

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I
FACULTÉ DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE

CENTRE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALE EN
SCIENCES

DE LA VIE, SANTE ET
ENVIRONNEMENT

Laboratoire de Recherche en Tuberculose
et Pharmacologie



REPUBLIC OF CAMEROUN

Peace – Work – Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I
FACULTY OF SCIENCE
DEPARTMENT OF
BIOCHEMISTRY

CENTRE FOR RESEARCH AND
TRAINING IN

GRADUATE STUDIES IN LIFE,
HEALTH AND

ENVIRONMENTAL SCIENCES
Laborat

**Potentiel antibactérien de quelques plantes médicinales
Camerounaises : Etude bio-guidée de *Albizia adianthifolia*
(Fabaceae) vis-à-vis des bactéries multirésistantes Gram
négatif**

THESE

Présentée et soutenue en vue de l'obtention partielle du diplôme de
Doctorat/Ph.D en Biochimie

Par : TCHINDA FOSSI Cedric
Master en Biochimie

Sous la direction de
PENLAP BENG Véronique
Professeur, Université de Yaoundé I
KUETE Victor
Professeur, Université de Dschang

Année Académique : 2020



UNIVERSITÉ DE YAOUNDE I

CENTRE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALE EN SCIENCES
DE LA VIE, SANTE ET ENVIRONNEMENT

UNITE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALE EN SCIENCES
DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE



UNIVERSITY OF YAOUNDE I

CENTRE FOR RESEARCH AND TRAINING IN
GRADUATE STUDIES IN LIFE, HEALTH AND
ENVIRONMENTAL SCIENCES

RESEARCH AND DOCTORATE TRAINING
UNIT IN LIFE SCIENCES

DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY

ATTESTATION DE CORRECTION

Nous, soussignés Pr. **SADO KAMDEM Sylvain** et Pr. **MOUNDIPA FEWOU Paul** respectivement Examineur et Président du jury de Thèse de Doctorat/Ph.D en Biochimie spécialité Pharmacologie, soutenue par Monsieur **TCHINDA FOSSI Cedric** (Matricule **08R0881**) le Lundi 17 Août 2020 à 11 heures dans la Salle S01/S02 du Nouveau Bloc Pédagogique de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I, sous le thème : "Potentiel antibactérien de quelques plantes médicinales Camerounaises : Etude bio-guidée de *Albizia adianthifolia* (Fabaceae) vis-à-vis des bactéries multirésistantes Gram négatif", attestons que le candidat a effectué les corrections conformément aux exigences du jury.

En foi de quoi, la présente attestation lui est établie pour servir et valoir ce que de droit.

Fait à Yaoundé, le...**21 AOUT 2020**...

Examineur

Sado Kamdem Sylvain, PHD
Food Technologist & Food Microbiologist
Associate Professor
University of Yaoundé I

Président du jury

Moundipa Fewou Paul
Professor
Enzymology, Toxicology
D3C.D. Etal

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I Faculté des Sciences Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I Faculty of Science Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS		LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF

LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS

ANNÉE ACADEMIQUE 2019/2020

(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION 03 Mars 2020

ADMINISTRATION

DOYEN : TCHOUANKEU Jean- Claude, *Maitre de Conférences*

VICE-DOYEN / DPSAA : DONGO Etienne, *Professeur*

VICE-DOYEN / DSSE : AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

VICE-DOYEN / DRC : ABOSSOLO Monique, *Maitre de Conférences*

Chef Division Administrative et Financière : NDOYE FOE Marie C. F., *Maitre de Conférences*

Chef Division des Affaires Académiques, de la Scolarité et de la Recherche DAASR : MBAZE MEVA'A Luc Léonard, *Professeur*

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (38)

N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	BIGOGA DIAGA Jude	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	FOKOU Elie	Professeur	En poste
4	KANSCI Germain	Professeur	En poste
5	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
6	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	Chef de Département
7	NINTCHOM PENLAP V. épouse BENG	Professeur	En poste

8	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste
---	--------------------	------------	----------

9	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10	ATOGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
11	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître de Conférences	En poste
12	BELINGA née NDOYE FOE M. C. F.	Maître de Conférences	Chef DAF / FS
13	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
14	DJUIDJE NGOUNOUE Marcelline	Maître de Conférences	En poste
15	EFFA NNOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
16	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
17	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
18	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
19	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
20	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	Inspecteur de Service MINESUP
21	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste

22	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
23	BEBOY EDZENGUELE Sara Nathalie	Chargée de Cours	En poste
24	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
25	DJUJKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
26	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
27	EWANE Cécile Anne	Chargée de Cours	En poste
28	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
29	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
30	KOTUE KAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
31	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
32	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
33	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste

34	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En poste
35	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste

36	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistante	En poste
37	OWONA AYISSI Vincent Brice	Assistant	En poste
38	WILFRIED ANGIE Abia	Assistante	En poste

2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (48)
--

1	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>
2	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	Chef de Département
3	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>Vice Doyen/FMSB/Uyi</i>
6	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
7	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	En poste
8	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
9	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
10	NOLA Moïse	Professeur	En poste
11	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
12	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service</i> <i>Coord.Progr./MINSANTE</i>
13	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	<i>En poste</i>

14	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
15	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
16	DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré	Maître de Conférences	En poste
17	JATSA BOUKENG Hermine épse MEGAPTCHÉ	Maître de Conférences	En Poste

18	KEKEUNOU Sévilor	Maître de Conférences	En poste
19	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
20	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
21	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
22	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste

23	ALENE Désirée Chantal	Chargée de Cours	En poste
26	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
27	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
28	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
29	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
30	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargée de Cours	En poste
31	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
32	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Chargé de Cours	En poste
33	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
34	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
35	MOUNGANG LucianeMarlyse	Chargée de Cours	En poste
36	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
37	NGOULATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
38	NGUEMBOK	Chargé de Cours	En poste
39	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	Chef Div. UBA
40	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
41	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
42	TAMSA ARFAO Antoine	Chargé de Cours	En poste
43	YEDE	Chargé de Cours	En poste

44	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Assistant	En poste
45	ESSAMA MBIDA Désirée Sandrine	Assistante	En poste

46	KOGA MANG DOBARA	Assistant	En poste
47	LEME BANOCK Lucie	Assistante	En poste
48	YOUNOUSSA LAME	Assistant	En poste

3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (33)

1	AMBANG Zachée	Professeur	Chef Division/UYII
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
4	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
5	YOUMBI Emmanuel	Professeur	Chef de Département
6	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste

7	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
8	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
9	KENGNE NOUMSI Ives Magloire	Maître de Conférences	En poste
10	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
11	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	CT/ MINESUP
12	MBOLO Marie	Maître de Conférences	En poste
13	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<i>CE / MINRESI</i>
14	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Maître de Conférences	En poste
15	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
16	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
17	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste

18	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
19	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
20	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
21	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Chargé de Cours	En poste

22	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
23	NGOUCO Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
24	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
25	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
26	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste
27	GODSWILL NTSOMBAH NTSEFONG	Assistant	En poste
28	KABELONG BANAHOU Louis-Paul-Roger	Assistant	En poste
29	KONO Léon Dieudonné	Assistant	En poste
30	LIBALAH Moses BAKONCK	Assistant	En poste
31	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Assistant	En poste
32	TAEDOUNG Evariste Hermann	Assistant	En poste
33	TEMEGNE NONO Carine	Assistant	En poste

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (35)

1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Vice Recteur Univ ,Bamenda</i>
2	ELIMBI Antoine	Professeur	En poste
3	Florence UFI CHINJE épouse MELO	Professeur	<i>Recteur Univ.Ngaoundere</i>
4	GHOOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé deMiss.PR</i>
5	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
6	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI/Chef de Département</i>
7	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancellor/UB</i>
7	NDIKONTAR Maurice KOR	Professeur	<i>Vice-Doyen Univ. Bamenda</i>
8	NENWA Justin	Professeur	En poste

9	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>DOYEN FS UD</i> s
10	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	<i>Chargée Mission P.R.</i>
11	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
23	EMADACK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
12	KAMGANG YOUBI Georges	Maître de Conférences	En poste
13	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
14	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
15	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	En poste
17	NJIOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
18	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste
19	YOUNANG Elie	Maître de Conférences	En poste
20	ACAYANKA Elie	Chargé de Cours	En poste
21	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	CS/ ENS Bertoua
22	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
24	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste
25	KOUOTOU DAOUDA	Chargé de Cours	En poste
26	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
27	MBEY Jean Aime	Chargé de Cours	En poste
28	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
29	NEBA nee NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargée de Cours	CT/ MINFEM
30	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste
31	PABOUDAM GBAMBIE A.	Chargée de Cours	En poste
32	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Chargé de Cours	En poste
33	NJANKWA NJABONG N. Eric	Assistant	En poste
34	PATOUOSSA ISSOFA	Assistant	En poste

35	SIEWE Jean Mermoz	Assistant	En Poste
----	-------------------	-----------	----------

5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (35)

1	DONGO Etienne	Professeur	Vice-Doyen / PSAA
2	GHOGOMU TIH Robert Ralph	Professeur	Dir. IBAF/UDA
3	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	Chef de Département UDS
4	NKENGFAK Augustin Ephrem	Professeur	Chef de Département
5	NYASSE Barthélemy	Professeur	En poste
6	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP</i>
7	WANDJI Jean	Professeur	En poste

8	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	<i>DEPE/ Rectorat/UYY</i>
9	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	<i>Chef Service Programme & Diplomes</i>
10	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste
11	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13	KEUMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
14	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
15	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
16	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
17	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	Chef Service/MINESUP
18	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	Sous/Direct. MINERESI
19	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	En poste
20	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
21	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
22	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen /FS/ UYY</i>
23	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste

24	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
----	-----------------	-----------------------	----------

25	AMBASSA Pantaléon	Chargé de Cours	En poste
26	KAMTO Eutrophe Le Doux	Chargé de Cours	En poste
27	MVOT AKAK CARINE	Chargé de Cours	En poste
28	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
29	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
30	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
31	SIELINOUE TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste
32	TAGATSING FOTSING Maurice	Chargé de Cours	En poste
33	ZONDENDEGOUNBA Ernestine	Chargée de Cours	En poste

34	MESSI Angélique Nicolas	Assistant	En poste
35	TSEMEUGNE Joseph	Assistant	En poste

6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (27)

1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef Div.MINESUP</i>
2	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Chef Dpt ENS/Chef IGA.MINESUP</i>

3	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
---	---------------	-----------------------	----------

4	AMINOUE Halidou	Chargé de Cours	En poste
5	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
6	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
7	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
8	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
9	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
10	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste

11	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	En poste
12	MONTHE DJIADEU Valery M.	Chargé de Cours	En poste
13	OLLE OLLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	C/D Enset. Ebolowa
14	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
15	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
16	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste

17	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
18	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Assistant	En poste
19	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste
20	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
21	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
22	MAKEMBE. S . Oswald	Assistant	En poste
23	MESSI NGUELE Thomas	Assistant	En poste
24	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistante	En poste
25	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste

7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (31)

1	EMVUDU WONO Yves S.	Professeur	<i>CD Info/ Inspecteur MINESUP</i>
---	---------------------	------------	------------------------------------

2	AYISSI Raoult Domingo	Maître de Conférences	Chef de Département
3	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
4	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	En poste
5	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
6	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	Directeur/AIMS Rwanda

7	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	Chef Cellule
---	-------------------------------	-----------------	--------------

			MINPLAMAT
8	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
9	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
10	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
11	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
12	KIANPI Maurice	Chargé de Cours	En poste
13	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
14	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
15	MBANG Joseph	Chargé de Cours	En poste
16	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Chargé de Cours	En poste
17	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
18	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
19	NIMPA PEFOUNKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
20	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
21	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
22	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
23	TCHOUNDJA Edgar Landry	Chargé de Cours	En poste
24	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargée de Cours	En poste
25	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste
26	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste
27	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
28	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste
29	MBATAKOU Salomon Joseph	Assistant	En poste
30	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
31	TCHEUTIA Daniel Duviol	Assistant	En poste

8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (18)

1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	DRV/IMPM
---	-------------------------	------------	----------

2	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
3	NWAGA Dieudonné M.	Maître de Conférences	En poste
4	NYEGUE Maximilienne Ascension	Maître de Conférences	En poste
5	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
6	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste

7	ASSAM ASSAM Jean Paul	Chargé de Cours	En poste
8	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
9	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
10	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
11	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
12	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste

13	ESSONO Damien Marie	Assistant	En poste
14	LAMYE Glory MOH	Assistant	En poste
15	MEYIN A EBONG Solange	Assistante	En poste
16	NKOUDOU ZE Nardis	Assistant	En poste
17	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Assistante	En poste
18	TOBOLBAÏ Richard	Assistant	En poste

9. DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY) (40)

1	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Professeur	<i>Chef Division. UN</i>
3	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
4	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste

5	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
6	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	Chef de Département
7	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
8	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	<i>Sous Directeur/ MINRESI</i>
9	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
10	TABOD Charles TABOD	Professeur	Doyen Univ/Bda
11	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
12	WOAFO Paul	Professeur	En poste

13	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	DG/HYDRO Mekin
14	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
15	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Maître de Conférences	En poste
16	EYEBE FOUA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
17	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
18	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
19	MBANE BIOUELE César	Maître de Conférences	En poste
20	NANA NBENDJO Blaise	Maître de Conférences	En poste
21	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
22	SAIDOU	Maître de Conférences	MINERESI
23	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
24	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
25	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
26	WAKATA née BEYA Annie	Maître de Conférences	<i>Sous Directeur/ MINESUP</i>
27	ZEKENG Serge Sylvain	Maître de Conférences	En poste

28	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
29	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste

30	ENYEGUE A NYAM épouse BELINGA	Chargée de Cours	En poste
31	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	Chef Cell. MINADER
32	MBINACK Clément	Chargé de Cours	En poste
33	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
34	MELI'I Joelle Larissa	Chargée de Cours	En poste
35	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	En poste
36	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	DA/Univ Inter Etat/Sangmalima
37	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste

38	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Assistant	En poste
39	CHAMANI Roméo	Assistant	En poste
40	TEYOU NGOUPOU Ariel	Assistant	En poste

10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (43)

1	BITOM Dieudonné	Professeur	<i>Doyen / FASA / UDs</i>
2	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Professeur	En poste
3	KAMGANG Pierre	Professeur	En poste
4	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	Chef de Département
5	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Professeur	En poste
6	NGOS III Simon	Professeur	DAAC/Uma
7	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
8	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste

9	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
10	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	CD/Uma
11	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/ MINIMDT</i>
12	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	CEA/MINRESI

13	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
14	ONANA Vincent Laurent	Maître de Conférences	En poste
15	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
16	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	En poste
17	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
18	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
19	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
20	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
21	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. /MINTP</i>
22	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>

23	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
24	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
25	ELISE SABABA	Chargé de Cours	En poste
26	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
27	EYONG JOHN TAKEM	Chargé de Cours	En poste
28	FUH Calistus Gentry	Chargé de Cours	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT</i>
29	LAMILLEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
30	MBESSE CECILE OLIVE	Chargée de Cours	En poste
31	MBIDA YEM	Chargé de Cours	En poste
32	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
33	MINYEM Dieudonné-Lucien	Chargé de Cours	<i>CD/Uma</i>
34	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
35	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargée de Cours	En poste
36	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
37	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargé de Cours	En poste
38	TCHAKOUNTE J. épse NOUMBEM	Chargée de Cours	<i>Chef.cell / MINRESI</i>

39	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
40	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
41	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste
42	FEUMBA Roger	Assistant	En poste
43	MBANGA NYOBE Jules	Assistant	En poste

Répartition chiffrée des Enseignants de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I

NOMBRE D'ENSEIGNANTS					
DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
BCH	9 (1)	13 (09)	14 (06)	3 (2)	39 (18)
BPA	13 (1)	09 (06)	19 (05)	05 (2)	46 (14)
BPV	06 (0)	11 (02)	9 (06)	07 (01)	33 (9)
CI	10 (1)	10 (02)	12 (02)	03 (0)	35 (5)
CO	7 (0)	17 (04)	09 (03)	02 (0)	35(7)
IN	2 (0)	1 (0)	13 (01)	09 (01)	25 (2)
MAT	1 (0)	5 (0)	19 (01)	06 (02)	31 (3)
MIB	1 (0)	5 (02)	06 (01)	06 (02)	18 (5)
PHY	12 (0)	15 (02)	10 (03)	03 (0)	40 (5)
ST	8 (1)	14 (01)	19 (05)	02 (0)	43(7)
Total	69 (4)	100 (28)	130 (33)	46 (10)	345 (75)

Soit un total de **345 (75)** dont :

- Professeurs **68 (4)**
- Maîtres de Conférences **101 (28)**
- Chargés de Cours **130 (33)**
- Assistants **46 (10)**

() = Nombre de Femmes **75**

DEDICACE

À l'Éternel DIEU Tout Puissant.

À mes parents, Dr FOSSI Abel et SIMO Charlotte.

À mes frères et sœurs.

REMERCIEMENTS

La réalisation de ce travail n'a été possible que grâce à la générosité et au soutien indéfectible de nombreuses personnes que j'ai l'honneur et le plaisir de remercier ici. Je pense notamment :

Au Professeur **KUETE Victor**, directeur de cette Thèse, qui m'a donné l'opportunité de réaliser ce travail. Ses qualités scientifiques et humaines m'ont été d'une importance sans pareille. Professeur, j'apprécie votre rigueur scientifique et votre savoir-être qui ont été précieux pour le bon déroulement de cette thèse. Je vous prie de trouver ici l'expression de ma profonde gratitude.

Au Professeur **PENLAP BENG Véronique**, qui a bien voulu superviser ce travail et a mis à ma disposition son énergie, sa rigueur, ses connaissances et son expérience. Professeur je vous remercie pour vos critiques et votre savoir-faire qui ont été incontournables dans le déroulement et la finalisation de ce travail.

Au Professeur **MOUNDIPA FEWOU Paul**, Chef de Département de Biochimie, pour le confort académique qu'il nous a assuré durant notre formation.

A tous les **enseignants du Département de Biochimie**, pour toutes les connaissances que j'ai acquises au cours de leurs enseignements.

Aux **membres du Jury**, pour leurs disponibilités et pour la qualité des critiques apportées pour l'amélioration de la thèse finale.

Au Professeur **TANE Pierre** (de regretté mémoire) du Département de Chimie de l'Université de Dschang, pour le soutien technique au cours de ce travail.

Au Professeur **CELIK Ilhami**, de la *Eskişehir Technical University* (Turquie), pour l'analyse des spectres RMN des composés chimiques isolés dans le cadre de ce travail.

Aux Professeurs **MBAVENG Armelle** et **BIAPA Prosper**, pour tous leurs encouragements et conseils qui m'ont permis de dompter les difficultés rencontrées durant l'exécution des différentes étapes de ce travail.

Aux Docteurs **ASSAM ASSAM Jean Paul** et **KOTUE Charles**, pour le soutien multiforme au cours de la réalisation de ce travail.

Au Docteur **VOUKENG KENFACK Igor**, aîné du groupe de recherche qui m'a guidé tout au long de cette recherche et a mis à ma disposition tout son savoir-faire.

Au Docteur **ESSONO Damien Marie**, botaniste, assistant à l'Université de Yaoundé I, qui a aidé à la récolte des différentes plantes étudiées.

Au Docteur **YOUMSI FOKOUO Roger**, pour son affection et son soutien financier et matériel tout au long de la réalisation de ce travail.

A **NGANOU Blaise** de l'Unité de Recherche en Chimie et Substances Naturelles (URCSN) de l'Université de Dschang, qui de main de maître a conduit le processus d'isolement des composés phytochimiques.

A **BADAWE Garand**, pour son assistance et son aide lors des différentes manipulations effectuées.

A tous mes aînés de Laboratoire de Microbiologie, qui par leur bonne humeur, m'ont réservé un cadre de travail agréable. Je pense particulièrement aux, **Drs TANKEO Simplicie B, SEUKEP Armel J, FANKAM Aime G, VOUNDI Stève, DJEUSSI Doriane E, et à TCHATCHOUANG Serges et FOKOU Wamba Fabrice.**

A mes frères et sœurs **FOSSI Mistelle, FOSSI Laura, FOSSI Merlin, FOSSI Dilane, FOSSI Lauriane, FONTSA Dolly, NOUPA Ladorine, DJOUIKOUO Sylviane, FONTSA Christelle, TCHINDA Roni, FONTSA Gaele, FONSTA Borel, YEMTSA Hervé et FOFU Linus**, pour leur affection, leur soutien et leur encouragement.

A toute ma famille pour leur soutien et leur amour inconditionnel.

A mon oncle **SOB Yves** et son épouse **SONG FOFU MARIE Chantal** pour leur affection indéfectible et leurs encouragements.

A **MEGNE DEFFO Carel Duval « ma compagne »**, pour son soutien, son amour inconditionnel et ses encouragements.

A **AGOUNIMALA Nadine, DJAPA Boclaire et WOUMENI Jasmine**, pour leur soutien moral et leur souhait de toujours me voir réussir.

A mes amis et camarades : **TONOU Boris, KUAGNY Blaise, TAKUISSU NGUEMTO Guy, SIMO NEMG Fredy, YOUVOP Janvier, MAMBE TAMEGHE Flora, KEUMOE Rodrigue, NGUI Sinon Pierre, TANG Erasmus, NGNAMEKO Corine**, pour les moments inoubliables partagés ensemble et tous mes camarades de la promotion.

Enfin, que tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail et qui n'ont pu être cités trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS	i
DEDICACE	xviii
REMERCIEMENTS	xix
TABLE DES MATIÈRES	xxi
LISTE DES FIGURES	xxvii
LISTE DES TABLEAUX	xxviii
LISTE DES ANNEXES	xxix
LISTE DES ABREVIATIONS, ACRONYMES ET SIGLES	xxx
RESUME	xxxii
ABSTRACT	xxxiv
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE	4
I.1. BACTERIES ET MALADIES INFECTIEUSES	4
I.1.1. Généralités sur les bactéries	4
I.1.1.1. Bactéries Gram négatif	4
I.1.1.2. Croissance bactérienne.....	5
I.1.2. Maladies infectieuses	7
I.1.2.1. Infections d’origine endogène.....	7
I.1.2.2. Infections d’origine exogène.....	7
I.1.2.3. Épidémiologie des maladies infectieuses.....	7
I.1.3. Maladies infectieuses bactériennes	8
I.1.3.1. Mécanismes de pathogénicité des bactéries.....	9
I.1.3.1.1. Adhésion et invasion.....	9
I.1.3.1.2. Evasion immunitaire	10
I.1.3.1.3. Prolifération intracellulaire et facteurs de virulence	11
I.1.4. Généralités sur les souches bactériennes utilisées et infections associées.....	12

I.1.4.1. Entérobactéries.....	12
I.1.4.1.1. <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>)	12
I.1.4.1.2. <i>Enterobacter aerogenes</i> (<i>E. aerogenes</i>)	12
I.1.4.1.3. <i>Klebsiella pneumoniae</i> (<i>K. pneumoniae</i>).....	13
I.1.4.1.4. <i>Providencia stuartii</i> (<i>P. stuartii</i>).....	13
I.1.4.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (<i>P. aeruginosa</i>)	13
I.2. ANTIBIOTIQUES.....	14
I.2.1. Classification des antibiotiques.....	14
I.2.1.1. β -lactamines	15
I.2.1.2. Aminoglycosides.....	16
I.2.1.3. Antibiotiques peptidiques	16
I.2.1.4. Cyclines.....	17
I.2.1.5. Quinolones	17
I.2.1.6. Macrolides.....	18
I.2.1.7. Phénicolés	18
I.2.1.8. Aminocoumarines	18
I.2.2. Modes d'action des antibiotiques.....	18
I.2.2.1. Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne	19
I.2.2.2. Effet sur la membrane bactérienne	19
I.2.2.3. Effet sur les acides nucléiques	19
I.2.2.4. Inhibition de la synthèse protéique	20
I.2.2.5. Inhibiteurs compétitifs	20
I.3. RÉSISTANCE BACTÉRIENNE AUX ANTIBIOTIQUES	21
I.3.1. Contexte de la résistance et/ou de la multirésistance.....	21
I.3.2. Types de résistance : résistance naturelle et résistance acquise.....	23
I.3.2.1. Résistance naturelle	23
I.3.2.2. Résistance acquise	23

I.3.3. Mécanisme de résistance vis-à-vis des antibiotiques.....	23
I.3.3.1. Modification des cibles des antibiotiques	24
I.3.3.2. Synthèse d’enzymes inactivant les antibiotiques.....	24
I.3.3.3. Production des biofilms	25
I.3.3.4. Réduction de la perméabilité membranaire	25
I.3.3.5. Résistance par efflux actif.....	26
I.3.3.5.1. Classification et fonctionnement des pompes à efflux	26
I.3.3.5.2. Impact de l’efflux sur la résistance aux antibiotiques.....	29
I.3.3.5.3. Inhibiteur des Pompes à Efflux (IPE)	29
I.4. PLANTES MEDICINALES	31
I.4.1. Biomolécules issues des plantes médicinales et activités biologiques	31
I.4.1.1. Composés phénoliques.....	31
I.4.1.2. Alcaloïdes	32
I.4.1.3. Composés terpéniques et huiles essentielles.....	32
I.4.2. Plantes médicinales dans la lutte contre les résistances bactériennes.....	32
I.4.2.1. Plantes médicinales actives sur les souches multirésistantes.....	32
I.4.2.2. Plantes médicinales : source naturelle d’inhibiteurs de l’efflux bactérien	33
I.4.2.3. Inhibition de l’efflux : potentialisation de l’activité des antibiotiques usuels	34
I.4.3. Innocuité des plantes médicinales et leurs constituants	35
I.4.4. Induction de la résistance bactérienne par les plantes médicinales	36
I.4.5. Plantes utilisées dans le cadre de ce travail	37
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	41
II.1. MATERIEL	41
II.1.1. Matériel végétal	41
II.1.2. Microorganismes utilisés.....	42
II.1.3. Cellules érythrocytaires utilisées	42
II.1.4. Milieux de cultures	44

II.1.5. Réactifs chimiques et molécules de référence	44
II.2. METHODES.....	44
II.2.1. Etude phytochimique	46
II.2.1.1. Extraction au méthanol des échantillons de plantes	46
II.2.1.2. Criblage phytochimique des extraits bruts de plantes étudiées	47
II.2.1.2.1. Test des alcaloïdes	47
II.2.1.2.2. Test des polyphénols	47
II.2.1.2.3. Test des flavonoïdes	47
II.2.1.2.4. Test des saponines	47
II.2.1.2.6. Test des tanins	48
II.2.1.2.7. Test des anthraquinones.....	48
II.2.1.2.8. Test des coumarines.....	48
II.2.1.3. Fractionnement et purification de l'extrait des racines de <i>Albizia adianthifolia</i>	48
II.2.1.3.1. Procédure générale	48
II.2.1.3.2. Fractionnement et purification.....	49
II.2.2. Tests antibactériens.....	54
II.2.2.1. Préparation des milieux de culture	54
II.2.2.2. Préparation des solutions mères des substances et d'antibiotiques à tester.....	54
II.2.2.3. Préparation des inocula.....	54
II.2.2.4. Détermination des CMI et CMB <i>in vitro</i> : Test colorimétrique à l'INT	54
II.2.3. Etudes des mécanismes de résistances et d'action des échantillons les plus actifs.....	56
II.2.3.1. Etude de l'effet des pompes à efflux sur l'activité de l'extrait brut des racines de <i>Albizia adianthifolia</i> et de ses composés isolés.....	56
II.2.3.2. Etude de l'inhibition des pompes à efflux : potentialisation de l'action des antibiotiques par les composés isolés de l'extrait brut des racines de <i>Albizia adianthifolia</i>	57
II.2.3.3. Etude de l'effet de l'extrait brut des racines de <i>Albizia adianthifolia</i> et de son composé isolé le plus actif sur la croissance bactérienne.....	58

II.2.3.4. Etude de l'effet de l'extrait brut des racines de <i>Albizia adianthifolia</i> et de son composé isolé le plus actif sur la membrane bactérienne.....	59
II.2.3.5. Etude de l'effet de l'extrait brut des racines de <i>Albizia adianthifolia</i> et de son composé isolé le plus actif sur les biofilms	59
II.2.3.5.1. Etude de l'effet de l'extrait brut des racines de <i>Albizia adianthifolia</i> et de son composé isolé le plus actif sur l'inhibition de la formation des biofilms.....	59
II.2.3.5.2. Etude de l'effet de l'extrait brut des racines de <i>Albizia adianthifolia</i> et de son composé isolé le plus actif vis-à-vis des biofilms formés	60
II.2.3.6. Tests d'hémolyse érythrocytaire par l'extrait brut des racines de <i>Albizia adianthifolia</i> et de son composé isolé le plus actif	61
II.2.3.6.1. Isolement des érythrocytes	61
II.2.3.6.2. Test d'hémolyse.....	61
II.2.4. Analyse des résultats	62
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	63
III.1. RESULTATS	63
III.1.1. Activités antibactériennes et composition phytochimique des différents extraits de plantes étudiées.....	63
III.1.1.1. Activités antibactériennes des différents extraits de plantes étudiées.....	63
III.1.1.2. Composition phytochimique des extraits de plantes étudiées.....	67
III.1.2. Résultats du fractionnement bioguidé de l'extrait des racines de <i>Albizia adianthifolia</i> , isolement des composés bioactifs et évaluation de l'activité antibactérienne des fractions et composés isolés	69
III.1.2.1. Résultats du fractionnement bioguidé de l'extrait des racines de <i>Albizia adianthifolia</i> et isolement des composés bioactifs	69
III.1.2.2. Activités antibactériennes <i>in vitro</i> des fractions et sous-fractions issues de <i>Albizia adianthifolia</i> de même que ses composés phytochimiques isolés.....	71
III.1.2.2.1. Activités antibactériennes <i>in vitro</i> des fractions et sous-fractions issus de l'extrait brut des racines de <i>Albizia adianthifolia</i>	71
III.1.2.2.2. Activités antibactériennes <i>in vitro</i> des composés isolés de l'extrait brut des racines de <i>Albizia adianthifolia</i>	77

III.1.3. Résultats de l'évaluation des mécanismes de résistance et d'action de l'extrait brut des racines de <i>Albizia adianthifolia</i> et de ses constituants sélectionnés.....	79
III.1.3.1. Résultats sur le mécanisme d'efflux.....	79
III.1.3.2. Résultats des tests d'inhibition des pompes à efflux : potentialisation des antibiotiques par les composés isolés de l'extrait brut des racines de <i>Albizia adianthifolia</i>	83
III.1.3.3. Résultats de l'évaluation de l'effet de l'extrait brut des racines et du composé 8 de <i>Albizia adianthifolia</i> sur la croissance bactérienne	88
III.1.3.3.1. Résultats du test de l'effet de l'extrait brut des racines et du composé 8 de <i>Albizia adianthifolia</i> sur la croissance de <i>E. coli</i> AG102.....	88
III.1.3.3.2. Résultats du test de l'effet de l'extrait brut des racines et du composé 8 de <i>Albizia adianthifolia</i> sur la croissance de <i>K. pneumoniae</i> KP55.....	91
III.1.3.4. Résultats de l'évaluation de l'effet de l'extrait brut des racines et du composé 8 de <i>Albizia adianthifolia</i> sur la membrane bactérienne.....	94
III.1.3.5. Résultats de l'évaluation de l'effet de l'extrait brut des racines et du composé 8 de <i>Albizia adianthifolia</i> sur les biofilms	97
III.1.3.5.1. Résultats de l'évaluation de l'effet de l'extrait brut des racines et du composé 8 de <i>Albizia adianthifolia</i> sur l'inhibition de la formation des biofilms.....	97
III.1.3.5.2. Résultats de l'évaluation de l'effet de l'extrait brut des racines et du composé 8 de <i>Albizia adianthifolia</i> sur la destruction des biofilms.....	99
III.1.3.6. Résultats de l'évaluation de l'activité hémolytique de l'extrait brut des racines et du composé 8 de <i>Albizia adianthifolia</i>	101
III.2. DISCUSSION.....	103
CONCLUSION.....	114
PERSPECTIVES.....	116
REFERENCES	117
ANNEXES.....	nnnnn
PUBLICATION(S) ISSUE(S) DE LA THESE.....	gg

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Schéma d'une bactérie	4
Figure 2 : Structure de la paroi des bactéries Gram négatif.....	5
Figure 3 : Courbe de croissance bactérienne en milieu liquide non renouvelé.....	6
Figure 4 : Résumé des différents modes d'action des antibiotiques.....	21
Figure 5 : Quelques mécanismes de résistances chez la bactérie.....	24
Figure 6 : Illustration schématique des principales pompes bactériennes d'efflux	27
Figure 7 : Schéma général du travail.....	45
Figure 8 : Protocole d'extraction et d'isolement des produits des racines de <i>A. adianthifolia</i>	52
Figure 9 : Structures chimiques des composés isolés des racines de <i>Albizia adianthifolia</i>	70
Figure 10 : Courbe de croissance de <i>E. coli</i> AG102 en présence de l'extrait des racines de <i>Albizia adianthifolia</i> (a) et du composé 8 (b)	90
Figure 11 : Courbe de croissance de <i>K. pneumoniae</i> en présence de l'extrait des racines de <i>Albizia adianthifolia</i> (a) et du composé 8 (b)	93
Figure 12 : Quantités de protéines dans les milieux inoculés avec les souches de <i>E. coli</i> AG102 et <i>K. pneumoniae</i> KP55 et traité avec l'extrait brut des racines de <i>A. adianthifolia</i>	95
Figure 13 : Quantités de protéines dans les milieux inoculés avec les souches de <i>E. coli</i> AG102 et <i>K. pneumoniae</i> KP55 et traité avec composé 8	96
Figure 14 : Inhibition de la formation des biofilms par le composé 8 et l'extrait brut des racines de <i>Albizia adianthifolia</i>	98
Figure 15 : Effet de l'extrait brut des racines de <i>Albizia adianthifolia</i> et du composé 8 vis - à - vis des biofilms formés	100
Figure 16 : Activité hémolytique de l'extrait des racines de <i>Albizia adianthifolia</i> (a) et de son composé 8 (b).....	102

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Informations sur les plantes étudiées.....	38
Tableau II : Récapitulatif des plantes étudiées	41
Tableau III : Caractéristiques des souches bactériennes utilisées	43
Tableau IV : Caractéristiques physiques et rendements des extraits	46
Tableau V : Valeurs des CMI, CMB et Rapport CMB/CMI des extraits de plantes ($\mu\text{g/mL}$) et de l'antibiotique de référence ($\mu\text{g/mL}$).....	64
Tableau VI : Composition phytochimique des extraits méthanoliques	68
Tableau VII : Valeurs des CMI et CMB (en $\mu\text{g/mL}$) de l'extrait brut et des fractions des racines de <i>Albizia adianthifolia</i>	72
Tableau VIII : Activités antibactériennes des sous-fractions de la fraction à l'acétate d'éthyle (AARa).....	73
Tableau IX : Potentiel antibactérien de sous-fractions issues de la fraction résiduelle à l'acétate d'éthyle (AARb).....	75
Tableau X : Activités antibactériennes des sous-fractions issues de la fraction au n-butanol (AARb1).....	76
Tableau XI : Activités antibactériennes des composés isolés des racines de <i>Albizia adianthifolia</i>	78
Tableau XII : Facteurs d'amélioration de l'activité « FAA » et Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) de l'extrait brut des racines et composés de <i>Albizia adianthifolia</i> , et du chloramphénicol ($\mu\text{g/mL}$) en présence du PA β N.....	80
Tableau XIII : Effets de la combinaison des antibiotiques aux composés (2+3, 4 et 8) des racines de <i>Albizia adianthifolia</i> vis-à-vis de <i>pseudomonas aeruginosa</i> PA124.....	84
Tableau XIV : Effets de la combinaison des antibiotiques au composé 2+3 à CMI/2 et CMI/4 contre des souches bactériennes multirésistantes sélectionnées	85
Tableau XV : Effets de la combinaison des antibiotiques au composé 4 à CMI/2 et CMI/4 contre des souches bactériennes multirésistantes sélectionnées	86
Tableau XVI : Effets de la combinaison des antibiotiques au composé 8 à CMI/2 et CMI/4 contre des souches bactériennes multirésistantes sélectionnées	87
Tableau XVII : Résultats du test de sensibilité des biofilms vis-à-vis de l'extrait et du composé 8 des racines de <i>Albizia adianthifolia</i>	99

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Photographies des plantes étudiées.....	a
Annexe 2 : Structures chimiques de base de quelques antibiotiques.....	b
Annexe 3 : Echelle de McFarland	c
Annexe 4 : Composition des milieux de culture utilisés.....	c
Annexe 5 : Courbe d'étalonnage du dosage par la méthode de Bradford.....	d
Annexe 6 : Courbes d'inhibition de la formation des biofilms.....	e
Annexe 7 : Fiche des résultats de la NFS.....	f
Annexe 8 : Données spectrales du composé 1 (acide stéarique).....	g
Annexe 9 : Données spectrales des composés 2+3 (stigmastérol et de β -sitostérol).....	h
Annexe 10 : Données spectrales du composé 4 (β -sitostérol 3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside).....	i
Annexe 11 : Données spectrales du composé 5 (palmatine).....	k
Annexe 12 : Données spectrales du composé 6 (homomangiférine).....	l
Annexe 13 : Données spectrales du composé 7 (mangiférine).....	n
Annexe 14 : Données spectrales du composé 8 (acide 3- <i>O</i> -{ α -L- <i>o</i> - arabipyranosyl-(1→6)- β -D-glucopyranosyl}oléanolique ou adianthifolioside GS1).....	p
Annexe 15 : Données spectrales du composé 9 (acide 3- <i>O</i> -{ β -D-glucopyranosyl-(1→2)- α -L-arabipyranosyl-(1→6)- β -D-glucopyranosyl}oléanolique).....	z
Annexe 16 : Cinétique d'évolution de la souche <i>E.coli</i> AG102 en présence de l'extrait brut des racines de <i>Albizia adianthifolia</i> adaptée au modèle de Baranyi.....	cc
Annexe 17 : Cinétique d'évolution de la souche <i>E. coli</i> AG102 en présence du composé 8 adaptée au modèle de Baranyi.....	dd
Annexe 18 : Cinétique d'évolution de la souche <i>K. pneumoniae</i> KP55 en présence de l'extrait brut des racines de <i>Albizia adianthifolia</i> adaptée au modèle de Baranyi.....	ee
Annexe 19 : Cinétique d'évolution de la souche <i>K. pneumoniae</i> KP55 en présence du composé 8 adaptée au modèle de Baranyi.....	ff

LISTE DES ABREVIATIONS, ACRONYMES ET SIGLES

ABC : *ATP Binding Cassette*

AcOEt : Acétale d'Ethyle

ANSM : Agence Nationale de Sécurité de Médicament et des produits de santé

ARNm : Acide Ribonucléique Messenger

ARNt : Acide Ribonucléique de Transfert

ATCC : *American Type Culture Collection*

ATP : Adénosine Triphosphate

BMR : Bactéries Multi-Résistantes

CC : Chromatographie sur Colonne

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CDC : *Centres for Disease Control and Prevention*

CEB : Concentration Eradiquant les Biofilms

CIB₅₀ : Concentration Inhibant 50% des Biofilms

CIF : Concentration Inhibitrice Fractionnelle

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

DMSO : DiméthyleSulfoxide

DO : Densité Optique

E. aerogenes : *Enterobacter aerogenes*

E. coli : *Escherichia coli*

EDTA : *Ethylene Diamine Tetraacetic Acid*

ESM : Erreur Standard sur la Moyenne

FAA : Facteur d'Amélioration de l'Activité

HNC : Herbarium National du Cameroun

INT: Iodonitrotétrazolium

IPE : Inhibiteur des Pompes à Efflux

K. pneumoniae : *Klebsiella pneumoniae*

LPS : Lipoolysaccharide
MATE : *Multidrug And Toxic compound Extrusion*
MDR : *Multi-Drug Resistance*
MeOH : Méthanol
MFP : *Membrane Fusion Protein*
MFS : *Major Facilitator Super-family*
MHA : *Mueller Hinton Agar*
MHB : *Mueller Hinton Broth*
MTA : Médicament Traditionnel Amélioré
n-BuOH : n-Butanol
NFS : Numération Formule Sanguine
n-Hex : n-Hexane
OMP : *Outer Membrane Protein*
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*
P. stuartii : *Providencia stuartii*
PAβN : Phénylalanine-Arginine-β-Naphtylamide
PLP : Protéine Liant la Pénicilline
RMN : Résonance Magnétique Nucléaire
RND : *Resistance Nodulation cell Division*
SM : Spectrométrie de Masse
SMR : *Small Multidrug Résistance*
SRF/Cam : Service de Réserve Forestières du Cameroun
UFC : Unité Formant Colonie

RESUME

Le traitement des infections bactériennes pose actuellement un problème de santé publique préoccupant, ceci surtout du fait de l'émergence des microorganismes pathogènes multirésistants. Parmi les solutions envisagées, les substances naturelles issues des plantes médicinales pourraient constituer une réponse à la lutte contre la multirésistance bactérienne.

