CMB	390	1562	390	781	195	390.6
	CMB/CMI	2	4	4	8	1	1
F ₂ A/M (7/3)	CMI	781	781	390	97	781	781
	CMB	781	1562	781	97	1562	3125
	CMB/CMI	1	2	2	1	2	4
Gentamicine	CMI	0.390	0.390	0.390	0.195	3.125	12.5
	CMB	0.781	0.781	0.781	0.390	12.5	25
	CMB/CMI	2	2	2	2	4	2

ST : *S. typhi* ; KP : *K. Pneumoniae* ; BC : *B. cereus* ; EC : *E. coli* ; PM : *P. mirabilis* ; SF : *S. flexneri* ;

F₁A/M (7/3) : Fraction acétate d'éthyle/méthanol (7/3) de *D. multiflora* ; F₁A/M (3/7) : Fraction acétate d'éthyle/méthanol (3/7) de *D. multiflora* ; F₂A/M (7/3) : Fraction acétate d'éthyle/méthanol (7/3) de *P. pinnata*

III.3.3. Essais antibactérien des combinaisons

III.3.3.1. Résultats des tests de combinaisons des extraits bruts de *D. multiflora* et de *P. pinnata*

Les résultats des tests de combinaisons et des concentrations inhibitrices fractionnelles sont consignés dans les Tableaux 7 et 8.

Du Tableau 7 il ressort de façon générale que les différentes combinaisons présentent des activités différentielles. On note que la combinaison 6:4 présente une activité supérieure à celle des extraits bruts pris individuellement sur *B. cereus*, *E. coli*. Les extraits bruts de *D. multiflora* et *P. pinnata* ont présenté une activité supérieure à celle des combinaisons sur *K. pneumoniae*.

Tableau 7: Résultats des concentrations minimales inhibitrice ($\mu\text{g}/\text{mL}$) des combinaisons d'extraits bruts de *D. multiflora* et *P. pinnata*

Souches Extraits	BC	EC	PM	ST	KP	SF
E ₁	781	390	390	97	195	390
1 :9	390 (39/351)	781 (78/703)	781 (78/703)	3125(312,5/2812,5)	781 (78/703)	6250 (625/5625)
2 :8	195 (39/156)	6250 (1250/5000)	1562 (312/1250)	195 (39/156)	781 (156/625)	1562 (312/1250)
3 :7	1562 (469/1093)	781 (234/547)	1562 (469/1093)	1562 (469/1093)	781 (234/547)	3125(937,5/2187,5)
4 :6	390 (156/234)	781 (312,5/468,5)	781 (312,5/468,5)	195 (78/117)	1562 (625/937)	1562 (625/937)
5 :5	390 (195/195)	195 (97,5/97,5)	781 (390/390)	195 (97,5/97,5)	781(390/390)	1562 (780/780)
6 :4	390 (234/156)	195 (117/78)	390 (234/156)	97 (58/39)	781 (469/312)	1562 (937/625)
7 :3	781 (547/234)	781 (547/234)	781 (547/234)	781 (547/234)	781 (547/234)	390 (273/117)
8 :2	195 (156/39)	1562 (1250/312)	781 (625/156)	390 (312/78)	390 (312/78)	781 (625/156)
9 :1	781 (703/78)	781 (703/78)	781 (703/78)	781 (703/78)	1562 (1406/156)	781 (703/78)
E ₂	781	781	390	781	390	781

ST : *S. typhi* ; KP : *K. Pneumoniae* ; BC : *B. cereus* ; EC : *E. coli* ; PM : *P. mirabilis* ; SF : *S. flexneri* ; E₁ : *D. multiflora* ; E₂ : *P. pinnata*

Le Tableau 8 présente les index des concentrations inhibitrices fractionnelles des combinaisons de *D. multiflora* et *P. pinnata* et on note que les combinaisons des extraits bruts ont entraîné un effet antagoniste sur *K. pneumoniae*, *S. typhi* et *P. mirabilis*. La combinaison 6:4 a présenté un effet synergique sur *E. coli* tandis qu'un effet additif est noté sur *B. cereus* et *S. typhi* avec une indifférence sur *P. mirabilis*. La fraction 5:5 a présenté un effet synergique sur *E. coli* et un effet additif sur *B. cereus*.

Tableau 8: Résultats des concentrations inhibitrices ($\mu\text{g}/\text{mL}$) fractionnelles (FIC) des combinaisons d'extraits bruts de *D. multiflora* et *P. pinnata*

Souche	BC			EC			PM			ST			KP			SF		
	FIC E ₁	FIC E ₂	FIC I	FIC E ₁	FIC E ₂	FIC I	FIC E ₁	FIC E ₂	FIC I	FIC E ₁	FIC E ₂	FIC I	FIC E ₁	FIC E ₂	FIC I	FIC E ₁	FIC E ₂	FIC I
1 :9	0,05	0,45	0,5 ^s	0,2	0,9	1,1 ⁱ	0,2	1,8	2 ^{an}	3,22	3,6	6,82 ^{an}	0,4	1,8	2,2 ^{an}	1,6	7,2	8,8 ^{an}
2 :8	0,04	0,2	0,24 ^s	3,2	6,4	9,6 ^{an}	0,8	3,2	4 ^{an}	0,4	0,19	0,59 ^s	0,8	1,6	2,4 ^{an}	0,8	1,6	2,4 ^{an}
3 :7	0,6	1,39	1,99 ⁱ	0,6	0,7	1,3 ⁱ	1,2	2,8	4 ^{an}	4,83	1,39	6,22 ^{an}	1,2	1,4	2,6 ^{an}	2,4	2,8	3,2 ^a
4 :6	0,19	0,29	0,48 ^s	0,8	1,2	2 ⁱ	0,8	1,2	2 ⁱ	0,8	0,14	0,22 ^s	3,2	2,4	5,6 ^{an}	1,6	1,2	2,8 ^{an}
5 :5	0,25	0,25	0,5 ^s	0,25	0,12	0,37 ^s	1	1	2 ⁱ	1	0,12	1,12 ⁱ	2	1	3 ^{an}	2	1	3 ^{an}
6 :4	0,29	0,19	0,48 ^s	0,3	0,09	0,39 ^s	0,6	0,4	1 ^a	0,59	0,04	0,63 ⁱ	2,4	0,8	3,2 ^{an}	2,4	0,8	3,2 ^{an}
7 :3	0,7	0,29	0,99 ^s	1,4	0,29	1,69 ⁱ	1,4	0,6	2 ⁱ	5,63	0,29	5,92 ^{an}	2,8	0,6	3,4 ^{an}	0,7	0,14	0,84 ^s
8 :2	0,19	0,05	0,24 ^s	3,2	0,39	3,59 ^{an}	1,6	0,4	2 ⁱ	3,21	0,09	3,3 ^{an}	1,6	0,2	1,8 ⁱ	1,6	0,19	1,79 ⁱ
9 :1	0,9	0,09	0,99 ^s	1,8	0,09	1,89 ⁱ	1,8	0,2	2 ⁱ	7,24	0,09	7,33 ^{an}	7,21	0,4	7,61 ^{an}	1,8	0,09	1,89 ⁱ

ST : *S. typhi* ; KP : *K. Pneumoniae* ; BC : *B. cereus* ; EC : *E. coli* ; PM : *P. mirabilis* ; SF : *S. flexneri*. E₁ : *D. multiflora* ; E₂ : *P. pinnata* ; FIC I : FIC Index. Les effets des combinaisons sont classifiés en synergique (s), additif (a), indifférent (i) et antagoniste (an), si FIC Index < 1, = 1, > 1 ≤ 2 et > 2 respectivement (Okere, 2009)

III.3.3.2.1. Résultats des tests de combinaisons des fractions actives F₁A/M (7/3) de *D. multiflora* et F₂A/M (7/3) de *P. pinnata*

Les résultats des tests de combinaisons des fractions sont consignés dans le Tableau 9. La combinaison fractionnelle la plus active est 6:4 même si son activité est pratiquement identique à celle de *D. multiflora* sur *E. coli* et *P. mirabilis* tandis que son activité est identique à celle de *B. cereus* et à celle de *S. typhi*. Concernant *P. pinnata*, il en ressort que son activité est inférieure à celle de la combinaison 6:4 à l'exception de *B. cereus* où elle s'est avérée plus active. Les résultats des index des concentrations inhibitrices fractionnelles sont consignés dans le (tableau 10). En effet, la combinaison 6:4 a présenté une synergie sur toutes les souches testées à l'exception de *S. typhi* où on a noté un effet indifférent. Les combinaisons ont présenté un effet antagoniste sur *B. cereus* et *S. typhi* et un effet indifférent sur *P. mirabilis*.

Tableau 9: Concentration minimale inhibitrice ($\mu\text{g}/\text{mL}$) des combinaisons des fractions F₁A/M (7/3) / F₂A/M (7/3) de *D. multiflora* et *P. pinnata*

Souches Fractions	BC	EC	PM	ST	KP	SF
F ₁ A/M (7/3)	195	390	390	48	195	781
1 :9	1562 (156/1406)	390 (39/351)	781 (78/703)	781 (78/703)	1562 (156/1406)	781 (78/703)
2 :8	1562 (312/1250)	390 (78/312)	390 (78/312)	390 (78/312)	390 (78/312)	781 (156/625)
3 :7	390 (117/273)	390 (117/273)	390 (117/273)	390 (117/273)	390 (117/273)	781 (234/547)
4 :6	390 (156/234)	390 (156/234)	390 (156/234)	390 (156/234)	390 (156/234)	1562 (625/937)
5 :5	1562 (780/780)	195 (97,5/97,5)	390 (195/195)	195 (97,5/97,5)	195 (97,5/97,5)	1562 (781/781)
6 :4	97 (58/39)	390 (234/156)	390 (234/156)	97 (58/39)	195 (117/78)	781 (469/312)
7 :3	390 (273/117)	390 (273/117)	390 (273/117)	97 (68/29)	195 (137,5/57,5)	1562 (1093/469)
8 :2	390 (312/78)	390 (312/78)	390 (312/78)	97 (68/29)	390 (312/78)	781 (625/156)
9 :1	781 (703/78)	390 (351/39)	1562 (1406/156)	781 (703/78)	97 (88/9)	781 (703/78)
F ₂ A/M (7/3)	97	781	781	781	390	781

ST : *S. typhi* ; KP : *K. pneumoniae* ; BC : *B. cereus* ; EC : *E. coli* ; PM : *P. mirabilis* ; SF : *S. flexneri*.

Tableau 10: Résultats des concentrations inhibitrices fractionnelle (FIC) des combinaisons des fractions F₁A/M (7/3) et F₂A/M (7/3) de *D. multiflora* et *P. pinnata*

Souches Extraits	BC			EC			PM			ST			KP			SF		
	FIC E ₁	FIC E ₂	FIC I	FIC E ₁	FIC E ₂	FIC I	FIC E ₁	FIC E ₂	FIC I	FIC E ₁	FIC E ₂	FIC I	FIC E ₁	FIC E ₂	FIC I	FIC E ₁	FIC E ₂	FIC I
1 :9	0,8	14,49	15,29 ^{an}	0,1	0,44	0,54 ^s	0,2	0,9	1,1 ¹	1,62	0,9	2,52 ^{an}	0,8	3,6	4,4 ^{an}	0,09	0,9	0,99 ^s
2 :8	1,6	12,88	14,48 ^{an}	0,2	0,39	0,59 ^s	0,2	0,39	0,59 ^s	1,62	0,39	2,01 ^{an}	0,4	0,8	1,2 ¹	0,19	0,8	0,99 ^s
3 :7	0,6	2,8	3,4 ^{an}	0,3	0,34	0,64 ¹	0,3	0,34	0,64 ¹	2,43	0,34	2,77 ^{an}	0,6	0,7	1,3 ¹	0,29	0,7	0,99 ^s
4 :6	0,8	2,41	3,21 ^{an}	0,4	0,29	0,69 ^s	0,4	0,29	0,69 ^s	3,25	0,29	3,54 ^{an}	0,8	0,6	1,4 ¹	0,8	1,19	1,99 ¹
5 :5	4	8	12 ^{an}	0,24	0,12	0,36 ^s	0,5	0,24	0,74 ^s	2	0,12	2,12 ^{an}	0,5	0,25	0,75 ^s	1	1	2 ¹
6 :4	0,29	0,4	0,69 ^s	0,6	0,19	0,79 ^s	0,6	0,19	0,79 ^s	1,2	0,04	1,24 ¹	0,6	0,2	0,8 ^s	0,6	0,39	0,99 ^s
7 :3	1,4	1,2	2,6 ^{an}	0,7	0,14	0,84 ^s	0,7	0,14	0,84 ^s	1,41	0,03	1,44 ¹	0,7	0,14	0,84 ^s	1,39	0,6	1,99 ¹
8 :2	1,6	0,8	2,4 ^{an}	0,8	0,09	0,89 ^s	0,8	0,09	0,89 ^s	1,41	0,03	1,44 ¹	1,6	0,2	1,8 ¹	0,8	0,19	0,99 ^s
9 :1	3,6	0,8	4,4 ^{an}	0,9	0,04	0,94 ^s	3,6	0,19	3,79 ^{an}	14,64	0,09	14,73 ^{an}	0,11	0,02	0,13 ^s	0,9	0,09	0,99 ^s

ST : *S. typhi* ; KP : *K. Pneumoniae* ; BC : *B. cereus* ; EC : *E. coli* ; PM : *P. mirabilis* ; SF : *S. flexneri*. E₁: *D. multiflora*; E₂: *P. pinnata*; FIC I: FIC Index. Les effets des combinaisons sont classifiés en synergique (s), additif (a), indifférent (i) et antagoniste (an), si FIC Index < 1, = 1, > 1 ≤ 2 et > 2 respectivement (Okere, 2009)

III.3.3.2.2. Résultats des tests de combinaisons des fractions actives F₁A/M (3/7) de *D. multiflora* et F₂A/M (7/3) de *P. pinnata*

Les résultats des concentrations minimales inhibitrices et des index des concentrations inhibitrices fractionnelles sont consignés dans les tableaux 11 et 12. Il en ressort que les activités des combinaisons sont inférieures à celle de F₁A/M (3/7) sur *B. cereus*, *S. typhi* et *E. coli* et identique sur *P. mirabilis* et *K. pneumoniae*. F₂A/M (7/3) a présenté une activité supérieure à celles des combinaisons sur toutes les souches à l'exception de *B. cereus* où les combinaisons sont moins actives. Les résultats du Tableau 12 confirment ceux du tableau 11 et il en ressort que les combinaisons ont un effet antagoniste sur *B. cereus*, un effet synergique sur *P. mirabilis* et un effet indifférent sur *S. flexneri*.

Tableau 11: Concentration minimale inhibitrice des combinaisons F₁A/M (3/7) et F₂A/M (7/3)

Souches Fractions	BC	EC	PM	ST	KP	SF
F ₁ A/M (3/7)	97	195	390	195	97	390
1 :9	390 (39/351)	390 (39/351)	390 (39/351)	390 (39/351)	97 (9/88)	390 (39/351)
2 :8	390 (78/312)	390 (78/312)	390 (78/312)	390 (78/312)	97 (19/78)	781 (156/625)
3 :7	390 (117/273)	390 (117/273)	390 (117/273)	390 (117/273)	97 (29/68)	781 (234/547)
4 :6	390 (156/234)	390 (156/234)	390 (156/234)	390 (156/234)	97 (39/58)	781 (312/469)
5 :5	390 (195/195)	195 (97,5/97,5)	390 (195/195)	390 (195/195)	781 (390/390)	781 (390/390)
6 :4	390 (234/156)	390 (234/156)	390 (234/156)	390 (234/156)	24 (14,5/9,5)	781 (469/312)
7 :3	390 (273/117)	390 (273/117)	390 (273/117)	390 (273/117)	97 (68/29)	781 (547/234)
8 :2	390 (312/78)	390 (312/78)	390 (312/78)	781 (625/156)	195 (156/39)	781 (625/156)
9 :1	390 (351/39)	390 (351/39)	390 (351/39)	195 (175,5/19,5)	24 (22/2)	390 (351/39)
F ₂ A/M (7/3)	97	781	781	781	390	781

ST : *S. typhi* ; KP : *K. pneumoniae* ; BC : *B. cereus* ; EC : *E. coli* ; PM : *P. mirabilis* ; SF : *S. flexneri*

Tableau 12: Résultats des concentrations inhibitrices ($\mu\text{g}/\text{mL}$) fractionnelle (FIC) des combinaisons des fractions F₁A/M (3/7) et F₂A/M (7/3) de *D. multiflora* et *P. pinnata*