La présente étude a été réalisée dans l'optique d'identifier dans l'extrait au méthanol de six plantes médicinales camerounaises, les constituants qui pourraient justifier leur activité antibactérienne pour une éventuelle exploitation dans un phytomédicament. Ces plantes étaient constituées de *Albizia adianthifolia* (Schum.) (Fabaceae), *Alchornea laxiflora* (Benth.) Pax & K Hoffm (Euphorbiaceae), *Boerhavia diffusa* Lin- (Nyctaginaceae), *Combretum hispidum* Laws (Combretaceae), *Laportea ovalifolia* (Schum.) Chew (Urticaceae) et *Scoparia dulcis* Linn. (Scrophulariaceae). La méthode colorimétrique rapide au chlorure de p-iodonitrotétrazolium (INT) a été utilisée pour la détermination de l'activité antibactérienne des extraits bruts, des fractions, des sous-fractions et des composés isolés. La purification bioguidée de la plante la plus active (sur la base du screening antibactérien) a été réalisée par une succession de chromatographie sur colonne. L'élucidation des structures chimiques des molécules isolées a été faite par des méthodes spectroscopiques (RMN, Infrarouge et HRESI-MS). L'activité de l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* et celle de son composé isolé le plus promoteur ont été évaluées sur la membrane bactérienne, la cinétique bactérienne, les biofilms et les érythrocytes de mouton. L'effet des pompes à efflux sur l'activité de ces derniers a été étudié sur 10 souches de bactéries Gram-négatif multirésistantes *in vitro*, en absence et en présence d'un inhibiteur de pompes à efflux (la Phénylalanine Arginine- β - Naphtylamide ; PA β N).

D'après les résultats obtenus, il a été montré que les extraits de *Albizia adianthifolia* (écorces et racines) et l'extrait de *Laportea ovalifolia* étaient les plus actifs sur 93,33% (14/15) des souches bactériennes testées et l'extrait des écorces de *Combretum hispidum* le moins actif avec un niveau d'activité de 20% (3/15). Ayant présenté la meilleure activité antibactérienne, l'extrait des racines de *Albizia adianthifolia* a été sélectionné pour la suite des travaux et a permis d'isoler les composés suivants : l'acide stéarique (**1**), le stigmastérol et de β -sitostérol (**2+3**) en proportion 1:1, le β -sitostérol 3-O- β -D-glucopyranoside (**4**), la palmatine (**5**), l'homomangiférine (**6**), la mangiférine (**7**), l'acide 3-O- $\{\alpha$ -L-*o*-arabipyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl $\}$ oléanolique ou l'adianthifolioside GS1 (**8**) et l'acide 3-O- $\{\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabipyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl $\}$ Oléanolique (**9**). Le composé **8** s'est avéré être un composé nouveau au regard de la revue de littérature effectué jusqu'ici. Tous les composés (excepté le composé **1**)

ont présenté des activités antibactériennes vis-à-vis des souches multirésistantes utilisées avec des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) comprises entre 2 µg/mL et 128 µg/mL, le composé **8** étant le plus actif car ayant présenté une inhibition totale sur les bactéries testées. La combinaison de tous les composés (excepté le composé **1**) et de l'extrait brut des racines *A. adianthifolia* à la PAβN a considérablement amélioré l'activité de l'extrait brut et des composés **2+3, 4 et 8**. Par ailleurs, l'association des composés **2+3, 4 et 8** aux antibiotiques ont présenté des effets synergiques vis-à-vis des sept antibiotiques testés. L'adianthifolioside GS1 (**8**) et l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* ont présenté un effet de bactériostatique vis-à-vis des souches testées, et ont provoqué une lyse membranaire chez les souches *K. pneumoniae* KP55 et *E. coli* AG102 aux concentrations testées (0,5 x CMI, CMI et 2 x CMI). L'extrait des racines de *Albizia adianthifolia* a présenté une inhibition importante des biofilms des souches testées, contrairement au composé **8**. L'extrait brut et plus particulièrement son composé isolé le plus actif (composé **8**) ont présenté une faible toxicité vis-à-vis des cellules érythrocytaires.

Cette étude présente des résultats qui augureraient l'utilisation des substances issues des racines de *Albizia adianthifolia* dans la lutte contre les infections causées par les bactéries multirésistantes Gram négatif. Ainsi, l'extrait brut des racines de cette plante et le composé **8** isolé apparaissent comme de bons candidats à l'élaboration des phytomédicaments et médicaments respectivement, l'association des composés **2+3, 4 et 8** aux antibiotiques usuels pouvant être utilisée pour potentialiser l'action de ces derniers.

Mots clés : *Albizia adianthifolia*, composition phytochimique, multirésistance, Pompe à efflux, mode d'action.

ABSTRACT

The treatment of bacterial infections is currently a serious public health problem, mainly because of the emergence of multidrug-resistant pathogenic microorganisms. Among the solutions considered, natural substances from medicinal plants could therefore constitute a source of potential response to the fight against multidrug resistance.

The present study was carried out in order to identify from the methanol extracts of six Cameroonian medicinal plants, some constituents that could justify their antibacterial activity for possible exploitation in a phytomedicine. These plants were: *Albizia adianthifolia* (Schum.) (Fabaceae), *Alchornea laxiflora* (Benth.) Pax & K Hoffm (Euphorbiaceae), *Boerhavia diffusa* Lin- (Nyctaginaceae), *Combretum hispidum* Laws (Combretaceae), *Laportea ovalifolia* (Schum.) Chew (Urticaceae) and *Scoparia dulcis* Linn. (Scrophulariaceae). The rapid colorimetric method with p-iodonitrotetrazolium chloride (INT) was used to determine the antibacterial activity of crude extracts, fractions, sub-fractions and isolated compounds. The bioguided purification of the most active plant (based on antibacterial screening) was carried out by a succession of column chromatography. The elucidation of the chemical structures of isolated compounds was done by spectroscopic methods (NMR, Infrared and HRESI-MS). The activity of the crude extract of the roots of *Albizia adianthifolia* and that of its most promising isolated compound were evaluated on the bacterial membrane, bacterial kinetics, biofilms and sheep erythrocytes. The effect of efflux pumps on the activity of the latter was performed by evaluation on 10 strains of Gram-negative multiresistant bacteria *in vitro* in the absence and in the presence of an efflux pumps inhibitor; Phenylalanine Arginine- β - Naphthylamide (PA β N).

Based on the results obtained, *Albizia adianthifolia* (bark and root) extracts and the extract of *Laportea ovalifolia* were shown to be the most active on 93.33% (14/15) of the bacterial strains tested and the extract of *Combretum hispidum* was the least active with an activity percentage of 20% (3/15). Having presented the best antibacterial activity, the extract of the roots of *Albizia adianthifolia* was selected for the continuation of the work and was used to isolate the following compounds : stearic acid (**1**), stigmasterol and β -sitosterol (**2+ 3**) in a 1: 1 ratio, β -sitosterol 3-O- β -D-glucopyranoside (**4**), palmatine (**5**), homomangiferin (**6**) , mangiferin (**7**), 3-O- $\{\alpha$ -L-O-arabipyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl) oleanolic acid or adianthifolioside GS1 (**8**) and 3-O- $\{\beta$ -D-glucopyranosyl- (1 \rightarrow 2) - α -L-arabipyranosyl- (1 \rightarrow 6) - β -D- glucopyranosyl} oleanolic (**9**). Compound **8** had been shown to be novel compound in the literature review till date. All compounds (except compound **1**) showed antibacterial activity against multidrug-resistant strains used with Minimal Inhibitory Concentration (MIC) between 2 μ g/mL and 128 μ g/mL,

compound **8** being the most active because, it exhibited complete inhibition on the bacteria tested. The combination of all compounds (except compound **1**) and the crude extract of *A. adianthifolia* roots at PA β N significantly improved the activity of the crude extract and **2 + 3, 4 and 8**. The combination of compounds **2 + 3, 4 and 8** with antibiotics showed synergistic effects on the seven antibiotics tested. Adianthifolioside GS1 (**8**) and the crude extract of the roots of *Albizia adianthifolia* showed a bacteriostatic effect vis-a-vis the strains tested, and caused membrane lysis in *K. pneumoniae* strains KP55 and *E. coli* AG102 at concentrations tested (0.5 x MIC, MIC and 2 x MIC). The extract of the roots of *Albizia adianthifolia* showed a significant inhibition of the biofilms of the strains tested, contrary to the compound **8**. The crude extract and more particularly its most active isolated compound (compound **8**) showed a low toxicity towards erythrocyte cells.

This study presents results that would augur the use of the substances derived from the roots of *Albizia adianthifolia* in the fight against infections caused by multidrug resistant Gram-negative bacteria. Thus, the crude extract of the roots of this plant and the isolated compound **8** appear as good candidates for the preparation of phytomedicines and drug respectively, the combination of the compounds **2 + 3, 4 and 8** with the usual antibiotics can be used to potentiate the action of the latter.

Key words: *Albizia adianthifolia*, phytochemical composition, multidrug resistance, Efflux pump, mode of action.

INTRODUCTION

Les maladies infectieuses sont des pathologies liées à l'envahissement de l'organisme par des agents pathogènes tels que les bactéries, champignons, virus et parasites (OMS, 2012). Malgré les progrès importants réalisés au XX^{ème} siècle en matière de traitements curatifs et préventifs, l'éradication de ces dernières demeure une priorité incontestable en santé publique. En effet, ces infections représentent la principale cause de mortalité dans le monde avec près de 17 millions de décès chaque année sur un total de 62 millions de cas observés (Biomerieux, 2017). Au rang des maladies infectieuses, celles impliquant les bactéries sont à l'origine de 70% des cas de mortalité causés par les microorganismes pathogènes (Lemaoui *et al.*, 2017). Ces infections concernent toutes les tranches d'âge et l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a estimé le nombre global de décès néonatal à 2,8 millions en 2015, dont 47,6% dus aux infections bactériennes (Shefali *et al.*, 2015).

Jusqu'à ce jour, et ce, en dépit de l'existence de plusieurs stratégies de lutte contre les infections bactériennes, l'antibiothérapie demeure la plus importante. Toutefois, malgré le fait que l'usage des antibiotiques ait considérablement amélioré l'état sanitaire, l'utilisation souvent abusive et inappropriée a par la suite favorisé l'apparition d'un phénomène d'adaptation naturelle : la résistance (Perugini *et al.*, 2005 ; Struelens *et al.*, 2007 ; CDC, 2013 ; Lemaoui *et al.*, 2017) entraînant l'émergence et la réémergence de nombreuses maladies du fait de la diminution, voire de la perte d'efficacité des agents antibactériens. D'où les conséquences directes sur l'augmentation de la durée d'hospitalisation, le coût des soins et le taux de mortalité (Lozano *et al.*, 2013).

La prolifération des bactéries résistantes est de ce fait devenue une préoccupation majeure dans le domaine de la santé, à cause de la baisse du niveau de sensibilité aux traitements car, ces bactéries limitent la gamme d'antibiotiques disponibles en thérapeutique anti-infectieuse. L'émergence des bactéries multirésistantes aux antibiotiques est donc un enjeu majeur en santé publique (Ebongue *et al.*, 2015 ; Marbou et Kuete, 2016).

L'incidence de la multirésistance bactérienne au Cameroun est incontestable malgré l'absence d'une estimation réelle de l'impact de ce phénomène sur la population nationale. Toutefois, selon les résultats des études menées par Ngueguim (2014) et Ngalani (2015) auprès de quelques hôpitaux de quatrième catégorie, des souches bactériennes multirésistantes responsables des infections gastriques et urinaires ont été purifiées parmi lesquelles les bactéries répertoriées telles que les entérobactéries produisant les β -lactamases à spectre élargi, *Pseudomonas aeruginosa* multirésistant, *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (CDC, 2013). De plus, la multirésistance particulièrement observée chez les bactéries Gram négatif, due à l'expulsion active des antibiotiques par des transporteurs appelés pompes à

efflux, accentue ce phénomène de résistance (Cattoir, 2004 ; Kamicker *et al.*, 2008). Les cas de multirésistances impliquant des souches de *Pseudomonas aeruginosa*, étaient considérés comme la seconde cause des infections nosocomiales dans le monde (Lutz et Lee, 2011).

L'efficacité des antibiotiques est donc un des piliers du bon fonctionnement du système sanitaire mondial. C'est ainsi que l'Organisation Mondiale de la Santé préconise que les infections dues aux bactéries multirésistantes soient une priorité pour la recherche de nouvelles substances antibactériennes et toutes autres actions ayant un impact sur la santé publique (Finch et Hunter, 2006). De plus, à défaut d'avoir une activité antibactérienne, certaines substances naturelles sont capables de potentialiser l'activité de certains antibiotiques. Cette alternative apparaissant plus prometteuse que la recherche de nouveaux agents antibactériens. Des avancées dans ce sens ont permis à plusieurs pays africains (à l'instar du Mali) de développer des médicaments à base de plantes médicinales et de les insérer dans la liste des médicaments essentiels, ceux ayant pour origine les plantes médicinales. Comme exemple, nous pouvons citer l'antitussif Balembo® sirop fabriqué à partir des fruits de *Crossopteryx febrifuga* ; l'antiamibien Dysentral® disponible sous forme de sachet à infuser et confectionné à partir de la poudre de *Euphorbia hirta* (Berge *et al.*, 2005).

Face à l'émergence des souches microbiennes multirésistantes, il est possible que la rareté de nouvelles substances antimicrobiennes conduira le monde vers une ère post-antibiotique, où de simples infections courantes seraient difficilement curables en clinique et deviendraient meurtrières (Leonard *et al.*, 2017). Cet état de lieu justifie l'intérêt qu'a la communauté scientifique de mettre sur pied des solutions qui permettraient de juguler le phénomène de résistance bactérienne à travers la valorisation des plantes médicinales qui constituent une source largement inexploitée de molécules potentiellement actives. En effet, non seulement 80% de la population africaine utilise lesdites plantes pour se soigner mais environ 30% des médicaments vendus dans le monde dérivent des plantes médicinales (OMS, 2002 ; FAO, 2004). De plus, plusieurs travaux scientifiques à ce jour ont permis de mettre en exergue le potentiel antibactérien de plusieurs plantes de la pharmacopée traditionnelle camerounaise (Kuate *et al.*, 2007 ; Voukeng *et al.*, 2012 ; Tala *et al.*, 2015, Dzotam *et al.*, 2016 ; Dzotam *et al.*, 2018 ; Wamba *et al.*, 2018). Mais la majorité de cette ressource demeure encore inexploitée.

Ainsi, l'objectif général de ce travail était de contribuer à la lutte contre les infections à bactéries Gram-négatives aux phénotypes MDR par la recherche des composés pouvant être classés comme candidats à une formulation de phytomédicaments. De façon spécifique, il s'agissait de :

- Sélectionner sur la base d'un criblage antibactérien, l'extrait de plante médicinale ayant la meilleure activité pour une étude plus approfondie ;
- Isoler par fractionnement bioguidé les potentiels principes actifs de l'extrait sélectionné ;
- Elucider les différents mécanismes de résistance et d'action de l'extrait méthanolique et des constituants les plus actifs de la plante sélectionnée.

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE

I.1. BACTERIES ET MALADIES INFECTIEUSES

I.1.1. Généralités sur les bactéries

Les bactéries sont des microorganismes unicellulaires ne possédant pas de noyau individualisé (elles sont dépourvues de membrane nucléaire), et se reproduisant généralement par scissiparité. Leur matériel génétique est constitué d'une molécule unique d'ADN circulaire encore appelée chromosome bactérien. D'autres molécules, telles que les intégrons, les transposons et les plasmides, sont des éléments génétiques mobiles jouant un rôle important dans la dissémination des résistances (Perugini *et al.*, 2005). Comme toute cellule, les bactéries sont constituées d'une paroi, qui leur assure forme et résistance (protection vis-à-vis de son environnement), d'un cytoplasme, des pili, des ribosomes, des flagelles et parfois d'une capsule.

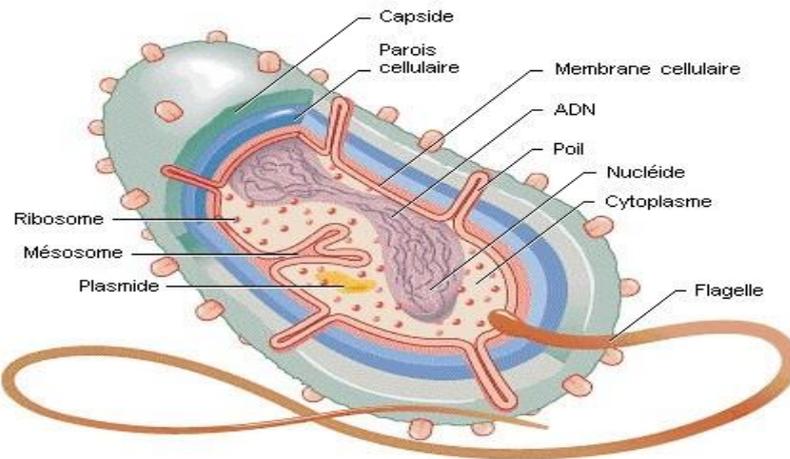


Figure 1 : Schéma d'une bactérie (Projet Collectif, 2009)

I.1.1.1. Bactéries Gram négatif

Les bactéries Gram négatif sont mises en évidence par une technique de coloration appelée coloration de Gram. Celles-ci apparaissent alors colorées en rose au microscope ; ceci grâce aux caractéristiques de leur membrane et de leur paroi. La structure de la paroi des bactéries Gram négatif présentée à la figure 2 ci-après, montre qu'elle est constituée d'une enveloppe comprenant deux membranes lipidiques intercalées par un périplasma (Pagès, 2004) et une couche de peptidoglycane qui ne représente que 5 à 20% des constituants de la paroi. La membrane interne est essentiellement composée de phospholipides principalement

le phosphatidyléthanolamine (70 à 80%), de phosphatidylglycérol et de cardiolipine. La membrane externe cependant à une structure asymétrique avec un feuillet interne ayant une composition semblable à la membrane interne et un feuillet externe constitué à 50% de protéines, principalement de lipoprotéines. Sa surface comprend des lipopolysaccharides (LPS) qui sont des composés de haut poids moléculaire responsables de la virulence de la bactérie (Hancock, 1997 ; Koebnik *et al.*, 2000).

Le LPS est constitué de trois parties : le lipide A encore appelé endotoxine de par sa capacité à induire une réponse immunitaire, un groupe de huit oligosaccharides constituant le cœur du LPS et spécifique à chaque espèce bactérienne lié à une chaîne d'un à soixante oligosaccharides appelée chaîne latérale O (Boyd, 1984 ; Orskov & Orskov, 1992). En plus de lipoprotéines, il existe des protéines matricielles formant des canaux ou porines liées au peptidoglycane par des liaisons ioniques et assurant le passage des constituants indispensables à la vie bactérienne tels que les sucres, les acides aminés ou les sels. On peut citer les porines OmpF, OmpC, TolC, LamB (Boyd, 1984 ; Koebnik *et al.*, 2000 ; pagès, 2004). Ces porines peuvent être impliquées dans des cas de multirésistance des bactéries aux antibiotiques, surtout lorsqu'elles sont associées à une pompe transmembranaire et une protéine périplasmique de jonction (MFP : *Membrane Fusion Protein*) pour former des complexes protéines ternaires (Cattoir, 2004).

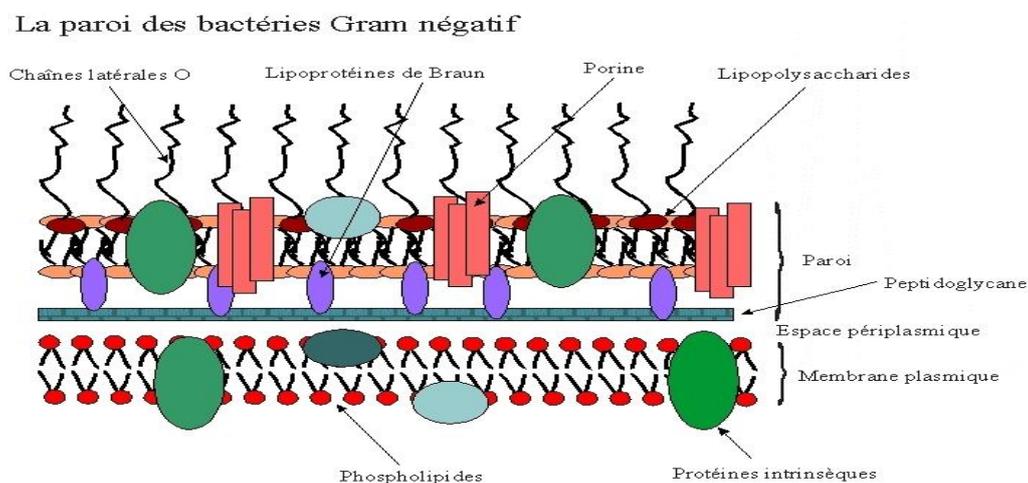


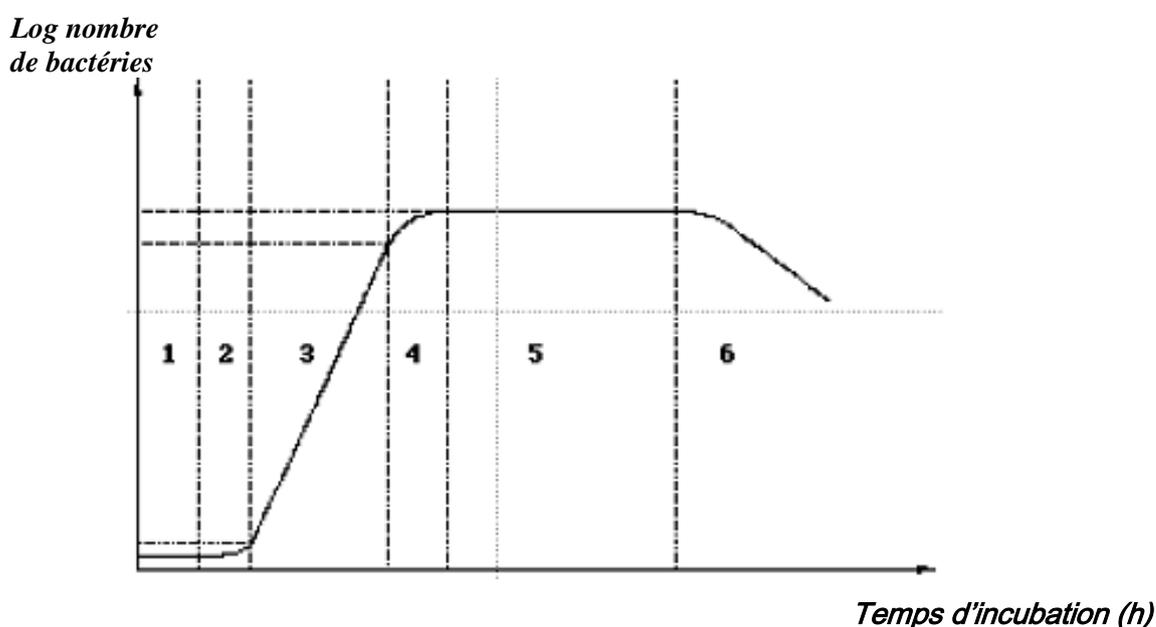
Figure 2 : Structure de la paroi des bactéries Gram négatif (Wikipedia, 2016)

I.1.1.2. Croissance bactérienne

La croissance bactérienne est un accroissement ordonné et coordonné de tous les composants de la bactérie. La croissance d'une population bactérienne dans un milieu de culture liquide non renouvelé, peut être observée dans le temps. Les cellules se divisent, et leur

nombre augmente avec le temps. Elle est influencée par des paramètres physico-chimiques dont le pH (acidité et alcalinité), la température, la présence d'oxygène, de dioxyde de carbone et la disponibilité de l'eau. Si on relève le nombre de bactéries à différents intervalles au cours de la croissance, on obtient une courbe de croissance représentée par la Figure 3.

La Figure 3 présente quatre phases principales avec des phases transitoires d'accélération avec augmentation de la vitesse de croissance (Phase 2) et de ralentissement (Phase 4). La phase de latence (1) correspond à une période d'adaptation de la bactérie. Il s'agit d'une période au cours de laquelle les cellules synthétisent les enzymes qui vont leur être nécessaires pour utiliser les substrats (éléments nutritifs) du milieu ; il n'y a pas de division cellulaire. Au cours de la phase de croissance exponentielle (3), les bactéries se développent de façon maximale avec un taux de croissance maximal et constant. Après une phase transitoire de ralentissement (4), le nombre de bactéries n'évolue plus : c'est la phase stationnaire (5) ; il y'a un arrêt de la reproduction dû à un facteur limitant dans l'environnement, le taux de croissance est nul et le taux de division égale le taux d'autolyse. La dernière phase (6) est la phase de mortalité ou de déclin ; les bactéries ne se divisent plus, elles meurent et peuvent être lysées. Ainsi donc le milieu de culture n'apporte plus les conditions nécessaires au développement des bactéries. On observe une courbe de décroissance exponentielle progressive (Marchandin, 2007).



1 : latence ; 2 : accélération ; 3 : exponentielle ; 4 : décélération ; 5 : stationnaire ; 6 : déclin

Figure 3 : Courbe de croissance bactérienne en milieu liquide non renouvelé (Marchandin, 2007)

I.1.2. Maladies infectieuses

Les maladies infectieuses sont des dysfonctionnements physiologiques causés par des microorganismes tels que les virus, les champignons, les parasites ou les bactéries. Elles demeurent l'une des causes de mortalité élevée dans le monde et peuvent être d'origine endogène ou exogène.

I.1.2.1. Infections d'origine endogène

Les infections d'origine endogène sont causées par des microorganismes présents dans la flore normale, qui dans certaines circonstances pourraient envahir d'autres tissus et causer des dysfonctionnements physiologiques. Ces microorganismes peuvent aussi infecter les tissus distants des sites qu'ils colonisent (Gillespie & Bamford, 2012) :

- S'il se produit une déchirure au niveau des intestins, certaines entérobactéries (*E. coli*) ou anaérobies (*Bacteroides fragilis*) pourraient se propager dans la cavité péritonéale et causer des septicémies à l'instar de la péritonite.
- Au niveau de la flore vaginale, un déséquilibre pourrait entraîner une prolifération accrue de certaines bactéries (*E. coli*) ou levures (*C. albicans*) au détriment d'autres microorganismes (*Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus jensenii* et *Lactobacillus iners*) de la flore de Döderlein, provoquant ainsi des vaginoses.
- Certaines bactéries normalement présentes dans le nez tel que *Staphylococcus aureus* pourraient devenir pathogènes si elles sont en contact avec une blessure.

I.1.2.2. Infections d'origine exogène

Les infections d'origine exogène sont transmises d'une personne à l'autre de façon directe ou indirecte par divers moyens à l'instar du toucher, de l'ingestion des aliments et/ou boissons contaminés, des piqûres d'insectes, des contacts sexuels ou encore une contamination directe par l'environnement (Gillespie & Bamford, 2012). La majorité des maladies infectieuses a une origine exogène et leur incidence sur le taux de morbidité et de mortalité est notoire.

I.1.2.3. Épidémiologie des maladies infectieuses

Les maladies infectieuses constituent un problème majeur de santé publique dans le monde, et les pays en développement sont les plus affectés. Les données obtenues à l'issue de l'étude de la charge des maladies dans le monde entier (*Global Burden of Disease study*

« GBD » 2010) renseignent qu'environ 25% des décès (15 millions sur 58,8 millions) est dû aux maladies infectieuses (Lozano *et al.*, 2012). Bien que la situation actuelle soit toujours alarmante, notons que des efforts ont été faits au cours des deux précédentes décennies. Les efforts dans le but d'atteindre les objectifs du millénaire (en 2015) ont permis de réduire le taux de mortalité dû aux maladies infectieuses ; c'est ainsi qu'entre 1990 et 2010, le nombre de décès dû aux maladies du tractus respiratoire inférieur est passé de 3,4 millions à 2,8 millions par an et la mortalité due aux maladies diarrhéiques est passée de 2,5 millions à 1,4 million par an. Plus de 90% des maladies infectieuses humaines surviennent dans les pays en développement, particulièrement chez les enfants, dans les régions les plus déshéritées, où l'hygiène générale et individuelle est insuffisante. Elles causent près de 43% de décès dans les pays en développement contre 1% dans les pays industrialisés (GSK, 2007).

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a estimé la survenue globale de décès néonatal à 2,8 millions en 2015, dont 47,6% étaient dus aux infections bactériennes. Ces infections peuvent survenir chez un nouveau-né de 0 à 3 mois de vie (Shefali *et al.*, 2015). Les investigations menées par Koum *et al.* (2015) à l'Hôpital Laquintinie de Douala (Littoral, Cameroun) ont montré que le taux de mortalité lié aux infections néonatales (INN) était de 54,93%. Toutefois, l'émergence des phénotypes multirésistants aux antibiotiques fait craindre l'apparition de nouvelles épidémies dont nous ne pourrions juguler. Selon le CDC (2013), 13,75% (11 000) des patients infectés par *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline meurent tandis qu'en Europe, parmi les décès causés par les microorganismes multirésistants, les 2/3 sont dus aux bactéries Gram négatif (De Angelis *et al.*, 2014).

I.1.3. Maladies infectieuses bactériennes

D'une manière générale, une infection désigne la pénétration et/ou la multiplication d'un agent pathogène dans un organisme hôte, avec pour conséquence la rupture d'équilibre qui existe entre le germe et l'Homme (hôte) (Baron *et al.*, 1986). Ce déséquilibre provient soit d'une diminution des défenses du sujet soit d'un accroissement de virulence des germes (Khiati, 1998). Les infections bactériennes peuvent entraîner des troubles respiratoires, intestinaux, des maladies vénériennes ou diverses infections cutanées (folliculites primitives, furoncles) (Baron, 1996). De plus, ces infections sont comptées parmi les maladies opportunistes les plus dangereuses pour les sujets vulnérables tels que les enfants, les vieillards et les personnes immunodéprimées (Soro *et al.*, 2010). Dans les pays en développement, la malnutrition, les infections parasitaires et les mauvaises conditions sanitaires représentent les facteurs prépondérants qui aggravent le taux d'infections bactériennes (OMS, 2009).

I.1.3.1. Mécanismes de pathogénicité des bactéries

La pathogénicité peut se définir comme la capacité à provoquer une maladie, donc à entraîner chez un organisme hôte ou non des altérations tissulaires, cellulaires, et moléculaires qui se traduisent par des manifestations cliniques et/ou biologiques anormales. Ainsi, pour qu'une maladie puisse s'installer, les cellules bactériennes infectieuses doivent par leur virulence venir à bout des différents mécanismes de défenses de l'hôte. Les bactéries possèdent des éléments structuraux telles que les capsules, les composantes de la membrane bactérienne, les adhésines, les toxines qui leur permettent d'envahir un environnement précis, de rester dans une niche, d'avoir accès à des sources alimentaires (dégradation enzymatique) et causer ainsi des dégâts (Wilson *et al.*, 2002). Le pouvoir pathogène d'une bactérie est donc étroitement lié à sa capacité à se fixer, envahir les cellules hôtes, et y résider tout en échappant aux actions du système immunitaire.

I.1.3.1.1. Adhésion et invasion

Les adhésines sont des molécules impliquées dans la fixation (adhésion) ; de nature polypeptidique ou polysaccharidique, elles sont présentes au niveau de la surface bactérienne et permettent une liaison spécifique aux récepteurs des cellules épithéliales ou endothéliales des différents tissus. Chez les bactéries, la majorité des protéines adhésives sont présentes aux extrémités des pilis ou fimbriae. Elles se lient étroitement aux sucres spécifiques des glycoprotéines présentes à la surface des cellules des tissus cibles. Par exemple, la plupart des souches de *E. coli* qui causent la pyélonéphrite produisent une adhésine fimbriaire appelée fimbriae P ; cette adhésine peut se lier à l' α -D-galactosyl- β -D-galactoside (Gal-Gal), qui fait partie de la structure de l'antigène de groupe sanguin, présente à la surface des érythrocytes humains et des cellules uro-épithéliales. En ce qui concerne certaines bactéries les adhésines ne se trouvent pas au niveau des pili ou fimbriae, nous pouvons citer l'exemple de *Streptococcus pyogenes* qui se sert de l'acide lipoteichoïque et de la protéine F pour se lier aux cellules épithéliales via la fibronectine (Dziewanowska *et al.*, 1999).

Une fois la fixation stabilisée, la bactérie va se disséminer dans l'organisme hôte : c'est l'invasion. Le phénomène d'invasion implique dans la plupart des cas une production des toxines qui ont pour rôle de détruire les cellules et les tissus ou encore de modifier la physiologie cellulaire locale. L'invasion peut être extracellulaire ou intracellulaire :

- Lors d'une invasion extracellulaire, les bactéries vivent dans les liquides interstitiels et l'on assiste à une production accrue des enzymes qui vont dégrader diverses composantes de la

cellule. Nous pouvons citer la production de l'hémolysine (responsable de la lyse des globules rouges et autres cellules), l'hyaluronidase (hydrolyse des protéoglycannes, ce qui entraîne une augmentation de la perméabilité tissulaire), la streptokinase et la staphylokinase (dégradation de la fibrine), les lipases et les nucléases ; les enzymes sus-citées sont majoritairement produites par *Staphylococcus aureus* et les streptocoques β -hémolytiques. La bactérie *Pseudomonas aeruginosa*, lors de l'invasion, sécrète une enzyme capable de dégrader les molécules extracellulaires, facilitant ainsi l'invasion : c'est l'élastase (Wilson *et al.*, 2002). L'invasion extracellulaire permet une dissémination large des bactéries, tout en facilitant l'accès à plusieurs niches. Cependant, plusieurs scientifiques pensent que les bactéries qui ont un mécanisme d'invasion extracellulaire peuvent aussi pénétrer dans les cellules et de ce fait utiliser aussi la voie intracellulaire durant l'invasion (Fleiszig *et al.*, 1997 ; Dziewanowska *et al.*, 1999).

- L'invasion intracellulaire est la capacité d'un pathogène à accéder à l'intérieur de la cellule et y vivre ; plusieurs bactéries Gram positif, Gram négatif ainsi que les mycobactéries possèdent les éléments structuraux précédemment cités leur permettant de pénétrer à l'intérieur d'une cellule. En effet, certaines bactéries à l'instar de *Chlamydia spp*, *Rickettsia spp*, et *Mycobacterium leprae* ont une activité intracellulaire obligatoire (Wilson *et al.*, 2002). Les bactéries utilisant cette voie d'invasion possèdent un système assez complexe (système de sécrétion de type III) qui agit comme une seringue moléculaire, permettant ainsi l'injection à l'intérieur de la cellule hôte des protéines de signalisation qui vont induire l'activation de certaines voies de signalisation dont l'aboutissement sera l'internalisation du microorganisme. La bactérie *Escherichia coli* entéro-pathogénique (ECEP) ou entéro-hémorragique (ECEH) durant leur pathogénèse utilise ce mode d'invasion. Brièvement, elles vont injecter à l'intérieur des cellules épithéliales un récepteur transloqué de l'intimine (Tir) et la fixation de l'intimine à ce récepteur va entraîner une cascade de réactions conduisant à une polymérisation de l'actine et une internalisation de la bactérie (Moat *et al.*, 2002 ; Coburn *et al.*, 2007).

I.1.3.1.2. Evasion immunitaire

Au cours de l'infection microbienne, le système immunitaire est mis à contribution dans l'optique de détruire les divers agents pathogènes ; la mise en marche des différentes cellules et molécules impliquées dans l'action immunitaire est due à la présence de certains composés à la surface bactérienne telles que les LPS, les capsules, les adhésines etc. La survie bactérienne au sein de l'hôte est nécessaire pour la suite de l'infection ; c'est ainsi que les bactéries ont développé plusieurs mécanismes leur permettant d'échapper à l'action des cellules immunitaires. Nous pouvons citer le camouflage, l'évitement de la phagocytose, la variation

antigénique, la destruction de certaines molécules du système immunitaire etc. (Finlay & McFadden, 2006).

Les immunoglobulines sont des glycoprotéines impliquées dans la réponse immunitaire ; pour échapper à leur action, *Staphylococcus aureus* secrète une protéine capable de se lier sur le fragment cristallisable des immunoglobulines et la rendre inactive. *Streptococcus pneumoniae* possède une capsule polysaccharidique qui permet d'éviter la phagocytose par les neutrophiles polymorphonucléaires (Gillespie & Bamford, 2012) et de se multiplier au sein de l'organisme hôte.

I.1.3.1.3. Prolifération intracellulaire et facteurs de virulence

Les bactéries qui auront échappé à l'action des composantes du système immunitaire vont proliférer au sein des niches qui peuvent être le cytosol cellulaire (*Shigella flexneri*, *Rickettsia rickettsii*), ou encore au sein d'une vacuole d'un phagocyte (*Mycobacterium spp*, *Salmonella spp*, *Legionella pneumophila* ...). Indépendamment du lieu où les bactéries pathogènes se retrouveront, ces dernières vont dégrader la membrane de la vacuole ou du cytosquelette une fois que la biomasse sera suffisamment élevée. Cette survie intracellulaire va entraîner une colonisation des différents tissus de l'organisme et la sécrétion des différents composés (toxines) qui auront des effets délétères pour les cellules, les tissus et l'organe (Wilson *et al.*, 2002).

Les toxines bactériennes sont des substances de nature protéique (toxine tétanique) ou non protéique (LPS) dont l'activité est caractéristique de la virulence de la bactérie. On les classe en deux grands groupes à savoir les exotoxines et les endotoxines.

- Les exotoxines sont des protéines qui peuvent être produites tant par les bactéries Gram négatif que par les bactéries Gram positif et comprennent des enzymes cytolytiques et des protéines de liaison aux récepteurs qui modifient une fonction ou tuent la cellule. Dans de nombreux cas, le gène de la toxine est codé sur un plasmide (toxine tétanique de *C. tetani*, et la toxine de *E. coli* entérotoxique) ou il peut être apporté par un bactériophage lysogène (toxine botulinique de *Clostridium botulinum*).

- Les endotoxines sont les composantes de la paroi cellulaire des bactéries. Celle dont la structure et l'activité ont été bien élucidées est le LPS des bactéries Gram négatif. Au cours de l'infection, les LPS se lient aux récepteurs spécifiques (CD14 et TLR4) présents à la surface des macrophages, des lymphocytes B et d'autres cellules, stimulant ainsi la production et la libération de cytokines (Wilson *et al.*, 2002).

I.1.4. Généralités sur les souches bactériennes utilisées et infections associées

I.1.4.1. Entérobactéries

Les entérobactéries sont des bacilles Gram négatif facultatives, retrouvées partout dans le sol, dans l'eau, et surtout dans l'intestin de l'Homme et des animaux. Elles comprennent un nombre très élevé de genres et d'espèces. Leur abondance dans l'intestin, leur mobilité, la rapidité de leur multiplication, l'acquisition fréquente de mécanismes de résistance aux antibiotiques expliquent qu'elles soient les bactéries les plus souvent impliquées en pathologie infectieuse humaine surtout en milieu hospitalier (Joëlle, 2012). Les espèces d'entérobactéries utilisées dans le cadre de ce travail sont les suivantes :

I.1.4.1.1. *Escherichia coli* (*E. coli*)

Les bactéries *E. coli* sont mobiles et appartiennent à la famille des enterobacteriaceae. Ce sont des bacilles non sporulant de 2 – 3 µm de diamètre sur 2 – 6 µm de longueur, mobiles par une ciliature péritriche. Ils se distinguent des autres entérobactéries par des tests positifs tels que la fermentation du lactose, du mannitol et du sorbitol, la production d'indole, et la présence d'une β-galactosidase. Les infections à *E. coli* sont de type opportuniste, très fréquentes touchant principalement l'appareil urinaire, les voies génitales et biliaires. 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, aux aminoglycosides, aux céphalosporines (Sleigh & Timbury, 1998). Plusieurs systèmes d'efflux ont été également décrits dont AcrAB-TolC est le mieux caractérisé, où AcrB est une pompe RND, AcrA la MFP et TolC une porine de la membrane externe (Borges-Walmsley *et al.*, 2003).

I.1.4.1.2. *Enterobacter aerogenes* (*E. aerogenes*)

Ce sont des bactéries Gram négatif appartenant à la famille des Enterobacteriaceae. Elles sont généralement oxydase négative, catalase positive. *E. aerogenes* sont des bactéries associées à des épidémies nosocomiales et sont considérées comme des pathogènes opportunistes (Pagotto *et al.*, 2003). *E. aerogenes* peut être isolée à partir d'infections urinaires ou de plaies. Elles peuvent également être responsables de bactériémies, et ce sont des pathogènes dont l'incidence en milieu hospitalier a considérablement augmenté ces dernières années (CHUPS, 2003 ; Freney *et al.*, 2006). La lutte contre *E. aerogenes* se fait aux moyens de la gentamicine et la céfépime (Brooks *et al.*, 2004). En revanche, elles sont naturellement

résistantes à l'amoxicilline, à amoxicilline-clavulanate, à la céfalotine et à la céfoxitine. Le système d'efflux le plus rencontré chez celles-ci est le système AcrAB-TolC (Cattoir, 2004).