Souches	BC			EC			PM			ST			KP			SF		
	FIC E ₁	FIC E ₂	FIC I	FIC E ₁	FIC E ₂	FIC I	FIC E ₁	FIC E ₂	FIC I	FIC E ₁	FIC E ₂	FIC I	FIC E ₁	FIC E ₂	FIC I	FIC E ₁	FIC E ₂	FIC I
1 :9	0,4	3,6	4 ^{an}	0,2	0,44	0,64 ^s	0,1	0,44	0,54 ^s	0,44	0,44	0,88 ^s	0,09	0,22	0,31 ^s	0,44	0,44	0,88 ^s
2 :8	0,8	3,21	4 ^{an}	0,4	0,39	0,79 ^s	0,2	0,39	0,59 ^s	0,4	0,39	0,79 ^s	0,19	0,2	0,39 ^{an}	0,4	0,8	1,2 ⁱ
3 :7	1,2	2,8	4 ^{an}	0,6	0,34	0,94 ^s	0,3	0,34	0,64 ^s	0,6	0,34	0,94 ^s	0,29	0,17	0,46 ^s	0,6	0,7	1,3 ⁱ
4 :6	1,6	2,4	4 ^{an}	0,8	0,29	1,09 ⁱ	0,4	0,29	0,69 ^s	0,8	0,29	1,09 ⁱ	0,4	0,14	0,54 ^s	0,8	0,6	1,4 ⁱ
5 :5	2	2	4 ^{an}	0,5	0,12	0,62 ^s	0,5	0,24	0,74 ^s	1	0,24	1,24 ⁱ	4	1	5 ^{an}	1	0,5	1,5 ⁱ
6 :4	2,4	1,6	4 ^{an}	1,2	0,19	1,39 ⁱ	0,6	0,19	0,79 ^s	1,2	0,19	1,39 ⁱ	0,14	0,02	0,16 ^s	1,2	0,39	1,59 ⁱ
7 :3	2,8	1,2	4 ^{an}	1,4	0,14	1,54 ^s	0,7	0,14	0,84 ^s	1,4	0,14	1,54 ^s	0,7	0,07	0,77 ^s	1,4	0,29	1,69 ⁱ
8 :2	3,2	0,8	4 ^{an}	1,6	0,09	1,69 ⁱ	0,8	0,09	0,89 ^s	3,2	0,19	3,39 ^{an}	1,6	0,1	1,7 ⁱ	1,6	0,2	1,8 ⁱ
9 :1	3,6	0,4	4 ^{an}	1,8	0,04	1,84 ⁱ	0,9	0,04	0,94 ^s	0,9	0,02	0,92 ^s	0,22	0,005	0,22 ^s	0,9	0,04	0,94 ^s

ST : *S. typhi* ; KP : *K. pneumoniae* ; BC : *B. cereus* ; EC : *E. coli* ; PM : *P. mirabilis* ; SF : *S. flexneri*. E₁ : *D. multiflora* ; E₂ : *P. pinnata* ; FIC I : FIC Index. Les effets des combinaisons sont classifiés en synergique (s), additif (a), indifférent (i) et antagoniste (an), si FIC Index < 1, = 1, > 1 ≤ 2 et > 2 respectivement (Okere, 2009).

III.2.Discussion:

Les extraits de feuilles de *D. multiflora* et *P. pinnata* ont été obtenus par macération dans l'éthanol avec des rendements de 13,32 et 08,76 respectivement. Le rendement d'extraction de *D. multiflora* est plus élevé par rapport à celui de *P. pinnata* ce qui montre que l'extrait éthanolique de *D. multiflora* serait plus concentré en métabolites que l'extrait éthanolique de *P. pinnata*. Les travaux de **Kuiaté et al. (2011)** ont montré que le rendement d'extraction des feuilles de *P. pinnata* par macération dans le méthanol est plus élevé. Il ressort donc de ces résultats que les extraits issus des feuilles de *D. multiflora* et de *P. pinnata* sont polaires.

Le screening phytochimique des extraits bruts de *D. multiflora* révèle la présence de phénols, tanins, alcaloïdes, saponines, anthraquinones, stéroïdes et flavonoïdes en accord avec les résultats obtenus par **Afagnigni et al. (2016a)**. *P. pinnata* contient en plus des métabolites susmentionnés des anthocyanes absents dans les extraits de *D. multiflora*. Ce résultat corrobore ceux de **Murutala et al. (2015)** qui ont utilisé le méthanol comme solvant d'extraction ainsi que ceux de **Afagnigni et al. (2016b)** qui ont travaillé avec les extraits éthanoliques de la même plante. Toutefois les anthraquinones sont absents dans les extraits méthanoliques de feuilles (**Paul et al. 2015, Yusuf et al. 2014**). Ces différences qui peuvent être attribuées à la nature des composés dans l'extrait peuvent différer en fonction de la nature et de la partie de la plante, du lieu et de la saison de récolte, de la nature du solvant utilisé (**Tekwu et al. 2012**).

Concernant les essais antibactériens, les tests de diffusion montrent que les extraits bruts éthanoliques de *D. multiflora* et *P. pinnata* inhibent la croissance de toutes les bactéries testées. *K. pneumoniae* est la souche la plus résistante aux deux extraits bruts ce qui se justifierait par le fait que cette souche est naturellement résistante. La résistance de *K. pneumoniae* pourrait s'expliquer par le fait que la membrane externe de *Klebsiella* est constituée d'une large capsule de polysaccharides. Selon la classification de **Moreira et al. (2005)**, *B. cereus*, *P. mirabilis* et *E. coli* sont très sensibles à *D. multiflora* alors que *S. flexneri* et *S. typhi* sont extrêmement sensibles aux deux extraits bruts. *K. pneumoniae* est non sensible aux extraits de *P. pinnata* tandis que *B. cereus*, *S. flexneri*, *P. mirabilis*, *E. coli* et *S. typhi* sont sensibles. Parmi ces microorganismes *E. coli* et *S. typhi* peuvent causer de sérieuses infections gastro-intestinales (**Tekwu et al. 2012**). Toutefois, les extraits testés se sont révélés actifs sur *B. cereus*. Ces résultats font de ces plantes de bons agents antimicrobiens avantageux pour des

investigations ultérieures. De ce fait les activités antibactériennes observées justifieraient leur usage dans le traitement des maladies infectieuses telles que les diarrhées, la dysenterie et autres gastroentérites (**Afagnigni et al. 2016 a,b**). Tous les microorganismes ont révélé différentes susceptibilités aux extraits éthanoliques de *D. multiflora* et *P. pinnata* probablement dues à la concentration, à la nature et à l'origine des composés actifs présents dans ces extraits (**Tekwu et al. 2012**). Toutefois la sensibilité dépend aussi du type d'extrait et du solvant d'extraction (**Sokol et al. 2007**), de certains facteurs internes spécifiques à chaque microorganisme et de l'environnement d'action (**Meyer & Deiana, 1988**). Cette activité biologique révélée par *D. multiflora* et *P. pinnata* est attribuée à la présence dans ces plantes, de composés chimiques bioactifs doués de propriétés médicinales responsables de l'activité antimicrobienne observée (**Li et al. 2007**). Des travaux antérieurs ont montré que les polyphénols inhibent une large gamme de microorganismes et jouent aussi un rôle antiseptique. De plus les activités antimicrobiennes des terpènes ont été démontrées (**Rabe et al. 2002**). L'activité antimicrobienne des flavonoïdes est due à leur capacité à se complexer avec les protéines extracellulaires solubles et à la paroi bactérienne (**Cowan, 1999**). Les tanins inactivent l'adhésion microbienne, les enzymes et les protéines de l'enveloppe cellulaire et ont un effet antiseptique. Les alcaloïdes s'intercalent entre le DNA et/ou les cellules membranaires (**Ghestem, 2001**). La non sensibilité de certaines bactéries serait due à la faible concentration des extraits en métabolites actifs d'une part et à la composition du milieu de culture d'autre part. Toutefois, ces bactéries posséderaient des mécanismes de résistance tels que l'inactivation enzymatique, la modification du site actif et la baisse de l'accumulation intracellulaire des métabolites (**Schwarz et al. 1999**). Les mécanismes d'action des principes actifs peuvent varier d'une espèce à l'autre et dépendent également du matériel génétique de chaque microorganisme (**Takeo et al. 2004**).

Les extraits ont présenté une activité bactéricide sur toutes les souches testées à l'exception de *K. pneumoniae*. Ces résultats corroborent ceux de **Afagnigni et al. (2016b)**. Aussi, les travaux de **Kuiaté(2011)** ont montré que *P. pinnata* possèdent des activités antibactériennes et dont une activité bactéricide sur toutes les bactéries testées à l'exception de *K. pneumoniae* où les extraits ont présenté un effet bactériostatique. Cependant, les travaux de **Ikhane et al. (2015)** avec les extraits éthanoliques de feuilles de *Paullinia pinnata* ont révélé une CMI de 400 mg/mL sur *P. mirabilis* par contre *E. coli* est révélé non sensible. La CMI obtenue avec *S. typhi* (781.25 µg/ml) corrobore ceux de **Lunga et al. (2014)** par contre le même auteur a trouvé que *E. coli* et *K. pneumoniae* sont sensibles aux extraits

méthanoliques de feuilles. Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que le méthanol s'est trouvé être le meilleur solvant possédant une capacité à solubiliser la majorité de métabolites secondaires (Eloff, 1998). *K.pneumoniae* et *E. coli* moins sensibles en milieu solide se sont avérés plus sensibles par la méthode de microdilution. Cette sensibilité en milieu liquide serait due au fait que les extraits sont directement en contact avec les microorganismes ce qui augmenterait leurs potentialités inhibitrices. *D. multiflora* inhibe la croissance des souches de bactéries Gram+ et Gram- avec une CMI variant entre 97.65 (*S. typhi*) et 781.25 µg/mL (*B. cereus*). Les résultats du test de sensibilité sont confirmés par la méthode microdilution. Cependant les extraits éthanoliques de *D. multiflora* révèle une CMI de 195.31 µg/mL sur *K. Pneumoniae* qui était moins sensible sur milieu solide. Ce résultat est important pour *Klebsiella pneumoniae* qui est particulièrement résistante. Le ratio CMB/CMI montre que l'extrait éthanolique de *D. multiflora* révèle un effet bactéricide sur toutes les souches testées excepté *K. pneumoniae* sur laquelle les extraits révèlent un effet bactériostatique. Les métabolites secondaires trouvés dans les extraits de feuilles éthanoliques de *D. multiflora* seraient responsables de l'activité antibactérienne et peuvent agir en synergie (Olufunmiso & Anthony, 2012). Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Afagnigni et al. (2016a). Les activités des extraits de *D. multiflora* sont toutefois supérieures à celles de *P. pinnata*. Néanmoins toutes ces activités sont inférieures à celles de la gentamicine probablement dû au fait qu'elle est une molécule pure alors que les extraits de plante sont un mélange de plusieurs molécules.

Sachant que la complexité des extraits bruts peut réduire leur efficacité, le fractionnement des extraits bruts a été entrepris. Dans l'ensemble les fractions de *D. multiflora* ont présenté une activité supérieure à celle de *P. pinnata*. La fraction F₁A/M (7/3) a présenté une plus grande activité sur *S. typhi* (48 µg/mL), *B. cereus* et *K. pneumoniae* (195 µg/mL). Dans ce cas on pourrait attribuer cette plus grande activité des fractions au fait que le fractionnement contribuerait à se rapprocher d'avantage du principe actif qui en association avec d'autres métabolites serait moins actif sur certaines souches. La fraction F₁A/M (3/7) quant à elle est moins active avec une CMI de 195 µg/mL contre 97,65 µg/mL pour l'extrait brut sur *B. cereus* et que son activité sur *P. mirabilis* est identique à celle de l'extrait brut (390,62 µg/mL). La fraction F₂A/M (7/3) de *P. pinnata* a présenté une activité inférieure à celle de l'extrait brut sur toutes les souches testées à l'exception de *B. cereus* qui s'est avéré très sensible à cette fraction avec une CMI de 97 µg/mL. Ainsi donc, ces résultats montrent que les molécules présentes dans ces extraits agiraient en synergie et que le fractionnement

aurait plutôt contribué à les séparer et de ce fait à baisser leur activité. Il en ressort donc que le fractionnement ne contribue pas toujours à augmenter l'activité de l'extrait. En effet, les travaux antérieurs ont montré que le fractionnement des feuilles de *Phyllanthus muellerianus* à base de méthanol réduit l'effet antibactérien sur *P. aeruginosa*, *P. mirabilis* et *E. faecalis* (**Ofokansi et al.2013**).

L'utilisation du médicament combiné est occasionnellement recommandée pour prévenir la résistance émergente durant le traitement et pour parvenir à une efficacité supérieure dans le traitement des infections et des maladies. Les combinaisons 5 :5 et 6:4 d'extraits bruts ont présenté un effet synergique sur *E. coli* et *B. cereus* tandis qu'un effet d'indifférence est noté sur *P. mirabilis* et *S. typhi* avec un antagonisme sur *K. pneumoniae* et *S. flexneri*. Des travaux ont montré que la combinaison des extraits de plantes avec le ciprofloxacine possèdent des avantages contre *P. mirabilis* et *E. faecalis* (**Ofokansi et al.2013**). Les résultats des combinaisons des fractions actives F₁A/M (7/3) de *D. multiflora* et F₂A/M (7/3) de *P. pinnata* montrent que la combinaison 6:4 a présenté une synergie sur toutes les souches testées à l'exception de *S. typhi* où on a noté un effet indifférent. De ces résultats il ressort que les combinaisons des fractions ne sont pas appropriées contre *S. typhi*. Toutes les combinaisons ont présenté un effet synergique sur *E. coli* tandis qu'à l'exception des combinaisons 4 :6 ; 5 :5 et 7 :3, les autres ont présenté un effet synergique sur *S. flexneri*. Ce résultat est particulièrement intéressant dans la recherche du traitement contre *S. flexneri*, une souche particulièrement impliquée dans les diarrhées infectieuses **Afagnigni et al. (2016c)**. Les combinaisons F₁A/M (3/7) de *D. multiflora* et F₂A/M (7/3) de *P. pinnata* ont un effet antagoniste sur *B. cereus*, un effet synergique sur *P. mirabilis* et un effet indifférent sur *S. flexneri*. A l'exception des combinaisons 4:6 et 8:2 toutes les autres ont présenté un effet synergique sur *K. pneumoniae* qui pourtant s'est avéré sensible aux extraits et combinaisons d'extraits et d'autres fractions. Ces résultats sont d'autant plus intéressants en ce sens que *K. pneumoniae* est une souche particulièrement résistante aux antibiotiques.

De façon globale, la baisse d'activité peut être attribuée à l'incompatibilité entre les composés phytochimiques présents dans ces extraits et fractions combinés ou à l'inhibition compétitive au site d'action. L'effet synergique a été observé dans la majorité des combinaisons sur *B. cereus* en indiquant de ce fait que ce microorganisme est le plus sensible aux extraits, fractions et leurs combinaisons. Les effets antagonistes et d'indifférence ont été les plus observés en combinant ces extraits et fractions. Le synergisme et l'additivité ont toutefois été observés dans certains cas. Ces résultats suggèrent qu'il serait bénéfique

d'utiliser les combinaisons des fractions contre *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* et *B. cereus* tandis que les combinaisons des extraits bruts seraient conseillées sur *B. cereus*. Les combinaisons thérapeutiques des extraits bruts et des fractions ne sont pas indiquées dans le traitement contre les infections à *S. typhi*. Dans tous les cas on note que les activités antibactériennes sont obtenues aux faibles doses d'extraits ou de fractions dans les combinaisons minimisant ainsi d'éventuels effets aduerses. Ces résultats montrent enfin que les combinaisons d'extraits bruts et de fractions seraient plus indiquées que lorsqu'ils sont pris seuls (**Marr et al. 2004**). En effet, les combinaisons thérapeutiques sont une voie importante dans la recherche des agents antibactériens efficaces dû au fait que les interactions synergiques peuvent potentiellement augmenter le spectre d'activité antimicrobien, minimiser d'éventuelles émergences des microorganismes résistants aux antibiotiques et réduire la toxicité et le temps de traitement (**Rybak & McGrath 1996**). Les combinaisons ont montré des effets bénéfiques contre certaines infections difficilement curables telles que le VIH/SIDA et la tuberculose qui ne sont pas sensibles à la monothérapie due soit à une inefficacité du traitement ou à l'émergence rapide des résistances (**Horsburgh et al. 2000**). Toutefois, l'efficacité *in vivo* ne peut être certifiée dû à la variabilité des effets pharmacocinétiques de ces médicaments chez l'hôte et les différentes concentrations en bactéries et principes actifs au site de l'infection. Les investigations cliniques sont requises pour élucider les mécanismes responsables de ces effets et explorer leur potentiel thérapeutique.

CHAPITRE IV : IMPLICATION DIDACTIQUE

La pédagogie est une réflexion sur l'action éducative. Elle s'intéresse aux relations entre enseignants-élèves et élèves-élèves et se penche sur les méthodes et techniques d'éducation en fonction des objectifs à atteindre.

Dans le domaine des sciences de la vie et la terre de l'éducation à l'environnement à l'hygiène et de biotechnologie (SVTEEHB), plusieurs approches ont été faites pour améliorer la qualité de l'enseignement à savoir la Pédagogie Par Objectif (PPO) et l'Approche Par Compétence (APC). Ces dernières sont appliquées en 6^{ième} et 5^{ième} de l'enseignement secondaire. Ces deux approches favorisent le développement des compétences par l'apprenant à travers les activités d'intégration.

L'une des principales attributions de l'enseignant est de faire acquérir les connaissances aux élèves. Pour que cette acquisition soit efficace, l'enseignant s'appuie sur la connaissance de l'apprenant, son milieu et fait appel à sa formation professionnelle et à son expérience. Riche de tous ces accords il n'est cependant pas encore prêt pour faire acquérir avec succès les connaissances. Pour cela il lui faut surtout s'organiser, s'équiper, collecter le matériel, prévoir les méthodes et les techniques, en un mot il lui faut préparer sa leçon. Pour y parvenir, l'enseignant doit : savoir si le thème a déjà été abordé antérieurement et de quelle manière ; rechercher des prérequis à transformer en pré-acquis, définir le contenu de la leçon et préparer les outils pédagogiques de références déterminer ce que l'apprenant aura à noter en guise de sa synthèse de production.