I.1.4.1.3. *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*)

Les bactéries *Klebsiella pneumoniae* ne sont pas mobiles et fermentent du lactose. 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. pneumoniae* (Brooks *et al.*, 2004 ; Denis *et al.*, 2007). *Klebsiella pneumoniae* sont des germes impliqués dans les infections urinaires, les septicémies et les infections broncho-pulmonaires. Ces bactéries sont également ubiquitaires, présentes dans le tube digestif et dans l'appareil respiratoire des Hommes et des animaux en tant que bactéries commensales. Ce sont des espèces fréquemment isolées en milieu hospitalier où elles seraient responsables de 10% des infections nosocomiales (Denis *et al.*, 2007). Elles sont sensibles à la colistine, aux quinolones, aux aminosides, aux furanes et à l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole (Decré *et al.*, 2004). En revanche, elles sont naturellement résistantes aux aminopénicillines et aux carboxypénicillines (Brooks *et al.*, 2004). Chez *K. pneumoniae*, ce sont les pompes à efflux MDR ArcB de la famille RND qui sont responsables de la résistance aux quinolones et dérivés (Cattoir, 2004 ; Ogawa *et al.*, 2005).

I.1.4.1.4. *Providencia stuartii* (*P. stuartii*)

Providencia stuartii est une bactérie Gram négatif mobile appartenant à la famille des Enterobacteriaceae. Elles sont pathogènes opportunistes généralement rencontrées en milieu hospitalier et responsables des infections urinaires dans près de 59% des cas (Lin *et al.*, 2008). Elles sont aussi associées aux infections gastro-intestinales. Les souches *P. stuartii* sont naturellement résistantes à la colistine. Notons également que les souches sauvages sont naturellement résistantes à l'amoxicilline, à amoxicilline-clavulanate et à la céphalotine. Elles restent généralement sensibles aux autres β-lactamines. Le carbapénème est l'antibiotique le plus adapté pour soigner les infections causées par *P. stuartii* (Brown, 2009).

I.1.4.2. *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*)

Pseudomonas aeruginosa est un bacille à Gram négatif qui mesure 1,5-3× 0,5 μm. Il est non sporulé et est mobile par une ciliature polaire (Sleigh & Timbury, 1998). Il pousse facilement sur milieu ordinaire (Carbonelle *et al.*, 1987). Ce dernier se distingue des entérobactéries par son métabolisme oxydatif (Oxydase-positive) et son incapacité à croître en

anaérobiose (elle est aérobie stricte) (Carbonelle *et al.* 1987). *P. aeruginosa* est une bactérie pathogène opportuniste responsable des infections nosocomiales (Carbonelle *et al.*, 1987). Son habitat est le tractus gastro-intestinal des animaux et des Hommes, l'eau et le sol (Sleigh & Timbury, 1998). *P. aeruginosa* peut engendrer des infections urinaires, oculaires ou pulmonaires et infecter des plaies profondes entraînant un choc septique (Larpent, 1997). La résistance de *P. aeruginosa* peut être liée à la production de β -lactamase à spectre étendu (BLSE) ou de carbapénémase, mais plus souvent à l'hyperproduction de céphalosporinase pour la résistance à la ceftazidime ou la perte de porines pour la résistance à l'imipénème, qui sont des phénomènes réversibles au niveau d'une population bactérienne (Birgand & Lucet, 2011). Notons également que *P. aeruginosa* est résistant à plusieurs antibiotiques. Toutefois, les drogues antipseudomonales majeures sont les aminoglycosides, certains β -lactames (pénicillines, céphalosporines) et les polymyxines (Sleigh & Timbury, 1998). Mentionnons également que, le système à efflux MexAB-OprM, constitué de trois composantes : la pompe MexB de la membrane cytoplasmique responsable de l'apport d'énergie, la porine OprM et la protéine de jonction MexA fut le premier à être caractérisé chez les souches et isolats de *P. aeruginosa* (Laohavaleeson *et al.*, 2008).

I.2. ANTIBIOTIQUES

Les substances antibactériennes sont des molécules capables d'empêcher la multiplication des bactéries et/ou de les tuer. L'action antibactérienne va dépendre du microorganisme lui-même, de l'agent antibactérien et de l'environnement où se situe l'action. On parlera ainsi d'un effet bactériostatique lorsque la substance antibactérienne empêche la multiplication des bactéries, et d'un effet bactéricide lorsqu'elle détruit totalement la bactérie (Meyer & Deiana, 1988).

Parmi ces substances, les antibiotiques représentent le moyen le plus efficace que l'on utilise dans la lutte contre les infections bactériennes et peuvent être d'origine naturelle, hémisynthétique ou synthétique. Ils peuvent avoir un effet bactéricide ou bactériostatique et certains ont une activité sélective et spécifique liée à un mécanisme d'action précis permettant leur utilisation dans le traitement de certaines infections (Faure, 2009). Plusieurs critères permettent de les classer, à savoir : l'origine, le spectre d'activité, La nature chimique établie selon la structure de base, le mode d'action.

I.2.1. Classification des antibiotiques

L'aptitude d'un antibiotique à interagir vis-à-vis d'un microorganisme est étroitement liée à sa nature chimique ; dans ce document, parmi les multiples critères (origine, spectre

d'activité, composition chimique, ...) permettant de regrouper les antibiotiques, celui basé sur leur structure chimique de base sera utilisé pour les classer et nous étayerons quelques-unes de ces familles.

I.2.1.1. β -lactamines

C'est la classe d'antibiotiques la plus diversifiée, la plus ancienne et la plus utilisée en médecine ; les premières molécules découvertes appartenant à cette famille ont été isolées des champignons du genre *Penicillium* et sur le plan structural, tous les antibiotiques issus de cette famille possèdent un élément commun : le noyau β -lactame (l'azétidine-2-one). Cet élément structural confère aux β -lactamines des propriétés antibactériennes avec pour site d'action la membrane bactérienne (Poyart, 2006). Cette famille d'antibiotiques est subdivisée en quatre grands groupes à savoir les pénames, les céphalosporines, les monobactames et les carbapénèmes.

- Les pénames sont un groupe constitué des différentes pénicillines (A, M, G, ...), des carboxypénicillines, uréidopénicillines, ...etc. Certains auteurs classent les inhibiteurs de β -lactamases au sein de ce groupe bien qu'ils ne possèdent aucune activité antibactérienne. Les composés de ce groupe possèdent des propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques variables et certains à l'instar de la pénicilline G ne peuvent pas être administrés par voie orale car inactivés par l'acide gastrique. Sur le plan structural, ils possèdent un noyau β -lactame lié au cycle thiazolidine (confère annexe 2 ; Faure, 2009)

- Les céphalosporines : sur le plan structural, elles se distinguent des pénames par la liaison du noyau β -lactame au noyau céphème (le cycle dihydrothiazine possédant un atome de soufre en position 1 ; confère annexe 2). Ce noyau céphème est beaucoup plus stable que le cycle thiazolidine des pénicillines. L'atome de soufre présent dans le cycle dihydrothiazine peut être remplacé par un atome d'oxygène (céphamycines) ; ce qui les rend plus stables à l'hydrolyse des β -lactamases. Toutefois ces molécules peuvent être hydrolysées par les β -lactamases à spectre élargi (BLSE) ou encore certaines céphalosporinases, ceci en fonction des différentes modifications en position R1 et R2 qui influencent les propriétés antibactériennes, pharmacocinétiques et la stabilité de la molécule. Les céphalosporines comportent quatre classes à savoir les céphalosporines de première, deuxième, troisième et quatrième génération (Dougherty & Pucci, 2012).

- Les monobactames : ils ont un spectre d'action étroit (particulièrement actif sur les bacilles Gram négatif aérobies). Sur le plan structural, ils sont différents des autres β -lactamines car ils n'ont qu'un seul noyau hétérocyclique (confère annexe 2). Les molécules appartenant à cette classe sont pour la plupart isolées des microorganismes à l'instar des nocardines et des

formadines qui ont été isolées des bouillons de culture de *Nocardia uniformis tsuyamanensis* et *Flexibacter alginoliquefaciens* YK-49 respectivement (Dougherty & Pucci, 2012).

- Les carbapénèmes : ce groupe de β -lactamines a le spectre antibactérien le plus large et ils sont résistants à la plupart des β -lactamases. Leur cycle de base diffère de celui des pénicillines par la présence d'une double liaison et l'absence de soufre endocyclique (confère annexe 2 ; Bibbal, 2008).

I.2.1.2. Aminoglycosides

Les aminoglycosides sont des antibiotiques largement utilisés en thérapeutique contre les infections du tractus urinaire, intra-abdominales, nosocomiales ... etc. Les premières molécules issues de cette famille ont été obtenues par fermentation des bactéries du genre *Streptomyces*, *Micromonospora* et *Bacillus*. Toutefois, les avancées scientifiques ont permis la modification de certaines molécules naturelles afin d'obtenir de nouvelles molécules hémisynthétiques. Sur le plan structural, les aminoglycosides sont constitués d'un noyau aminocyclitol (confère annexe 2) sur lequel est fixé un enchainement de sucres aminés. En fonction des substitutions faites sur le noyau central, on distingue trois grands groupes au sein de cette famille d'antibiotiques à savoir les streptomines, les desoxystreptomines (gentamicine, kanamycine) et les streptidines (streptomycine, dihydrostreptomycine) (Maffioli, 2013). Ils ont une activité bactéricide et doivent absolument franchir la membrane cytoplasmique pour l'exercer (Cohen, 2008).

I.2.1.3. Antibiotiques peptidiques

Les antibiotiques peptidiques constituent une famille contenant un ensemble très diversifié d'antibiotiques ; ils sont constitués de peptides glycosylés et peuvent se retrouver sous forme de peptides linéaires, peptides cycliques ou de thiazolylpeptides.

- Dans la structure des peptides linéaires, il ne peut y avoir une cyclisation au niveau des extrémités N et C-terminales ; ce qui permet donc la linéarité de la chaîne principale. Néanmoins, une cyclisation impliquant les différents radicaux des acides aminés peut être observée. Les antibiotiques constitutifs de ce groupe sont subdivisés en dalbaheptides (vancomycine, dalbavancine) et lantibiotiques (nisine).

- Les peptides cycliques : ce sont des molécules aux structures complexes dont le squelette principal est constitué d'un peptide cyclique. En fonction des différents groupements qui se lient à la chaîne peptidique nous distinguons plusieurs groupes de peptides cycliques à savoir les glycopeptides (mannopeptimycine), les lipopeptides (polymixines), les lipodepsipeptides (daptomycine) et les glycolipodepsipeptides (Ramoplanine).

- La particularité des thiazolylpeptides est la présence du soufre qui substitue l'azote au niveau des hétérocycles. La quasi-totalité des antibiotiques de ce groupe est obtenue de l'activité de plusieurs microorganismes à l'instar de *Micrococcus sp* (Micrococcine), *Streptomyces sp* (thiostreptone) et *Nonomuraea sp* (thiomuracine). (Morris *et al.*, 2009 ; Maffioli, 2013).

I.2.1.4. Cyclines

Les cyclines constituent une famille d'antibiotiques ayant un large spectre d'action et principalement utilisée en cas de pneumonie, tuberculose et certaines infections sexuellement transmissibles. La tétracycline est l'antibiotique le plus utilisé issu de cette classe et certains auteurs préfèrent utiliser ce nom pour désigner cette famille d'antibiotiques. Découverte en 1940, les tétracyclines sont des molécules bactériostatiques à très large spectre d'action produites par des bactéries du genre *Streptomyces* (Ex : l'oxytétracycline est synthétisé par *Streptomyces rimosus*), ou encore obtenues par hémi-synthèse à l'instar de la doxycycline. Sur le plan structural (confère annexe 2), elles sont composées de plusieurs cycles contenant des radicaux hautement réactifs ; précisément, les tétracyclines sont constituées de quatre cycles aromatiques fusionnés constituant le noyau tétracyclique sur lequel sont ramifiés plusieurs groupements fonctionnels (Chopra & Roberts, 2001). Leur pouvoir antibactérien est dû aux capacités de chélation dont les sites sont les groupements cétone en position 1 et 11, les groupements hydroxyls en position 3 et 12, et le groupement carboxyR2 en position 2 (Chopra *et al.*, 1992).

I.2.1.5. Quinolones

Ce sont des molécules antibactériennes obtenues par hémi-synthèse et ayant un spectre d'activité large. Elles sont constituées de deux cycles aromatiques accolés avec une fonction cétone en position 4 (confère annexe 2). Au niveau de la position 1, nous avons un radical alkyl ou aryl en fonction de l'antibiotique. Les positions 3 et 4 sont responsables de l'activité des molécules appartenant à cette famille d'antibiotiques, indépendamment de toutes autres substitutions ; une altération des groupements présents à ces positions annulerait le potentiel antibiotique desdites molécules. La fonction cétone présente en position 4 leur confère une propriété chélatrice des cations bivalents tels que le magnésium et le cuivre (ce qui expliquerait leur action antibactérienne), et la fonction carboxylique en position 3 intervient beaucoup plus au niveau de la pharmacocinétique et de la galénique car elle permet la fabrication des sels qui sont assez hydrosolubles. Les substitutions en positions 5, 6, 7, et 8 permettent d'améliorer l'activité des antibiotiques appartenant à cette famille (Maffioli, 2013).

I.2.1.6. Macrolides

Les différents antibiotiques appartenant à cette famille possèdent un noyau lactone dont le nombre d'atomes de carbone varie entre 12 et 16, lié à différents sucres par des ponts osidiques. La première molécule appartenant à cette classe et ayant un potentiel antibactérien fut l'érythromycine (obtenue de *Streptomyces erythreus*). Les macrolides sont subdivisés en quatre groupes en fonction du nombre d'atomes de carbone du noyau lactone ; ainsi on distingue les macrolides à 12 (méthymycine), 14 (érythromycine), 15 (azithromycine) et 16 (josamycine) atomes de carbone. Les premières substances découvertes ont été isolées de divers microorganismes (*Streptomyces venezuelae*, *Streptomyces narvonensis* var. *josamyceticus*, *Micromonospora rosaria*) ; bien que ces antibiotiques naturels aient un large spectre d'action, leur efficacité sur le plan clinique n'était pas maximale car elles étaient très instables en présence de l'acide gastrique, et les propriétés pharmacocinétiques étaient peu satisfaisantes. La mise sur pied des dérivés semi-synthétiques a permis de juguler ces difficultés (Zhanet *et al.*, 2001).

I.2.1.7. Phénicolés

Sur le plan clinique, seules deux molécules appartenant à cette famille d'antibiotiques sont utilisées ; il s'agit du chloramphénicol et du thiamphénicol. Ce sont des molécules ayant un spectre d'action large et sont essentiellement bactériostatiques. En clinique, leur utilisation n'est indiquée qu'en cas de complications majeures lors de la prise en charge des fièvres typhoïdes, méningococcies, abcès cérébral, rickettsioses. (Epaulard & Brion, 2009).

I.2.1.8. Aminocoumarines

Les aminocoumarines sont des molécules produites par plusieurs espèces bactériennes du genre *Streptomyces* dont les plus connues sont la novobiocine, la clorobiocine et la coumermycine. Tout comme les coumarines isolées des plantes médicinales, les aminocoumarines sur le plan structural possèdent le noyau 1-benzopyrane-2-one sur lequel différentes substitutions sont faites afin d'obtenir tous les antibiotiques issus de cette famille. Parmi les cibles d'action importantes pour les antibiotiques figurent l'ADN gyrase et la topoisomérase IV ; ces deux enzymes ont en commun 40% d'éléments structuraux et sont de ce fait la cible d'autres antibiotiques à l'instar de ceux appartenant à la classe de fluoroquinones. En thérapeutique, ces antibiotiques aux modes d'action similaires sont souvent utilisés en association (Heide, 2014) ; nous aborderons ces différentes notions dans les titres suivants.

I.2.2. Modes d'action des antibiotiques

Le principe d'action des antibiotiques consiste à bloquer sélectivement une étape d'un mécanisme essentiel à la survie ou à la multiplication des micro-organismes. Ces molécules antibactériennes dans leur action, inhibent de façon spécifique une voie métabolique indispensable à la vie de la bactérie sans toutefois exercer un effet toxique sur l'organisme hôte. Les modes d'action des antibiotiques sont multiples et le regroupement varie d'un auteur à l'autre ; cependant, les familles antibiotiques étudiées ci-dessus exercent leur activité antibactérienne via l'un des mécanismes suivants : Inhibition de la synthèse de la paroi, de l'ADN, de l'ARN et des protéines.

I.2.2.1. Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne

Les antibiotiques agissant sur la paroi cellulaire ne sont régulièrement actifs que sur les bactéries en croissance. Ces derniers bloquent la synthèse des constituants de la paroi en interférant avec certaines étapes clés de la synthèse du peptidoglycane. La paroi ainsi absente, la cellule explosera sous l'effet de la pression osmotique interne. Les antibactériens interférant de façon spécifique avec une étape de la synthèse du peptidoglycane sont entre autres :

- Les β -lactamines, qui présentent une similitude avec l'extrémité D-Ala-D-Ala du pentapeptide précurseur du peptidoglycane. Ces derniers vont se fixer aux protéines liant la pénicilline ou PLP (impliquées dans l'étape de polymérisation) et l'inhiber ;
- Les glycopeptides, formant par des liaisons hydrogènes, un complexe stable avec l'extrémité terminale D-Ala-D-Ala des peptides impliqués dans la polymérisation du peptidoglycane empêchant ainsi l'allongement des chaînes polysaccharidiques.

I.2.2.2. Effet sur la membrane bactérienne

Les inhibiteurs de la synthèse membranaire sont les antibiotiques de la famille des polypeptides tels que les polymixines. De par la charge positive qu'ils possèdent, ces derniers se fixent sur les lipides membranaires des cellules en croissance et au repos, désorganisant ainsi leur bicouche phospholipidique membranaire. Cette action détruit ainsi l'intégrité de la membrane libérant les éléments hydrosolubles (Bonfiglio & Furneri, 2001).

I.2.2.3. Effet sur les acides nucléiques

Certains antibiotiques affectent la synthèse de l'ADN et/ou de l'ARN. Parmi ceux-ci, nous pouvons citer :

- La novobiocine qui agit à la fois sur la synthèse de l'ADN au niveau de l'ADN gyrase, et de façon pas encore élucidée sur la synthèse de l'ARN en bloquant l'ARN polymérase (Meyer *et al.*, 2004 ; Meyer, 2007) ;

- Les quinolones et fluoroquinolones qui agissent en inhibant l'ADN gyrase : enzyme contrôlant l'enroulement de l'ADN. L'inhibition de la gyrase empêche la réplication de l'ADN et donc la croissance bactérienne.

I.2.2.4. Inhibition de la synthèse protéique

Plusieurs antibiotiques inhibent certaines étapes du processus de synthèse protéique. Ces substances agissent principalement au niveau des différentes sous-unités (30s ou 50s) du ribosome 70s des bactéries en renforçant la liaison entre les sous-unités, ce qui empêche la lecture de l'ARN_m (Meyer, 2007). On peut citer :

- Les macrolides, les lincosamides et les phénicolés qui se fixent sur la sous-unité 50s des ribosomes bactériens. Ils inhibent la synthèse des protéines en empêchant la liaison du complexe amino-acyl - ARNt (ARN de transfert) à son site de fixation et donc la réalisation de la transpeptidation ;
- Le chloramphénicol, s'attache à la sous-unité 50s (au site A) empêchant l'attachement des amino-acyl-ARNt au site A du ribosome (Lavigne, 2007) ;
- Les aminoglycosides et les cyclines se fixent sur la sous-unité 30s des ribosomes, empêchant la traduction de l'ARNm (ARN messenger) et donc l'élongation de la chaîne polypeptidique (Kenneth, 2006).

I.2.2.5. Inhibiteurs compétitifs

Ces molécules sont des analogues structuraux encore appelés antimétabolites. Ils interfèrent avec les métabolites normaux de la cellule qui sont principalement :

- Les acides aminés : le parafluorophénylalanine et le 1,2,3-triazole-3-alanine, analogues structuraux de l'alanine et de l'histidine respectivement déstabilisent la protéine dans laquelle ils se trouvent ;
- Les bases puriques et pyrimidiques : l'incorporation des antimétabolites à l'instar du 5-bromo-uracile, du 8-aza-guanine ou 5-fluoro-uracile analogues de la thymine, de la guanine et de l'uracile respectivement dans l'ARN ou l'ADN vont conduire à des modifications génétiques (Meyer *et al.*, 2004).

La Figure 4 ci-dessous résume les différents mécanismes d'action des antibiotiques.

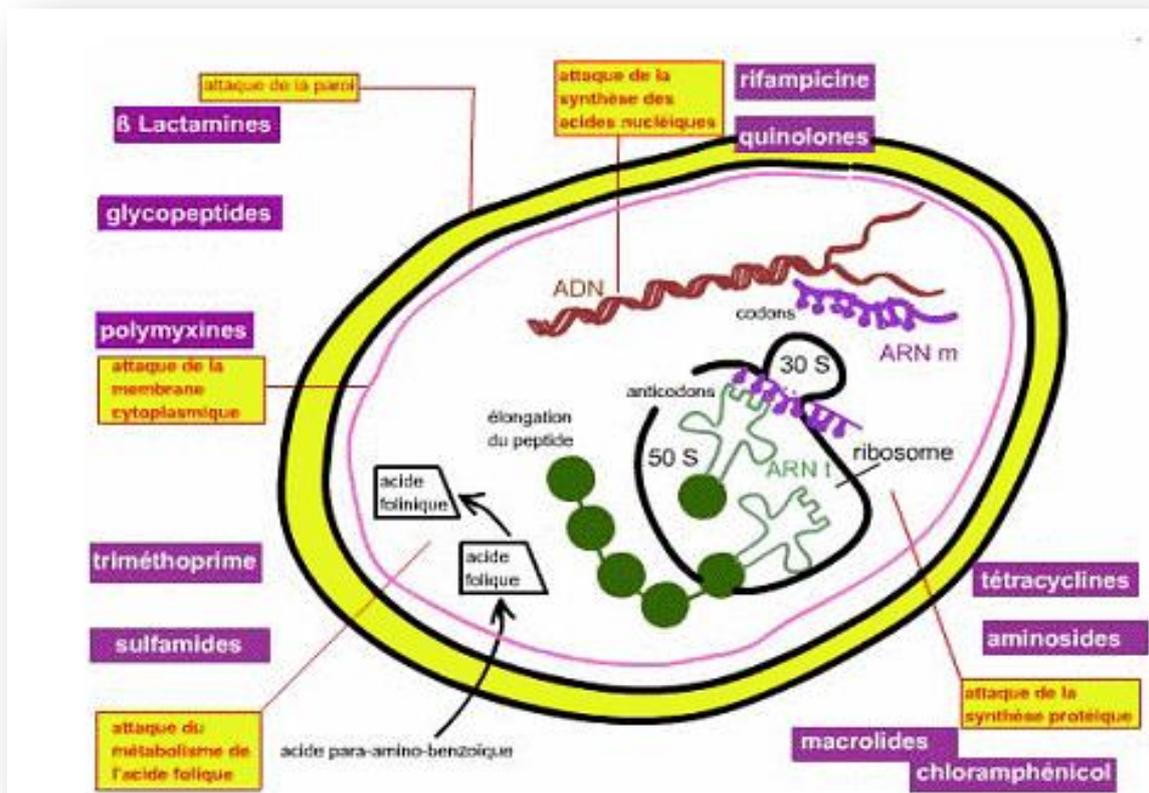


Figure 4 : Résumé des différents modes d'action des antibiotiques (Lavigne, 2007)

L'utilisation à large échelle des antibiotiques en médecine humaine, plus encore dans l'engraissement des animaux ; le manque d'hygiène à l'intérieur et à l'extérieur des hôpitaux a favorisé la multiplication des germes résistants (Manuel & Andreas, 2010).

I.3. RÉSISTANCE BACTÉRIENNE AUX ANTIBIOTIQUES

I.3.1. Contexte de la résistance et/ou de la multirésistance

La résistance bactérienne aux antibiotiques est la capacité des bactéries à s'opposer aux effets bactériostatiques ou bactéricides des antibiotiques. Une bactérie porteuse de plusieurs gènes de résistance pour différents antibiotiques est dite « multirésistante ». On note une augmentation drastique de ce phénomène et elle présente de ce fait une grande menace dans le traitement avec succès des infections bactériennes. Elle augmente ainsi la morbidité, le temps d'hospitalisation, le coût des soins et la mortalité (Hayley & Wade, 2005). Les bactéries s'adaptent à la présence des agents antibactériens dans leur environnement dans le but de survivre. L'exposition aux antibiotiques permet aux bactéries de développer des mécanismes afin d'échapper aux effets de ceux-ci. Les infections causées par les bactéries résistantes et multirésistantes, autrefois cantonnées au milieu hospitalier, deviennent communautaires.

Parmi les germes responsables d'infections bactériennes, les entérobactéries sont les plus redoutables car elles sont productrices de bêtalactamases et possèdent d'autres mécanismes de résistance à de nombreux antibiotiques (Carattoli, 2009). La concentration importante de ces germes dans le tube digestif, favorise l'échange et la dissémination des gènes de résistance (Machado *et al.*, 2013). Cette résistance bactérienne aux antibiotiques pose le problème de choix de l'antibiothérapie. En Afrique, et en particulier au Cameroun, la majorité des patients n'ont pas accès au laboratoire et la prise en charge des syndromes infectieux est probabiliste. L'efficacité de cette approche réside dans la connaissance de l'écologie microbienne locale, et de l'évolution des résistances des bactéries aux agents antimicrobiens. Des études faites au Cameroun ont montré la présence d'entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre élargi dans les villes de Yaoundé et N'Gaoundéré (Gangoué *et al.*, 2005 ; Lonchel *et al.*, 2012).

Les investigations menées par Ebongue *et al.* (2015) dans la ville de Douala au Cameroun, ont montré que les entérobactéries, avec une prédominance d'*Escherichia coli* (48,5%) et *Klebsiella pneumoniae* (32,8%), étaient les germes les plus fréquents. Les taux de résistance ont été élevés aux principales classes d'antibiotiques, et des augmentations entre 2005 et 2012 de 29,1% à 51,6% ont été notées pour les céphalosporines de troisième génération et de 29,2% à 44% pour la ciprofloxacine. Par ailleurs, les études menées par Marbou et Kuete (2016) sur des patients infectés par le Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH) dans la localité de Mbouda (Ouest, Cameroun) ont montré un degré de résistance des entérobactéries de 29,7% pour les patients VIH séronégatifs et de 79,4% chez des patients VIH séropositifs ; avec une prédominance de *Escherichia coli* (81,1%). Ainsi l'évolution des résistances des entérobactéries aux antibiotiques est un phénomène réel au Cameroun. Il expose à des difficultés de prise en charge thérapeutique des infections bactériennes.

La résistance aux antibiotiques apparaît comme un événement normal de l'évolution des microorganismes. Elle est toutefois favorisée par l'usage des antibiotiques qui exercent une pression de sélection en privilégiant la croissance de souches résistantes ou en induisant l'expression de phénotypes inductibles. Les résistances et/ou multirésistances sont caractérisées par une émergence rapide de quelques souches résistantes après l'introduction d'un antibiotique ; la fréquence de ce nouveau mécanisme est rapidement en augmentation mais variable selon l'antibiotique ; la résistance est transférable, car liée à la présence de gènes transférables comme ceux intégrés dans un plasmide, transposons ou intégrons ; enfin ces gènes transférables peuvent avoir une diffusion épidémique (Lavigne, 2007).

L'addition des mécanismes de résistance est devenue monnaie courante dans le monde bactérien ; aussi les bactéries deviennent de plus en plus résistantes, d'où l'appellation de BMR pour Bactéries multirésistantes (Lavigne, 2007). De nombreux facteurs sont à l'origine du

développement des phénomènes de résistance bactérienne. Les principales sont une utilisation abusive, immodérée et inappropriée des antibiotiques, liées à l'automédication ainsi que des mauvais diagnostics suivis d'antibiothérapie.

I.3.2. Types de résistance : résistance naturelle et résistance acquise

I.3.2.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle encore appelée résistance intrinsèque est observée lorsque des souches d'une même espèce sont résistantes aux antibiotiques. C'est l'expression d'une propriété innée reflétant l'empêchement d'accéder à la cible ou à l'absence de la cible. Cette résistance est stable, transmise à la descendance (elle a pour support génétique le chromosome bactérien) mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal (d'une bactérie à l'autre au sein d'une même espèce ou entre espèces différentes) (Lozniewski *et al.*, 2010). Sa préexistence à toute utilisation d'antibiotique permet la délimitation du spectre d'activité de ces substances. La présence de la membrane externe chez les bactéries à Gram négatif par exemple, leur confère une résistance naturelle à plusieurs classes de molécules telles que les glycopeptides, les macrolides, les lincosamides, les streptogamines, par imperméabilité (Phan, 2008).

I.3.2.2. Résistance acquise

La résistance acquise résulte d'une modification du patrimoine génétique de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce (Lozniewski *et al.*, 2010). Cette résistance est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. Elle advient lorsque quelques souches d'une même espèce normalement sensibles deviennent résistantes (Ouattara, 2005). Les gènes responsables de cette forme de résistance peuvent être obtenus par mutation au niveau du chromosome qui est un phénomène rare, par transfert des éléments génétiques mobiles (plasmides, transposons) ; c'est ainsi que le gène TEM1 codant pour une β -lactamase initialement décrit chez *Klebsiella pneumoniae* est de nos jours retrouvé au sein de toutes les entérobactéries et autres genres bactériens à l'instar des *Haemophilus (Haemophilus influenzae)*, des *Neisseria (Neisseria gonorrhoeae)* (Liassine, 2000).

I.3.3. Mécanisme de résistance vis-à-vis des antibiotiques

Toute molécule d'antibiotique doit remplir simultanément les conditions suivantes pour être active sur les bactéries : posséder une cible bactérienne spécifique, accéder à la cible, demeurer sous forme active et interagir avec la cible. La résistance bactérienne consiste donc à empêcher une ou l'ensemble des conditions suscitées à travers quatre modes principaux à

savoir : la modification des cibles des antibiotiques, la synthèse d'enzymes inactivant les antibiotiques, la diminution de la perméabilité membranaire des bactéries aux antibiotiques et la réduction des concentrations intracellulaires d'antibiotiques par l'intervention des pompes à efflux (Yala *et al.*, 2001).

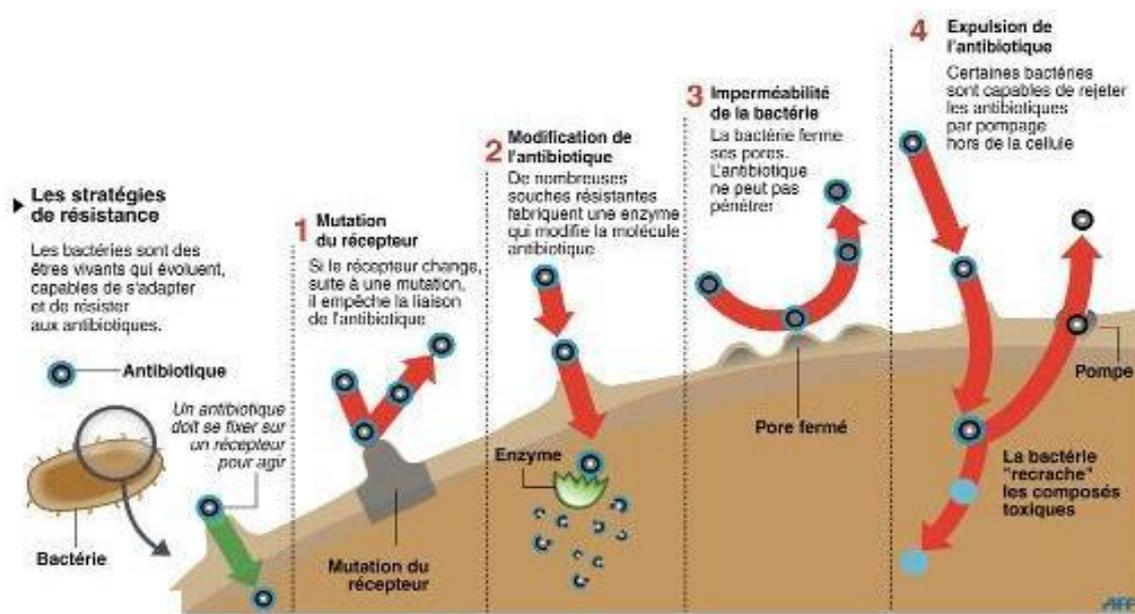


Figure 5 : Quelques mécanismes de résistances chez la bactérie (Tian *et al.*, 2014)

I.3.3.1. Modification des cibles des antibiotiques

Les altérations structurales de la cible d'un agent antibactérien peuvent aussi rendre certaines bactéries résistantes à un antibiotique. Ces altérations se font généralement via les mutations des gènes codant pour le site d'action ou par une modification enzymatique post-translacionnelle du site d'action. Le principal exemple de ce mécanisme de résistance est le remplacement du D-Ala terminal du pentapeptide précurseur du peptidoglycane par le résidu D-lactate empêchant ainsi les interactions hydrogènes avec la vancomycine, par conséquent la diminution significative de son affinité pour son site d'action (Amburs, 2008).

I.3.3.2. Synthèse d'enzymes inactivant les antibiotiques

Les microorganismes produisent des enzymes qui détruisent ou inactivent les antibiotiques. La production enzymatique peut être constante, c'est-à-dire non affectée par des stimuli externes ou induite par un facteur externe tel qu'un autre antibiotique externe. Le cas le plus rencontré ici est celui de la production des β -lactamases qui sont des enzymes produites par les bactéries et transmises par des portions de chromosomes ou des plasmides. Elle constitue un mécanisme de résistance très efficace. Les β -lactamases inactivent les β -lactamines en détruisant la liaison amide sur le noyau lactame (Carle, 2009).

I.3.3.3. Production des biofilms

Les biofilms sont des communautés de microorganismes attachés à une surface et regroupés à l'intérieur d'une matrice d'exopolysaccharides. En effet, les microorganismes qui vivent dans un biofilm peuvent devenir 10 à 1000 fois plus résistants aux effets des agents antimicrobiens comparativement aux microorganismes planctoniques (Mah & O'Toole, 2001). Plusieurs mécanismes ont été proposés pour élucider cette augmentation de la résistance des biofilms aux antibiotiques (Beoletto *et al.*, 2016).

- ✚ La matrice d'exopolysaccharides : cette membrane contribue à retarder l'entrée des antibiotiques ou à permettre une pénétration incomplète dans le biofilm. C'est le cas des aminoglycosides qui, chargés positivement se lient à des polymères chargés négativement dans le biofilm et ceci aboutit à une pénétration plus lente ;
- ✚ Composition chimique du microenvironnement : au cours de la croissance des biofilms, les bactéries induisent la synthèse du facteur sigma ; ce qui conduit à une augmentation de la densité cellulaire et l'activation du *quorum-sensing*. Les conditions environnementales (diminution du taux d'oxygène et de nutriments) dans le biofilm vont induire une sélection des cellules qui sont phénotypiquement résistantes à de fortes concentrations d'antimicrobiens. L'oxygène disponible est consommé par les cellules situées dans les couches superficielles du biofilm, créant des zones anaérobies dans les couches profondes. Cette situation est défavorable pour les aminoglycosides, car ils ne sont actifs qu'en aérobie. Par ailleurs, il va aussi se produire une baisse du pH en raison de l'accumulation locale de déchets acides qui interfèrent directement avec l'action des antibiotiques. En raison du manque d'oxygène et de l'altération du pH, certaines bactéries cessent de se reproduire et pénètrent dans un état de non-reproduction, dans lequel elles sont protégées contre la mort. Cet état de non-reproduction influe l'activité des β -lactamines, qui ne sont efficaces que sur les bactéries en croissance car elles agissent au niveau de la synthèse de la paroi cellulaire.

I.3.3.4. Réduction de la perméabilité membranaire

La membrane externe des bactéries Gram négatif est constituée de phospholipides et des lipopolysaccharides (LPS). Du fait de leurs caractères hydrophiles, les LPS rendent la membrane externe des bactéries Gram négatif imperméable à la plupart des macromolécules hydrophobes. Cette particularité structurale est en partie responsable de la résistance intrinsèque des entérobactéries et de *P. aeruginosa* à certains antibiotiques hydrophobes, comme les macrolides (Normak & Normak, 2002). Certains antibiotiques, comme les fluoroquinolones, les β -lactamases, le chloramphénicol, traversent la membrane externe des

bactéries Gram négatif et atteignent leurs cibles grâce aux porines. Les porines sont des canaux aqueux ou hydrophiles constitués de trois molécules de protéines qui laissent diffuser diverses molécules de faibles masses moléculaires comme des substrats ou encore des antibiotiques (Lavigne, 2007). Une altération des porines dans la paroi des bactéries Gram négatif peut réduire ou bloquer la pénétration de l'antibiotique jusqu'à son site d'action. Comme exemple, nous avons le cas de la résistance de *P. aeruginosa* à l'imipénème qui illustre la résistance spécifique causée par la perte d'une porine propre aux carbapénèmes. Les mutations des porines joueraient un rôle important dans l'émergence d'une résistance, particulièrement à la suite d'une réduction du calibre des canaux ou du nombre de porines (Pagès, 2004). A titre d'exemple, nous avons la résistance à l'imipénème chez les bactéries *Enterobacter sp.* et *Serratia sp.*, l'imperméabilité liée aux porines s'associe souvent à la synthèse de β -lactamases pour conférer une résistance à la bactérie. Il arrive à l'occasion qu'une bactérie ne devienne résistante que lorsque ces deux phénomènes se produisent simultanément (Carle, 2009).

I.3.3.5. Résistance par efflux actif

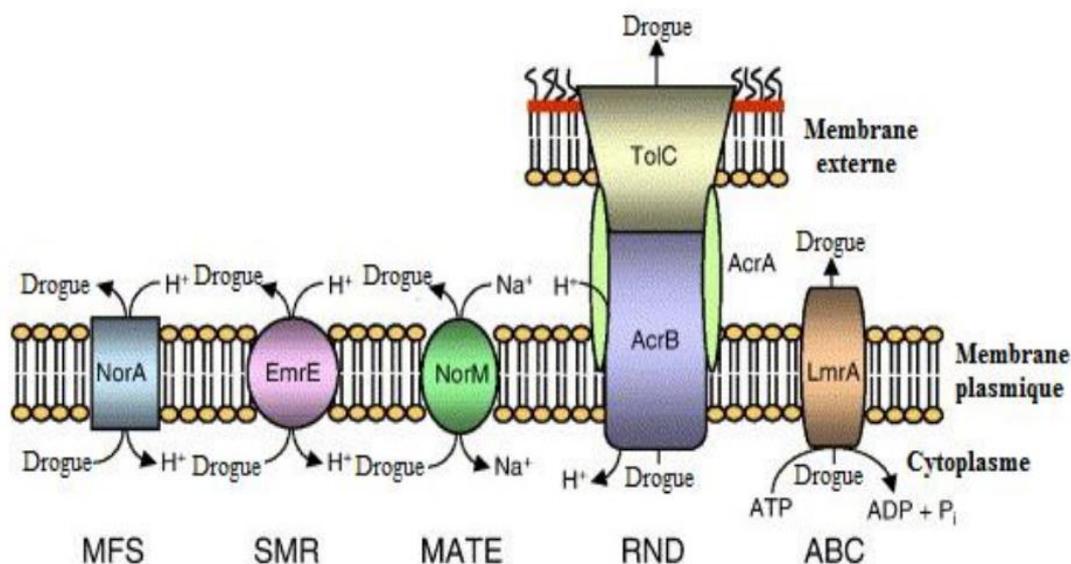
L'efflux actif est un ensemble de mécanismes de transport à travers la membrane largement répandu chez tous les organismes vivants. Chez les bactéries, il intervient principalement dans le maintien de l'équilibre physicochimique du milieu intracellulaire et dans le transport des substances nutritives et des déchets. Le système d'efflux a été mis en évidence pour la première fois en 1978 sur la capacité de *E. coli* à expulser les tétracyclines (Levy & Mc Murry, 1978). Les pompes impliquées dans ce système comportent 14, 12, ou 4 segments peptidiques transmembranaires hydrophobes impliqués dans la reconnaissance, la fixation et l'expulsion des molécules d'antibiotiques du milieu intracellulaire (Putman *et al.*, 2000). Chez les bactéries Gram négatif en particulier, ces systèmes d'efflux sont des complexes protéiques tripartites constitués d'une pompe transmembranaire, d'une protéine périplasmique de jonction (MFP : *Membrane Fusion Protein*) et d'une porine, enchâssée dans la membrane externe (OMP : *Outer Membrane Protein*). Comme exemple des pompes à efflux les plus fréquentes, nous avons : les pompes AcrAB-TolC chez *E. coli* ou MexAB-OprM chez *P. aeruginosa*.