Pour mettre ces attributions en exergue ce mémoire nous permettra d'aborder une leçon en classe de 3^{ième} qui est intitulée : **Le monde microbien, l'agression microbienne et parasitaire.**

FICHE PEDAGOGIQUE D'UNE LEÇON DE SCIENCES DE LA VIE ET DE LA TERRE

Etablissement : Lycées et collèges d'enseignement général du Cameroun	Date : 15Mars 2016	
Thème : Le monde microbien, l'agression microbienne et parasitaire, la défense de l'organisme	<u>Nom de l'enseignant :</u> N'touma Nyamsy Marat Ingrid	
	Classe : 3 ^{ième}	
Chapitre XII : Déficience du système immunitaire et aide au Système immunitaire	Garçons :	Filles :
Titre de la leçon : La lutte contre les maladies microbiennes : les méthodes curatives par antibiothérapie Durée : 55 Minutes		
Objectif pédagogique opérationnel : A la fin cette leçon, l'élève sera capable de : <ul style="list-style-type: none"> - Relever les modes d'action des antibiotiques - Expliquer le principe de l'antibiothérapie 		

ETAPES	Objectifs Pédagogiques Opérationnels Intermédiaire s	Contenus spécifiques aux O.P.O.I.	Matériels ou supports pédagogiques	Activités d'enseignement – apprentissage	Evaluation de l'atteinte des OPOI	Durée
	1- Communiquer le titre, les objectifs et les expliquer	<p><u>Chapitre : L'aide au système immunitaire</u></p> <p><u>I- La lutte contre les maladies microbiennes : les méthodes curatives par antibiothérapie</u></p> <p><u>O.P.O.I :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Relever les modes d'action des antibiotiques - Expliquer le principe de 	<p>Livre programme classe de 3^{ème}</p>	<p>L'enseignant écrit le titre de la leçon au tableau</p> <p>Dicte les objectifs d'apprentissage</p> <p>Les apprenants recopient le titre de la leçon et les objectifs d'apprentissage dans leur cahier</p>		5 min

Introduction		l'antibiothérapie.				
	2- Déterminer l'intérêt de la séquence d'appren-Tissage	<ul style="list-style-type: none"> - Montrer que la défense de l'organisme présente des limites - Comprendre l'usage des antibiotiques dans le traitement des maladies microbiennes 	Vécu quotidien	Brainstorming / échanges		2 min
	3-Vérifier les pré-réquis	<p>1-Un microbe est un être vivant très petit et visible au microscope</p> <p>2-On distingue :</p> <p>les bactéries, les virus, les protozoaires et les champignons</p> <p>3-On distingue les méthodes préventives et curatives.</p> <p>4-Certains médicaments</p>	Leçons et apprentissages précédents	<p>L'enseignant pose les questions de l'évaluation diagnostique.</p> <p>Procède à une rémédiation si cela s'avère nécessaire.</p> <p>Les apprenants répondent aux questions de l'évaluation diagnostique par écrit ou oralement, notent les rappels indispensables.</p>	<p>1-Qu'est-ce qu'un microbe ?</p> <p>2-Quels sont les grands groupes de microbes?</p> <p>3-Quels sont les deux méthodes de lutte contre les maladies ?</p> <p>4-Quels sont les effets des agents extérieurs</p>	3 min

		empêchent la croissance des microbes et d'autres les tuent.			(médicaments) sur les microbes ?	
	4- Formuler le problème scientifique	- Quel est l'effet des antibiotiques sur les bactéries et les champignons qui causent les maladies?	Document 6 : Une culture de bactéries et son antibiogramme Livre des SVT 3 ^e , Collection Planète Vivante. p119	L'enseignant présente le document 6 Pose des questions d'observation et/ou de constatation qui emmènent les apprenants à poser le problème scientifique Les apprenants écoutent, lisent attentivement le texte et observent la photographie du document 6, Répondent aux questions posées et formulent le problème scientifique	1- Que contiennent les pastilles ? 2- Que traduisent les auréoles autour des pastilles ? - Quel est donc le problème que nous cherchons à résoudre ?	5 min
Développement	- Relever les modes d'action	<u>1- Modes d'action des</u>		-Rappelle l'OPOI	-Question 1 : Quels sont les effets des	

ent-	des antibiotiques	<p><u>antibiotiques</u></p> <p>Les antibiotiques ont deux modes d'action :</p> <p>Une action bactériostatique qui s'oppose à la multiplication des germes, permettant ainsi aux moyens naturels de défense tels que la phagocytose et les anticorps de jouer pleinement leur rôle : c'est l'action la plus importante.</p> <p>- Une action bactériolytique ou bactéricide qui détruit les germes.</p>	<p>Réné Djakou et S. Yaya Thanon, 1996. Biologie Humaine 3^e ; Collection Bordas. Pp 206-207</p>	<p>-Présente une situation problème à partir du document 6 et pose des questions y relative.</p> <p>-Choisit les supports didactiques ou matériels appropriés</p> <p>-Décrit et fait faire les activités d'apprentissage (Document 6)</p> <p>-Pose les questions de l'évaluation formative</p> <p>-Surveille la bonne prise de notes.</p> <p>- Les apprenants écoutent,</p> <p>-observent le document,</p> <p>-posent des questions,</p> <p>-analysent,</p> <p>-prennent des notes,</p>	<p>antibiotiques sur les microbes ?</p> <p>- Question 2 : La boîte de Pétri du document 6 est abandonnée et que deux jours après on observe la croissance des microbes autour des pastilles. Que peut-on conclure sur la nature de l'effet des antibiotiques ?</p> <p>Que traduit la persistance des auréoles autour des pastilles après deux jours ?</p>	12min
------	-------------------	--	--	---	---	-------

				<ul style="list-style-type: none"> -répondent aux questions, -travaillent en groupe, -effectuent une évaluation. 		
	<p>- Expliquer le principe de l'antibiothérapie</p>	<p><u>2- L'antibiogramme</u></p> <p>Les antibiotiques sont efficaces dans le traitement des maladies causées par les bactéries ou les champignons. Cependant, leur emploi abusif ou désordonné rend les microbes résistants. Le choix d'un antibiotique nécessite la réalisation d'un antibiogramme qui permet de déterminer</p>	<p>Réné Djakou et S. Yaya Thanon, 1996. Biologie</p>	<ul style="list-style-type: none"> -l'enseignant rappelle l'OPOI -Présente le document 6 aux élèves. -Choisit les supports didactiques ou matériels appropriés -Décrit et fait faire les activités 	<ul style="list-style-type: none"> -Qu'observez-vous sur le document ? - Pourquoi la culture bactérienne s'est-elle éclaircit 	

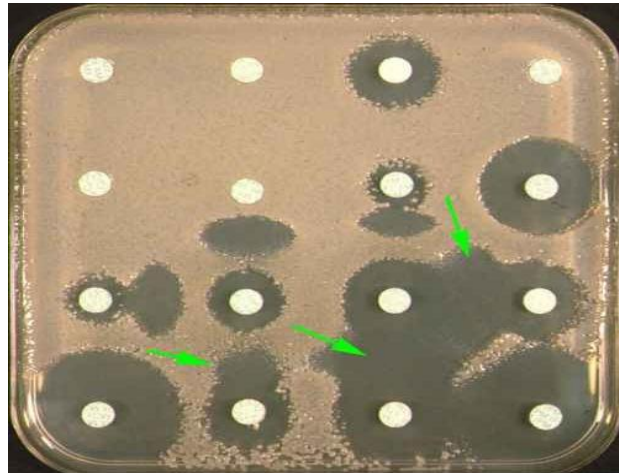
		<p>l'antibiotique le plus efficace contre la souche bactérienne déterminée.</p> <p>Sur une culture d'une souche bactérienne, plusieurs pastilles imprégnées chacune d'un antibiotique différent ont été déposées. Les auréoles se développent plus ou moins autour de chaque pastille. L'antibiotique qui a la plus grande auréole est le plus efficace.</p>	<p>Humaine 3^e ; Collection <i>Bordas</i>. Pp 206-207</p>	<p>d'apprentissage (Document 6:Une culture de bactéries et son antibiogramme)</p> <ul style="list-style-type: none"> -Pose les questions de l'évaluation formative -Donne les travaux dirigés et les devoirs -Surveille la bonne prise de notes. - Les apprenants écoutent, -observent le document, -posent des questions, -analysent, -prennent des notes, -répondent aux questions, -travaillent en groupe, -effectuent une évaluation. 	<p>autour de la pastille ?</p>	<p>20min</p>
--	--	--	---	--	--------------------------------	--------------

<p>Conclusion</p> <p>Et</p> <p>Evaluation</p>	<p><u>Synthèse des notions construites</u></p> <p>Les antibiotiques ont une action bactériostatique et une action bactéricide. Le choix d'un antibiotique nécessite la réalisation d'un antibiogramme. L'antibiothérapie est l'emploi des antibiotiques dans le traitement des maladies.</p> <p><u>-Evaluation sommative:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Définir antibiothérapie - Décrire les effets des antibiotiques sur les microbes - Comment procède-t-on pour le choix d'un antibiotique dans le traitement d'une maladie microbienne. - Durée : 8 min
--	---

REFERENCES

- Sciences de la Vie et de la Terre, 3^e.Collection Planète Vivante. Hatier International (2006). P119.
- René Djakou et S. Yaya Thanon, 1996. Biologie Humaine 3^e ; Collection *Bordas*. Pp 206-207
- Vincent Cattoir, 2006. Diagnostic bactériologique ; Cours de DCEM1 Faculté de Médecine de Créteil.P16
- N'touma nyamsy marat ingrid, 2016. Evaluation des activités antibactériennes des combinaisons d'extraits bruts et fractions actives de *Dissotis multiflora* Triana et de *Paullinia pinnata* de DIPES II.