I.3.3.5.1. Classification et fonctionnement des pompes à efflux

La différenciation des pompes à efflux peut se faire en fonction de la nature des antibiotiques transportés. Ainsi, on distingue les transporteurs spécifiques à une seule classe d'antibiotiques (tels que les pompes à efflux des tétracyclines) qui sont des transporteurs « drogue-spécifique » généralement codés par des plasmides ou transposons et les transporteurs non spécifiques qui prennent en charge une large variété d'antibiotiques, contribuant ainsi de

manière significative à la multirésistance (MDR : *Multi-Drug Resistance*) des bactéries vis-à-vis des antibiotiques (Poole, 2004). Les gènes codant pour ces pompes MDR sont pour la plupart situés sur le chromosome bactérien (Butaye *et al.*, 2003).

Sur le plan phylogénétique, les pompes à efflux appartiennent à cinq superfamilles (Figure 6) qui sont classifiées suivant leur mécanisme en deux types distincts : les transporteurs primaires qui utilisent l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'adénosine triphosphate (ATP) pour l'extrusion des médicaments (Poole, 2002) et les transporteurs secondaires dont l'énergie provient des gradients électrochimiques transmembranaires d'autres protons ou ions sodium (Li & Nikaido, 2004).



MFS: *Major Facilitator superfamily*; SMR: *Small Multidrug Resistance*; MATE: *Multidrug And Toxic compound Extrusion*; RND: *Resistance Nodulation cell Division*; ABC: *ATP-Binding Cassettes*.

Figure 6 : Illustration schématique des principales pompes bactériennes d'efflux (Kumar et Schweize, 2005)

i. Transporteurs primaires (les transporteurs ABC)

Les transporteurs primaires utilisent l'énergie issue de l'hydrolyse de l'ATP et sont retrouvées tant chez les procaryotes que chez les eucaryotes. Ils sont beaucoup plus impliqués dans la résistance des cellules cancéreuses (exemple : glycoprotéine- p) (Ishikawa *et al.*, 2010). Bien qu'elles soient rarement impliquées dans la résistance bactérienne (Vila *et al.*, 2007), quelques pompes ABC ont néanmoins été décrites à l'instar de la pompe MacAB-TolC présente chez certaines souches de *E. coli* et responsables de l'efflux des macrolides à 14 ou 15 atomes de carbone (Paulsen, 2003). Ce type de transporteur est constitué de deux domaines : le

domaine ABC comprenant 215 acides aminés et impliqué dans la liaison à l'ATP, et le domaine transmembranaire constitué de 12 segments transmembranaires hydrophobe impliqué dans la reconnaissance du substrat (Jucker, 2002).

ii. Transporteurs secondaires

Les systèmes d'efflux des antibiotiques classifiés comme transporteurs secondaires incluent : les superfamilles *Major Facilitator Superfamily* (MFS), *Resistance Nodulation cell Division* (RND), *Small Mutidrug Resistance* (SMR) et *Multidrug And Toxic compound Extrusion* (MATE) (Li & Nikaido, 2004 ; Pagès & Amaral, 2009).

➡ Transporteurs MFS (*Major Facilitator Superfamily*)

Ce type de transporteur est soit un antiport, soit un symport, car en plus d'être impliqué dans l'expulsion des antibiotiques hors de la cellule, il intervient aussi dans l'influx de certains sucres (telle que la lactose perméase Lac Y chez *E. coli*) (Phan, 2008). Ces protéines tant présentes chez les procaryotes que chez les eucaryotes (Mesaros *et al.*, 2005) sont constituées de 400 résidus d'acides aminés et subdivisées en 2 sous familles à savoir les transporteurs à 12 segments transmembranaires et les transporteurs à 14 segments transmembranaires (Paulsen *et al.*, 1996). Les pompes MFS effluant les antibiotiques forment des systèmes antiports antibiotique/H⁺.

➡ Transporteurs SMR (*Small Mutidrug Resistance*)

Tout comme les protéines MATE, ils sont exclusivement présents chez les procaryotes (Mesaros *et al.*, 2005), et leur structure primaire fait état d'environ 110 résidus d'acides aminés constituant 4 segments transmembranaires. Ils sont principalement responsables de l'efflux des ammoniums quaternaires et d'antiseptiques (Li et Nikaido, 2004 ; phan, 2008).

➡ Les transporteurs MATE (*Multidrug And Toxic compound Extrusion*)

Ils ont une configuration spatiale semblable à celle de la famille MFS et à la différence des autres pompes, l'énergie nécessaire à l'efflux est plutôt fournie par un gradient électrochimique d'ion sodium (Na⁺) (Brown *et al.*, 1999). Ils confèrent aux bactéries une résistance particulière aux fluoroquinones et aux aminoglycosides (Cattoir, 2004).

➡ Transporteurs RND (*Resistance Nodulation cell Division*)

La résistance des bactéries Gram négatif aux antibiotiques n'est pas seulement due à l'existence d'une membrane externe peu perméable, mais aussi à la présence des pompes

RND (Nikaido, 1996). Ce type de pompes essentiellement présentes chez les bactéries Gram négatif est un antiport dépendant du gradient de protons. Les pompes RND sont constituées d'environ 1000 acides aminés et présentent 12 segments transmembranaires avec deux larges boucles dont la première se situe après le premier segment transmembranaire et la seconde après le septième segment transmembranaire ; ces boucles sont impliquées dans la reconnaissance du substrat (putman *et al.*, 2000 ; Cattoir, 2004). Du fait de leur configuration membranaire, les bactéries Gram négatif possèdent un complexe protéique tripartite impliqué dans le transport des substrats. Ce complexe protéique est constitué d'une pompe RND rencontrée au niveau de la membrane plasmique, d'une porine de la membrane externe (*Outer Membrane Factor* ou *OMF*) présentant un prolongement périplasmique et d'une protéine périplasmique (*Membrane Fusion Protein* ou *MFP*) dont le rôle est de consolider le système ternaire (Nikaido, 1996 ; Zgurskaya & Nikaido, 2000 ; Li & Nikaido, 2004). Ce type de pompes intervient dans l'efflux de nombreux substrats à savoir : plusieurs classes d'antibiotiques, les colorants, les détergents, les solvants organiques, les inhibiteurs du métabolisme. Ce qui explique le fait que ce soit le système le plus important dans la résistance aux agents antimicrobiens (Poole, 2004). Le mécanisme utilisé pour le transport est un antiport substrat/H⁺. Comme exemple, nous avons le système AcrAB-TolC d'*E coli* qui est constitué de la pompe RND AcrB, de la MFP AcrA et de l'OMP TolC (Ma *et al.*, 1995).

I.3.3.5.2. Impact de l'efflux sur la résistance aux antibiotiques

L'évolution croissante de la pharmacorésistance aux agents anti-infectieux constitue un facteur important dans l'émergence et la réémergence des maladies infectieuses (Heymann, 2004). L'efflux actif a un rôle important dans l'expression de ces résistances surtout sur le plan clinique (Rouveix, 2007). L'expression simultanée de plusieurs pompes à efflux entraîne de ce fait un niveau de résistance élevée chez les bactéries ; ce niveau élevé de résistance peut aussi être dû à une coopération entre l'efflux des antibiotiques et les autres mécanismes de résistance suscités comme c'est le cas de la combinaison de la production de β -lactamases et l'imperméabilité des porines OmpF et OmpC chez *Providencia stuartii* (Tran, 2009). Notons également que, les gènes encodant les pompes à efflux sont parfois situés sur des éléments génétiques mobiles (plasmides, transposons) potentiellement transférables et posent le problème de la dissémination épidémique ou mondiale de la résistance (AIRES, 2011).

I.3.3.5.3. Inhibiteur des Pompes à Efflux (IPE)

Les techniques utilisées pour neutraliser la résistance par l'efflux sont basées sur la recherche des nouveaux antibiotiques pouvant contourner les systèmes à efflux ou la recherche des inhibiteurs des pompes à efflux (Chollet *et al.*, 2004). Ces derniers peuvent se fixer

directement sur la pompe et par conséquent bloquer son fonctionnement, de manière compétitive ou non compétitive.

Dans ce groupe, les plus étudiés des IPE sont des composés peptidomimétiques. Dans cette famille, le premier IPE identifié est la phénylalanine arginyl β -naphtylamide (PA β N). En combinaison avec les fluoroquinolones, le PA β N semble présenter une activité inhibitrice contre les pompes MexCD-OprJ et MexEF-OprN de *P. aeruginosa*, et contre les pompes à efflux AcrAB-TolC des bactéries Gram négatif, incluant *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. aerogenes*, *S. typhimurium* (Mallèa *et al.*, 2002 ; Hasdemir *et al.*, 2004). Le PA β N restaure également l'activité d'autres classes d'antibiotiques incluant le chloramphénicol, les macrolides, les oxazolidinones, et rifampicine, mais pas celle des β -lactames ou aminoglycosides (Mamelli *et al.*, 2003). Seul, le PA β N est un substrat des pompes à efflux, qui agit comme un inhibiteur compétitif (Pagès *et al.*, 2005 ; Mahamoud *et al.*, 2007). La forte utilisation du PA β N est fondée sur son large spectre d'activité inhibitrice sur les pompes à efflux. Laquelle activité est absolument nécessaire afin d'avoir un impact important en clinique sur les fluoroquinolones, qui sont extrudés par de multiples pompes à efflux (Renau *et al.*, 2002).

Il existe d'autres types d'inhibiteurs à l'instar du :

- 1-(1-Naphthylméthyl)-pipérazine (NMP) : son activité a été démontrée sur des souches multirésistantes de *E. coli* surexprimant les pompes RND (Schumacher *et al.*, 2006).
- 13-cyclopentylthio-5-hydroxytétracycline (13-CPTC) : un analogue de la tétracycline. Elle agit en synergie avec la doxycycline contre *E. coli*, par inhibition compétitive aux protéines TetA ou TetB (Nelson & Levy, 1999).
- La réserpine : un alcaloïde extrait des plantes. Son activité inhibitrice d'efflux fut démontrée pour la première fois sur les pompes des Bactéries Multi-Résistantes (BMR) responsables de l'efflux de la tétracycline chez *Bacillus subtilis* (Stavri *et al.*, 2007). Elle agit mieux sur les bactéries à Gram positif à l'exemple des souches cliniques multirésistantes de *Staphylococcus aureus* où elle agit sur la pompe NorA responsable de l'efflux de la norfloxacin (Kaatze & Seo, 1995).

La présence des différents mécanismes d'efflux, favorisant l'apparition des BMR de plus en plus insensibles à la plupart voire à tous les antibiotiques disponibles, fait craindre le monde entier à un retour à l'ère pré-antibiotique (Centre d'analyse stratégique, 2012). Dès lors, le traitement efficace des infections des BMR devient un réel challenge pour la santé publique. Face à cette situation, il est donc important d'orienter les recherches vers de nouvelles ressources et surtout vers les végétaux qui constituent depuis des décennies une source d'inspiration de nouveaux médicaments (Billing & Sherman, 1998).

I.4. PLANTES MEDICINALES

I.4.1. Biomolécules issues des plantes médicinales et activités biologiques

Les plantes médicinales sont depuis toujours utilisées par les Hommes pour prévenir, soulager ou soigner divers maux. Ces plantes renferment en dehors des molécules classiques (glucides, lipides, protéines et acides nucléiques) que nous connaissons, des métabolites secondaires dotés d'une très large gamme d'activités biologiques et d'une très grande diversité de structures chimiques (Li *et al.*, 2007). Ces substances sont classées en plusieurs grands groupes : les composés phénoliques, les alcaloïdes, les terpènes et huiles essentielles.

I.4.1.1. Composés phénoliques

C'est la classe qui regroupe le plus grand nombre de composés antimicrobien et antioxydant. Les plus importants sont :

❖ Les phénols simples et acides-phénols ; les plus simples sont constitués d'un noyau phénolique substitué. Ces composés présentent un spectre antimicrobien vis-à-vis des bactéries (Brantner & Grein, 1994). Ils agissent par inhibition enzymatique, soit en privant les groupements SH, soit à travers plusieurs réactions non spécifiques avec les protéines microbiennes. Ces composés sont aussi anti-inflammatoires, antiseptiques urinaires, anti-radicalaires, hépatoprotecteurs (Bruneton, 1999 ; Cowan, 1999).

❖ Les coumarines ; ce sont des composés dont le squelette de base est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (Ford *et al.*, 2001). Ils sont extrêmement toxiques vis-à-vis des rongeurs. La warfarine est la coumarine utilisée pour ses propriétés anticoagulante et rodenticide (Keating & O'Kennedy, 1997). Ces composés sont des molécules biologiquement actives et présentent diverses activités : antimicrobienne, anti-agrégation plaquettaire, anti-inflammatoire, anticoagulante, antitumorale, diurétiques, antivirale et analgésique (Stefanova *et al.*, 2007).

❖ Les flavonoïdes ; les flavonoïdes sont des pigments quasi universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs et des fruits (Fiorucci, 2006). Tous possèdent le même élément structural de base : le noyau flavane constitué de deux noyaux aromatiques A et B, et d'un hétérocycle oxygéné central C (Bruneton, 1999 ; Reynaud & Lussignol, 2005). Ils se sont révélés être des substances antimicrobiennes actives *in vitro* contre un large spectre de microorganismes. Cette activité serait due à leur capacité à se complexer avec les protéines extracellulaires solubles et à la paroi bactérienne (Cowan, 1999).

❖ Les tanins ; les tanins sont des composés phénoliques solubles dans l'eau et caractérisés par leur astringence (Peronny, 2005). Ils sont capables de précipiter les protéines et la gélatine (Stern *et al.*, 1996). 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).

❖ Les quinones ; les quinones sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou oranges et possédant deux fonctions cétones. On les retrouve 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, elles possèdent un potentiel antimicrobien élevé (Stern *et al.*, 1996).

I.4.1.2. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés azotés hétérocycliques, généralement biosynthétisés à partir d'un acide aminé (lysine, phénylalanine, tyrosine, tryptophane). La Berbérine et ses dérivés sont les composés représentatifs du groupe des alcaloïdes. Ils sont potentiellement actifs contre les souches de *Plasmodium falciparum* (Omulokoli *et al.*, 1997), mais également contre les bactéries Gram négatif et les bactéries Gram positif (Faizi *et al.*, 2003 ; Gonzaga *et al.*, 2003). Leur action antimicrobienne est attribuée à leur habileté à s'insérer entre l'ADN et/ou les cellules membranaires.

I.4.1.3. Composés terpéniques et huiles essentielles

Les terpènes sont des composés à structure isoprénique, de formule chimique $C_{10}H_{16}$. Ils représentent les composés majeurs des huiles essentielles où ils sont présents sous forme d'hémiterpènes (C_5), sesquiterpènes (C_{15}), diterpènes (C_{20}), triterpènes (C_{30}) et de tétraterpènes (C_{40}). On parle de terpénoïdes lorsque les terpènes contiennent des éléments supplémentaires, généralement l'oxygène. Les terpènes et les terpénoïdes sont actifs contre les bactéries, les levures et les virus (Suresh *et al.*, 1997). Leur mécanisme d'action n'est pas complètement élucidé, ils perturberaient la structure membranaire des microorganismes à travers leurs composants lipophiles (Cowan, 1999). Les huiles essentielles constituées principalement des mono et sesquiterpènes possèdent des propriétés antiseptiques (Kuiate, 2005).

I.4.2. Plantes médicinales dans la lutte contre les résistances bactériennes

I.4.2.1. Plantes médicinales actives sur les souches multirésistantes

Pour se protéger contre les bactéries, les champignons et les virus, les plantes synthétisent de manière constitutive ou induite, une multitude des molécules antimicrobiennes (Kuete, 2010). L'originalité de ce système de défense réside dans l'exceptionnelle variabilité chimique des molécules produites (Cowan, 1999 ; Kuete, 2010). Ces dernières constituent, de

par la diversité des groupements structuraux et fonctionnels qu'elles arborent, un vaste réservoir de substances actives. Les plantes synthétisent plus de 100 000 molécules (MM < 500 Daltons) dotées pour la plupart d'une activité antibactérienne. En général, cette activité est inférieure à celle exercée par les antibiotiques d'origine microbienne. Les concentrations requises pour exercer une activité antimicrobienne sont donc plus élevées pour les molécules isolées de plantes que pour celles issues de bactéries et de champignons. En effet, une molécule phytochimique est considérée comme « antimicrobienne » si elle inhibe la croissance des microorganismes pour des concentrations minimales inhibitrices (CMI) comprises entre 100 µg/mL et 1000 µg/mL. Pour les antibiotiques d'origine microbienne, des CMI, variant de 0,01 µg/mL à 10 µg/mL, suffisent à générer une activité inhibitrice (Tegos *et al.*, 2002). Par ailleurs, d'après Kuete (2010), un extrait de plante est considéré comme très actif lorsque la CMI < 100 µg/mL, modérée lorsque $100 \leq \text{CMI} \leq 625$ µg/mL et faible lorsque CMI > 625 µg/mL.

Le spectre d'action des antimicrobiens produits par les plantes est plus restreint que celui généré par les antibiotiques conventionnels. En effet, ces derniers possèdent une haute activité contre les bactéries Gram positif, mais demeurent peu actifs contre les bactéries Gram négatif (Gibbons, 2008). L'une des rares exceptions concerne l'acide 3-farnesyl-2-hydroxy benzoïque, isolé de la plante *Piper multiplinervium*. Ce composé démontre une activité antibactérienne (CMI comprises entre 6,25 µg/mL et 37,5 µg/mL) contre *Helicobacter pylori*, *E. coli* et *P. aeruginosa* (Gibbons, 2008), qui demeurent, à l'heure actuelle, les bactéries Gram négatif plus difficiles à traiter cliniquement. Par ailleurs, plusieurs plantes médicinales africaines ont antérieurement montré des activités antibactériennes significatives vis-à-vis des bactéries Gram négatif multirésistantes. Nous pouvons citer entre autres *Lactuca sativa* (CMI variantes de 128 µg/mL à 1024 µg/mL), *Sechium edule* (CMI variantes de 128 µg/mL à 1024 µg/mL), *Cucurbita pepo* (CMI variantes de 128 µg/mL à 1024 µg/mL), *Capsicum frutescens* (CMI variantes de 512 µg/mL à 1024 µg/mL) et *Solanum nigrum* (CMI variantes de 128 µg/mL à 1024 µg/mL) (Noumedem *et al.*, 2013b), *Beilschmiedia obscura* (CMI variantes de 16 µg/mL à 1024 µg/mL) et *Peperomia fernandopoiana* (CMI variantes de 256 µg/mL à 1024 µg/mL) (Fankam *et al.*, 2014), *Fagara tessmannii* (CMI variantes de 8 µg/mL à 1024 µg/mL) (Tankeo *et al.*, 2015).

I.4.2.2. Plantes médicinales : source naturelle d'inhibiteurs de l'efflux bactérien

Les plantes ont développé plusieurs stratégies pour contrôler les infections bactériennes. La synthèse d'un grand nombre de molécules faiblement actives, plutôt que de puissants antibiotiques, en fait partie. Elle semble d'ailleurs utilisée pour diminuer la pression sélective, qui favorise le développement des résistances.

Toutefois, l'activité de ces antibactériens peut être potentialisée lorsqu'ils agissent en synergie avec d'autres molécules. La preuve en a été fournie par les interactions établies entre deux composés produits par les plantes *Berberis sp* : la berbérine et la 5'-méthoxyhydnocarpine (5'-MHC). La berbérine est un alcaloïde ayant pour cible cellulaire l'ADN (Amin *et al.*, 1969). Ce cation hydrophobe est aussi un substrat des pompes d'efflux exprimées à la surface membranaire. Le rejet de la berbérine, hors de la cellule, limite son accumulation intracellulaire et, en l'empêchant d'accéder à sa cible, diminue son activité antibactérienne. Pour compenser cette faible activité, les plantes *Berberis sp* synthétisent une flavonoligane, la 5'-MHC, qui, en bloquant les pompes bactériennes d'efflux, potentialisent les effets de la berbérine. La combinaison « 5'-MHC/berbérine » agit donc comme un puissant antibactérien.

Sur *Staphylococcus aureus*, l'inhibition des pompes d'efflux *NorA* par la 5'-MHC augmente l'activité anti-staphylococcique de la berbérine d'un facteur de 16. D'autres flavonoliganes, comme la porphyrine phéophorbide A, extraite des plantes *Berberis sp* (Stermitz *et al.*, 2000) ou la silybine, un mélange de diastéréoisomères isolés de *Sylibum marianum*, interagissent de façon similaire avec la berbérine. De nombreux autres inhibiteurs de l'efflux bactérien, isolés de plantes, ont été décrits dans la littérature (Gibbons, 2008). L'ensemble de ces IPE permet de restaurer, sur des souches résistantes à leur action, l'activité de différentes classes d'antibiotiques, incluant les β -lactames, les tétracyclines, les fluoroquinolones et les macrolides (Guinoiseau, 2010). Toutefois, les effets de ces IPE s'exercent exclusivement sur les pompes MFS et/ou MATE des bactéries Gram positif (Lewis & Ausubel, 2006). En effet, aucun inhibiteur des pompes RND, principale cause de résistance par efflux chez les bactéries Gram négatif, n'a encore été découvert. Les plantes semblent néanmoins avoir développé des mécanismes de protection efficaces contre les bactéries Gram négatif, qui constituent les principaux agents phytopathogènes.

I.4.2.3. Inhibition de l'efflux : potentialisation de l'activité des antibiotiques usuels

Les extraits de plantes ou les produits issus des plantes sont combinés aux antibiotiques usuels dans le but de potentialiser leurs effets. La potentialisation est l'augmentation de l'activité d'une substance par une autre. Cette potentialisation peut s'effectuer par une synergie où l'action combinée de deux substances est plus importante que la somme des effets de chacune des substances testées individuellement d'une part, et peut résulter de la présence des inhibiteurs de pompes à efflux qui, associée à des antibiotiques restaure leur efficacité vis-à-vis des bactéries multirésistantes d'autre part.

L'émergence de la multirésistance aux antibiotiques a suscité de nombreuses inquiétudes auprès des chercheurs car ce phénomène est à l'origine de la perte de l'efficacité de nombreux

antibiotiques usuels. Ceci a poussé à des investigations dont l'objectif principal est d'augmenter/restaurer la bactériostase ou la bactéricidie, d'élargir le spectre antibactérien, voire de prévenir l'émergence des mutants résistants (Jurgen *et al.*, 2005). L'effet potentialisateur dérive de l'association de deux substances. Cette association peut se faire entre antibiotiques, IPE- antibiotique/extraits de plante ou produits, extraits de plante/produits- antibiotique (Kuete, 2010).

Ainsi, une approche dans la thérapie des maladies infectieuses est l'utilisation d'extraits de plantes individuellement et/ou en combinaison avec les antibiotiques usuels. Cette dernière approche c'est-à-dire association médicamenteuse ou thérapie de synergie, contre des microorganismes résistants, peut mener aux nouvelles façons de traiter des maladies infectieuses et probablement ceci représente un potentiel domaine pour des investigations futures. L'association médicamenteuse est utile pour des patients avec des infections sévères causées par les MDR. Le mode d'action d'association médicamenteuse diffère significativement de celui des mêmes médicaments agissant individuellement ; donc la sélection d'une combinaison appropriée est cruciale et essentielle qui exige la compréhension de l'interaction potentielle entre les extraits de plantes et les agents antimicrobiens. Les médicaments tirés de sources naturelles jouent un rôle significatif dans la prévention et le traitement de maladies humaines. Au Cameroun plusieurs extraits de plantes/produits ont montré des activités synergiques vis-à-vis des bactéries à Gram négatif multirésistant incluant des souches de *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. aerogenes* et *P. aeruginosa* (Noumedem *et al.*, 2013a ; Tankeo *et al.*, 2015 ; Dzutam *et al.*, 2018 ; Wamba *et al.*, 2018).

Il y a beaucoup d'avantages d'utiliser des composés antimicrobiens issus des plantes médicinales : les effets secondaires sont moindres, une meilleure tolérance est observée chez les patients, le coût pas très élevé, l'acceptation par les populations en raison de la longue histoire d'utilisation, le renouvellement dans la nature, mais aussi les plantes supérieures représentent un réservoir potentiel de nouveaux prototypes d'antibactériens (Kuete *et al.*, 2011). Cependant, le problème de résistance aux médicaments est en augmentation. Le besoin de l'heure est de développer des agents antimicrobiens toujours plus récents, utiles et importants ou de nouvelles façons de traiter les microorganismes résistants.

I.4.3. Innocuité des plantes médicinales et leurs constituants

La toxicité est un processus complexe de dommages cellulaires avec des effets physiologiques néfastes dont le principal est l'inflammation, accompagnée d'autres effets systémiques.

L'usage des plantes médicinales et de leurs produits dérivés constitue une source importante pour le traitement des populations. Les plantes médicinales sont un point de départ dans la découverte de nouvelles molécules bioactives pouvant conduire au développement de médicaments. Néanmoins, ces plantes ne contiennent pas seulement des composés bénéfiques pour notre santé, certaines de leurs substances sont nocives, ceci dépendant de la nature chimique ou encore de la concentration du composé (Cheng & Zhen, 2004). De nos jours, les préoccupations liées à l'utilisation, la sécurité et l'innocuité des plantes médicinales demeurent. Moins de 10% des produits à base de plantes sur le marché mondial sont standardisés au point de maîtriser la teneur des différentes substances actives ; les mesures de contrôle de qualité strictes ne sont pas toujours respectées pour la majorité d'autres produits en circulation, on connaît très peu leurs constituants actifs et/ou toxiques (ANSM, 2017). La plupart des études de toxicité est réalisée sur des modèles animaux, mais il existe des méthodes *in vitro* permettant d'avoir une idée sur l'innocuité des substances naturelles : ce sont les tests de cytotoxicité.

Les tests de cytotoxicité permettent au chercheur de déterminer et de prioriser les substances ayant de bonnes activités biologiques pour la suite de la procédure pouvant conduire à la mise sur pied d'un médicament. Les tests *in vitro* sont de plus en plus réalisés dans les laboratoires de recherches ethnopharmacologiques car ils permettent d'éviter certaines contraintes éthiques et financières (utilisation d'animaux) et de plus, les quantités de substances d'intérêt sont nettement inférieures comparativement aux quantités requises pour les tests *in vivo* (McGaw *et al.*, 2014).

I.4.4. Induction de la résistance bactérienne par les plantes médicinales

Bien que les plantes médicinales soient considérées de nos jours comme un réservoir important de métabolites secondaires à propriétés anti-infectieuses (Kuate, 2010), ces derniers tous comme les antibiotiques utilisés en médecine moderne dans le traitement des infections bactériennes sont capables d'induire des résistances bactériennes chez certaines souches auxquelles elles sont exposées. L'acquisition de la résistance chez une souche bactérienne peut être due à plusieurs facteurs mais les plus importants sont le temps d'exposition de l'agent antibactérien au microorganisme, l'augmentation de la concentration de la substance antibactérienne tant qu'elle reste sous-létale et la nature de la molécule à laquelle le microorganisme est exposé (Michael *et al.*, 2011). Ainsi, plusieurs auteurs ont mis en évidence le phénomène d'induction de la résistance bactérienne par les plantes médicinales camerounaises vis-à-vis des microorganismes auxquelles elles ont été exposées. A titre d'illustration, nous avons les travaux de Ezo'o *et al.* (2018) qui ont démontré que, l'exposition de *Salmonella Typhi* et de *Staphylococcus aureus* à certains des extraits de plantes

traditionnellement utilisées au Cameroun dans le traitement de la typhoïde et des maladies de la peau a montré une réduction de la sensibilité de ces souches aux antibiotiques prescrits dans la lutte contre ces infections. En outre, ces auteurs révèlent que l'exposition de certaines bactéries aux extraits de plantes entraîne la diminution de leur sensibilité et augmente le risque de résistance aux antibiotiques.

I.4.5. Plantes utilisées dans le cadre de ce travail

Les informations concernant les plantes utilisées durant ce travail sont consignées dans le Tableau I. Nous constatons que les dysfonctionnements physiologiques pour lesquels ces plantes sont utilisées en médecine traditionnelle pourraient être dus à certaines espèces de microorganismes utilisées dans cette étude.

Tableau I : Informations sur les plantes étudiées

Famille	Nom de la plante - numéro d'identification	Usage en médecine traditionnelle	Parties utilisées	Composés bioactifs (ou Potentiellement actifs) isolés des plantes	Activités biologiques démontrées
Fabaceae	<i>Albizia adianthifolia</i> (Schum.) - 24729/SRF/Cam	Maladies de la peau, bronchite, yeux enflammés, ténia, maux de tête et sinusite (Watt & Breyer- Brandwyk, 1962 ; Van- Wyk & Gerick, 2000)	Ecorces et Racines	Adianthifoliosides A, B, D (Haddad <i>et al.</i> , 2003 ; Haddad <i>et al.</i> , 2004) ; lupeol et acétate d'aurantiamide (Tamokou <i>et al.</i> , 2012) ; prosapogenines (Haddad <i>et al.</i> , 2002).	Activités antimicrobiennes de l'extrait brut des écorces et de la fraction d'acétate d'éthyle sur Ec, Ef, Pa, Pm, Kp, Sa, Sf, St, Ca, Ct, Ck, Cg, Cl, Cn (Tamokou <i>et al.</i> , 2012) ; effet antioxydant de l'extrait aqueux (Tamokou <i>et al.</i> , 2012 ; Beppe <i>et al.</i> , 2014).
Euphorbiaceae	<i>Alchornea laxiflora</i> (Benth.) Pax & K Hoffm. - 9661/SRF/Cam	Maladies inflammatoires et infectieuses, poliomyélite et de rougeole (Ogundipe & <i>al.</i> , 2001 ; Oladunmoye & Kehinde, 2011)	Feuilles et Ecorces	Quercetine-7,4_-disulphate, quercetine, quercetin-3,4_-disulphate, quercetine-3,4_-diacetate, rutine et quercetrine (Ogundipe <i>et al.</i> , 2001)	Activités antimicrobiennes des extraits méthanoliques des feuilles sur Ba, Bc, Ec, Kp, Pa, Pf, Sa, Ag, Af, As, Ca, Cp (Akinpelu <i>et al.</i> , 2015) ; effet antioxydant de l'extrait brut (Farombi <i>et al.</i> , 2003).

*(HNC) : Cameroon National Herbarium ; (SRF/Cam) : Société des Réserves Forestières du Cameroun ; As : *Aspergillus niger* ; Ag : *Aspergillus glaucus* ; Af : *Aspergillus flavus* ; Ba : *Bacillus anthracis* ; Bc : *Bacillus cereus* ; Ca : *Candida albicans* ; Cg : *Candida glabrata* ; CK : *Candida krusei* ; Cl : *Candida lusitaniae* ; Cn : *Cryptococcus neoformans* ; Cp : *Candida pseudotropicalis* ; Ct : *Candida tropicalis* ; Ec : *Escherichia coli* ; Ef : *Enterococcus faecalis* ; Kp : *Klebsiella pneumoniae* ; Pa : *Pseudomonas aeruginosa* ; Pf : *Pseudomonas fluorescens* ; Pm : *Proteus mirabilis* ; Sa : *Staphylococcus aureus* ; Sf : *Shigella flexneri* ; St : *Salmonella typhi*.

Tableau I : Informations sur les plantes étudiées (suite)

Famille	Nom de la plante - numéro d'identification	Usage en médecine traditionnelle	Parties utilisées	Composés bioactifs (où Potentiellement actifs) isolés des plantes	Activités biologiques démontrées
Nyctaginaceae	<i>Boerhavia diffusa</i> Lin-15247/SRF/Cam	Diabète, asthme, infections bronchiques (Kouakou <i>et al.</i> , 2009)	Plante entière	Boeravinones G, H (Ahmed-Belkacem <i>et al.</i> , 2007)	Effets antioxydants et hépatoprotecteurs de l'extrait brut des feuilles (Olaleye <i>et al.</i> , 2010) ; activités antibactériennes de l'extrait brut contre Pa, Ec, St, Sf (Wagh & Vidhale, 2010).
Combretaceae	<i>Combretum hispidum</i> Laws-48289/HNC	Maux de stomach, diarrhée, troubles gastro-intestinaux, affections hépatiques, infections cutanées, infections des voies urinaires (Burkill, 1985 ; Adjanohoun <i>et al.</i> , 1996 ; Jiofack <i>et al.</i> , 2009)	Feuilles et Ecorces	Alcaloïdes, polyphénols, flavonoïdes, anthraquinones, coumarines, tannins, triterpènes, stérols et saponines (Jiofack <i>et al.</i> , 2009)	Effets anti-hépatotoxique, anti-inflammatoire, antiparasitaire, molluscide des extraits bruts des écorces (Schmelzer & Gurib-Fakim, 2013).

*(HNC) : Cameroon National Herbarium ; (SRF/Cam) : *Société des Réserves Forestières du Cameroun* ; As : *Aspergillus niger* ; Ag : *Aspergillus glaucus* ; Af : *Aspergillus flavus* ; Ba : *Bacillus anthracis* ; Bc : *Bacillus cereus* ; Ca : *Candida albicans* ; Cg : *Candida glabrata* ; CK : *Candida krusei* ; Cl : *Candida lusitaniae* ; Cn : *Cryptococcus neoformans* ; Cp : *Candida pseudotropicalis* ; Ct : *Candida tropicalis* ; Ec : *Escherichia coli* ; Ef : *Enterococcus faecalis* ; Kp : *Klebsiella pneumoniae* ; Pa : *Pseudomonas aeruginosa* ; Pf : *Pseudomonas fluorescens* ; Pm : *Proteus mirabilis* ; Sa : *Staphylococcus aureus* ; Sf : *Shigella flexneri* ; St : *Salmonella typhi*.

Tableau I : Informations sur les plantes étudiées (suite et fin)

Famille	Nom de la plante - numéro d'identification	Usage en médecine traditionnelle	Parties utilisées	Composés bioactifs (où Potentiellement actifs) isolés des plantes	Activités biologiques démontrées
Urticaceae	<i>Laportea ovalifolia</i> (Schum.) Chew- 44306/HNC	Maux de tête, ulcères internes, diabète, bronchite et filariose (Momo <i>et al.</i> , 2006 ; Focho <i>et al.</i> , 2009)	Plante entière	Laportoside A et Laportomide A (Tazoo <i>et al.</i> , 2007)	Effets antibactériens, antidiabétiques et hypolipidémiques des extraits bruts de feuilles (Momo <i>et al.</i> , 2006).
Scrophulariaceae	<i>Scoparia dulcis</i> Linn. – 53478/HNC	Anémie, brûlures, maux de tête, bronchite, troubles gastriques, hémorroïdes, piqûres d'insectes, plaies cutanées, hypertension. (Freire <i>et al.</i> , 1996)	Plante entière	Scoparinol (Ahmed <i>et al.</i> , 2001) ; acide scoparique, acide scopadulcique, scopadulciol et scopaduline (Zulfiker <i>et al.</i> , 2010)	Effets anti-diabétiques, anti-inflammatoires et capacité antioxydante <i>in vivo</i> des extraits bruts (Freire <i>et al.</i> , 1996 ; Adaikpoh <i>et al.</i> , 2007).

*(HNC) : Cameroon National Herbarium ; (SRF/Cam) : Société des Réserves Forestières du Cameroun ; As : *Aspergillus niger* ; Ag : *Aspergillus glaucus* ; Af : *Aspergillus flavus* ; Ba : *Bacillus anthracis* ; Bc : *Bacillus cereus* ; Ca : *Candida albicans* ; Cg : *Candida glabrata* ; CK : *Candida krusei* ; Cl : *Candida lusitaniae* ; Cn : *Cryptococcus neoformans* ; Cp : *Candida pseudotropicalis* ; Ct : *Candida tropicalis* ; Ec : *Escherichia coli* ; Ef : *Enterococcus faecalis* ; Kp : *Klebsiella pneumoniae* ; Pa : *Pseudomonas aeruginosa* ; Pf : *Pseudomonas fluorescens* ; Pm : *Proteus mirabilis* ; Sa : *Staphylococcus aureus* ; Sf : *Shigella flexneri* ; St : *Salmonella typhi*.

Certaines plantes de ce panel ont déjà fait l'objet d'une prospection antimicrobienne ; toutefois il est important de mentionner que ces bactéries utilisées le cas échéant étaient des phénotypes sensibles bien qu'appartenant à certaines espèces étudiées dans ce travail.

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1. MATERIEL

II.1.1. Matériel végétal

Les feuilles, écorces et racines des plantes étudiées dans le cadre de ce travail ont été récoltées entre les mois de Janvier 2014 et Avril 2015 au Mont Kala (Centre/Cameroun) et à Obala (Centre/Cameroun) et l'identification faite à l'Herbier National du Cameroun (HNC, Yaoundé) (Tableau II). Les différentes parties de plantes ont été choisies à l'issue d'une revue ethnopharmacologique. Les noms scientifiques, codes d'identification, les parties des plantes utilisées, les lieux de récolte, ainsi que les noms vernaculaires des plantes sont répertoriés dans le même Tableau II. Les photographies desdites plantes sont disponibles à l'annexe 1.

Tableau II : Récapitulatif des plantes étudiées

Noms de plante (Famille)	Codes d'identification	Parties utilisées	Lieux de récolte	Noms vernaculaires (Groupe ethnique)
<i>Albizia adianthifolia</i> (Schum.) (Fabaceae)	24729/SRF/Cam	Ecorces et racines	Mont Kala	Sayeme/ Eyem (Fang-Béti) ; Saliyémo (Ewondo) ; Saka (Pigmées Bibaya)
<i>Alchornea laxiflora</i> (Benth.) Pax & K Hoffm. (Euphorbiaceae)	9661/SRF/Cam	Feuilles et Ecorces	Mont Kala	Aboué Nlong (Fang-Béti)
<i>Boerhavia diffusa</i> Lin- (Nyctaginaceae)	15247/SRF/Cam	Plante entière	Mont Kala	Mbéé Elok (Fang- Béti)
<i>Combretum hispidum</i> Laws (Combretaceae)	48289/HNC	Feuilles et Ecorces	Obala	Ndig Affan (Fang- Béti)
<i>Laportea ovalifolia</i> (Schum.) Chew (Urticaceae)	44306/HNC	Plante entière	Obala	SASS Elok (Ewondo) ; Sasangulu (Pigmées Bibaya)
<i>Scoparia dulcis</i> Linn. (Scrophulariaceae)	53478/HNC	Plante entière	Mont Kala	Elock Nlong (Fang- Béti)

HNC : Herbier National du Cameroun ; SRF/Cam : Société des Réserves Forestières du Cameroun.

II.1.2. Microorganismes utilisés

Dans le cadre de ce travail, nous avons utilisé quinze (15) souches de bactéries Gram négatif et des isolats cliniques multirésistantes de *Escherichia coli* (ATCC8739, ATCC10536, AG100Atet, AG102), *Pseudomonas aeruginosa* (PA01 et PA124), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC11296, KP55, KP63), *Providencia stuartii* (NEA16, ATCC29916) et *Enterobacter aerogenes* (ATCC13048, CM64, EA27, EA289) provenant toutes de l'Université de Méditerranée Aix-Marseille (France). Après acquisition, ces microorganismes ont été maintenus à -20°C dans du glycérol et à 4°C sur milieu gélosé pour des conservations de longue et moyenne durée, respectivement. Les caractéristiques particulières à chaque souche sont répertoriées dans le Tableau III.

II.1.3. Cellules érythrocytaires utilisées

Les érythrocytes utilisés dans cette étude étaient d'origine animale (mouton) et étaient utilisées immédiatement après leur isolation du sang instantanément collecté au moment du sacrifice de l'animal.

Tableau III : Caractéristiques des souches bactériennes utilisées

Bactéries	Souches	Caractéristiques	Références
<i>E. coli</i>	ATCC8739	Souche de référence de <i>Escherichia coli</i>	
	ATCC10536	Souche de référence de <i>Escherichia coli</i>	
	AG100Atet	AG100 sur-exprimant les pompes AcrAB, possédant TET ^R due au gène <i>acrF</i> ;	(Monks <i>et al.</i> , 1992)
	AG102	AG100 Sur-exprimant les pompes AcrAB	(Chevalier <i>et al.</i> , 2000)
<i>E. aerogenes</i>	ATCC13048	Souche de référence de <i>E. aerogenes</i>	
	CM64	CHL ^R souche résistante d'ATCC13048 surexprimant la pompe AcrAB	(Ghisalberti <i>et al.</i> , 2005)
	EA27	Isolat clinique du MDR exprimant l'efflux nécessitant de l'énergie du chloramphénicol et de la norfloxacine avec KAN ^R AMP ^R NAL ^R STR ^R TET ^R	(Ghisalberti <i>et al.</i> , 2005 ; Mallea <i>et al.</i> , 2002)
	EA289	Dérivé d'EA 27 sensible à la Kanamycine	(Ghisalberti <i>et al.</i> , 2005)
<i>K. pneumoniae</i>	ATCC11296	Souche de référence de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	
	KP55	Isolat clinique du MDR, TET ^R , AMP ^R , ATM ^R , CEF ^R	(Chevalier <i>et al.</i> , 2000)
	KP63	Isolat clinique du MDR, TET ^R , CHL ^R , AMP ^R , ATM ^R	(Fredrickson <i>et al.</i> , 2004)
<i>p. aeruginosa</i>	PA01	Souche de Référence	
	PA124	Isolat clinique du MDR exprimant les pompes de types Mex	(Lorenzi <i>et al.</i> , 2009)
<i>P. stuartii</i>	ATCC29916	Souche de Référence	
	NEA16	Isolat clinique MDR, AcrAB-TolC	(Tran <i>et al.</i> , 2010)

AMP^R, ATM^R, CEF^R, CFT^R, CHL^R, FEP^R, KAN^R, MOX^R, NAL^R, NOR^R STR^R, ET TET^R, sont respectivement résistantes aux antibiotiques : ampicilline, aztréoname, céphalothine, céfadroxil, chloramphénicol, céfépime, kanamycine, moxalactame, acide nalidique, norfloxacine, streptomycine et tétracycline. AcrAB-TolC signifie que la pompe à efflux de type AcrAB est associée à une porine de type TolC, MDR correspond à multirésistante.