Document 6 : Culture de bactéries et antibiogrammes



Antibiogramme de *Escherichia coli* (Vincent Cattoir, 2006)



Antibiogramme de *Streptococcus faecalis*(Vincent Cattoir, 2006)

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ce présent travail, a consisté a montré les activités antibactériens des combinaisons des extraits bruts et des fractions actives des feuilles de *Dissotis multiflora* Triana et de *Paullinia pinnata* utilisées dans la pharmacopée camerounaise pour traiter la diarrhée. L'extraction des feuilles éthanoliques de *Dissotis multiflora* Triana nous a permis d'obtenir un rendement de 13,32 % et 08,76 % pour les feuilles de *Paullinia pinnata*. Une étude de la composition phytochimique des deux extraits a révélé la présence de nombreux composés chimiques bioactifs connus pour leurs activités biologiques notamment les phénols, les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les anthraquinones, les saponines, les stéroïdes et les anthocyanes.

- ❖ Il ressort de l'évaluation de l'activité antibactérienne de nos extraits bruts éthanoliques de *D. multiflora* et *P. pinnata* qu'ils sont dotés de propriétés inhibitrices sur la croissance de la plupart des souches bactériennes testées.
- ❖ Concernant les fractions dans l'ensemble on note que les fractions de *D. multiflora* ont présenté une activité supérieure à celle de *P. pinnata*.
- ❖ Concernant les combinaisons on note que les combinaisons thérapeutiques des extraits bruts et des fractions ne sont pas indiquées dans le traitement contre les infections à *S. typhi*. On note que les activités antibactériennes sont obtenues aux faibles doses en extraits ou fractions dans les combinaisons minimisant ainsi d'éventuels effets adverses. Ces résultats montrent enfin que les combinaisons d'extraits bruts et de fractions seraient plus indiquées que lorsqu'ils sont pris individuellement.

Ces résultats préliminaires montrent que les combinaisons des extraits bruts et des fractions actives testées possèdent des activités antibactériennes. Nous nous proposons dans un avenir proche d'approfondir ce travail. Ceci consistera à étendre nos recherches sur :

- ❖ l'évaluation de l'activité antioxydante des combinaisons d'extraits bruts et des fractions actives ;
- ❖ l'évaluation de l'activité antimicrobienne des combinaisons d'extraits bruts et des fractions actives ;
- ❖ l'évaluation de l'activité antimicrobienne des combinaisons d'extraits bruts et des fractions actives sur d'autres agents pathogènes ;
- ❖ l'évaluation de la toxicité des combinaisons d'extraits bruts et des fractions actives ;
- ❖ Identification des composés bioactifs présents dans les fractions ;

BIBLIOGRAPHIES

A.A. Hamid, O.O. Aiyelaagbe. (2011) phytochemical investigations and antimicrobial studies of *Smilax kraussiana* twig (Smilacaceae) in International Journal of Academic Research(3): No.2. March.

Afagnigni A.D., Nyegue MA., Ndoye F.C., Mbanyong N.N., Voundi S.H., Etoa F-X. (2014) phytochemical screening and antibacterial activities of ethanol crude extracts of two Cameroonian medicinal plants used in the treatment of Diarrhoea. 21st Annual Conference of Cameroon Bioscience Society, 04-06th November, Higher Teachers' Training College, Yaounde, Cameroon.

Afagnigni A.D., Nyegue MA., Ndoye F.C.F., Voundi O.S., Fonkoua M.C., Etoa F-X. (2016a) Antibacterial and Antioxidant Activities of Ethanolic Leaves Extracts of *Dissotis multiflora* Triana (*Melastomataceae*). International journal Pharmaceutical Scientific Drug Research 8 (1): 50-56.

Afagnigni A.D., Nyegue MA., Ndoye F.C.F., Voundi OS., Fonkoua M.C., Etoa F-X. (2016b) *In vitro* assessment of antibacterial and antioxidant activities of ethanolic leaves extracts of *Paullinia pinnatalinn* (*Sapindaceae*). World Journal Pharmaceutical Scientific 4(5): 173-182.

Afagnigni A.D., Nyegue MA., Ndoye F.C.F., Njankouo N.Y., Njyou F.N., Fonkoua M.C., Etoa F.X. (2016c) *In vivo* antidiarrheal activity and sub acute toxicity of ethanolic leaves extracts of *Dissotis multiflora* Triana (*Melastomataceae*) and *Paullinia pinnata* Linn (*Sapindaceae*). (In press).

Ahmed A. A., Mahmoud A. A., Williams H. J., Scott A. I., Reibenspies J. H., Mabry T. J. (1993) New sesquiterpene α -methylene lactones from the Egyptian plant *Jasniacandicans*. Journal National Production (56):1276–1280.

Amaral J. A., Ekins A., Richards S. R. and Knowles R. (1998) Effect of selected monoterpenes on methane oxidation, denitrification, and aerobic metabolism by bacteria in pure culture. Application Environmental Microbiology (64):520– 525.

Annan K., Gbedema S.Y., Adu F. (2009) Antibacterial and radical scavenging activity of fatty acids from *Paullinia pinnata* Linn. Pharmacology (4): 119–123.

Archambaud M.C. (2004) BactériologieHygiène*Proteus mirabilis* BLSE CTCB - 33 route de Bayonne - 31300 Toulouse, p1-4

Arunkumar, Muthuselvam. (2009) Analysis of Phytochemical constituents and antimicrobial activities of Aloe vera. against clinical pathogens. World Journal AgricultureScientific5(5): 572-576..

Avril J.L, Fauchère.(2002) Bactériologie générale et médicale. Ellipses éditent, Paris., 2002. pp 365

Ayafor J. F., Tchuendem M. H. K., Nyasse B. (1994) Novel bioactive diterpenoids from *Aframomum aulacocarpos*. Journal National Production(57):917 – 923.

Baron S., Jennings P.M., Peterson J.W. (1986) Medical Microbiology. 4^e édition California. Page 1274.

Berche P. (2003) Bactériologie générale. PCE Master 2. Faculté de médecine Necker- Enfants maladies (France). 1- 89.

Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer L. (2002) Molecular Cell Biology, World Health Freeman. 5th édition.

Betsy T., Keogh J. (2005) Microbiology demystified. McGraw-Hill, USA. ISBN 0-07-147134-0, 1- 282.

Boris R. P. (1996) Natural products research: perspectives from a major pharmaceutical company. Journal of Ethnopharmacology (51): 29 – 38.

Brooks G.F., Butel J.S., Morse S.A. (2004) Jawetz, Melnicke, Adelberg's Medical Microbiology. 23rd International Edition, Singapore. P167-168.

Bruneton J. (1993) Pharmacognosie et Phytochimie des Plantes médicinales. Techniques et Documentation Lavoisier, Paris (2) : P 915.

Bryskier A. (1999) Antibiotiques: agents antibactériens et antifongiques. Edition Ellipses, p 1216

CLSI. (2012) Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standards-ninth edition. Wayne PA: Clinical Laboratory Standards Institute, M07-A9, 32 (2).

Carbonelle B., Denis F., Marmonier A., Pinon G., Vagues R. (1987) Bactériologie médicale : techniques usuelles. SIMEP, Paris. P 227-228, 237-238.

Chebrouh Monica. (2000) District laboratory practice in tropical countries Part 2. 179-183.

Chups. (2003) Bactériologie DCEM 1. Service de bactériologie. On line on: <http://www.md.ucl.ac.be/didac/hosp/hosp/cours/bactério.pdf>

Cos P.M., Sindambiwe L.W., Vlietinck A.J., Berghe D.V. (2006) In Bioassays for Antibacterial and Antifungal Activities. Edited by: Mahabir P, Gupta S, Swami H, Karan V. Biological Screening of plant constituents. Training manual, International centre for science and high technology. Trieste.p. 9-28.