II.1.4. Milieux de cultures

Les milieux de culture utilisés dans le cadre de ce travail ont été les suivants :

- La gélose de Mac Conkey et la gélose de l'éosine du bleu de méthylène pour l'entretien des souches de bactéries Gram négatif,
- La gélose de Mueller Hinton (*Mueller Hinton Agar*) pour la culture des souches bactériennes,
- Le bouillon de Mueller Hinton (*Mueller Hinton Broth*) pour la détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices « CMI » et Bactéricides « CMB » et l'évaluation des mécanismes d'action.

II.1.5. Réactifs chimiques et molécules de référence

Dans ce travail un ensemble de substances chimiques nécessaires à la réalisation des différents essais biologiques ont été utilisées : le révélateur de la présence des bactéries métaboliquement actives : le para-iodonitrotétrazolium chloride (p-INT) 0,2mg/mL ; l'inhibiteur des pompes à efflux : le Phénylalanine Arginine β -Naphthylamide (PA β N) ; plusieurs antibiotiques [une β -lactamine « Pénicilline (PEN) », trois aminosides « Kanamycine (KAN), Streptomycine (STR) et Gentamycine (GEN) », une cycline « Tétracycline (TET) », deux quinolones « Ciprofloxacine (CIP) et Norfloxacine (NOR) », un phénicolé « Chloramphénicol (CHL) », un polypeptide « polymycine B (Poly B) » et une macrolide « Erythromycine (ERY) »] ; le révélateur de la formation des biofilms : le cristal violet ; les constituants du tampon phosphate (PBS) ; un tensio-actif pour dissoudre nos extraits de plantes et composés isolés : le diméthylsulfoxyde (DMSO) 2,5% ; le réactif de Bradford pour le dosage des protéines. Ces molécules ont été obtenues auprès de la société Sigma-Aldrich (St. Quentin Fallavier, France).

II.2. METHODES

Le schéma ci-dessous présente de façon globale l'organigramme des expériences effectuées dans le cadre de ce travail.

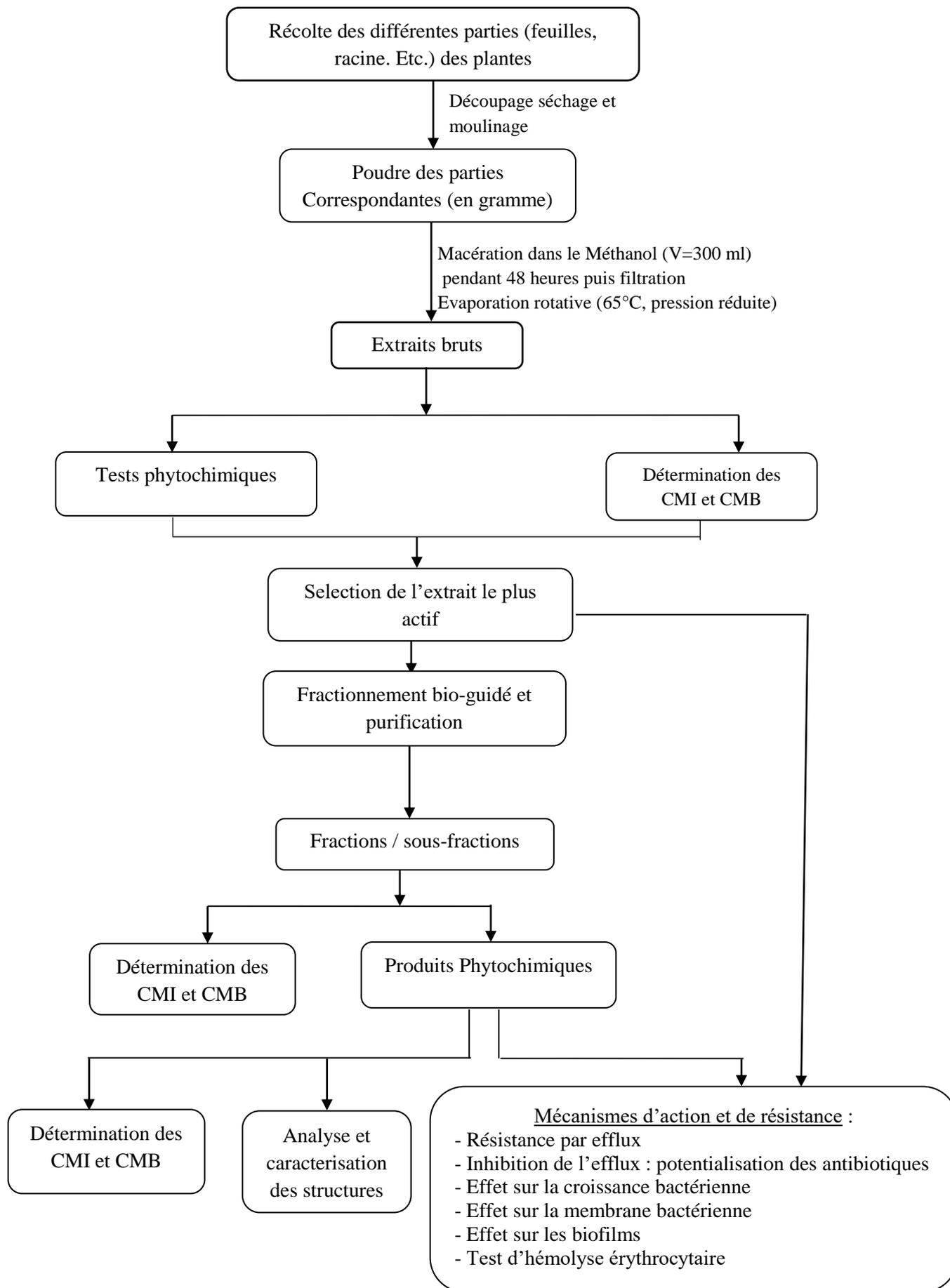


Figure 7 : Schéma général du travail

II.2.1. Etude phytochimique

II.2.1.1. Extraction au méthanol des échantillons de plantes

Après récolte, les différentes parties des plantes ont été séchées à l'abri du soleil et à température ambiante, ensuite broyées à l'aide d'un moulinex jusqu'à obtention d'une poudre fine. Une quantité de chaque poudre a ensuite été macérée pendant 48 heures à température ambiante dans un volume minimal v de méthanol calculé selon la formule 1 masse pour 3 volumes de solvant (1 : 3 m/v). Pendant la macération, les mélanges étaient agités trois fois par jour afin de maximiser l'extraction. Les filtrats obtenus après filtration à l'aide du papier filtre Wattman n° 1 ont été concentrés dans un évaporateur rotatif (Büchi rotavapor R-200) à 65°C, ce qui a conduit à l'obtention des différents extraits bruts. Ces extraits ont été séchés à l'étuve (JuLabo WS100) à une température de 40°C pour évaporation complète du solvant (méthanol) résiduel. Ainsi, les extraits obtenus ont été conservés à une température de 4°C pour les expérimentations ultérieures.

Les masses pour chaque extrait ont été relevées et les rendements d'extraction (Tableau IV) ont été calculés par rapport à la masse de poudre totale obtenue, suivant la formule ci-dessous :

$$\text{Rd}(\%) = \frac{\text{Masse de l'extrait (g)}}{\text{Masse de la poudre(g)}} \times 100$$

Tableau IV : Caractéristiques physiques et rendements des extraits

Plantes	Parties utilisées	Aspects des extraits	Couleurs des extraits	Rendements (%)
<i>Albizia adianthifolia</i>	Ecorces	Pâteux	Marron	11,6
	Racines	Pâteux	Marron	15,5
<i>Alchornea laxiflora</i>	Feuilles	Pâteux	Noire	7,1
	Ecorces	Pâteux	Marron	6,4
<i>Boerhavia diffusa</i> Lin	Plante entière	Pâteux	Noire	6,7
<i>Combretum hispidum</i>	Feuilles	Pâteux	Noire-verdâtre	7,5
	Ecorces	Cristallin	Marron	8,2
<i>Laportea ovalifolia</i> (Schum.)	Plante entière	Pâteux	Noire	9,6
<i>Scoparia dulcis</i>	Plante entière	Pâteux	Noire	10,7

II.2.1.2. Criblage phytochimique des extraits bruts de plantes étudiées

Les différents extraits ont été soumis à un criblage phytochimique afin de mettre en évidence quelques groupes de métabolites secondaires selon les méthodes décrites par Harbone (1973), et Odebiyi & Sofowora (1978).

II.2.1.2.1. Test des alcaloïdes

Cinq milligrammes d'extrait ont été dilués dans 10 ml de H₂SO₄ (2%). Le mélange a été homogénéisé et porté à ébullition pendant deux minutes, puis filtré. À 1 ml du filtrat, cinq gouttes du réactif de Meyer ont été ajoutés. La turbidité observée a permis de mettre en évidence la présence des alcaloïdes (Odebeyi & Sofowora, 1978).

II.2.1.2.2. Test des polyphénols

Cinq milligrammes d'extrait ont été dissouts dans 2 ml d'eau et à ce mélange, 3 ml de chlorure ferrique (5%) fraîchement préparé ont été ajoutés. Après homogénéisation, quelques gouttes de ferricyanure de potassium ont été également ajoutées. La formation d'un précipité bleu indique la présence des polyphénols (Odebeyi & Sofowora, 1978).

II.2.1.2.3. Test des flavonoïdes

Cinq milligrammes d'extrait ont été dissouts dans 5 mL de méthanol ; après ajout du copeau de magnésium, le HCl concentré a été introduit goutte à goutte à 3 ml de la solution. La présence des flavonoïdes se manifeste par un changement de coloration avec effervescence qui peut être rouge brique ou violette (Harbone, 1973).

II.2.1.2.4. Test des saponines

Cinq milligrammes d'extrait ont été mélangés à 15 mL d'eau distillée dans un tube à essai, l'ensemble a été porté au bain marie bouillant pendant 5 minutes. Après refroidissement, la solution a été également agitée au vortex. La présence d'une mousse de plus de 1 cm d'épaisseur qui persiste pendant au moins une minute traduit la présence des saponines (Harbone, 1973).

II.2.1.2.5. Test des triterpènes et des stéroïdes

Dans un tube contenant 1 mL de dichlorométhane, nous avons dissous 5 mg d'extrait et ajouté 0,2 mL de chacun des réactifs suivants : chloroforme, anhydride acétique glacial, acide sulfurique concentré. L'apparition de la coloration violette ou verdâtre a été caractéristique de la présence des triterpènes et des stéroïdes respectivement (Harbone, 1973).

II.2.1.2.6. Test des tanins

Cinq milligrammes d'extrait ont été dissouts dans 3 mL de méthanol. La solution a ensuite été traitée par 5 gouttes d'acide sulfurique (0,5%) et le mélange a été observé pour rechercher la coloration verte ou bleu-noirâtre indicatrice des tanins (Harbone, 1973).

II.2.1.2.7. Test des anthraquinones

Cinq milligrammes d'extrait ont été dissouts dans 5 mL d'éther éthylique. Après filtration de la solution, 5 mL de solution ammoniacale ont été ajoutés au filtrat. La présence de la coloration rose ou violette à la phase ammoniacale indiquait la présence des quinones (Odebeyi & Sofowora, 1978).

II.2.1.2.8. Test des coumarines

Cinq milligrammes d'extrait ont été dissouts dans 3 mL de méthanol contenu dans un tube à essai, puis le tube a été recouvert d'un morceau de papier imbibé d'une solution de soude (10%). L'absence de la fluorescence jaune-vert à l'UV (254 nm) a révélé l'absence des coumarines (Harbone, 1973).

II.2.1.3. Fractionnement et purification de l'extrait des racines de *Albizia adianthifolia*

II.2.1.3.1. Procédure générale

Le traitement des racines de *Albizia adianthifolia* a été effectué par des techniques d'extraction et de chromatographie usuelles. Les données spectrales de masse [spectrométrie de masse à ionisation ElectroSpray à haute résolution (HRESI-MS)] ont été mesurées à partir d'un spectromètre QTOF (Bruker, Allemagne) équipé d'une source ESI en modes d'ionisation positive et négative. Les spectres RMN (^1H , ^{13}C , HSQC, HMBC et COSY) ont été enregistrés avec un spectromètre Agilent DD2 RMN (400 et 500 MHz) avec TMS (tetramethylsilane) comme référence interne. La chromatographie sur colonne a été effectuée sur du gel de silice Merck 60 F254 [(0,2-0,5 mm) et (0,2-0,063 mm)] 70 230 et 230-400 mesh (Darmstadt, Allemagne). Des plaques de Chromatographie en couche mince (TLC) pré-enrobées sur gel de silice 60 F254 (Merck, Allemagne) ont été utilisées pour contrôler les fractions. Les tâches ont été détectées avec une lumière UV (254 et 365 nm) sur un spectromètre Shimadzu UV 160A (Japon) dans du méthanol absolu. Les spectres Infrarouges (IR) ont été obtenus sur un spectrophotomètre Shimadzu FTIR-8400S (Japon). Les valeurs Alpha D ont été mesurées sur un polarimètre JASCO P-2100, puis les plaques de chromatographie sur couche mince (CCM) ont été pulvérisées avec un réactif à 20% d'acide sulfurique (H_2SO_4) ou de vanilline- H_2SO_4 ,

suivi d'un chauffage à 100 ° C. L'interprétation des différents spectres RMN [RMN du proton (¹H), du carbone (¹³C), HSQC, HMBC et COSY] et l'identification structurale ont été effectuées grâce à la collaboration de l'Unité de Recherche en Chimie et Substances Naturelles (URCSN) de l'Université de Dschang. Les structures des composés isolés ont été confirmées par comparaison des données avec celles contenues dans la littérature.

II.2.1.3.2. Fractionnement et purification

A l'issue des tests antibactériens réalisés avec tous les extraits de plantes obtenus, les racines de *Albizia adianthifolia* ont présenté une meilleure activité sur l'ensemble des souches testées et ont ainsi été sélectionnées pour le fractionnement, suivi de la purification bioguidée.

Les racines séchées de *Albizia Adianthifolia* (AAR) (3 kg) sous forme de poudre ont été extraites avec du méthanol (9 L) pendant 48 h à température ambiante pour donner un extrait brut (124 g) après évaporation sous vide.

Une partie de l'extrait brut « AAR » (122,50 g) a été dissoute dans 200 mL de l'eau, suivie d'un épuisement liquide – liquide dans de l'acétate d'éthyle (AcOEt). Deux fractions codées AARa (36,50 g, AcOEt) et AARb (82,50 g) ont été obtenues.

Ces deux fractions, ont présenté des activités antibactériennes variantes d'une bactérie à l'autre au sein du panel utilisé. Ainsi, elles ont été toutes deux soumises aux procédés de purification.

La fraction AARa (33,50 g) a été soumise à une chromatographie sur colonne (CC) sur gel de silice (0,200-0,500 mm) et éluée avec un mélange de solvants de polarités croissantes : n-hexane-acétate d'éthyle (n-Hex-AcOEt) et acétate d'éthyle-méthanol (AcOEt-MeOH). Soixante-six (66) fractions de 300mL chacune ont été recueillies comme suit : n-Hex (frs 1-10) ; n- Hex- AcOEt (90 : 10) (frs 11-21) ; n- Hex- AcOEt (80 :20) (frs 22-32) ; n- Hex- AcOEt (70 :30) (frs 33-43) ; AcOEt (frs 44-55) ; AcOEt -MeOH (90 :10) (frs 56-66). Ces fractions ont été regroupées après réalisation d'une chromatographie sur couche mince (CCM) en quatre (4) nouvelles fractions (AARa1 – AARa4) comme suit : AARa1 (4,80 g ; frs 1-12) ; AARa2 (4,60 g ; 13-30) ; AARa3 (4 g ; 31-39) ; AARa4 (8 g ; frs 40-66). Après les analyses antibactériennes, toutes les fractions (AARa1-AARa4) ont présenté des activités modérées pour la plupart sur les souches testées.

La fraction AARa1 (4,80 g) a été précipitée dans le système n-Hex- AcOEt (9 : 1) et après filtration et lavage avec de l'acétate d'éthyl (AcOEt), elle a donné une poudre blanche (**1** ; 20 mg).

La fraction AARa2 (4,60 g) a été précipitée dans le système n-Hex- AcOEt (9 : 1) et après filtration et lavage avec de l'acétate d'éthyl (AcOEt), a donné un solide amorphe constitué d'un mélange de phytostérols (**2 +3** ; 50 mg).

La fraction AARa4 (8 g) a été soumise à une chromatographie sur colonne de gel de silice avec le système AcOEt/MeOH par polarités croissantes. Soixante (60) sous-fractions d'un volume de 100 mL chacune ont été collectées comme suit : AcOE (frs1-8) ; AcOEt - MeOH (97 : 3) (frs 9 - 18) ; AcOEt -MeOH (94 : 6) (frs 19-27) ; AcOEt -MeOH (91 : 9) (frs 28-51). AcOEt -MeOH (85 : 15) (frs 52-56) ; MeOH (frs 57-60). L'analyse du profil CCM a permis de les regrouper en 6 nouvelles sous fractions : AARa41 (90 mg ; sous-frs 1-9), AARa42 (95 mg ; sous-frs 10-14), AARa43 (1 g ; sous-frs 15-21), AARa44 (92 mg ; sous-frs 22 -28), AARa45 (1,7 g ; sous-frs 29–45) et AARa46 (95 mg ; sous-frs 46–60).

La sous-fraction AARa41 (90 mg) a été filtrée et lavée à l'acétate d'éthyle pour donner une poudre blanche (**4** ; 25 mg). La sous-fraction AARa43 (1 g) a été soumise à une purification supplémentaire sur Sephadex LH-20 avec du MeOH isocratique pour donner une poudre jaune pâle de masse 30 mg identifiée comme le composé **5**.

La fraction AARb (82,5 g) a été dissoute dans 200 mL d'eau, suivie d'un épuisement liquide-liquide dans du n-butanol (n-BuOH). Cet épuisement a conduit respectivement à deux nouvelles fractions (frs) différentes avec les masses suivantes : 49,30 g AARb1 (extrait au n-BuOH) et une fraction résiduelle ayant une masse de 28,50 g (AARb2), parmi lesquelles la fraction AARb1 a été soumise aux procédés de purification.

Une partie de la fraction AARb1 (47 g) a été soumise à une chromatographie sur colonne (CC) sur gel de silice et éluée avec un gradient croissant d'AcOEt-MeOH et avec de l'eau. Quarante-deux (42) fractions de 300 ml chacune ont été recueillies comme suit : AcOEt -MeOH (95 : 5) (frs 1-16) ; AcOEt -MeOH (90 :10) (frs 17-26) ; AcOEt -MeOH (80 : 20) (frs 27-41) ; AcOEt -MeOH (70 :30) (frs 42-50) ; AcOEt -MeOH (60 :40) (frs 51-63) ; AcOEt -MeOH (50 : 50) (frs 64 -76) ; MeOH (frs 77-87) ; Eau (frs 88-92). Sur la base des résultats de la CCM, elles ont été combinées en quatre (4) nouvelles sous-fractions marquées AARb11 (5,40 g ; sous-frs 1-12), AARb12 (8,50 g ; sous-frs 13-34), AARb13 (14,50 g ; sous-frs 35-76) et AARb14 (12,70 g ; sous-frs 77-92). La sous-fraction AARb13 présente la meilleure activité antibactérienne et a donc été soumise à des procédés de purification supplémentaires.

La fraction AARb13 (13 g) a été soumise à une chromatographie sur colonne sur du gel de silice et éluée avec un gradient croissant de mélanges de solvants AcOEt-MeOH et avec de l'eau soixante- deux (62) fractions de 200 mL chacune ont été recueillies comme suit

: AcOEt (frs1-14) ; AcOEt -MeOH (90 : 5) (frs 15-30) ; AcOEt -MeOH (90 :10) (frs 31-39) ; AcOEt -MeOH (85 : 15) (frs 40-46) ; AcOEt -MeOH (80 :20) (frs 47-52) ; AcOEt-MeOH (70 :30) (frs 53-56) ; MeOH (frs 57-60); Eau (frs 61 – 62). Sur la base des résultats de la CCM, elles ont été combinées en cinq (5) nouvelles sous-fractions étiquetées AARb131 (1,80 g ; sous-frs 1-5), AARb132 (2,40 g ; sous-frs 6-13), AARb133 (2,60 g ; sous-frs 14-33), AARb134 (3,20 g ; sous-frs 34- 48) et AARb135 (2,90 g ; sous-frs 49-62). La sous-fraction AARb132 (2,40 g) ayant été soumise à une purification supplémentaire sur Sephadex LH-20 avec du MeOH a permis d'obtenir deux nouvelles sous-fractions nommées AARb1321 (46 mg ; sous-frs 1-14) et AARb1322 (95 mg ; sous-frs 15-34). Deux poudres jaune-pâles de masse 20mg et 25 mg ont été obtenues de la sous-fraction AARb1321 et identifiées comme étant les composés **6** et **7** respectivement. La sous-fraction AARb133 (2,60 g), elle aussi après une purification supplémentaire sur Sephadex LH-20 avec du MeOH, a conduit à l'isolement et identification d'une poudre pourpre de masse 32 mg et une poudre blanche de masse 15 mg comme étant les composés **8** et **9** respectivement.

La pureté des différents composés obtenue ci-dessus a été confirmée en effectuant une double migration.

La figure ci-dessous résume l'ensemble des étapes suivies pour la séparation et la purification des constituants des racines de *Albizia adianthifolia*.

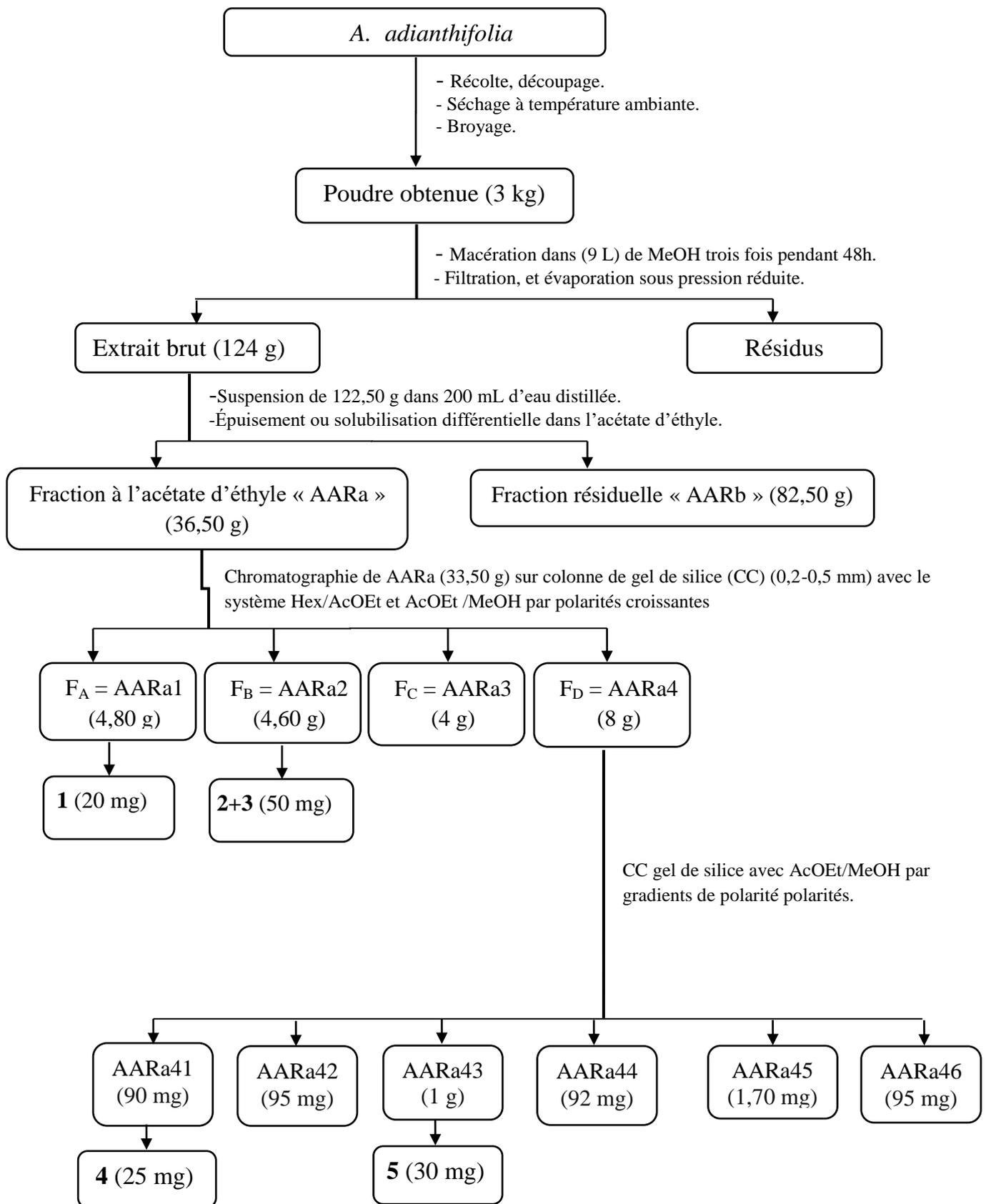


Figure 8 : Protocole d'extraction et d'isolement des produits des racines de *A. adianthifolia*

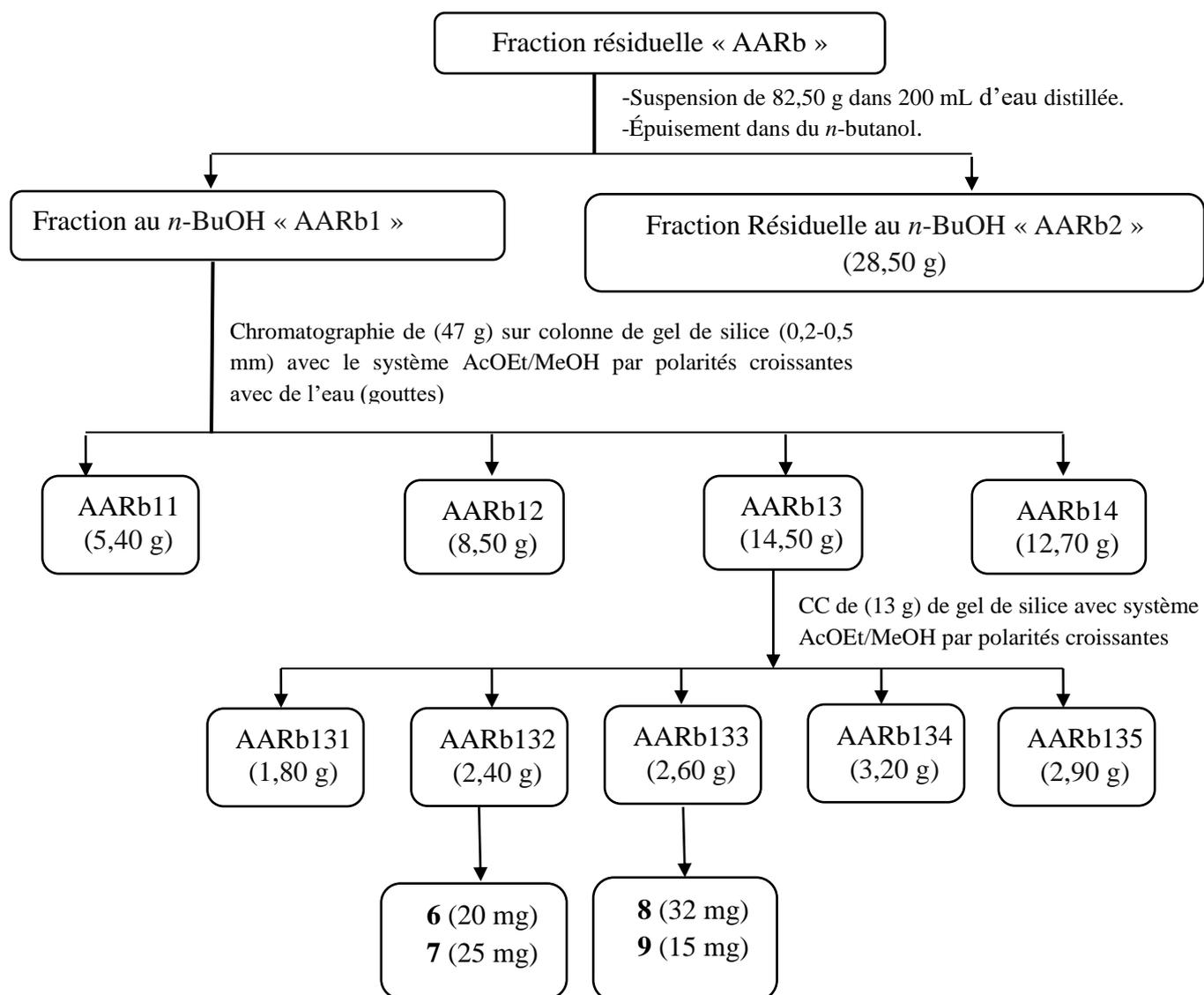


Figure 8 : Protocole d'extraction et d'isolement des produits des racines de *A. adianthifolia* (suite et fin)

II.2.2. Tests antibactériens

II.2.2.1. Préparation des milieux de culture

Les différents milieux de culture utilisés dans ce travail sont commercialisés sous forme de poudre prête à l'emploi. Brièvement, pour chaque milieu de culture, une masse correspondante aux indications du fabricant a été dissoute dans de l'eau tiède puis stérilisée dans un autoclave réglé à 121°C pendant 15 min ; les milieux gélosés refroidis jusqu'à 45 °C puis coulés dans des boîtes de Pétri ; et les bouillons de culture complètement refroidis jusqu'à la température ambiante.

II.2.2.2. Préparation des solutions mères des substances et d'antibiotiques à tester

Les solutions mères des échantillons tests ont été préparées à la concentration de 4096 µg/mL et 512 µg/mL en dissolvant respectivement 10,4 mg et 1,3 mg de chaque extrait brut ou fractions ou sous-fractions et composé dans 254 µL de DMSO pur. Puis, les différents mélanges ont été homogénéisés au vortex jusqu'à dissolution complète de l'extrait, fractions/sous-fractions et composés et le volume de chaque solution mère a été complété à 2540 µL avec le bouillon de Mueller Hinton (MHB). L'ensemble a été à nouveau homogénéisé au vortex et les solutions mères d'antibiotiques préparées de façon similaire aux extraits qui ont été testées aux concentrations allant de 256 µg/mL à 2 µg/mL.

II.2.2.3. Préparation des inocula

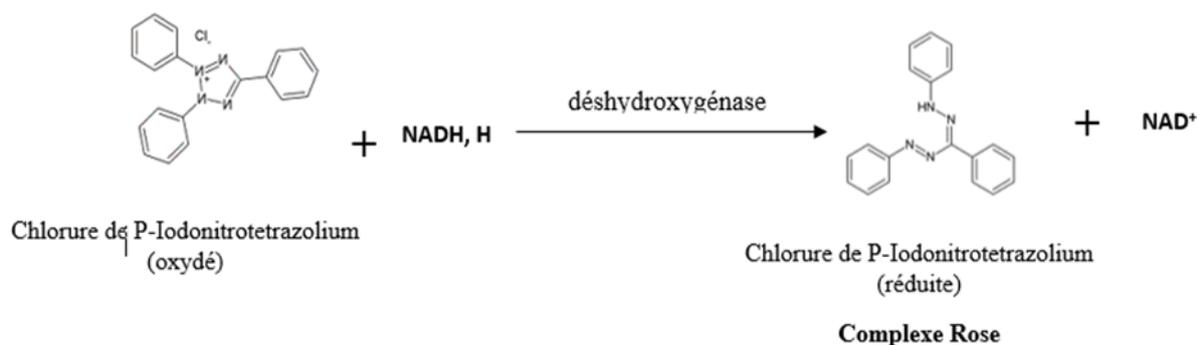
Quelques colonies de bactéries activées sur MHA 18h avant la réalisation de la manipulation, ont été prélevées avec une anse de platine, puis diluées dans de l'eau distillée stérile jusqu'à obtention d'une turbidité semblable à celle du point 0,5 de l'échelle de Mc Farland (annexe 3), correspondant à la concentration $1,5 \times 10^8$ Unités Formant Colonies/mL (UFC/mL). Les suspensions bactériennes ont été diluées le cas échéant jusqu'à obtention des concentrations désirées pour le test.

II.2.2.4. Détermination des CMI et CMB *in vitro* : Test colorimétrique à l'INT

L'effet des extraits de plantes, des fractions, des sous-fractions et composés isolés de l'extrait le plus actif ont été évalués vis-à-vis des différentes bactéries par la méthode de microdilution telle que décrite par Newton *et al.* (2002).

➤ Principe

Au cours de leur croissance, les bactéries produisent une enzyme, la déshydroxygénase qui en présence de l'iodonitrotétrazolium (INT) forme un complexe insoluble (sel de formazan) de coloration rose dont l'intensité de la coloration est fonction de la quantité d'enzyme présente dans le milieu réactionnel.



➤ Mode opératoire

Dans chaque puit d'une microplaque de 96 puits, un volume de 100 μL du bouillon MHB a été introduit. A partir des solutions mères des substances à tester, un volume de 100 μL de substance d'intérêt préparée a été introduit dans les premiers puits de chaque colonne et des dilutions successives suivant une progression géométrique de raison 2 ont permis d'établir une gamme de concentration finale allant de 1024 $\mu\text{g}/\text{mL}$ à 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ pour les extraits, fractions et sous-fractions, et de 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ à 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ pour les composés isolés. Un volume de 100 μL d'inoculum bactérien concentré à 2×10^6 UFC/mL a été introduit dans chaque puit pour une densité finale de 10^6 UFC/mL, et un volume final de 200 μL /puit. Des puits contenant uniquement le MHB et ceux contenant le MHB et l'inoculum d'une part, le MHB et l'inoculum et le DMSO (2,5%) d'autre part, ont servi comme témoins négatifs pour cette manipulation. D'autres puits contenant le chloramphénicol à des concentrations finales variant de 256 $\mu\text{g}/\text{mL}$ à 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ont servi comme témoins positifs. Les microplaques ainsi remplies ont été ensuite scellées à l'aide du papier parafilm, puis incubées à 37 °C pendant 18 heures, et la croissance bactérienne mise en évidence dans chaque puit avec un volume de 40 μL par puit d'une solution d'INT 0,20 mg/mL. Le changement de coloration du milieu a été noté, et la CMI, définie comme la plus petite concentration de l'échantillon qui a empêché le changement de couleur du milieu et qui correspond à une inhibition complète de la croissance bactérienne (Eloff, 1998), déterminée. Chaque test a été réalisé en trois séries puis répétés 3 fois.

Pour la détermination des Concentrations Minimales Bactéricides (CMB), un volume de 50 µL du contenu des puits aux concentrations supérieures ou égales à la CMI, n'ayant pas reçu d'INT, a été prélevé puis introduit et mélangé à 150 µL de MHB (sans extrait de plantes, fractions/sous-fractions ou composés isolés) contenus dans des nouvelles microplaques. Ces plaques ont été ensuite incubées pendant 48h à 37°C suivi d'une révélation à l'INT. Toutes les concentrations pour lesquelles nous n'avons pas observé de coloration rose étaient une indication de caractère bactéricide de l'extrait, fractions, sous-fractions ou composés testés. La plus petite de celles-ci a été notée comme la CMB (Eloff, 1998), et comme précédemment chaque test a été réalisé en trois séries puis répétés 3 fois.

Le rapport CMB/CMI a ensuite permis de confirmer l'effet bactéricide ($CMB/CMI < 4$) ou bactériostatique ($CMB/CMI \geq 4$) des substances testées (Oussou *et al.*, 2008).

II.2.3. Etudes des mécanismes de résistances et d'action des échantillons les plus actifs

Afin de déterminer la manière avec laquelle l'extrait brut et ses composés isolés les plus actifs exercent leur action sur les bactéries, cinq mécanismes d'action ont été étudiés dans le cadre de ce travail.

II.2.3.1. Etude de l'effet des pompes à efflux sur l'activité de l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* et de ses composés isolés

Seuls l'extrait brut et les composés ayant présenté des activités significatives et le meilleur spectre d'action ont été étudiés pour cette partie. L'activité antibactérienne de ses substances a été évaluée suivant la méthode décrite par Kuete *et al.* (2010), en présence d'un inhibiteur des pompes à efflux, la Phénylalanine Arginine Béta Naphtylamide (PAβN), à la concentration de 128 µg/mL. Pour ce faire, 10 souches bactériennes parmi celles précédemment utilisées et qui sur-expriment les pompes à efflux ont été choisies : *E. coli* (AG102, ATCC10536) ; *E. aerogenes* (ATCC13048, EA27) ; *K. pneumoniae* (ATCC11296, KP55) ; *P. stuartii* (ATCC29916, NEA16) ; *P. aeruginosa* (PA01, PA124).

Ainsi, après avoir rempli les puits des microplaques avec du MHB et dilué l'extrait brut et les composés isolés des racines de *Albizia adianthifolia* de la même manière que lors de la détermination des CMI des extraits bruts, fractions, sous-fractions et produits seuls, telle que décrite plus haut, nous avons dans les puits correspondants, introduit un volume de 50 µL d'une solution de PAβN (30 µg/mL), puis un volume de 50 µL d'inoculum bactérien (de concentration 4×10^6 UFC/mL) pour un volume final de 200 µL/puit. Les contrôles ont été constitués d'une colonne de puits contenant le mélange PAβN/MHB/inoculum, le mélange

MHB/inoculum et une autre contenant uniquement le MHB seul. Après 18 heures d'incubation à 37 °C, nous avons grâce à l'INT, révélé la croissance bactérienne, noté les CMI et apprécié le Facteur d'Amélioration de l'activité (FAA) antibactérienne selon l'échelle de Kuete *et al.* (2010).

$$FAA = \frac{CMI \text{ substance seule}}{CMI \text{ substance} + \text{inhibiteur}}$$

FAA = Facteur d'Amélioration de l'Activité ; **CMI** = Concentration Minimale Inhibitrice ; **CMI substance seule** = Concentration Minimale Inhibitrice de l'échantillon test ; **CMI substance + inhibiteur** = Concentration Minimale Inhibitrice de l'échantillon test en présence de l'inhibiteur des pompes à efflux (PA β N).

Selon l'échelle d'activité de Kuete *et al.* (2010), l'amélioration de l'activité d'un échantillon est établie lorsque le FAA est ≥ 2 .

II.2.3.2. Etude de l'inhibition des pompes à efflux : potentialisation de l'action des antibiotiques par les composés isolés de l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia*

Les composés isolés qui ont présenté les activités antibactériennes significatives les plus importantes, et dont l'amélioration de l'activité a été relevée vis-à-vis de la majorité des souches en présence de l'inhibiteur des pompes à efflux, ont été sélectionnés pour cette phase. Les échantillons ont été testés vis-à-vis de 7 souches bactériennes les plus résistantes et qui sur-expriment les pompes à efflux : *P. aeruginosa* (PA124) ; *E. aerogenes* (ATCC13048, EA27) ; *K. pneumoniae* (ATCC11296, KP55) et *E. coli* (AG102, ATCC10536), provenant de de l'Université de Méditerranée Aix-Marseille (France).

Les CMI des antibiotiques couramment utilisés en thérapeutique (Chloramphénicol, Ciprofloxacine, Erythromycine, Gentamycine, Kanamycine, Norfloxacine, Pénicilline, Streptomycine et Tétracycline), seuls et en présence des différents échantillons sélectionnés, ont été déterminées selon la même technique que précédemment décrite (Eloff, 1998 ; Newton *et al.*, 2002) à la différence que la réalisation des concentrations décroissantes a été faite avec ces antibiotiques usuels. Puis 50 μ L d'une solution mère d'échantillon à tester ont été introduits dans chaque puit et le volume complété à 200 μ L avec l'inoculum de densité 4×10^6 UFC/mL. Ainsi l'activité des composés les plus actifs, aux concentrations inhibitrices et sub-inhibitrices correspondant à CMI/2, CMI/4, CMI/8 et CMI/16 a été évaluée dans un test préliminaire vis-à-vis de la souche pathogène problématique *Pseudomonas aeruginosa* PA124

; ceci dans le but de sélectionner des concentrations sub-inhibitrices appropriées, auxquelles les effets synergiques auraient été notés avec la majorité des antibiotiques, pour la suite des expérimentations vis-à-vis d'autres souches bactériennes sur-exprimant l'efflux actif. L'effet de chaque combinaison d'antibiotique a été interprété après calcul de la Concentration Inhibitrice Fractionnelle (CIF) (Mackay *et al.*, 2000) suivant la formule ci-dessous :

$$CIF = \frac{CMI \text{ antibiotique} + \text{substance test}}{CMI \text{ antibiotique seul}}$$

CIF = Concentration Inhibitrice Fractionnelle ; **CMI** = Concentration Minimale Inhibitrice ; **CMI antibiotique + substance test** = Concentration Minimale Inhibitrice de l'antibiotique en présence de l'échantillon test ; **CMI antibiotique seul** = Concentration Minimale Inhibitrice de l'antibiotique seul.

II.2.3.3. Etude de l'effet de l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* et de son composé isolé le plus actif sur la croissance bactérienne

L'évaluation de l'effet de l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* et de son composé isolé le plus actif sur la croissance bactérienne s'est réalisée en apportant quelques modifications au protocole décrit par Carson *et al.* (2002). Elle s'est déroulée avec les bactéries suivantes : *E. coli* AG102 et *K. pneumoniae* KP55 dont les suspensions bactériennes ont été préparées comme décrit ci-dessus afin d'obtenir une concentration de 10^8 UFC/mL dans les flacons correspondants. Les substances d'intérêt ont été incorporées dans les flacons correspondants afin d'obtenir les concentrations 0,5 x CMI, CMI et 2 x CMI. Pour les différents tests, un témoin de croissance pour chaque souche a été inclus dans un flacon ne contenant pas de substances d'intérêt, et un témoin négatif (milieu de croissance sans médicament ou organisme). Le Chloramphénicol a été utilisé comme molécule de référence et témoin positif. Les souches de chacune de ces bactéries ont permis d'étalonner les mesures de la densité optique en fonction du nombre de cellules viables (Haniff Wahid *et al.*, 2015). Les flacons ont été incubés à 37°C sur un agitateur orbital (*Orbital Shaking Incubator*, REMI) à 17g, puis des échantillons ont été prélevés de façon aseptique à différents intervalles de temps (0 min, 1 h, 2 h, 4 h, 8 h et 12 h). Les absorbances ont été lues à l'aide d'un spectrophotomètre de marque THERMO SCIENTIFIC (Langensfeld, Allemagne) à la longueur d'onde 600 nm. L'expérience a été répétée 3 fois et les résultats obtenus ont servi au tracé des courbes de croissance bactérienne [DO = f (temps)] en utilisant le logiciel GraphPad Prism version 6.00.

II.2.3.4. Etude de l'effet de l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* et de son composé isolé le plus actif sur la membrane bactérienne

Dans chaque flacon, les suspensions bactériennes (*E. coli* AG102 et *K. pneumoniae* KP55) ont été ajustées à 10^8 UFC/mL puis les substances à tester ont été ajoutées aux concentrations 0,5 x CMI, CMI et 2 x CMI. Les différents mélanges ont été incubés à 37 °C et les échantillons recueillis à 0 min, 2 h, 4h, 8 h et 12 h de traitement, dans les flacons essais et témoins comme précédemment décrit, avec la polymyxine B utilisée ici comme molécule standard. Les différents débris présents dans les échantillons ont été éliminés par centrifugation (*Compact Cooling Centrifuge*, REMI) à 33540g pendant 15 min. Les différents métabolites de faible poids moléculaire (acides nucléiques, métabolites,...) issus de la lyse bactérienne ont été présents dans le surnageant et les proportions par rapport aux témoins négatifs et positifs ont été déterminées par dosage colorimétrique grâce au réactif de Bradford suivi d'une lecture de l'absorbance à 595 nm en utilisant un spectrophotomètre de marque THERMO SCIENTIFIC (Langensfeld, Allemagne). Cette méthode a été adaptée de celle décrite par Leejae *et al.* (2013). Le test a été répété trois fois et les données obtenues après lecture de la DO ont permis de tracer les histogrammes [Quantité de protéine = f (temps)] en utilisant le logiciel Microsoft Office Excel 2016.

II.2.3.5. Etude de l'effet de l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* et de son composé isolé le plus actif sur les biofilms

II.2.3.5.1. Etude de l'effet de l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* et de son composé isolé le plus actif sur l'inhibition de la formation des biofilms

Les souches bactériennes de *E. coli* (AG102), *K. pneumoniae* (KP55) et d'*E. aerogenes* (EA27) ont été traitées dans des plaques de microdilution par le composé isolé le plus actif et de l'extrait brut de *Albizia adianthifolia* aux concentrations variantes entre 128 µg/mL – 4 µg/mL et 4096 µg/mL – 128 µg/mL respectivement, puis incubées à 37 °C pendant 18 heures sous agitation orbital (*Orbital Shaking Incubator*, REMI) à 7g. Ensuite, les cellules planctoniques ont été éliminées et les plaques rincées avec de l'eau distillée stérile, puis colorées pendant 15 minutes en incorporant 200 µL de cristal violet dans chaque puit. Une décoloration à l'aide d'acide acétique (30%), suivie de la mesure de l'absorbance de la solution de cristal violet à 595 nm s'est effectuée après que les biofilms aient été colorés et rincés à l'eau distillée stérile. Les tests ont été répétés trois fois et les pourcentages d'inhibition de biofilms pour chaque essai calculés par rapport aux valeurs des témoins non

traités, puis les Concentrations Minimales Inhibant 50% des biofilms (CIB₅₀) déduites (Chaib *et al.*, 2011).

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{\text{Valeur non traitée} - \text{valeur traitée}}{\text{Valeur non traitée}} \times 100$$

% d'inhibition = Pourcentage d'inhibition ; **Valeur non traitée** = Densité optique du biofilm seul ; **valeur traitée** = Densité optique du biofilm en présence de l'échantillon test.

II.2.3.5.2. Etude de l'effet de l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* et de son composé isolé le plus actif vis-à-vis des biofilms formés

Les cultures bactériennes des souches de *E. coli* (AG102), *K. pneumoniae* (KP55) et d'*E. aerogenes* (EA27) ont préalablement été préparées en milieu liquide (MHB) puis incubées à 37 °C pendant 18 heures sous agitation orbital « *Orbital Shaking Incubator*, REMI » à 7g. Après formation des biofilms, les cellules planctoniques ont été éliminées et les plaques ont été traitées par le composé isolé le plus actif et l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* aux concentrations variantes entre 128 µg/mL – 4 µg/mL et 4096 µg/mL – 128 µg/mL respectivement. Par la suite, les plaques ont été de nouveau réincubées à 37 °C pendant 18 heures sous agitation orbitale « *Orbital Shaking Incubator*, REMI » (7g) et rincées avec de l'eau distillée stérile, puis colorées pendant 15 minutes en incorporant 200 µL de cristal violet dans chaque puit. Une décoloration à l'aide d'acide acétique (30%), suivie de la mesure de l'absorbance de la solution de cristal violet à 595 nm s'est effectuée après que les biofilms aient été colorés et rincés à l'eau distillée stérile. Les tests ont été répétés trois fois et les pourcentages d'éradication des biofilms pour chaque essai ont été calculés par rapport aux valeurs des témoins non traités, puis les Concentrations éradiquant les biofilms (CEB) ont été déduites (Chaib *et al.*, 2011).

$$\% \text{ d'éradication} = \frac{\text{Valeur non traitée} - \text{valeur traitée}}{\text{Valeur non traitée}} \times 100$$

% d'éradication = Pourcentage d'éradication ; **Valeur non traitée** = Densité optique du biofilm préformé ; **valeur traitée** = Densité optique du biofilm préformé en présence de l'échantillon test.

II.2.3.6. Tests d'hémolyse érythrocytaire par l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* et de son composé isolé le plus actif

II.2.3.6.1. Isolement des érythrocytes

Les cellules érythrocytaires ont été obtenues à partir du sang de mouton, tout en respectant les conditions de bien-être de l'animal. Un volume de 10 mL du sang de mouton a été collecté dans un tube EDTA, puis centrifugé (*Compact Cooling Centrifuge*, REMI) à 301g pendant 5 minutes. A l'issue de cette centrifugation, nous avons retiré le plasma, inséré une solution normale saline (NaCl 0,9%), puis avons procédé au lavage. Ensuite, nous y avons introduit une solution de tampon phosphate salin (100 mM, pH=7,4) (Evans *et al.*, 2013).

II.2.3.6.2. Test d'hémolyse

La concentration des cellules érythrocytaires contenue dans le sang du mouton a été déterminée à l'aide d'un compteur automatique de cellules sanguines de marque ERMA INC. PCE-210N (Becton-Dickinson, Allemagne). Par la suite, les hématies ont été lavées, diluées 50 fois (Evans *et al.*, 2013), puis traitées avec les substances d'intérêt aux concentrations finales 256 µg/mL, 128 µg/mL, 64 µg/ml, 32 µg/mL pour le composé isolé le plus actif ; et 2560 µg/mL, 1280 µg/mL, 512 µg/mL, 256 µg/mL pour l'extrait brut. Nos substances d'intérêt étant dissoutes dans du DMSO, une solution de DMSO 2,5% et une solution de PBS ont constitué les témoins négatifs tandis que la solution de Triton X 1% était le témoin positif. Les cellules traitées ont été incubées à 37 °C pendant 60 minutes sous une faible agitation. Au terme de l'incubation, les échantillons ont été maintenus sur la glace pendant 5 minutes puis centrifugés (*Compact Cooling Centrifuge*, REMI) à 301g pendant 15 min. Le taux d'hémoglobine libéré par les érythrocytes traités a été dosé en mesurant l'absorbance du surnageant à 450 nm en utilisant un lecteur de microplaque de marque THERMO Multiscan EX (Langensfeld, Allemagne). Chaque test était effectué trois fois et le pourcentage d'hémolyse a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'hémolyse} = \frac{\text{DO échantillon} - \text{DO témoin négatif}}{\text{DO témoin positif} - \text{DO témoin négatif}}$$

% d'hémolyse = Pourcentage d'hémolyse ; **DO échantillon** = Densité optique de la substance test ; **DO témoin négatif** = Densité optique du tampon phosphate en présence du sang ; **DO témoin positif** = Densité optique du Triton X (1%) en présence du sang.

II.2.4. Analyse des résultats

Les CMI des extraits de plantes ont été considérées comme significatives lorsqu'elles étaient inférieures à 100 µg/mL, moyennes si les valeurs étaient comprises entre 100 et 625 µg/ml et faibles pour toutes valeurs supérieures à 625 µg/mL. En ce qui concerne les composés phytochimiques, toute CMI inférieure à 10 µg/mL a renseigné une activité significative, celles comprises entre 10 et 100 µg/ml sur une activité moyenne ; cette activité était considérée comme faible si la CMI était supérieure à 100 µg/mL (Kuete, 2010).

Pour les tests des produits en présence et en absence du PAβN, Le Facteur d'amélioration de l'activité (FAA) a été calculé, il correspond au rapport de la CMI de l'échantillon testé en absence du PAβN par la CMI de l'échantillon testé en présence du PAβN. L'amélioration de l'activité d'un échantillon était établie lorsque le FAA était ≥ 2 (Kuete *et al.*, 2010).

Lors des associations entre les antibiotiques et les produits (aux concentrations sub-inhibitrices), le phénomène de synergie était établi lorsque $CIF \leq 0,5$, l'indifférence lorsque la CIF était comprise entre 0,5 et 4, enfin l'antagonisme pour toutes $CIF > 4$ (Mackay *et al.*, 2000).

Les analyses statistiques des valeurs obtenues ont été réalisées à l'aide du logiciel GraphPad Prism version 6.00 et Microsoft Office Excel 2016. Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne \pm Erreur Standard sur la Moyenne (ESM) et les différentes valeurs ont été comparées à l'aide du test d'analyse des variances " One-Way ANOVA ", suivi du post-test de comparaison multiple de Tukey. Les différences étaient considérées comme significatives à partir de $p < 0,05$. Les données de l'effet des échantillons tests sur l'évolution de la charge microbienne ont été adaptées au modèle de Baranyi à l'aide du logiciel DMFIT « Dnamic Modeling Fit » version 3.5. Les paramètres cinétiques (Vitesse et temps de latence) ont été déterminés.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. RESULTATS

III.1.1. Activités antibactériennes et composition phytochimique des différents extraits de plantes étudiées

III.1.1.1. Activités antibactériennes des différents extraits de plantes étudiées

L'activité antibactérienne des extraits bruts a été évaluée vis-à-vis de 15 souches de bactéries Gram-négatif incluant les souches de référence et les isolats cliniques multirésistants. Les paramètres pharmacologiques d'évaluation des activités antibactériennes, concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB), ont été déterminés ainsi que le rapport d'activité CMB/CMI (R) pour les différentes substances étudiées. L'antibiotique « chloramphénicol » a été testé comme antibiotique de référence. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau V.

Tableau V : Valeurs des CMI, CMB et Rapport CMB/CMI des extraits de plantes (µg/mL) et de l'antibiotique de référence (µg/mL)

Souches bactériennes	<i>Albizia adianthifolia</i>						<i>Alchornea laxiflora</i>						<i>Boerhavia diffusa</i> (Plante entière)			
	Ecorces			Racines			Feuilles			Ecorces			CMI	CMB	R	
	CMI	CMB	R	CMI	CMB	R	CMI	CMB	R	CMI	CMB	R				
<i>E. coli</i>																
AG100Atet	256	-	nc	256	-	nc	-	nd	nc	-	nd	nc	1024	-	nc	
AG102	1024	-	nc	1024	-	nc	256	-	nc	512	-	nc	512	-	nc	
ATCC8739	128	-	nc	128	1024	8	256	-	nc	1024	-	nc	1024	-	nc	
ATCC10536	512	-	nc	256	-	nc	128	-	nc	512	-	nc	1024	-	nc	
<i>E. aerogenes</i>																
ATCC13048	256	-	nc	128	1024	8	512	-	nc	512	-	nc	1024	-	nc	
EA-CM64	256	-	nc	128	512	4	512	-	nc	512	-	nc	1024	-	nc	
EA27	256	-	nc	256	-	nc	128	1024	8	-	nd	nc	1024	-	nc	
EA289	128	-	nc	128	-	nc	128	1024	8	64	1024	16	512	-	nc	
<i>K. pneumoniae</i>																
ATCC11296	128	-	nc	128	-	nc	256	-	nc	256	-	nc	-	nd	nc	
KP55	256	-	nc	256	-	nc	512	-	nc	512	-	nc	-	nd	nc	
KP63	128	-	nc	128	-	nc	512	-	nc	-	nd	nc	1024	-	nc	
<i>P. stuartii</i>																
NEA16	512	-	nc	1024	-	nc	128	-	nc	-	nd	nc	512	-	nc	
ATCC29916	512	-	nc	512	-	nc	-	nd	nc	512	-	nc	-	nd	nc	
<i>P. aeruginosa</i>																
PA01	256	-	nc	128	-	nc	512	-	nc	512	-	nc	-	nd	nc	
PA124	-	nd	nc	-	nd	nc	-	nd	nc	-	nd	nc	-	nd	nc	

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; CMB : Concentration Minimale Bactéricide ; nd : Non déterminée ; nc : Non calculée ; R : Rapport CMB/CMI ; - : > 1024 pour les extraits (>256 pour le chloramphénicol)

Tableau V : Valeurs des CMI, CMB et Rapport CMB/CMI des extraits de plantes ($\mu\text{g/mL}$) et de l'antibiotique de référence ($\mu\text{g/mL}$) (suite et fin)

Souches bactériennes	<i>Combretum hispidum</i>						<i>Laportea ovalifolia</i>			<i>Scoparia dulcis</i>			Antibiotiques		
	Feuilles			Ecorces			(Plante entière)			(Plante entière)			Chloramphénicol		
	CMI	CMB	R	CMI	CMB	R	CMI	CMB	R	CMI	CMB	R	CMI	CMB	R
<i>E. coli</i>															
AG100Atet	-	nd	nc	-	nd	nc	512	-	nc	1024	-	nc	32	256	8
AG102	1024	-	nc	512	-	nc	512	-	nc	1024	-	nc	32	256	8
ATCC8739	-	nd	nc	-	nd	nc	1024	-	nc	-	nd	nc	2	64	32
ATCC10536	-	nd	nc	-	nd	nc	1024	-	nc	-	nd	nc	2	32	16
<i>E. aerogenes</i>															
ATCC13048	-	nd	nc	-	nd	nc	256	-	nc	-	nd	nc	16	128	8
EA-CM64	512	-	nc	512	-	nc	512	-	nc	1024	-	nc	256	-	nc
EA27	512	-	nc	-	nd	nc	512	-	nc	-	nd	nc	32	256	8
EA289	256	-	nc	1024	-	nc	256	-	nc	256	-	nc	32	256	8
<i>K. pneumoniae</i>															
ATCC11296	-	nd	nc	-	nd	nc	1024	-	nc	-	nd	nc	32	256	8
KP55	1024	-	nc	-	nd	nc	512	-	nc	-	nd	nc	64	256	4
KP63	-	nd	nc	-	nd	nc	256	-	nc	-	nd	nc	32	256	8
<i>P. stuartii</i>															
NEA16	512	-	nc	-	nd	nc	128	-	nc	512	-	nc	64	256	4
ATCC29916	-	nd	nc	-	nd	nc	256	-	nc	1024	-	nc	64	256	4
<i>P. aeruginosa</i>															
PA01	-	nd	nc	-	nd	nc	256	-	nc	-	nd	nc	64	-	nc
PA124	-	nd	nc	-	nd	nc	-	nd	nc	-	nd	nc	256	-	nc

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; CMB : Concentration Minimale Bactéricide ; nd : Non déterminée ; nc : Non calculée ; R : Rapport CMB/CMI ; - : > 1024 pour les extraits (>256 pour le chloramphénicol).

Les résultats du tableau V montrent que, les extraits de plantes ont présenté des activités antibactériennes d'une intensité variable d'une souche à l'autre. Les CMI des extraits des racines et écorces de *Albizia adianthifolia* et de la plante *Laportea ovalifolia* varient de 128 à 1024 µg/mL tandis que celles de l'extrait de feuilles de *Alchornea laxiflora* sont comprises entre 128 et 512 µg/mL ; celles de l'extrait des écorces de *Alchornea laxiflora* variaient de 64 à 1024 µg/mL. L'extrait de *Boerhavia diffusa* et les extraits des écorces de *Combretum hispidum* ont des CMI variantes de 512 à 1024 µg/mL par contre, les CMI de la plante *Scoparia dulcis* et de l'extrait de feuilles de *Combretum hispidum* varient de 256 à 1024 µg/mL.

Les spectres d'activité les plus importants ont été obtenus avec les extraits des racines et écorces de *Albizia adianthifolia* et la plante de *Laportea ovalifolia* vis-à-vis de 14/15 (93,33%) des souches testées, suivis de l'extrait des feuilles de *Alchornea laxiflora* (12/15 soit 80%). L'extrait des écorces de *Alchornea laxiflora*, ainsi que *Boerhavia diffusa* ont présenté le même spectre d'activité (10/15 soit 66,66%). Les spectres d'activité inférieurs à 50% ont été obtenus avec l'extrait des feuilles de *Combretum hispidum* (6/15 soit 40%), de la plante entière de *Scoparia dulcis* (6/15 soit 40%) et enfin de l'extrait des écorces de *Combretum hispidum* (3/15 soit 20%).

L'extrait des écorces de *Alchornea laxiflora* a montré l'activité la plus forte avec une CMI de 64 µg/mL sur la souche de *E. aerogenes* EA289. Les activités modérées ($100 < \text{CMI} \leq 625$ µg/mL) ou faibles ($\text{CMI} > 625$ µg/mL) en fonction des souches bactériennes ont été notées avec les autres extraits. En général, on constate que les souches bactériennes *P. aeruginosa* (PA01 et PA124) ont été quasiment insensibles à l'ensemble des extraits étudiés.

Les rapports d'activité CMB/CMI variaient de 4 à 32 pour l'ensemble des extraits ainsi que le chloramphénicol utilisé comme antibiotique de référence vis-à-vis de l'ensemble des micro-organismes. Ces mêmes rapports, n'ont révélé aucun effet bactéricide ($\text{CMB/CMI} < 4$) des substances tests (extraits de plantes et chloramphénicol) sur les souches de bactéries testées. En comparaison à d'autres extraits bruts, seuls ceux des racines de *Albizia adianthifolia* et des feuilles de *Alchornea laxiflora* ont présenté des effets bactériostatiques ($\text{CMB/CMI} \geq 4$) respectivement sur les souches de *E. coli* ATCC8739, *E. aerogenes* EA-CM64 et ATCC13048 (cas de *Albizia adianthifolia* « racines ») et sur les souches d'*E. aerogenes* EA27 et EA289 (cas d'*Alchornea laxiflora* « feuilles »).

Le chloramphénicol (CHL) utilisé comme antibiotique de référence a montré un pouvoir inhibiteur variable d'une bactérie à une autre avec des valeurs de CMI allant de 2 à

256 µg/mL. Son effet bactériostatique a été noté sur la majorité des souches testées (12/15 soit 80%).

A l'issue du criblage antibactérien des différents extraits bruts, nous avons sélectionné dans le cadre de la suite de ce travail, l'extrait des racines de *Albizia adianthifolia* pour une étude plus approfondie.

III.1.1.2. Composition phytochimique des extraits de plantes étudiées

Les extraits bruts des différentes plantes ont été soumis à un criblage phytochimique dans le but de mettre en évidence les principales classes de métabolites secondaires présents. Les résultats qui en découlent sont présentés dans le Tableau VI.

Il ressort de ce tableau que les composés appartenant à au moins une classe de métabolite secondaire ont été mis en évidence dans chacun des neuf extraits bruts. Les polyphénols et les triterpènes ont été détectés dans tous ces extraits bruts, tandis que les alcaloïdes et les flavonoïdes n'ont pas été détectés dans la plante *Laportea ovalifolia*. Seul l'extrait des écorces de *Albizia adianthifolia* contenait toutes les classes de phytomolécules mises en évidence dans notre étude et les autres classes phytochimiques étant sélectivement distribuées dans le reste des extraits.

Tableau VI : Composition phytochimique des extraits méthanoliques

Classes phytochimiques	Plantes étudiées et parties								
	<i>Albizia adianthifolia</i>		<i>Alchornea laxiflora</i>		<i>Boerhavia diffusa</i>	<i>Combretum hispidum</i>		<i>Laportea ovalifolia</i>	<i>Scoparia dulcis</i>
	Ecorces	Racines	Feuilles	Ecorces	Plante entière	Feuilles	Ecorces	Plante entière	Plante entière
Alcaloïdes	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Polyphénols	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Flavonoïdes	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Anthraquinones	+	+	-	-	+	+	+	-	-
Coumarines	+	+	-	-	-	-	-	+	-
Tanins	+	-	+	-	+	+	+	+	+
Triterpènes	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Stérols	+	+	+	+	-	+	+	-	+
Saponines	+	+	+	-	+	+	+	+	+

(-) : Absent ; (+) : Présent

III.1.2. Résultats du fractionnement bioguidé de l'extrait des racines de *Albizia adianthifolia*, isolement des composés bioactifs et évaluation de l'activité antibactérienne des fractions et composés isolés

III.1.2.1. Résultats du fractionnement bioguidé de l'extrait des racines de *Albizia adianthifolia* et isolement des composés bioactifs

Le fractionnement et l'isolement des composés actifs de l'extrait des racines de *Albizia adianthifolia* ont permis d'obtenir des produits chimiques sous formes de poudres. Les annexes 8 – 15 présentent les différents spectres utilisés pour élucider les structures chimiques des composés isolés ; lesdits composés ont été identifiés comme l'acide stéarique (**1**), un mélange de stigmastérol et de β -sitostérol (**2+3**) en proportion 1:1, β -sitostérol 3-*O*- β -D-glucopyranoside (**4**), la palmatine (**5**), l'homomangiférine (**6**), la mangiférine (**7**) l'acide 3-*O*-{ α -L-*o*-arabipyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl}oléanolique ou adianthifolioside GS1 (**8**) et l'acide 3-*O*-{ β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabipyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl}oléanolique (**9**).

Ces constituants appartiennent aux classes de métabolites ci-après : acide gras (**1**), stéroïde (**2+3**), stéroïde glycosylé (**4**), alcaloïde (**5**), xanthones (**6, 7**) et saponines triterpéniques (**8, 9**).

Le composé **8** s'est avéré être un composé nouveau au regard de la revue de littérature effectuée jusqu'ici.

Les structures chimiques des différents composés identifiés sont représentées à la Figure 9.

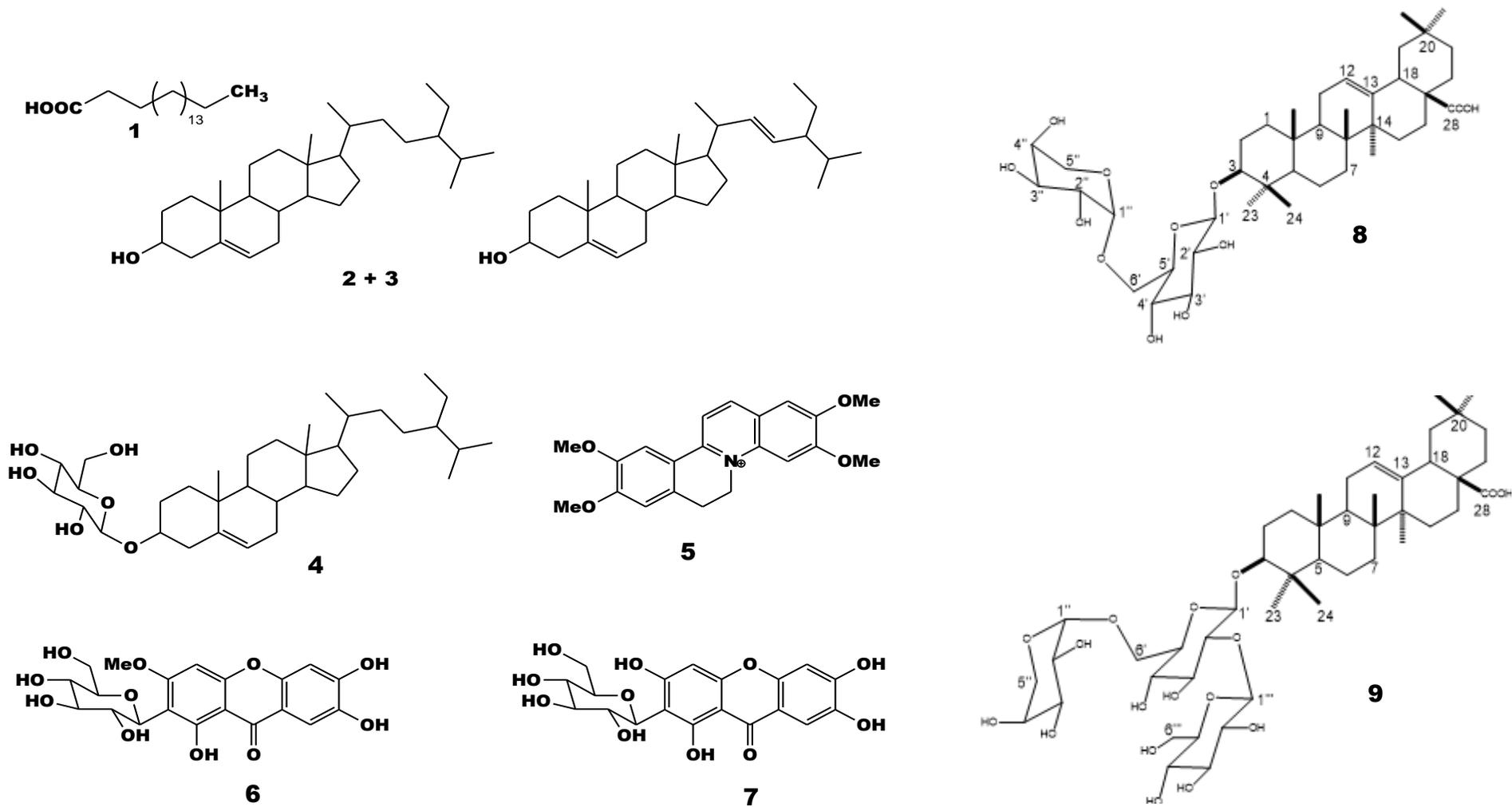


Figure 9 : Structures chimiques des composés isolés des racines de *Albizia adianthifolia*

1 : acide stéarique ; **2+3 :** stigmasterol et de β -sitostérol ; **4 :** β -sitostérol 3-O- β -D-glucopyranoside ; **5 :** palmatine ; **6 :** homomangiférine ; **7 :** mangiférine ; **8 :** acide 3-O- $\{\alpha$ -L-o-arabopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl}oléanolique ; **9 :** acide 3-O- $\{\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl}oléanolique.

III.1.2.2. Activités antibactériennes *in vitro* des fractions et sous-fractions issues de *Albizia adianthifolia* de même que ses composés phytochimiques isolés

III.1.2.2.1. Activités antibactériennes *in vitro* des fractions et sous-fractions issus de l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia*

Les résultats obtenus avec les différentes fractions (AARa-b) sont résumés dans le Tableau VII. Ils mettent en exergue une sélectivité d'activité avec des valeurs de CMI comprises entre 8 µg/mL et 1024 µg/mL. L'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* (AAR) a été actif sur 14 des 15 (93,33%) bactéries testées, ainsi que AARb et AARa respectivement contre 15/15 (100%) et 11/15 (73,33%) des bactéries testées. Des valeurs de CMI inférieures ou égales à 256 µg/mL ont également été enregistrées avec le chloramphénicol sur 15/15 (100%) des bactéries testées. Des valeurs de CMBs inférieures à 1024 µg/mL ont été obtenues avec les fractions AARa-b ainsi que l'extrait brut sur certaines des souches bactériennes testées. Cependant, les valeurs enregistrées étaient généralement élevées.

La fraction AARb sur la souche *E. aerogenes* EA27 a présenté une CMI de 8 µg/mL. La valeur de CMI (64 µg/mL) a été obtenue avec cette même fraction vis-à-vis de la souche *E. coli* AG100Atet. L'activité de la fraction AARb vis-à-vis de *E. aerogenes* ATCC13048 (CMI = 128 µg/mL) et de *K. pneumoniae* KP63 (CMI = 128 µg/mL) et de la fraction AARa vis-à-vis de *K. pneumoniae* KP55 (CMI = 256 µg/mL) et de *P. stuartii* NEA16 (CMI = 1024 µg/mL) ont montré des activités similaires à ceux de AAR sur les mêmes souches, mais ces activités ont été moins significatives comparées à celle de l'antibiotique de référence (CHL). Seule la fraction AARa a présenté un effet bactéricide vis-à-vis de la souche *E. aerogenes* ATCC13048.

De manière générale, la fraction AARb a présenté un meilleur profil d'activité antibactérien sur la totalité des souches testées comparé à celui de la fraction AARa.

Tableau VII : Valeurs des CMI et CMB (en µg/mL) de l'extrait brut et des fractions des racines de *Albizia adianthifolia*

Souches bactériennes	Extrait brut	Fractions		CHL
	AAR	AARa	AARb	
<i>E. coli</i>				
AG100Atet	256(-)	1024(-)	64(512)	32(256)
AG102	1024(-)	-(-)	256(1024)	32(256)
ATCC8739	128(1024)	512(-)	256(-)	2(64)
ATCC10536	256(-)	1024(-)	128(1024)	2(32)
<i>E. aerogenes</i>				
ATCC13048	128(1024)	512(1024)	128(1024)	16(128)
EA-CM64	128(512)	1024(-)	256(1024)	256(-)
EA27	256(-)	512(-)	8(128)	32(256)
EA289	128(-)	-(-)	256(1024)	32(256)
<i>K. pneumoniae</i>				
ATCC11296	128(-)	1024(-)	256(-)	32(256)
KP55	256(-)	256(-)	128(-)	64(256)
KP63	128(-)	256(-)	128(-)	32(256)
<i>P. stuartii</i>				
ATCC29916	512(-)	-(-)	128(1024)	64(256)
NEA16	1024(-)	1024(-)	256(1024)	64(256)
<i>P. aeruginosa</i>				
PA01	128(-)	1024(-)	256(-)	64(-)
PA124	-	-(-)	256(-)	256(-)

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; CMB : Concentration Minimale Bactéricide ; AAR : Extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* ; AARa : Fraction à l'acétate d'éthyle ; AARb : Fraction résiduelle à l'acétate d'éthyle ; CHL : Chloramphénicol ; - : >1024 µg/mL pour l'extrait brut et les fractions, 256 µg/mL pour le chloramphénicol ; les valeurs entre parenthèses représentent les CMB.

Le Tableau VIII ci-dessous donne les valeurs de CMI et CMB des sous-fractions de AARa (AARa1-4) sur le panel de 15 bactéries. Il en découle que les sous-fractions AARa2 et AARa3 ont présenté des valeurs de CMI comprises entre 16 µg/mL et 1024µg/mL sur toutes les bactéries testées, tandis que d'autres sous-fractions ont montré des activités sélectives. Leurs effets inhibiteurs ont été observés sur 86,66% (13/15), 80% (12/15), 40% (6/15) et 33,33% (5/15) des bactéries testées avec les sous-fractions AARa2, AARa3, AARa4 et AARa1 respectivement.

La sous-fraction AARa3 sur la souche *E. aerogenes* EA27 a présenté une CMI de 16 µg/mL. La valeur de CMI (32 µg/mL) a été également obtenue avec la sous-fraction AARa2

vis-à-vis de la même souche. Aucune sous-fraction n'a présenté d'activité vis-à-vis de *E. aerogenes* EA289. Dans l'ensemble, les activités des différentes sous-fractions observées ont été moins significatives comparées à celle de l'antibiotique de référence (CHL). Par ailleurs, les sous-fractions AARa2 et AARa3 ont présenté des profils d'activités antibactériens plus élevés que ceux des sous-fractions AARa4 et AARa1 sur la quasi-totalité des souches du panel testé. L'effet bactéricide des sous-fractions AARa3, AARa2 et AARa1 a été notée vis-à-vis de 4/15, 2/15 et 1/15 des souches bactériennes testées respectivement (Tableau VIII).

Tableau VIII : Activités antibactériennes des sous-fractions de la fraction à l'acétate d'éthyle (AARa)

Souches bactériennes	Substances testées en µg/MI				
	Sous-fractions, CMI et (CMB)				CHL
	AARa1	AARa2	AARa3	AARa4	
<i>E. coli</i>					
AG100Atet	1024(-)	512(-)	512(-)	1024(-)	32(256)
AG102	-(-)	512(-)	512(-)	1024(-)	32(256)
ATCC8739	-(-)	512(-)	512(1024)	1024(-)	2(64)
ATCC10536	-(-)	512(1024)	512(1024)	1024(-)	2(32)
<i>E. aerogenes</i>					
ATCC13048	-(-)	256(1024)	256(-)	-	16(128)
EA-CM64	-(-)	256(512)	512(1024)	-	256(-)
EA27	1024(-)	32(512)	16(512)	128(512)	32(256)
EA289	-(-)	-(-)	-(-)	-(-)	32(256)
<i>K. pneumoniae</i>					
ATCC11296	-(-)	1024(-)	-(-)	-(-)	32(256)
KP55	-(-)	256(-)	256(-)	-(-)	64(256)
KP63	512(1024)	256(-)	512(-)	1024(-)	32(256)
<i>P. stuartii</i>					
ATCC29916	1024(-)	512(-)	512(1024)	-(-)	64(256)
NEA16	1024(-)	-(-)	-(-)	-(-)	64(256)
<i>P. aeruginosa</i>					
PA01	-(-)	512(-)	512(-)	-(-)	64(-)
PA124	-(-)	512(-)	512(-)	-(-)	256(-)

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; CMB : Concentration Minimale Bactéricide ; AARa1, AARa2, AARa3 et AARa4 : Sous-fractions de la Fraction à l'acétate d'éthyle ; CHL : Chloramphénicol ; - : >1024 µg/mL pour les sous-fractions, 256 µg/mL pour le chloramphénicol ; les valeurs entre parenthèses représentent les CMB.

Ce tableau renseigne sur l'amélioration de l'activité antimicrobienne de la fraction AARa au fur à mesure que le fractionnement s'est poursuivi. Ainsi, ces différentes sous-fractions ont fait l'objet de la suite du fractionnement bioguidé jusqu'à l'obtention des produits recherchés.

Le Tableau IX ci-dessous présente les valeurs de CMI et CMB des sous-fractions de AARb (AARb1-2) sur le panel de 15 bactéries. Il en ressort de ce tableau que, les sous-fractions AARb1-2 ont présenté des valeurs de CMI comprises entre 8 µg/mL et 1024 µg/mL sur toutes les bactéries testées. Leurs effets inhibiteurs ont été observés sur 93,33% (14/15) des bactéries testées. Au regard des résultats obtenus, la fraction AARb1 a présenté un profil d'activité antibactérien plus élevé que la fraction AARb2 sur la totalité des souches testées.

La sous-fraction AARb1 sur la souche *K. pneumoniae* KP63 a présenté une CMI de 8 µg/mL. La valeur de CMI (16 µg/mL) a été obtenue avec les différentes sous-fractions vis-à-vis de quelques souches à savoir : *E. coli* ATCC8739, *E. aerogenes* ATCC13048, *K. pneumoniae* ATCC11296 et *K. pneumoniae* KP55 [cas de la sous-fraction AARb1] et *K. pneumoniae* KP63 [cas de la sous-fraction AARb2]. L'activité de la sous-fraction AARb1 vis-à-vis de *K. pneumoniae* ATCC11296 (CMI = 16 µg/mL) ; des sous-fractions AARb1 et AARb2 vis-à-vis de *E. aerogenes* EA-CM64 (CMI = 32 µg/mL et CMI = 64 µg/mL respectivement), *K. pneumoniae* KP55 (CMI = 16 µg/mL et CMI = 32 µg/mL respectivement) et *K. pneumoniae* KP63 (CMI = 8 µg/mL et CMI = 16 µg/mL respectivement) ont été plus importantes comparées à celle de l'antibiotique de référence (CHL). Aucun effet bactéricide n'a été noté avec les différentes sous-fractions vis-à-vis des bactéries testées respectivement (Tableau IX).

Tableau IX : Potentiel antibactérien de sous-fractions issues de la fraction résiduelle à l'acétate d'éthyle (AARb)

Souches bactériennes	Substances testées en µg/mL		
	Sous-fractions, CMI et (CMB)		CHL
	AARb1	AARb2	
<i>E. coli</i>			
AG100Atet	64(512)	64(-)	32(256)
AG102	128(-)	512(-)	32(256)
ATCC8739	16(256)	64(512)	2(64)
ATCC10536	32(1024)	64(1024)	2(32)
<i>E. aerogenes</i>			
ATCC13048	16(512)	32(1024)	16(128)
EA-CM64	32(-)	64(-)	256(-)
EA27	32(-)	64(-)	32(256)
EA289	32(-)	64(-)	32(256)
<i>K. pneumoniae</i>			
ATCC11296	16(-)	64(-)	32(256)
KP55	16(1024)	32(-)	64(256)
KP63	8(512)	16(-)	32(256)
<i>P. stuartii</i>			
ATCC29916	128(-)	256(-)	64(256)
NEA16	128(-)	256(-)	64(256)
<i>P. aeruginosa</i>			
PA01	64(-)	64(-)	64(-)
PA124	-(-)	-(-)	256(-)

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; CMB : Concentration Minimale Bactéricide ; AARb1 : Fraction au n-butanol ; AARb2 : Fraction résiduelle au n-butanol ; CHL : Chloramphénicol ; - : >1024 µg/mL pour les sous-fractions, 256 µg/mL pour le chloramphénicol ; les valeurs entre parenthèses représentent les CMB.

Le Tableau IX montre une amélioration de l'activité antimicrobienne de la fraction AARb avec le fractionnement ; la sous fraction AARb1 a fait l'objet de la suite du fractionnement bioguidé.

Le Tableau X ci-dessous donne les valeurs de CMI et CMB des sous-fractions de AARb1 (AARb11-14) sur le panel de 15 bactéries. Les résultats obtenus avec les différentes sous-fractions mettent en exergue une sélectivité d'activité avec des valeurs de CMI comprises entre 8 µg/mL et 1024 µg/mL. Leurs effets inhibiteurs ont été observés sur 100% (15/15), 93,33% (14/15), 80% (12/15), et 60% (9/15) des bactéries testées avec les sous-fractions AARb13, AARb14, AARb11 et AARb12 respectivement. De plus, les sous-fractions

AARb13 et AARb14 ont présenté des profils d'activités plus élevés que ceux des sous-fractions AARb11 et AARb12.