Cowan M.M.(1999) Plants products as antimicrobial activity. Clinical Microbiology Reviews.12(4):564-582.

Dash, M.; Kumar, P.J.; Panda, P. (2008). Phytochemical and antimicrobial screening of extracts of *Aquilaria agallocha* Roxb. Africa Journal Biotechnology (7):3531-3534.

Decré D., Burghoffer B., Gautier V., Petit J.C., Arlet G. (2004) Outbreak of multi-resistant *Klebsiella oxytoca* involving strains with extended-spectrum β -lactamases and strains with extended-spectrum activity of the chromosomal β -lactamase. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 54 (5): 881-888

Delarras C. (2007) Microbiologie Pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire .Edition Technique et Document, Lavoisier, Paris 281 P.

Dennehy Ph. (2005) acute diarrhoeal disease in children; epidemiology prevention and treatment. Infection Disease clinic North America(19):585-602.

Denning D.W. (1998) Invasive aspergillosis. Clinic Infection Disease(26):781-805.

Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bingen E., Quentin R. (2007) Bactériologie médicale: techniques usuelles. Elsevier Masson S.A.S, Paris. P 250-316.

Dupeyron C. (1997). Les diarrhées aiguës bactériennes : causes et mécanismes. Edition diarrhée et péril fécal, Développement et Santé n°128. Recueil de formation à la sante n°21.

Eloff J.N. (1998) A sensitive and quick microplate method to determine the minimum inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Plant Medicinal*(64): 711-713.

Eloff J.N. (1998) Which extract should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants? *Journal of Ethno pharmacology* (60):1–8.

Egwaikhide P.A, Gimba C.E. (2007) Analysis of the phytochemical content and anti-microbial activity of *Plectranthus glandulosus* whole plant. *Middle –East Journal of Scientific research* 2 (3-4): 135-138.

Evans W. C. (2000) *Trease and Evans Pharmacology*. 14th Edition WBSaunders Company.

Euzeby J. P. (2003) *Bacillus cereus* Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire. Disponible sur le net à l'adresse : <http://www.bactério.Ciet.fr/badico/bb/cereus.html>

Euzeby J.P. (2008) Dictionnaire de bactériologie vétérinaire. <http://www.bacdico.net>.

Faizi S., Khan R.A., Azher S., Khan S.A., Taussef S., Ahmad A. (2003) New antimicrobial alkaloids from the roots of *Polyalthialongifolia* variety *pendula*. *Planta medica*. (69): 350-355.

Fauchère Avril J.L.(2002) *Bactériologie générale et médicale*. Ellipses éditent, Paris. P. 365.

Favier A. (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes de maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. Novembre-décembre pp 108-115.

Francesco V., Tori M.H. (2007) Nutritional strategies for healthy cardiovascular aging: focus on micronutrients. *Pharmacological research*,(55): 199-203.

Fredrickson J., Zachara J., Balkwill D. (2004) « Geomicrobiology of high-level nuclear waste-contaminated vadose sediments at the Hanford site, Washington state », dans *Application Environmental Microbiology*, 70,n° 7, p. 4230–41.

Ford R.A., Hawkins D.R., Mayo B.C., Api A.M.(2001)The in vitro dermal absorption and metabolism of coumarin by rats and by human volunteers under simulated conditions of use in fragrances.*Food and Chemical Toxicology*(39): 153-162.

Ghestem A., Seguin E., Paris M., Orecchioni A.M.(2001)Le préparateur en pharmacie.Dossier 2, Botanique-Pharmacognosie-Phytothérapie-homéopathie. *Tecniq ue et Document* (Ed), 272p.

Ghosh T., Mithy T.K., Swain P.K., Bose A. (2007) Anthelmintic and antimicrobial activity of *Enhydrafluctuans*Lour aerial parts.*Pharmacognosy* 11 (1):204-208.

Gonzaga W.A., Weber A.D., Giacomelli S.R., Dalcol I.L., AoelZel S.C., Morel A.F. (2003) Antibacterial alkaloid from *zanthoxylum thoifalin*.*Planta media*:69P.

Hahn, M.W., Lunsdorf H., Wu Q., Schauer M., HofleM.G., Boenigk J., Stadtler P. (2003)Isolation of novel ultramicrobacteria classified as action bacteria from five freshwater habitats in Europe and Asia. *Application Environmental Microbiology* (3):69.

Harborne J. (1998) *Phytochemical methods. A guide to moderntechniques of plants analysis*. Third Edition Chapman and Hall, Ltd, London: Pp.40-96, 203-218

Hema R., Kumaravel S., Elanchezhiyan N. (2009)Antimicrobial activity of some of the South-Indian spices and herbals against food pathogens. *Global Journal Pharmacology* 3(1): 38-40.

Horsburgh., C.R., J.r.,Feldman., S., Ridzon., R.(2000) Practice guidelines for the treatment of tuberculosis. *Clinic Infection Disease*31: 633–639.

Ikhane D. (2015)Phytochemical and Antimicrobial Activities of Methanolic Extract of *Paullinia pinnata* Leaves on Some Selected Bacterial Pathogens.*Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*(21):59–74.

Jimoh F.O., Sofidiya M.O., Afolayan A.J.(2007)Antioxidant properties of the methanol extracts from the leaves of *Paulliniapinnata*. Journal Medical Food(10):707-711.

Joëlle Nicolas. (2012)Pédiatrie et santé humanitaireDU Santé humanitaire CHU Montpellier Janvier p 32.

John A., Benedet H.U., Takayuki S.(2007) Antioxidant Activity of Flavonoids Isolated from Young Green Barley Leaves toward Biological Lipid Samples.Journal of Agriculture, Food and Chemistry, (55): 5499-5504.

Joly J. (2003) infectiologie :In Environnement et santé publique-fondements et pratiques, PP 145-162.

Jules C.N Assob1., Henri L.F Kanga., Dickson S.N., Anna L.N., Peter F. N., Emmanuel A A.1.,Abdel J.N., Bertrand S., Veronique B.P.(2011) Antimicrobial and toxicological activities of five medicinal.plant species from Cameroon Traditional Medicine in BMC Complementary and Alternative Medicine(11):70.

Jun D.Z.,Yong-B.C.,Zheng X., Hui-Hua S., Mao-Mao A.,Khiati M. (1998) Guide des maladies infectieuses et parasitaires. OPU, Alger.PP 50-56.

Jun Yu., Limin W., Rosemary L.W., Edward G.M., Léonard M.P., Bhimanagouga S.P.(2005) Antioxidant Activity of Citrus Limonoids, Flavonoids and Coumarins.Journal of Agriculture Food and Chemistry(53): 2009-2014.

Kil H.Y., Seong E.S., Ghimire B.K., Chung I.M., Kwon S.S., Goh E.J., Heo K., Kim M.J., Lim J.D., Lee D., Yu C.Y. (2009)Antioxidant and antimicrobial activities of crudesorghum extract. Food Chemistry.(115):1234-1239.

Kuiate J.R.(2005)Caractérisation biologique et chimique des dermatophytes et plantes médicinales à effets antifongiques dans les localités de l'ouest Cameroun. Thèse de Doctorat d'état en biochimie. Université de Yaoundé I.

Kuiate R., Keilah L.P., Tamokou J.D. D., Ngo.T.G., Gatsing D (2011) antibacterial and antioxydant properties of *Paullinia pinnata*(Sapindaceae) and *Ficus thonningii* (Moraceae) methanol crude bark extract Laboratory of Microbiology and Antimicrobial Substances, Faculty of Science, University of Dschang,Cameroon.

Lalitha V., Raveesha KA., Kiran B.(2010) Antimicrobial activity of *Solanum torvum* Swart. against important seed borne pathogens of paddy. *Iranica Journal Energy Environmental* 1(2): 160-164.

Lavigne J.P.(2007) Effet des antibiotiques, mécanismes de résistance. 1^{er} cycle - PCEM 2 - MB7 - Bactériologie- Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes, France.

Li H.B. (2007) Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food Chemistry*(102):771-776

Lunga P.K., Tamokou J.D., Simeon F.S., Kuate J.R., Joseph T., Donatien G.(2014) Antityphoid and radical scavenging properties of the methanol extracts and compound from the aerial part of *Paullinia pinnata*. *Springer Plus* (3):302.

Macheix J.J., Fleuriet A., Jay-Allemand C. (2005) Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses polytechnologiques et universitaires romandes. p4-5

Marr K.A., Boeckh M., Carter R.A., Kim H.W., Corey L.(2004) Combination antifungal therapy for invasive aspergillosis. *Clinic Infectious Disease*.39:797–802.

Meyer A., Deiana J.(1988) Cours de microbiologie générale. Doin éditeurs, paris. P 201-224, 234.

Mohamed B., Rénée J.G., Monique S. J.S., Mohammed D. S. S.,(2005) Identification and Antioxidant Potential of Flavonoids and low Molecular weight Phenols in Olive Cultivar Chemlali Growing in Tunisia. *Journal of Agriculture, Food and Chemistry* 53: 236-246

Moreira M.R., Ponce A.G., Del V.C., Roura S.I., 2005. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 38: 56.

Muanda F.N. (2010) Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse soutenue en vue de l'obtention du grade de Docteur de l'Université Paul Verlaine-Metz. Le 25.11.2010.

Murutala A. Phytochemical investigation of the methanol leaves concentrate of *Paullinia pinnata* Linn. *International J Pharmacognosy Phytochem* (2015) 2(3):085-090.

Ngono N. B. A. (1999) Contribution à l'étude des propriétés antifongiques et analyses phytochimiques de cinq plantes médicinales camerounaises. Thèse de Doctorat de 3^e Cycle de Biochimie. Université de Reims Champagne-Ardenne. France- Université de Yaoundé I. Cameroun, 196 pages

Nicholson W., Fajardo-Cavazos P., Rebeil R., Slieman T., Riesenman P., Law J., Xue Y. (2002) « Bacterial endospores and their significance in stress resistance », dans *Antonie Van Leeuwenhoek*, 81, n^o1-4p. 27-32.

Odunbaku O.A., Ilusanya O.A., Akasoro K.S.(2008) Antibacterial activity of ethanolic leaf extract of *Ficus exasperata* on *Escherichia coli* and *Staphylococcus albus*. *Scientific Research and Essay*. 2008; 3:562-564.

Ofokansi C.k., Anthony A.A., Philip F.U^{2*}., Mercy O.O.¹(2013) *Journal of Pharmaceutical Technology & Drug Research*. Page 5

Olufunmiso O., Olajuyigbe A., Afolayan J., (2012) Synergistic Interactions of Methanolic Extract of *Acacia mearnsii* De Wild. With Antibiotics against Bacteria of Clinical Relevance. *International Journal Molecular. Scientific* 13:8915-8932

Omulokoli E. B., Khan., Chabra S.C.(1997) Antiplasmodial activity of four Kenyan medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 56: pp 133-137.

O.M.S. (2008). Directives pour la lutte contre la shigellose, y compris lors d'épidémies dues à *Shigella dysenteriae* type 1. Genève. P 2

Oussou K. R., Yolou S., Boti J. B., Guessennd K. N., Kanko C., Ahibo C., Casanova J. (2008) Étude chimique et activité antidiarrhéique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la pharmacopée ivoirienne. *European Journal of Scientific Research*. 24 (1): 94-103.

Paul K.L. (2015) Treatment Evaluation of the Side Effects of Methanol Leaf Extract from *Paulliniapinnata* Linn, an Antityphoid Plant. *Pharmacologia* 264-272.

Peronny S.(2005) La perception gustative et la consommation des tannins chez le maki (*Lemur catta*). Thèse de doctorat, 151p.

Prendhan L., Kanekar P & Godbole S. (1985). Microbiology of spoiled mango pickles. Tolerance to salt, acidity and oil of the microbes isolated from spoiled mango pickles. *Journal Food Scientific Technic Industrial* 22(5):339-341.

Revue de Taxonomie et de Nomenclature botaniques Éditeur D.J.P. De Blaay - rue des Basses 16 - B 6940 Durbuy N° 15 du 5/7/2005

Rabe T., Mullholand D., Van J., 2002. Isolation and identification of compounds from *Vernonia colorata* leaves. *Journal Ethnopharmacology* 80:91-94.

Reed G., (1994). Foodborne illness (Part 4): *Bacillus cereus* gastroenteritis. *Dairy, Food and Environmental. Sanitary.* 14(2):87.

Richter SS, Galask RP, Messr SA, Hollis RJ, Diekema DJ and Pfaller MA. (2005). *Journal Clinic Microbiology* 43: 21-55.

Rybak, M.J., McGrath, B.J.(1996) Combination antimicrobial therapy for bacterial infections. Guidelines for the clinician. *Drugs* 52:390-40

Schwarz S., Noble W.C.(1999) Aspect of bacterial resistance to antimicrobial used in veterinary dermatological practice. 163-176

Sher A.(2009). Antimicrobial activity of natural products from medicinal plants. *Gomal Journal of Medical Sciences* January-June 7(1): 7 pages.

Singh C.R. (2011). Antimicrobial effect of callus and natural plant extracts of *Premnaserratifolia* L. *International Journal Pharmacologic Biomedicine Research* 2(1): 17-20.

Sofowara. E. A. (1993). Phytochemical screening: Medicinal plant and traditional medicine in Africa, Spectrum Books Ltd, Ibadan, Nigeria. Pp 270-289.

Sokol-Letowska A., Oszmiansk J., wojdylo A.(2007) Antioxydant activity of the phenolic compounds of Hawthorn, pine and skullcap. *Food chem.* 103:853-859.

Stefanova T., Nikolova N., Michailova A., Mitov I., Iancovii., Zlabingerg.I., Neychev H. Enhanced resistance to Salmonella enteric serovartyphimurium infection in mice after coumarin treatment. *Microbes and infection*.9: 7-14 (2007)

Stern J. L., Hagerman A. E., Steinberg P. D., Mason P. K.(1996). *Phlorotannin-protein interactions*. *Journal of Chemical Ecology*.22: 1887-1899 (1996).

Takeo O., Masato K., Keiko S., Rika O., Junko M., Hiroshi I., Hiroyuki K., Toshi A., Tosshifumi A., Shigeo M., 2004. *In vitro* and *in vivo* antimicrobial activities of tricyclic ketolide Te-802 and its analogs. *Journal of Antibiotics*, 57 : 518-527.

Tavs A.A., Pius E. O., Freddy O.A.(2010) Antidiarrhoea and toxicological evaluation of the leaf extract of *Dissotis rotundifoliata* (*Melastomataceae*). PP 3

Tene M., Tane P., Tamokou J.D., Kuate J.R., Connolly J.D.(2008) Degraded diterpenoids from the stem bark of *Neoboutonia mannii*. *Phytochemistry Lett.*1: 120- 124.

Tekwu M.E., Pieme C.A., Penlap B.V. (2012) Investigations of antimicrobial activity of some Cameroonian medicinal plant extracts against bacteria and yeast with gastrointestinal relevance. *Journal Ethnopharmacology* (142):265–273.

Tepe B., Daferera D., Sokmen M., Polissiou M., Sokmen A. (2004) In vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and various extracts of *Thymus eigi* M. Zohary et P.H. Davis. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 52:1132-1137.

Tereshuck M.L., Riera MVQ, Castro G.R, Abdala L.R. (1997). Antimicrobial activity of flavonoid from leaves of *targets minuta*. *Journal Ethnopharmacology* 56(3):227-232

Valgas C., Machado de souza S., Smânia E. and Smânia A., (2007). Screenings methods to determine antibacterial activity of natural products. *Brazilian journal of Microbiology*.

Vanden B.D. A., Vlietinck. (1991) Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants, pp. 47 – 58.

Vijayakumar, Duraipandiyan V., Jeyarajl B., Agastian P., M Karunai R. M., Ignacimuthu S. (2012) Phytochemical analysis and in vitro antimicrobial activity of *Illiciumgriffithii* Hook. f. & Thoms extracts. Asian Pacific Journal of Tropical Disease P 190-199 à 369 – 380..

Wagner W.L., Herbst D.R., Sohmer S.H.1. (1990) Manual of the flowering plants of Hawaii. University of Hawaii press, Bishop Museum, Honolulu, 210

Yusuf A.Z (2014) Phytochemical analysis of the methanol leaves extracts of *Paulliniapinnata* Linn. Journal Pharmacognosy Phytother 6 (2):10-16.

Zamble A.1., Carpentier M., Kandoussi A., Sahpaz S., Petrault O., Ouk T., Hennuyer N., Fruchart J.C., Staels B., Bordet R., Duriez P., Bailleul F., Martin-Nizard F. (2006) *Paulliniapinnata* extracts rich in polyphenols promote vascular relaxation via endothelium-dependent mechanisms. Journal Cardiovascular Pharmacology. 47(4):599-608.



ANNEXES

ANNEXE I : Composition des milieux de culture

a) Muller Hinton Agar (MHA) :

Infusion de viande :	2 g
Peptone de caséine acide :	17,5g
Amidon de maïs :	1,5g
Agar bactériologique :	17g
pH final :	7,4 ± 0,2

b) Bouillon Nutritif Glucosé (BNG):

Peptone :	5g
Na Cl :	5g
Extrait de levure :	2g
Glucose :	20g
pH final :	7,0 ± 0,2

ANNEXE II : équipements



Rotavapor (N'touma nyamsy)



Plaque chauffante (N'touma nyamsy) Spectrophotomètre (N'touma nyamsy)



**Etuve (N'touma nyamsy)
laminaire (N'touma nyamsy)**



Incubateur (N'touma nyamsy) hotte a flux