La sous-fraction AARb13 sur la souche *K. pneumoniae* KP63 a présenté une CMI de 8 µg/mL. La valeur de CMI (16 µg/mL) a été obtenue avec certaines sous-fractions vis-à-vis de quelques souches à savoir : *E. coli* ATCC8739 et *K. pneumoniae* KP55 [cas de la sous-fraction AARb13] et *E. coli* ATCC8739 [cas de la sous-fraction AARb14]. L'activité de la sous-fraction AARb13 vis-à-vis de *E. aerogenes* EA-CM64 (CMI = 32 µg/mL), *K. pneumoniae* KP63 (CMI = 8 µg/mL) et *P. aeruginosa* PA01 (CMI = 32 µg/mL) et des sous-fractions AARb13 et AARb14 vis-à-vis de *K. pneumoniae* KP55 (CMI = 16 µg/mL et CMI = 32 µg/mL respectivement) ont été plus importantes comparées à celle de l'antibiotique de référence (CHL). Seule la sous-fraction AARb12 a présenté un effet bactéricide vis-à-vis de la souche *E. aerogenes* ATCC13048 (Tableau X).

Tableau X : Activités antibactériennes des sous-fractions issues de la fraction au n-butanol (AARb1)

Souches bactériennes	Substances testées en µg/mL				CHL
	Sous-fractions, CMI et (CMB)				
	AARb11	AARb12	AARb13	AARb14	
<i>E. coli</i>					
AG100Atet	512(-)	1024(-)	64(-)	256(-)	32(256)
AG102	1024(-)	-(-)	128(1024)	256(-)	32(256)
ATCC8739	64(1024)	128(-)	16(1024)	16(1024)	2(64)
ATCC10536	128(-)	256(-)	32(-)	64(-)	2(32)
<i>E. aerogenes</i>					
ATCC13048	128(-)	512(1024)	64(256)	128(512)	16(128)
EA-CM64	256(1024)	512(-)	32(128)	256(1024)	256(-)
EA27	128(-)	-(-)	32(1024)	128(-)	32(256)
EA289	512(-)	-(-)	64(-)	128(-)	32(256)
<i>K. pneumoniae</i>					
ATCC11296	128(-)	512(-)	32(512)	32(256)	32(256)
KP55	128(-)	256(-)	16(512)	32(1024)	64(256)
KP63	128(-)	128(1024)	8(128)	128(-)	32(256)
<i>P. stuartii</i>					
ATCC29916	-(-)	-(-)	256(-)	512(-)	64(256)
NEA16	-(-)	-(-)	128(1024)	256(-)	64(256)
<i>P. aeruginosa</i>					
PA01	256(-)	512(-)	32(-)	64(-)	64(-)
PA124	-(-)	-(-)	1024(-)	-(-)	256(-)

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; CMB : Concentration Minimale Bactéricide ; AARb11, AARb12, AARb13 et AARb14 : Sous-fractions issues de la fraction au n-butanol ; CHL : Chloramphénicol ; - : >1024 µg/mL pour les sous-fractions, 256 µg/mL pour le chloramphénicol ; les valeurs entre parenthèses représentent les CMB.

Ce Tableau X renseigne sur l'amélioration continue de l'activité antimicrobienne au fur à mesure que le fractionnement s'est poursuivi. C'est ainsi que la sous-fraction AARb13 a fait l'objet de la suite du fractionnement jusqu'à obtention des produits recherchés.

III.1.2.2.2. Activités antibactériennes *in vitro* des composés isolés de l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia*

Les composés isolés des racines de *Albizia adianthifolia* (1-9) ont été évalués pour leurs activités antibactériennes sur un panel de 11 microorganismes et les résultats sont compilés dans le Tableau XI. Globalement le composé 8 a été actif vis-à-vis des 11 souches bactériennes testées (100%) avec des valeurs de CMI comprises entre 16 et 128 µg/mL (Tableaux XI). Les composés 4 et 9 ont inhibé chacun 6/11 (54,54%) des souches testées. Par contre, les composés 2+3 et 7 ont inhibé respectivement la croissance de 5/11 (45,45%) et de 3/11 (27, 27%) bactéries testées, tandis que les composés 5 et 6 ont présenté des activités similaires en inhibant chacun 4/11 (36,36%) bactéries testées. Le composé 1 n'a présenté aucune activité antibactérienne au seuil de 128 µg/mL.

Le composé 4 sur la souche *P. aeruginosa* PA01 a eu une CMI de 2 µg/mL. La valeur de CMI (16 µg/mL) a été obtenue avec certains constituants vis-à-vis de quelques souches à savoir : *E. coli* ATCC10536 et *P. aeruginosa* PA01 [cas composé (2+3)], *E. coli* ATCC8739 et ATCC10536 [cas composé 4] et *E. coli* ATCC8739 et *P. aeruginosa* PA01 [cas composé 8]. L'activité du composé (2+3) vis-à-vis de *K. pneumoniae* KP55 (CMI = 32 µg/mL) ; du composé 8 vis-à-vis *P. stuartii* ATCC29916 (CMI = 32 µg/mL) ; des composés 2+3, 4 et 8 vis-à-vis de *P. aeruginosa* PA01 (CMI = 16 µg/mL, CMI = 2 µg/mL et CMI = 16 µg/mL respectivement) et des composés 4 et 8 vis-à-vis de *P. aeruginosa* PA124 (CMI = 128 µg/mL et CMI = 32 µg/mL respectivement) ont été plus importantes comparées à celle de l'antibiotique de référence (CHL). L'effet bactéricide des composés 2+3, 4, 8 et 5 a été notée vis-à-vis de 3/11, 2/11, 2/11 et 1/11 des pathogènes testés respectivement (Tableau XI).

Tableau XI : Activités antibactérienne des composés isolés des racines de *Albizia adanthifolia*

Souches bactériennes	Composés, CMI et CMB (entre parenthèse) « valeur en µg/mL »							
	2+3	4	5	6	7	8	9	CHL
<i>E. coli</i>								
AG102	-	128(-)	-	-	-	32(-)	128(-)	32(256)
ATCC8739	-	16(32)	-	-	-	16(-)	128(-)	2(64)
ATCC10536	16(32)	16(32)	-	32(-)	64(-)	64(-)	32(-)	2(32)
<i>E. aerogenes</i>								
ATCC13048	128 (-)	128(-)	128(-)	128(-)	128(-)	64(-)	128(-)	16(128)
EA27	-	-	-	-	-	128(-)	-	32(256)
<i>K. pneumoniae</i>								
ATCC11296	-	-	128(-)	-	-	32(128)	-	32(256)
KP55	32(64)	-	128(-)	128 (-)	128(-)	64(128)	-	64(256)
<i>P. stuartii</i>								
ATCC29916	64(128)	-	64(128)	128 (-)	-	32(64)	128(-)	64(256)
NEA16	-	-	-	-	-	64(-)	-	64(256)
<i>P. aeruginosa</i>								
PA01	16(64)	2(64)	-	-	-	16(128)	128(-)	64(> 256)
PA124	-	128(-)	-	-	-	32(-)	-	256(> 256)

- : > 128 µg/mL ; **2+3** : stigmastérol et de β -sitostérol ; **4** : β -sitostérol 3-O- β -D-glucopyranoside ; **5** : palmatine ; **6** : homomangiférine ; **7** : mangiférine ; **8** : acide 3-O- $\{\alpha$ -L-o- arabipyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl}oleanolique ; **9** : acide 3-O- $\{\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabipyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl}oléanolique ; **CHL** : chloramphénicol.

III.1.3. Résultats de l'évaluation des mécanismes de résistance et d'action de l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* et de ses constituants sélectionnés

III.1.3.1. Résultats sur le mécanisme d'efflux

L'analyse des résultats consignés dans le Tableau XII nous permet de constater que l'inhibiteur de pompes à efflux a permis d'améliorer l'activité de l'extrait brut et des composés isolés des racines de *Albizia adianthifolia* sur au moins une souche bactérienne, de toutes les substances testées. Il ressort également de ce tableau que, le PABN testé à une concentration inférieure ou égale à 128 µg/mL ne présente pas d'effet inhibiteur de la croissance vis-à-vis des bactéries sélectionnées.

Sur l'ensemble des souches testées, on note une amélioration de l'activité antibactérienne ($FAA \geq 2$) lors de l'association du PABN avec l'extrait brut et le composé **8**. Toutefois, le PABN, en association avec les composés **2+3**, **4**, **5**, **6** et **7** a induit une légère amélioration de l'activité antibactérienne sur la croissance de *Escherichia coli* AG102 d'une part, et *Enterobacter aerogenes* EA27 d'autre part.

Le composé **8** a présenté un facteur d'amélioration de l'activité supérieur ou égal à 4, sur l'ensemble des souches bactériennes testées avec potentialisation. Par ailleurs, la souche bactérienne de *P. stuartii* ATCC29916 a été la plus sensible à l'action des inhibiteurs des pompes à efflux, ceci est justifié par l'obtention d'un facteur d'amélioration de l'activité ayant une valeur minimale de 4 dans 77,77% des cas. L'amélioration a été relevée sur 100% des souches testées en présence de l'extrait brut, des composés **2+3**, **4** et **8** et du PABN ; activité comparable à celle du chloramphénicol (CHL) utilisé comme antibiotique de référence. Vis-à-vis de ces souches, on a noté que certains constituants de l'extrait brut étaient efflués, ce qui n'était plus le cas en présence de l'inhibiteur PABN.

L'amélioration des activités a été en général observée avec les composés **2+3**, **4** et **8**. Ils ont donc été sélectionnés pour l'étude de leurs effets anti-efflux et/ou synergiques.

Tableau XII : Facteurs d'amélioration de l'activité « FAA » et Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) de l'extrait brut des racines et composés de *Albizia adianthifolia*, et du chloramphénicol ($\mu\text{g/mL}$) en présence du PABN

<i>Souches bactériennes</i>	Extrait brut			Composés phytochimiques					
	Racine			2+3			4		
	CMI	+ Pa β N	FAA	CMI	+ Pa β N	FAA	CMI	+ Pa β N	FAA
<i>E. coli</i>									
AG102	1024	512	2	-	128	>1	128	64	2
ATCC10536	256	32	8	16	4	4	16	8	2
<i>E. aerogenes</i>									
ATCC13048	128	16	8	128	64	2	128	32	4
EA27	256	64	4	-	128	>1	-	128	>1
<i>K. pneumoniae</i>									
ATCC11296	128	32	4	-	128	>1	-	128	>1
KP55	256	64	4	32	8	4	-	128	>1
<i>P. stuartii</i>									
ATCC29916	512	16	32	64	2	32	-	16	>8
NEA16	1024	128	8	-	8	>16	-	16	>8
<i>P. aeruginosa</i>									
PA01	128	64	2	16	8	2	2	<1	>2
PA124	-	16	>64	-	2	>64	128	64	2

ATB : Antibiotique ; CHL : chloramphénicol ; CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; nd : non déterminée ; PABN : PhénylArginine β -Naphtylamide ; +PABN : CMI de l'extrait ou des composés en présence du PABN ; IPE : Inhibiteur de Pompes à Efflux ; Facteur d'amélioration de l'activité « FAA » : correspond au rapport de la CMI de l'échantillon testé en absence du PABN par la CMI de l'échantillon testé en présence du PABN ; - : >1024 $\mu\text{g/ml}$ (cas de l'extrait brut), - : >128 $\mu\text{g/ml}$ (cas des composés).

Tableau XII : Facteurs d'amélioration de l'activité « FAA » et Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) de l'extrait brut des racines et composés de *Albizia adianthifolia*, et du chloramphénicol (µg/mL) en présence du PAβN (suite)

<i>Souches bactériennes</i>	<i>Composés phytochimiques</i>								
	<i>5</i>			<i>6</i>			<i>7</i>		
	CMI	+ PaβN	FAA	CMI	+ PaβN	FAA	CMI	+ PaβN	FAA
<i>E. coli</i>									
AG102	-	-	Nd	-	-	nd	-	-	nd
ATCC10536	-	128	>1	32	8	4	64	8	8
<i>E. aerogenes</i>									
ATCC13048	128	64	2	128	64	2	128	32	4
EA27	-	-	Nd	-	-	nd	-	-	nd
<i>K. pneumoniae</i>									
ATCC11296	128	32	4	-	-	nd	-	-	nd
KP55	128	64	2	128	128	1	128	16	8
<i>P. stuartii</i>									
ATCC29916	64	16	4	128	32	4	-	-	nd
NEA16	-	128	>1	-	128	>1	-	128	>1
<i>P. aeruginosa</i>									
PA01	-	-	Nd	-	-	nd	-	-	nd
PA124	-	128	>1	-	-	nd	-	-	nd

ATB : Antibiotique ; CHL : chloramphénicol ; CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; nd : non déterminée ; PAβN : PhénylArginine β-Naphtylamide ; +PAβN : CMI de l'extrait ou des composés en présence du PAβN ; IPE : Inhibiteur de Pompes à Efflux ; Facteur d'amélioration de l'activité « FAA » : correspond au rapport de la CMI de l'échantillon testé en absence du PAβN par la CMI de l'échantillon testé en présence du PAβN ; - : >1024 µg/ml (cas de l'extrait brut), - : >128 µg/ml (cas des composés).

Tableau XII : Facteurs d'amélioration de l'activité « FAA » et Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) de l'extrait brut des racines et composés de *Albizia adianthifolia*, et du chloramphénicol ($\mu\text{g/mL}$) en présence du PA β N (suite et fin)

<i>Souches bactériennes</i>	Composés phytochimiques						ATB			IPE
	8			9			CHL			PA β N
	CMI	+ Pa β N	FAA	CMI	+ Pa β N	FAA	CMI	+ Pa β N	FAA	
<i>E. coli</i>										
AG102	32	8	4	128	32	4	32	4	8	>128
ATCC10536	64	8	8	32	4	8	2	<1	<2	>128
<i>E. aerogenes</i>										
ATCC13048	64	16	4	128	64	2	16	8	2	>128
EA27	128	16	8	-	128	>1	32	16	2	>128
<i>K. pneumoniae</i>										
ATCC11296	32	8	4	-	-	nd	32	8	4	>128
KP55	64	8	8	-	128	>1	64	32	2	>128
<i>P. stuartii</i>										
ATCC29916	32	8	4	128	32	4	64	8	8	>128
NEA16	64	16	4	-	-	nd	64	16	4	>128
<i>P. aeruginosa</i>										
PA01	16	4	4	128	64	2	64	8	8	>128
PA124	32	8	4	-	-	nd	256	16	16	>128

ATB : Antibiotique ; CHL : chloramphénicol ; CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; nd : non déterminée ; PA β N : PhénylArginine β -Naphtylamide ; +PA β N : CMI de l'extrait ou des composés en présence du PA β N ; IPE : Inhibiteur de Pompes à Efflux ; Facteur d'amélioration de l'activité « FAA » : correspond au rapport de la CMI de l'échantillon testé en absence du PA β N par la CMI de l'échantillon testé en présence du PA β N ; - : >1024 $\mu\text{g/ml}$ (cas de l'extrait brut), - : >128 $\mu\text{g/ml}$ (cas des composés).

III.1.3.2. Résultats des tests d'inhibition des pompes à efflux : potentialisation des antibiotiques par les composés isolés de l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia*

Les résultats du test préliminaire réalisé vis-à-vis de la souche pathogène *Pseudomonas aeruginosa* PA124 sont indiqués dans le Tableau XIII. Aucun effet synergique n'a été observé avec le Chloramphénicol (CHL) et la Pénicilline (PEN). Les effets de synergie ont été relevés avec la majorité des antibiotiques, aux concentrations des composés de CMI/2 et de CMI/4, lesquelles concentrations ont été retenues pour la suite des investigations.

Les résultats des effets de l'association de 7 antibiotiques usuels [Ciprofloxacine (CIP), Erythromycine (ERY), Gentamycine (GEN), Kanamycine (KAN), Norfloxacine (NOR), Streptomycine (STR), Tétracycline (TET)] aux quatre composés *de Albizia adianthifolia* sélectionnés [composés **2+3**, **4** et **8**] vis-à-vis de 7 pathogènes multirésistants sont consignés dans les Tableaux XIV, XV et XVI. Selon les données présentées dans ces tableaux, les effets synergiques ont varié de 28,5% à 100% vis-à-vis des différents microorganismes testés pour l'ensemble des composés. En combinaison avec les antibiotiques ERY et STR, tous les composés **2+3**, **4** et **8** ont présenté les effets synergiques les plus significatifs (100%) à leurs différentes concentrations sub-inhibitrices (CMI/2 et CMI/4) vis-à-vis de toutes les souches sélectionnées. Par contre, ces mêmes composés **2+3**, **4** et **8**, en association avec la KAN, ont présenté les effets synergiques les plus faibles, variant de 28,5% à 71,5% comparés aux autres antibiotiques du panel utilisé.

Aux concentrations sub-inhibitrices de CMI/2 et CMI/4, le composé **8** a présenté un potentiel synergique de 100% en combinaison à la Gentamycine (GEN). Effet également noté (100%) avec les composés **2+3** et **4** en combinaison à la TET à ces différentes concentrations. Nous avons observé également cet effet sur l'ensemble des souches avec le composé **4** combiné à la GEN à CMI/2, ainsi que le composé **8** avec la NOR à CMI/2.

Par ailleurs, aucun effet antagoniste n'a été noté avec les différents composés en association avec le panel d'antibiotiques usuels testés vis-à-vis de l'ensemble des souches bactériennes sélectionnées. Cependant, des effets d'indifférence notés ont été variables, en fonction des antibiotiques et des souches testées.

Tableau XIII : Effets de la combinaison des antibiotiques aux composés (**2+3**, **4** et **8**) des racines de *Albizia adianthifolia* vis-à-vis de *pseudomonas aeruginosa* PA124

Composés isolés	CMI (µg/mL) des antibiotiques en absence et en présence des composés et CIF (entre parenthèses)									
	CHL	CIP	ERY	GEN	KAN	NOR	PEN	STR	TET	
()	>64	2	>32	>4	0,5	>16	>128	>32	8	
2+3	CMI/2	>64	0,5 (0,25)S	32 (0,5)S	4 (0,5)S	<0,125(0,25)S	<0,125(0,007)S	>128	32 (0,5)S	4 (0,5)S
	CMI/4	>64	0,5 (0,25)S	32 (0,5)S	4 (0,5)S	<0,125(0,25)S	<0,125(0,007)S	>128	32 (0,5)S	4 (0,5)S
	CMI/8	>64	2	>32	>4	0,5 (1)I	>16	>128	>32	8 (1)I
	CMI/16	>64	2	>32	>4	0,5 (1)I	>16	>128	>32	8 (1)I
4	CMI/2	>64	2 (1)I	32 (0,5)S	4 (0,5)S	<0,125(0,25)S	8(<0,5)S	>128	32 (0,5)S	4 (0,5)S
	CMI/4	>64	2 (1)I	32 (0,5)S	4 (0,5)S	<0,125(0,25)S	8(<0,5)S	>128	32 (0,5)S	4 (0,5)S
	CMI/8	>64	2 (1)I	>32	>4	0,5 (1)I	>16	>128	>32	8 (1)I
	CMI/16	>64	2 (1)I	>32	>4	0,5 (1)I	>16	>128	>32	8 (1)I
8	CMI/2	>64	1 (0,5)S	32 (0,5)S	4 (0,5)S	<0,125(0,25)S	8(<0,5)S	>128	32 (0,5)S	4 (0,5)S
	CMI/4	>64	1 (0,5)S	32 (0,5)S	>4	<0,125(0,25)S	8(<0,5)S	>128	32 (0,5)S	4 (0,5)S
	CMI/8	>64	2 (1)I	>32	>4	0,5 (1)I	16(0,5)S	>128	>32	8 (1)I
	CMI/16	>64	2 (1)I	>32	>4	0,5 (1)I	16(0,5)S	>128	>32	8 (1)I

^aAntibiotiques [CHL: Chloramphénicol ; CIP : Ciprofloxacine, ERY: Erythromycine, GEN : Gentamycine, KAN : Kanamycine, NOR : Norfloxacine, PEN : Pénicilline, STR : Streptomycine, TET : Tétracycline] ; S : Synergie ; I : Indifférence ; CIF : Concentration Inhibitrice Fractionnelle ; **2+3** : stigmastérol et de β -sitostérol ; **4** : β -sitostérol 3-*O*- β -D-glucopyranoside ; **8** : acide 3-O- $\{\alpha$ -L-o- arabipyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl}oleanolique.

Tableau XIV : Effets de la combinaison des antibiotiques au composé 2+3 à CMI/2 et CMI/4 contre des souches bactériennes multirésistantes sélectionnées

Antibiotiques ^a	Souches bactériennes, CMI (µg/mL) des antibiotiques en absence et en présence du composé 2+3 et CIF (entre parenthèses)								
	Concentration de 2+3	PA124	KP55	ATCC11296	EA27	ATCC13048	AG102	ATCC10536	PBSS (%)
CIP	0	2	0,5	0,5	0,5	4	2	0,125	
	CMI/2	0,5(0,25)S	0,5(1)I	0,25 (0,5)S	0,25 (0,5)S	0,125(0,031)S	0,5(0,25)S	0,125 (1)I	(5/7) 71,4%
	CMI/4	0,5(0,25)S	0,5 (1)I	0,25 (0,5)S	0,5 (1)I	0,5 (0,125)S	1 (0,5)S	0,125 (1)I	(4/7) 57,1%
ERY	0	>32	4	>32	>32	>32	16	16	
	CMI/2	32 (0,5)S	2(0,5)S	4 (<0,125)S	32 (0,5)S	32 (0,5)S	8 (0,5)S	8 (0,5)S	(7/7) 100%
	CMI/4	32 (0,5)S	2(0,5)S	4 (<0,125)S	32 (0,5)S	32 (0,5)S	8 (0,5)S	8 (0,5)S	(7/7) 100%
GEN	0	>4	2	>4	4	4	>4	4	
	CMI/2	4 (0,5)S	1(0,5)S	0,125(<0,031)S	4 (1)I	2 (0,5)S	4 (0,5)S	2(0,5)S	(6/7) 85,7%
	CMI/4	4 (0,5)S	1(0,5)S	0,125(<0,031)S	4 (1)I	2 (0,5)S	4 (0,5)S	2(0,5)S	(6/7) 85,7%
KAN	0	0,5	2	4	4	16	16	4	
	CMI/2	<0,125(0,25)S	2(1)I	2 (0,5)S	4 (1)I	16 (1)I	8 (0,5)S	4 (1)I	(3/7) 42,8%
	CMI/4	<0,125(0,25)S	2(1)I	2 (0,5)S	4 (1)I	16 (1)I	8 (0,5)S	4 (1)I	(3/7) 42,8%
NOR	0	>16	16	1	16	16	2	1	
	CMI/2	<0,125(0,007)S	8 (0,5)S	1 (1)I	4 (0,25)S	2 (0,125)S	2 (1)I	1 (1)I	(4/7) 57,1%
	CMI/4	<0,125(0,007)S	8 (0,5)S	1 (1)I	4 (0,25)S	4 (0,25)S	2 (1)I	1 (1)I	(4/7) 57,1%
STR	0	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32	
	CMI/2	32 (0,5)S	16(<0,5)S	32 (0,5)S	16(<0,5)S	32 (0,5)S	16 (<0,5)S	2 (<0,062)S	(7/7) 100%
	CMI/4	32 (0,5)S	32 (0,5)S	32 (0,5)S	16(<0,5)S	32 (0,5)S	16 (<0,5)S	4 (<0,125)S	(7/7) 100%
TET	0	8	0,125	>16	>16	>16	>16	16	
	CMI/2	4 (0,5)S	0,0625(0,5)S	8 (<0,5)S	16 (0,5)S	4 (<0,25)S	1(<0,062)S	0,125(0,007)S	(7/7) 100%
	CMI/4	4 (0,5)S	0,0625(0,5)S	8 (<0,5)S	16 (0,5)S	4 (<0,25)S	1(<0,062)S	0,125(0,007)S	(7/7) 100%

^aAntibiotiques [CIP : Ciprofloxacine, ERY: Erythromycine, GEN : Gentamycine, KAN : Kanamycine, NOR : Norfloxacine, STR: Streptomycine, TET : Tetracycline]. ^bBactéries : *Escherichia coli* [ATCC10536, AG102], *Pseudomonas aeruginosa* [PA124], *Enterobacter aerogenes* [ATCC13048, EA27], *Klebsiella pneumoniae* [ATCC11296, KP55]. PBSS : Pourcentage de Bactéries où des synergies sont observées ; S : Synergie ; I : Indifférence ; CIF : Concentration Inhibitrice Fractionnelle, 0 : pas de composé (seul l'antibiotique a été testé).

Tableau XV : Effets de la combinaison des antibiotiques au composé 4 à CMI/2 et CMI/4 contre des souches bactériennes multirésistantes sélectionnées

Antibiotiques ^a	Souches bactériennes, CMI (µg/mL) des antibiotiques en absence et en présence du composé 4 et CIF (entre parenthèses)								
	Concentration de 4	PA124	KP55	ATCC11296	EA27	ATCC13048	AG102	ATCC10536	PBSS (%)
CIP	0	2	0,5	0,5	0,5	4	2	0,125	
	CMI/2	2 (1)I	0,5 (1)I	0,25 (0,5)S	0,25 (0,5)S	0,5 (0,125)S	0,5(0,25)S	0,125 (1)I	(4/7) 57,1%
	CMI/4	2 (1)I	0,5 (1)I	0,25 (0,5)S	0,25 (0,5)S	0,5 (0,125)S	0,5(0,25)S	0,125 (1)I	(4/7) 57,1%
ERY	0	>32	4	>32	>32	>32	16	16	
	CMI/2	32 (0,5)S	2(0,5)S	4 (<0,125)S	32 (0,5)S	4 (<0,125)S	4 (0,25)S	8 (0,5)S	(7/7) 100%
	CMI/4	32 (0,5)S	2(0,5)S	4 (<0,125)S	32 (0,5)S	8 (<0,25)S	4 (0,25)S	8 (0,5)S	(7/7) 100%
GEN	0	>4	2	>4	4	4	>4	4	
	CMI/2	4 (0,5)S	1(0,5)S	0,0625(<0,015)S	1 (0,25)S	2 (0,5)S	4 (0,5)S	0,5 (0,125)S	(7/7) 100%
	CMI/4	4 (0,5)S	2 (1)I	0,0625(<0,015)S	1 (0,25)S	2 (0,5)S	4 (0,5)S	2(0,5)S	(6/7) 85,7%
KAN	0	0,5	2	4	4	16	16	4	
	CMI/2	<0,125(0,25)S	1 (0,5)S	2 (0,5)S	4 (1)I	16 (1)I	16 (1)I	4 (1)I	(3/7) 42,8%
	CMI/4	<0,125(0,25)S	2 (1)I	2 (0,5)S	4 (1)I	16 (1)I	16 (1)I	4 (1)I	(2/7) 28,5%
NOR	0	>16	16	1	16	16	2	1	
	CMI/2	8(<0,5)S	2(0,125)S	0,5 (0,5)S	4 (0,25)S	8 (0,5)S	2 (1)I	0,5 (0,5)S	(6/7) 85,7%
	CMI/4	8(<0,5)S	2(0,125)S	0,5 (0,5)S	8 (0,5)S	8 (0,5)S	2 (1)I	0,5 (0,5)S	(6/7) 85,7%
STR	0	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32	
	CMI/2	32 (0,5)S	32 (0,5)S	32 (0,5)S	16(<0,5)S	32 (0,5)S	16 (<0,5)S	2 (<0,062)S	(7/7) 100%
	CMI/4	32 (0,5)S	32 (0,5)S	32 (0,5)S	16(<0,5)S	32 (0,5)S	16 (<0,5)S	2 (<0,062)S	(7/7) 100%
TET	0	8	0,125	>16	>16	>16	>16	16	
	CMI/2	4 (0,5)S	0,0625(0,5)S	0,5 (<0,031)S	4(<0,25)S	0,5(<0,031)S	2(<0,125)S	0,125(0,007)S	(7/7) 100%
	CMI/4	4 (0,5)S	0,0625(0,5)S	0,5 (<0,031)S	8 (<0,5)S	0,5(<0,031)S	2(<0,125)S	0,125(0,007)S	(7/7) 100%

^aAntibiotiques [CIP : Ciprofloxacine, ERY: Erythromycine, GEN : Gentamycine, KAN : Kanamycine, NOR : Norfloxacine, STR: Streptomycine, TET : Tetracycline]. ^bBactéries : *Escherichia coli* [ATCC10536, AG102], *Pseudomonas aeruginosa* [PA124], *Enterobacter aerogenes* [ATCC13048, EA27], *Klebsiella pneumoniae* [ATCC11296, KP55]. PBSS : Pourcentage de Bactéries où des synergies sont observées ; S : Synergie ; I : Indifférence ; CIF : Concentration Inhibitrice Fractionnelle, 0 : pas de composé (seul l'antibiotique a été testé).

Tableau XVI : Effets de la combinaison des antibiotiques au composé 8 à CMI/2 et CMI/4 contre des souches bactériennes multirésistantes sélectionnées

Antibiotiques ^a	Souches bactériennes, CMI (µg/mL) des antibiotiques en absence et en présence du composé 8 et CIF (entre parenthèses)								
	Concentration	PA124	KP55	ATCC11296	EA27	ATCC13048	AG102	ATCC10536	PBSS (%)
	De 8								
CIP	0	2	0,5	0,5	0,5	4	2	0,125	
	CMI/2	1 (0,5)S	0,5 (1)I	0,25 (0,5)S	0,125(0,25)S	0,5 (0,125)S	0,5(0,25)S	0,0625(0,5)S	(6/7) 85,7%
	CMI/4	2 (1)I	0,5 (1)I	0,5 (1)I	0,125(0,25)S	0,5 (0,125)S	0,5(0,25)S	0,125 (1)I	(3/7) 42,8%
ERY	0	>32	4	>32	>32	>32	16	16	
	CMI/2	32 (0,5)S	2(0,5)S	<0,25(<0,007)S	16(<0,5)S	8 (<0,25)S	4 (0,25)S	8 (0,5)S	(7/7) 100%
	CMI/4	32 (0,5)S	4 (1)I	<0,25(<0,007)S	16(<0,5)S	8 (<0,25)S	4 (0,25)S	8 (0,5)S	(7/7) 100%
GEN	0	>4	2	>4	4	4	>4	4	
	CMI/2	4 (0,5)S	1(0,5)S	1 (<0,25)S	1 (0,25)S	2 (0,5)S	2 (<0,5)S	0,5 (0,125)S	(7/7) 100%
	CMI/4	>4	1(0,5)S	1 (<0,25)S	1 (0,25)S	2 (0,5)S	2 (<0,5)S	2(0,5)S	(6/6) 100%
KAN	0	0,5	2	4	4	16	16	4	
	CMI/2	<0,125(0,25)S	1 (0,5)S	2 (0,5)S	4 (1)I	16 (1)I	8 (0,5)S	2 (0,5)S	(5/7) 71,4%
	CMI/4	<0,125(0,25)S	2 (1)I	4 (1)I	4 (1)I	16 (1)I	8 (0,5)S	4 (1)I	(2/7) 28,5%
NOR	0	>16	16	1	16	16	2	1	
	CMI/2	8(<0,5)S	2(0,125)S	0,125(0,125)S	4 (0,25)S	8 (0,5)S	0,5 (0,25)S	0,5 (0,5)S	(7/7) 100%
	CMI/4	8(<0,5)S	2(0,125)S	0,5 (0,5)S	4 (0,25)S	16 (1)I	2 (1)I	1 (1)I	(4/7) 57,1%
STR	0	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32	
	CMI/2	32 (0,5)S	32 (0,5)S	2 (<0,062)S	32 (0,5)S	32 (0,5)S	16 (<0,5)S	2 (<0,062)S	(7/7) 100%
	CMI/4	32 (0,5)S	32 (0,5)S	2 (<0,062)S	32 (0,5)S	32 (0,5)S	16 (<0,5)S	4 (<0,125)S	(7/7) 100%
TET	0	8	0,125	>16	>16	>16	>16	16	
	CMI/2	4 (0,5)S	0,125 (1)I	0,125(<0,007)S	4(<0,25)S	0,125(<0,007)S	0,5(<0,031)S	0,125(0,007)S	(6/7) 85,7%
	CMI/4	4 (0,5)S	0,125 (1)I	0,125(<0,007)S	4(<0,25)S	0,125(<0,007)S	1(<0,062)S	0,125(0,007)S	(6/7) 85,7%

^aAntibiotiques [CIP : Ciprofloxacine, ERY: Erythromycine, GEN : Gentamycine, KAN : Kanamycine, NOR : Norfloxacine, STR: Streptomycine, TET : Tetracycline]. ^bBactéries : *Escherichia coli* [ATCC10536, AG102], *Pseudomonas aeruginosa* [PA124], *Enterobacter aerogenes* [ATCC13048, EA27], *Klebsiella pneumoniae* [ATCC11296, KP55]. PBSS : Pourcentage de Bactéries où des synergies sont observées ; S : Synergie ; I : Indifférence ; CIF : Concentration Inhibitrice Fractionnelle, 0 : pas de composé (seul l'antibiotique a été testé).

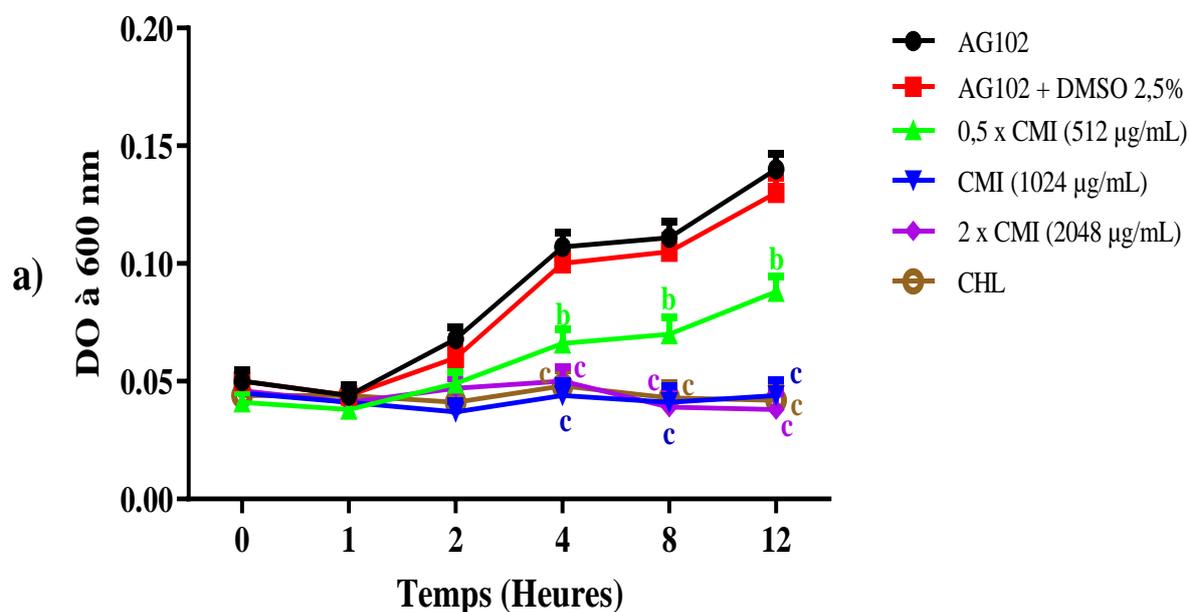
III.1.3.3. Résultats de l'évaluation de l'effet de l'extrait brut des racines et du composé 8 de *Albizia adianthifolia* sur la croissance bactérienne

Une analyse des résultats présentés dans les Figures 10 et 11 montre de manière générale qu'en absence des substances tests (inoculum seul), les courbes de croissance des souches de *E. coli* AG102 et de *K. pneumoniae* KP55 ont une allure régulière d'une courbe de croissance bactérienne. Ainsi, l'on observe distinctement chez *K. pneumoniae* KP55 : une phase de latence, une phase d'accélération, une phase exponentielle et une phase stationnaire. Chez *E. coli* AG102 cependant, la courbe de croissance bactérienne montre deux (02) phases : une phase de latence et une phase exponentielle. La phase de latence dure environ 1,57 heures « cas de *E. coli* AG102 » et 3,76 heures « cas de *K. pneumoniae* KP55 » après adaptation au modèle de Baramyi et au terme de la quelle, la multiplication active des souches bactériennes commence. La phase exponentielle quant à elle dure entre la 2^{ème} et la 4^{ème} heure puis recommence à la 8^{ème} jusqu'à la 12^{ème} heure pour *E. coli* AG102 et de la 4^{ème} à la 8^{ème} heure pour *K. pneumoniae* KP55 où au-delà de 8 heures, la phase stationnaire commence. La présence du DMSO 2,5% n'affecte pas la croissance bactérienne quelque soit la souche utilisée. Nous avons aussi relevé de ses différentes figures que, selon les échantillons et qu'importaient les concentrations de ces derniers, le taux de croissance du contrôle négatif (inoculum seul) était plus important. La molécule de référence ici est le chloramphénicol (CHL) à la CMI, et a présenté un effet inhibiteur sur la croissance de ces souches bactériennes tout le long de l'expérience. Des baisses significatives des concentrations microbiennes en fonction du temps ont également été notées au niveau des différentes cultures de bactéries traitées avec les échantillons tests « extrait brut, composé 8 aux concentrations à 0,5 x CMI, CMI et 2 x CMI » et au CHL en comparaison aux contrôles négatifs.

III.1.3.3.1. Résultats du test de l'effet de l'extrait brut des racines et du composé 8 de *Albizia adianthifolia* sur la croissance de *E. coli* AG102

La Figure 10 ci-dessous représente les courbes obtenues suite à l'évaluation de l'effet de l'extrait des racines de *Albizia adianthifolia* (Figure 10a) et du composé 8 (Figure 10b) à différentes concentrations sur la croissance de *E. coli* AG102 à des intervalles de temps pendant 12 heures. Et les tableaux respectifs en dessous de ces courbes présentent les paramètres cinétiques obtenus après adaptation des données au modèle de Baramyi.

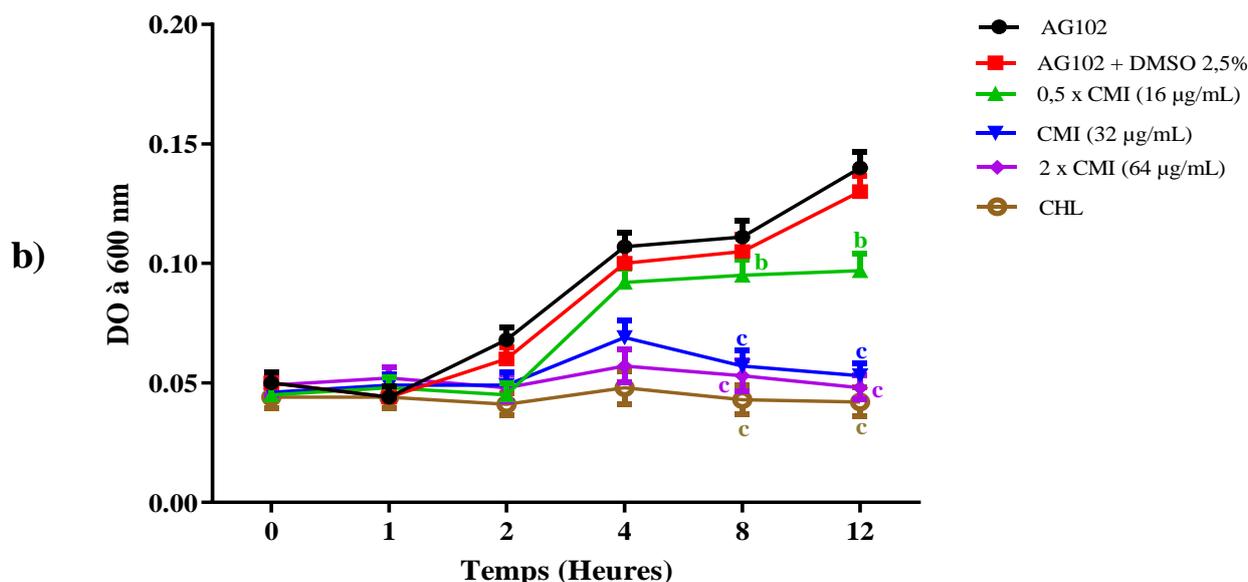
A. adianthifolia ; *E. coli* AG102



Paramètres cinétiques adaptés au modèle de Baranyi (cas de <i>A. adianthifolia</i> sur <i>E. coli</i> AG102)	Vitesse (DO/Heure)	Temps de Latence (Heure)
AG102	0,00777	1,578
AG102 + DMSO 2,5%	0,00710	1,591
0,5 x CMI (512 µg/mL)	0,00701	1,61
CMI (1024 µg/mL)	0,00012	Nd
2 x CMI (2048 µg/mL)	-0,00066	Nd
CHL	-0,00012	Nd

$R^2 > 0,85$

Composé 8 ; *E. coli* AG102



Paramètres cinétiques adaptés au modèle de Baramyi (cas du Composé 8 sur <i>E. coli</i> AG102)	Vitesse (DO/Heure)	Temps de Latence (Heure)
AG102	0,00777	1,578
AG102 + DMSO 2,5%	0,00710	1,591
0,5 x CMI (16 µg/mL)	0,06735	3,273
CMI (32 µg/mL)	0,00057	Nd
2 x CMI (64 µg/mL)	-0,00005	Nd
CHL	-0,00012	Nd

$R^2 > 0,85$

Figure 10 : Courbe de croissance de *E. coli* AG102 en présence de l'extrait des racines de *Albizia adianthifolia* (a) et du composé 8 (b)

Chaque point représente la moyenne \pm ESM ; $n = 3$ (nombre de répétition). ^b $p < 0,01$ différence significative par rapport au témoin négatif (AG102) ; ^c $p < 0,001$ différence significative par rapport au témoin négatif (AG102) ; AG102 = Souche de *E. coli* ; DMSO 2,5% = Diméthylsulfoxyde à 2,5% (v/v) ; 0,5 x CMI = Concentration Minimale Inhibitrice multipliée par un demi ; CMI = Concentration Minimale Inhibitrice ; 2 x CMI = Concentration Minimale Inhibitrice multipliée par deux ; CHL = Chloramphénicol, R^2 = Coefficient de détermination ; Nd = Non déterminé ; (-) = Mortalité des microorganismes.

La Figure 10a illustre la courbe de croissance de la souche *E. coli* AG102 en présence de l'extrait brut. Aux concentrations CMI et 2 x CMI de l'extrait brut des racines de *Albizia*

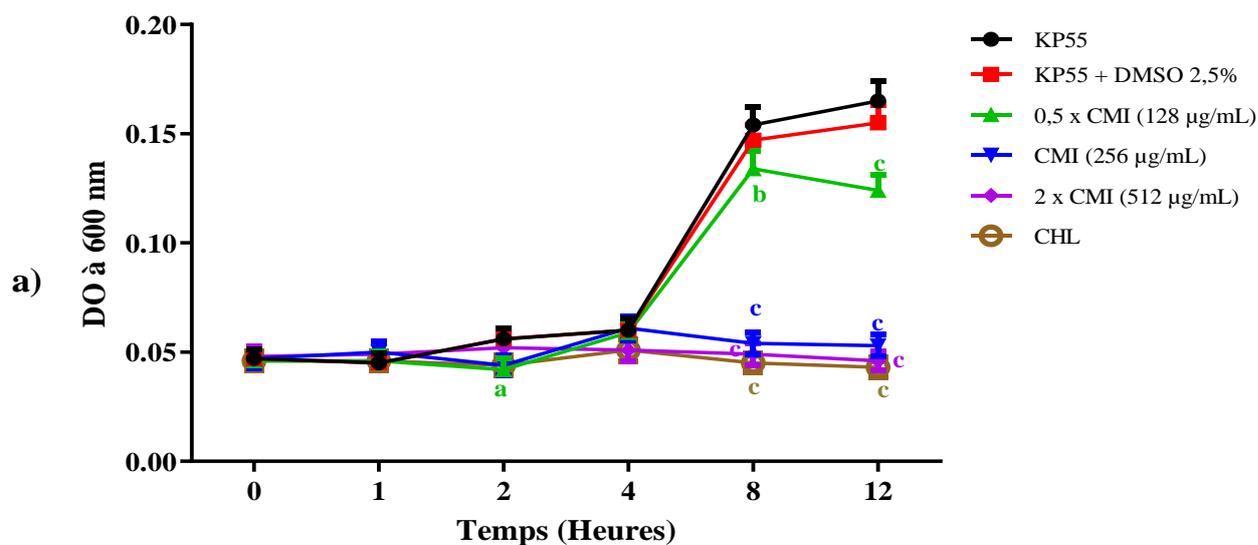
adanthifolia, les courbes de croissance sont presque parallèles à l'axe des abscisses, preuve que l'extrait brut à ces concentrations a empêché complètement la croissance de la bactérie. A la concentration 0,5 x CMI, l'extrait brut a exercé un effet inhibiteur de la croissance au niveau de la phase exponentielle pendant laquelle, la pente observée est moins abrupte à cette concentration de l'extrait. De plus, à cette même concentration (0,5 x CMI), la phase de latence est restée presque identique à celle du contrôle négatif avec une durée de 1,61 heures. Nous n'avons également noté de cette figure, aucune différence significative de la concentration en microorganisme entre les groupes de cellules bactériennes traitées à CMI, 2 x CMI et au CHL tout au long de l'expérimentation. A la 12^{ème} heure, il a été noté une baisse significative de la concentration en microorganisme de 37,14% ($p < 0,01$), 68,57% ($p < 0,001$), 72,86% ($p < 0,001$) et 70% ($p < 0,001$) respectivement à 0,5 x CMI, CMI, 2 x CMI et au CHL en comparaison au témoin négatif (AG102).

La Figure 10b quant à elle montre également qu'avec les concentrations (2 x CMI, CMI et 0,5CMI), le composé **8** a exercé un effet concentration-dépendant sur la courbe de croissance de la bactérie. Cet effet est observé au niveau de la phase de croissance exponentielle qui présente des pentes de moins en moins abruptes au fur et à mesure que la concentration du composé **8** augmente. A ces concentrations, le composé **8** a provoqué un allongement de la phase de latence jusqu'environ 3,273 heures. Après la 4^{ème} heure, le composé **8** à la concentration 0,5 x CMI a provoqué un allongement de la phase stationnaire jusqu'à la fin de l'expérimentation, alors qu'aux concentrations 2 x CMI et CMI, et toujours à la 4^{ème} heure, le composé **8** a induit une diminution de la croissance des bactéries jusqu'à la 12^{ème} heure de l'expérimentation, caractérisée par une phase de déclin. De plus, à cette même 12^{ème} heure, il a été noté une baisse significative de la concentration en microorganisme de 30,71% ($p < 0,01$), 62,14% ($p < 0,001$), 65,71% ($p < 0,001$) et 70% ($p < 0,001$) respectivement à 0,5 x CMI, CMI, 2 x CMI et au CHL en comparaison au témoin négatif (AG102).

III.1.3.3.2. Résultats du test de l'effet de l'extrait brut des racines et du composé **8 de *Albizia adanthifolia* sur la croissance de *K. pneumoniae* KP55**

Les courbes de la Figure 11 ci-dessous illustrent les effets de l'extrait des racines de *Albizia adanthifolia* (Figure 11a) et du composé **8** (Figure 11b) à différentes concentrations sur la croissance de *K. pneumoniae* KP55 à des intervalles de temps pendant 12 heures. Et les paramètres cinétiques obtenus après adaptation des données au modèle de Baramyi sont consignés dans les tableaux respectifs en dessous de ces courbes.

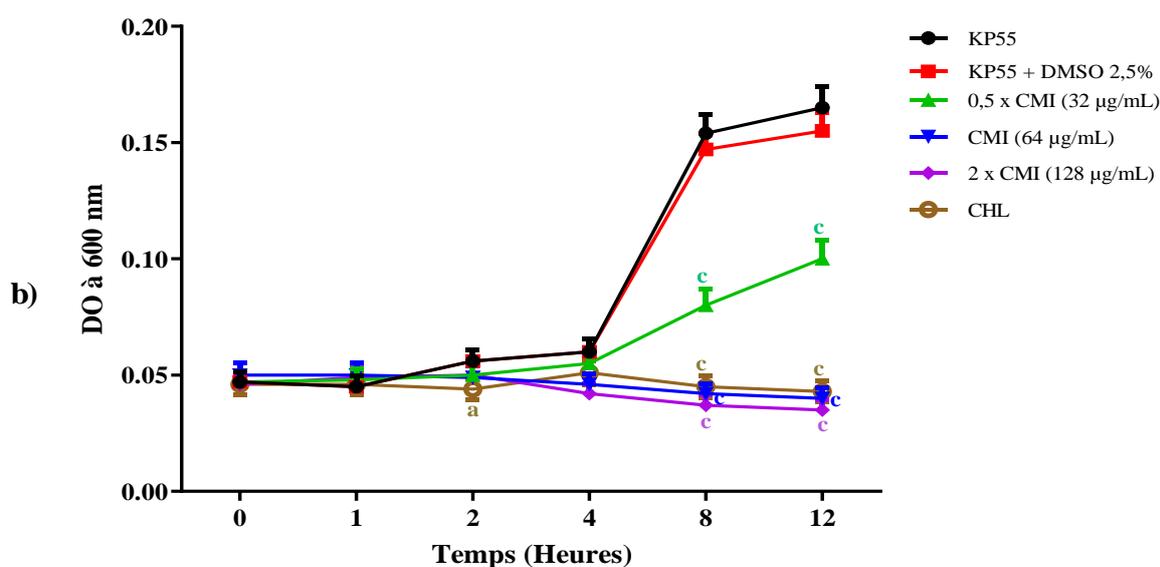
A. adianthifolia ; *K. pneumoniae* KP55



Paramètres cinétiques adaptés au modèle de Baramyi (cas de <i>A. adianthifolia</i> sur <i>K. pneumoniae</i> KP55)	Vitesse (DO/Heure)	Temps de Latence (Heure)
KP55	0,02674	3,76
KP55 + DMSO 2,5%	0,02493	3,77
0,5 x CMI (128 µg/mL)	0,04890	3,90
CMI (256 µg/mL)	0,00055	Nd
2 x CMI (512 µg/mL)	-0,00024	Nd
CHL	-0,00021	Nd

$R^2 > 0,98$

Composé 8 ; *K. pneumoniae* KP55



Paramètres cinétiques adaptés au modèle de Baramyi (cas du Composé 8 sur <i>K. pneumoniae</i> KP55)	Vitesse (DO/Heure)	Temps de Latence (Heure)
KP55	0,02674	3,76
KP55 + DMSO 2,5%	0,02493	3,77
0,5 x CMI (128 µg/mL)	0,00565	3,88
CMI (256 µg/mL)	-0,00091	Nd
2 x CMI (512 µg/mL)	-0,00123	Nd
CHL	-0,00021	Nd

$R^2 > 0,98$

Figure 11 : Courbe de croissance de *K. pneumoniae* KP55 en présence de l'extrait des racines de *Albizia adianthifolia* (a) et du composé 8 (b)

Chaque point représente la moyenne \pm ESM ; $n = 3$ (nombre de répétition). ^a $p < 0,05$ différence significative par rapport au témoin négatif (KP55) ; ^b $p < 0,01$ différence significative par rapport au témoin négatif (KP55) ; ^c $p < 0,001$ différence significative par rapport au témoin négatif (KP55) ; **KP55** = Souche de *K. pneumoniae* ; **DMSO 2,5%** = Diméthylsulfoxyde à 2,5% (v/v) ; **0,5 x CMI** = Concentration Minimale Inhibitrice multipliée par un demi ; **CMI** = Concentration Minimale Inhibitrice ; **2 x CMI** = Concentration Minimale Inhibitrice multipliée par deux ; **CHL** = Chloramphénicol ; R^2 = Coefficient de détermination ; **Nd** = Non déterminé ; (-) = Mortalité des microorganismes.

La Figure 11a montre la courbe de croissance de la souche *K. pneumoniae* KP55 en présence de l'extrait brut. De cette figure, il ressort que, aux concentrations CMI et 2 x CMI de l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia*, les courbes de croissance sont restées presque parallèles à l'axe des abscisses, preuve que l'extrait brut à ces concentrations a empêché complètement la croissance de la bactérie. A la concentration 0,5 x CMI, l'extrait brut a exercé un effet inhibiteur de la croissance de la bactérie (de la 8^{ème} heure jusqu'à la fin de l'expérimentation) caractérisé par une phase de déclin. De même, à cette concentration (0,5 x CMI), l'extrait brut a provoqué un allongement de la phase de latence jusqu'environ 3,90 heures. Nous avons aussi noté de cette figure que, l'extrait testé à la concentration de 0,5 x CMI a induit une baisse significative de la croissance du microorganisme à la 2^{ème} heure [25% ($p < 0,05$)], 8^{ème} heure [12,99% ($p < 0,01$)] et 12^{ème} heure [24,85% ($p < 0,001$)] en comparaison au témoin négatif (KP55). De plus, à la 12^{ème} heure, il a également été observé à CMI, 2 x CMI et au CHL une baisse significative de la concentration en microorganisme respectivement de 67,88% ($p < 0,001$), 72,12% ($p < 0,001$) et 73,94% ($p < 0,001$) comparativement au témoin négatif (KP55).

La Figure 11b quant à elle présente la courbe de croissance de la souche *K. pneumoniae* KP55 en présence du composé **8**. Cette figure montre que, lorsque le composé **8** aux concentrations CMI et 2 x CMI est ajouté au milieu de culture, la croissance est nulle (courbe quasi rectiligne et horizontale). A la concentration 0,5 x CMI, le composé **8** a provoqué un allongement de la phase de latence jusqu'environ 3,88 heures. Après la 4^{ème} heure, le composé **8** à la concentration 0,5 x CMI a provoqué un allongement de la phase exponentielle jusqu'à la fin de l'expérimentation avec une baisse significative de la concentration en microorganisme de 48,06% ($p < 0,001$) et 39,40% ($p < 0,001$) respectivement à la 8^{ème} heure et à la 12^{ème} heure en comparaison au témoin négatif (KP55). Tout au long de l'expérimentation, aucune différence significative sur les concentrations en microorganismes n'a été observée entre les groupes de cellules bactériennes traitées à CMI, 2 x CMI et au CHL. A la 12^{ème} heure, Il a également été noté une baisse significative de la concentration microbienne de 75,76% ($p < 0,001$) et 78,79% ($p < 0,001$) respectivement à CMI et 2 x CMI comparativement au témoin négatif (KP55).

III.1.3.4. Résultats de l'évaluation de l'effet de l'extrait brut des racines et du composé **8 de *Albizia adianthifolia* sur la membrane bactérienne**

Dans la recherche des possibles voies par lesquelles l'extrait brut des racines et le composé **8** de *Albizia adianthifolia* agirait, nous avons évalué leur effet sur la membrane

bactérienne. Les résultats obtenus après traitement des cellules bactériennes et dosage des protéines dans les milieux de culture issues de l'hydrolyse membranaire des bactéries par le réactif de Bradford avec différents échantillons aux concentrations 2 x CMI, CMI et 0,5 x CMI sont présentés dans les Figures 12 et 13.

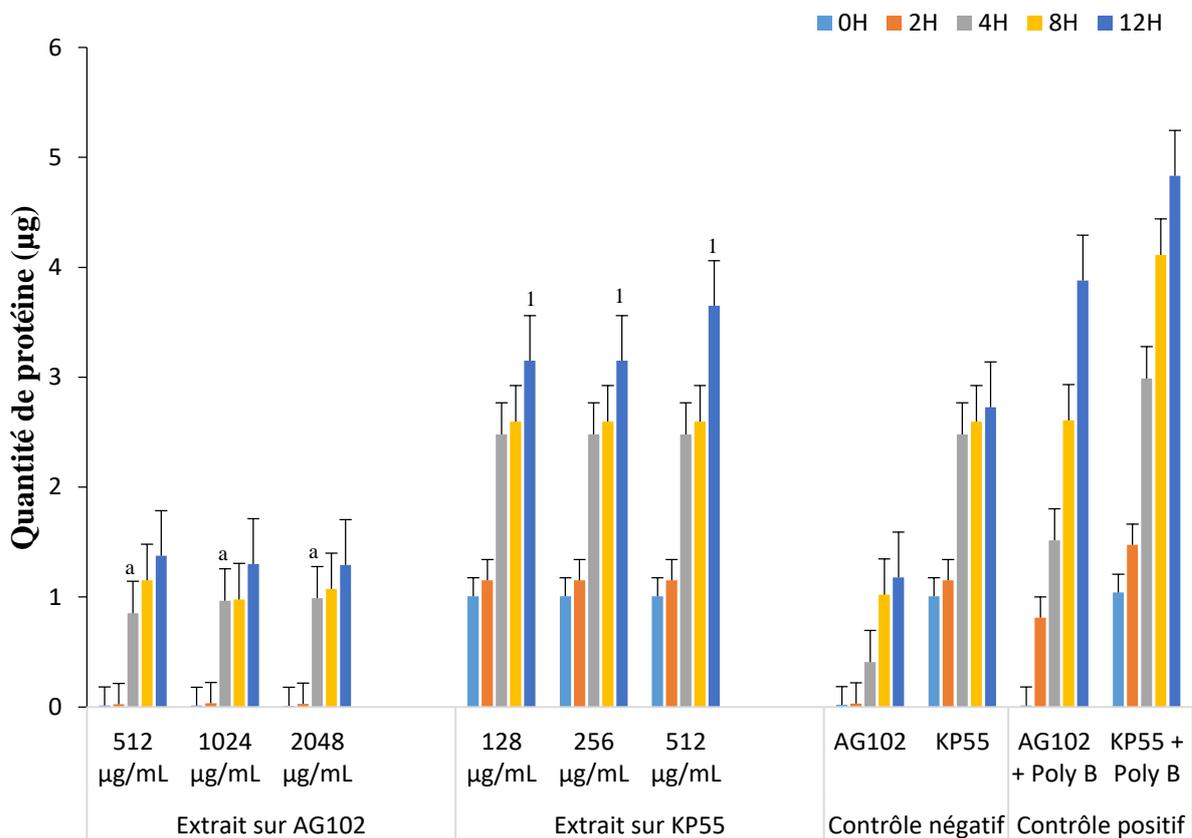


Figure 12 : Quantités de protéines dans les milieux inoculés avec les souches de *E. coli* AG102 et *K. pneumoniae* KP55 et traité avec l'extrait brut des racines de *A. adianthifolia*

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; $n = 3$ (nombre de répétition). ^a $p < 0,05$ différence significative par rapport au contrôle négatif (AG102) ; ¹ $p < 0,05$ différence significative par rapport au contrôle négatif (KP55) ; 512 µg/mL, 1024 µg/mL et 2048 µg/mL représentent respectivement les valeurs de 0,5 x CMI, CMI et 2 x CMI de l'extrait sur la souche *E. coli* AG102 ; 128 µg/mL, 256 µg/mL et 512 µg/mL représentent respectivement les valeurs de 0,5 x CMI, CMI et 2 x CMI de l'extrait sur la souche *K. pneumoniae* KP55 ; AG102 + Poly B et KP55 + Poly B correspond respectivement aux solutions des souches *E. coli* AG102 et *K. pneumoniae* KP55 traitées avec la polymyxine B.

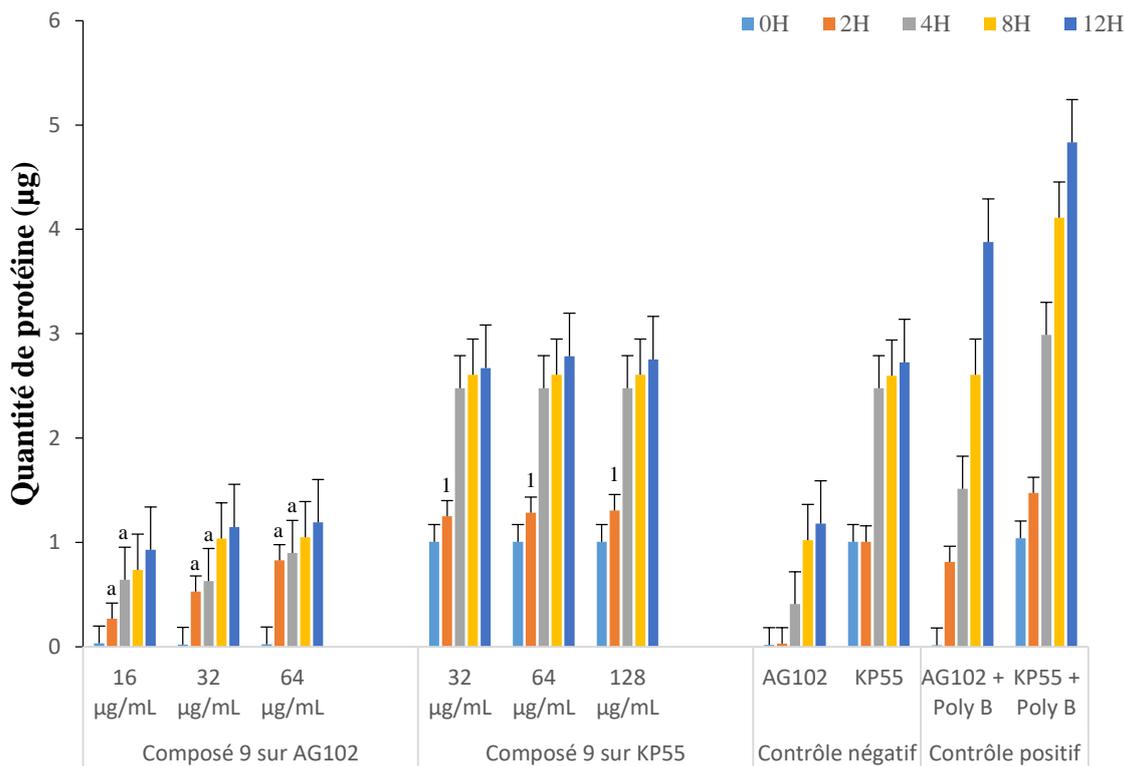


Figure 13 : Quantités de protéines dans les milieux inoculés avec les souches de *E. coli* AG102 et *K. pneumoniae* KP55 et traité avec composé **8**

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; $n = 3$ (nombre de répétition). ^a $p < 0,05$ différence significative par rapport au contrôle négatif (AG102) ; ¹ $p < 0,05$ différence significative par rapport au contrôle négatif (KP55) ; **16 µg/mL**, **32 µg/mL** et **64 µg/mL** représentent respectivement les valeurs de 0,5 x CMI, CMI et 2 x CMI du composé **8** sur la souche *E. coli* AG102 ; **32 µg/mL**, **64 µg/mL** et **128 µg/mL** représentent respectivement les valeurs de 0,5 x CMI, CMI et 2 x CMI du composé **8** sur la souche *K. pneumoniae* KP55 ; **AG102 + Poly B** et **KP55 + Poly B** correspond respectivement aux solutions des souches *E. coli* AG102 et *K. pneumoniae* KP55 traitées avec la polymyxine B.

A l'analyse des résultats présentés dans les Figures 12 et 13 ci-dessus, on constate qu'indépendamment du temps et de la concentration, les quantités de substances protéiques dosées sont significativement différentes de celles observées dans les suspensions ne contenant pas de substance test et selon les souches (témoins négatifs). Le composé **8** a induit une augmentation significative ($p < 0,05$) de la quantité de protéines totales dans les cultures de cellules de *E. coli* AG102 à la 2^{ème} et 4^{ème} heure de traitement aux concentrations de 0,5 x CMI, CMI et 2 x CMI, en comparaison aux valeurs obtenues dans le contrôle négatif (AG102). Par ailleurs, ce dernier a aussi induit une augmentation significative ($p < 0,05$) des protéines dans les cultures de cellules de *K. pneumoniae* KP55 à 0,5 x CMI, CMI et 2 x CMI à la 2^{ème} heure, en comparaison aux valeurs résultats obtenus dans le contrôle négatif (KP55) (Figure 13).

L'extrait des racines de *Albizia adianthifolia* a induit une augmentation significative de la quantité de protéines dans les cultures de cellules de *K. pneumoniae* KP55 ($p < 0,05$) à la 12^{ème} heure aux concentrations de 0,5 x CMI, CMI et 2 x CMI, en comparaison au contrôle négatif (KP55) (Figure 12). De plus, cet extrait a également montré un taux de protéine élevé et significatif ($p < 0,05$) chez *E. coli* AG102 à la 4^{ème} heure et toujours aux concentrations 0,5 x CMI, CMI et 2 x CMI en comparant aux valeurs obtenues dans le contrôle négatif (AG102).

III.1.3.5. Résultats de l'évaluation de l'effet de l'extrait brut des racines et du composé 8 de *Albizia adianthifolia* sur les biofilms

III.1.3.5.1. Résultats de l'évaluation de l'effet de l'extrait brut des racines et du composé 8 de *Albizia adianthifolia* sur l'inhibition de la formation des biofilms

Les résultats présentés dans la Figure 14 ci-dessous montrent une inhibition de la formation des biofilms concentration dépendante. Toutefois, le composé **8** n'a pas montré d'activité significative vis-à-vis des biofilms produits par toutes les souches de bactéries du panel utilisées.

A partir des différents taux d'inhibitions obtenus avec chaque concentration, nous avons déduit les concentrations minimales inhibant 50% des biofilms (CIB₅₀). L'ensemble des résultats est consigné dans le Tableau XVII.

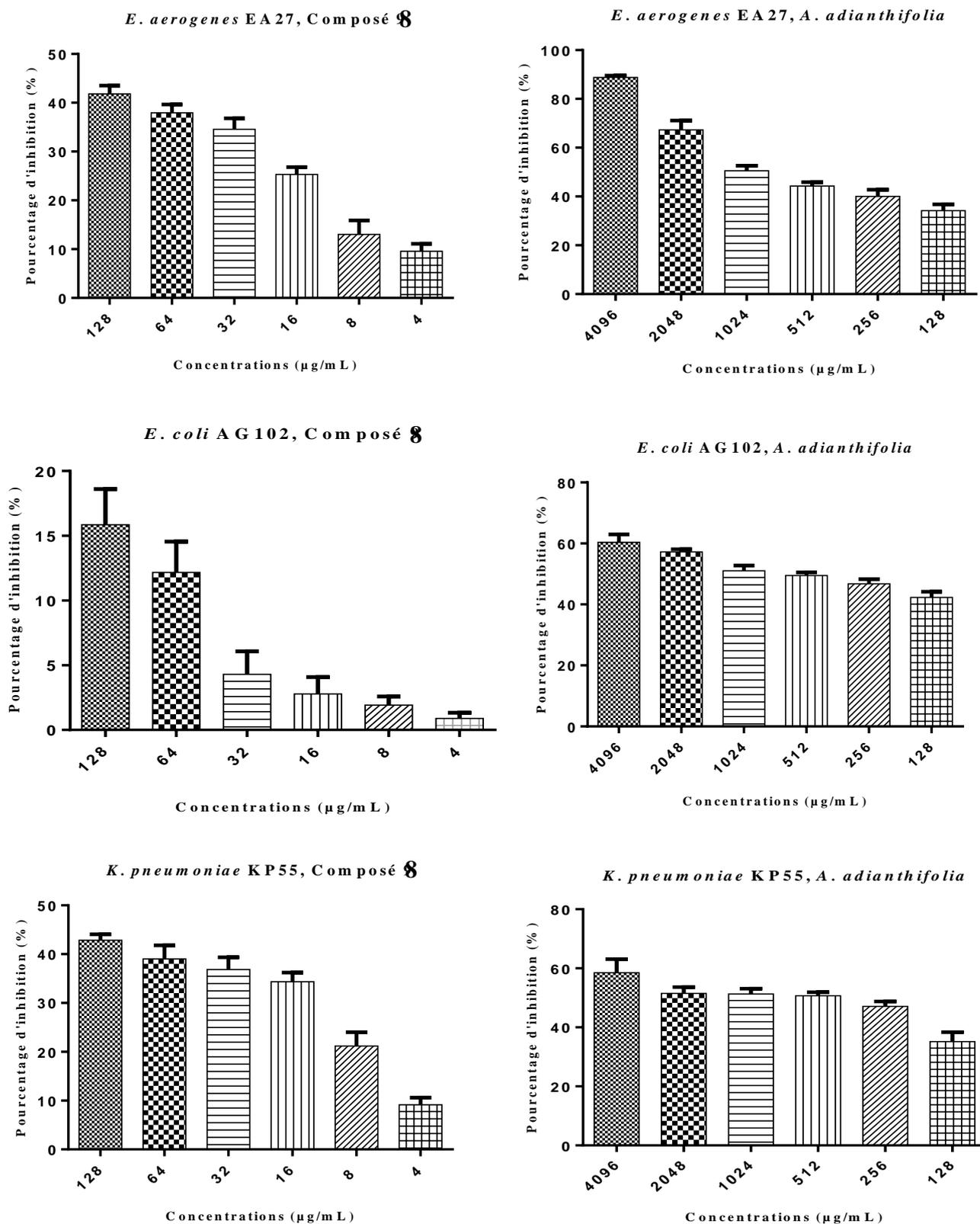


Figure 14 : Inhibition de la formation des biofilms par le composé 8 et l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia*

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; $n = 3$ (nombre de répétition).

Tableau XVII : Résultats du test de sensibilité des biofilms vis-à-vis de l'extrait et du composé **8** des racines de *Albizia adianthifolia*

Souches bactériennes	<i>A. Adianthifolia</i> (racines)		Composé 8	
	CMI	CIB ₅₀	CMI	CIB ₅₀
<i>E. coli</i> AG102	1024	537	32	-
<i>E. aerogenes</i> EA27	256	1023	128	-
<i>K. pneumoniae</i> KP55	256	407	64	-

- : Inactif ; CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; CIB₅₀ : Concentration Minimale Inhibitrice de 50% du biofilm ; ces valeurs sont exprimées en µg/mL.

Selon les résultats présentés au Tableau XVII ci-dessus, l'extrait brut a présenté une meilleure activité comparativement au composé **8**. Toutes les valeurs inhibant 50% des biofilms variaient de 407 µg/mL à 1023 µg/mL. Les biofilms formés par la souche *E. aerogenes* EA27 ont été les moins sensibles (valeurs inhibant les biofilms sont largement supérieures aux concentrations inhibant les cellules planctoniques). Le composé **8** n'a pas significativement empêché la formation des biofilms, avec un pourcentage maximal d'inhibition de 42,87%, 41,79% et 15,84% vis-à-vis des souches *K. pneumoniae* KP55, *E. aerogenes* EA27 et *E. coli* AG102 respectivement à la plus grande concentration testée de 128 µg/mL.

III.1.3.5.2. Résultats de l'évaluation de l'effet de l'extrait brut des racines et du composé **8** de *Albizia adianthifolia* sur la destruction des biofilms

Les courbes de la Figure 15 illustrent les résultats de l'effet des substances tests (extrait brut et composé **8**) sur les biofilms. D'après ces résultats, il ressort que les substances tests détruisent effectivement les biofilms formés en fonction de la concentration utilisée. Toutefois, ces substances tests n'ont pas montré d'activité significative vis-à-vis des biofilms formés ceci en fonction des souches de bactéries du panel utilisées, car les différents pourcentages de destruction des échantillons étaient inférieurs à 95 %. Les valeurs des concentrations éradiquant les biofilms (CEB) n'ont pas été déterminées au regard de ces différents pourcentages de destruction des échantillons (< 95 %) vis-à-vis de toutes les souches bactériennes testées.

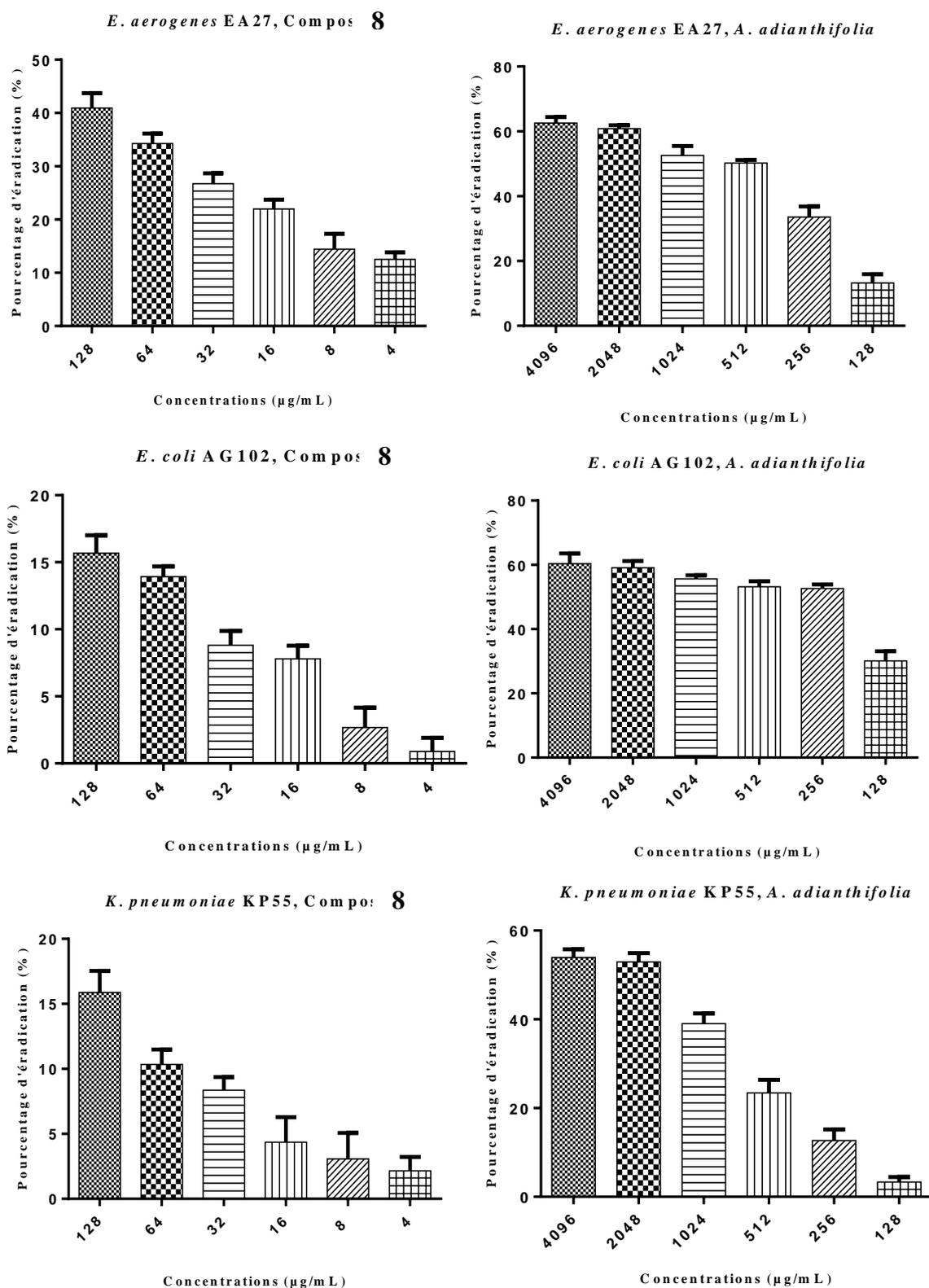


Figure 15 : Effet de l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* et du composé 8 vis - à - vis des biofilms formés

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n = 3 (nombre de répétition).

III.1.3.6. Résultats de l'évaluation de l'activité hémolytique de l'extrait brut des racines et du composé 8 de *Albizia adianthifolia*

D'après les résultats présentés à la Figure 16, l'hémolyse totale a été obtenue avec le Triton X-100 1% (témoin positif). La Numération de la Formule Sanguine (NFS) de l'échantillon de sang de mouton (confère annexe 7) révèle que la concentration en globules rouges est de $5,31 \times 10^6/\mu\text{L}$.

L'effet de l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* (Figure 16a) observé sur la membrane érythrocytaire a induit des augmentations significatives ($p < 0,05$) de l'activité hémolytique aux concentrations 2560 $\mu\text{g/mL}$ (12,25%) et 1280 $\mu\text{g/mL}$ (9,62%) ; ceci en comparaison au témoin négatif (PBS + Sang). Toutefois, cette hémolyse n'entraîne pas une diminution critique du nombre d'érythrocytes car pour toute numération globulaire normale, le taux d'hématies devrait varier de 4,5 à $6 \times 10^{12}/\text{l}$ chez l'homme, et de 4 à $5,4 \times 10^{12}/\text{l}$ chez la femme (Caquet, 2008). Or dans ce cas précis, le nombre d'érythrocytes obtenus après hémolyse est de $4,66 \times 10^{12}/\text{l}$ et de $4,80 \times 10^{12}/\text{l}$ respectivement aux taux d'hémolyse de 12,25% et 9,62% sont incluses dans les intervalles de variation des taux d'hématies chez l'homme et chez la femme comme mentionné plus haut.

Le composé 8 (Figure 16b) a montré des augmentations significatives ($p < 0,05$) des pourcentages d'hémolyse de 10,94% et 6,62% respectivement aux concentrations de 256 $\mu\text{g/mL}$ et 128 $\mu\text{g/mL}$, ceci en comparaison au témoin négatif. Néanmoins, comme précédemment mentionné plus haut, ces taux d'hémolyse n'entraînent pas aussi une diminution critique du nombre d'érythrocytes présents dans le sang de mouton. L'analyse statistique des pourcentages d'hémolyse des concentrations 64 $\mu\text{g/mL}$ (2,07%) et 32 $\mu\text{g/mL}$ (0,82%) montre qu'elles ne sont pas significativement différentes en comparaison au témoin négatif.

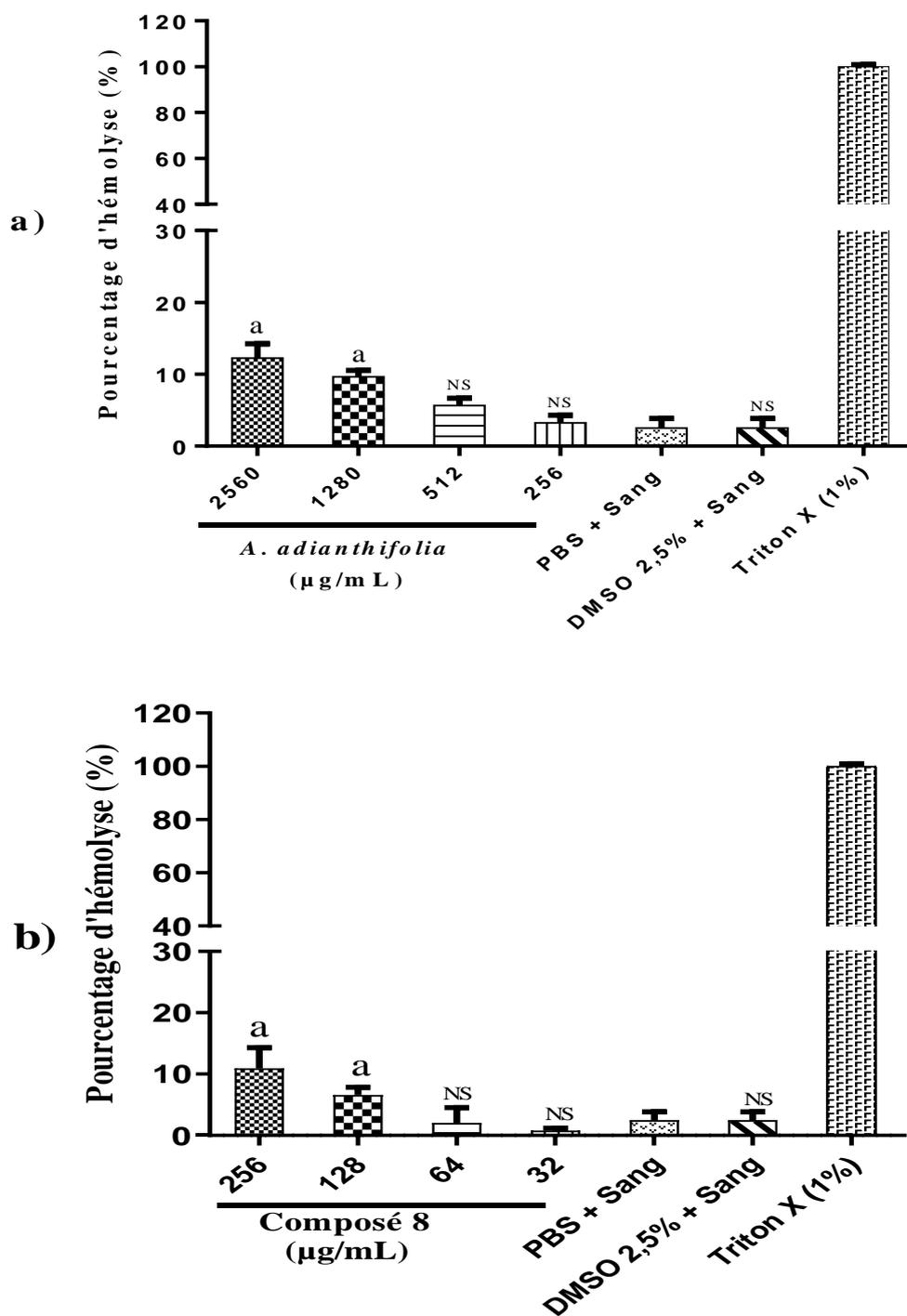


Figure 16 : Activité hémolytique de l'extrait des racines de *Albizia adianthifolia* (a) et de son composé 8 (b)

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; $n = 3$ (nombre de répétition). ^a $p < 0,05$ différence significative par rapport au témoin négatif (PBS + Sang) ; NS = Non Significatif par rapport témoin négatif (PBS + Sang).

III.2. DISCUSSION

La nécessité de rechercher de nouvelles molécules à partir des plantes médicinales avec des mécanismes d'action efficaces contre les phénotypes multirésistants est d'actualité. Les activités des extraits de plante peuvent être attribuables à la présence des métabolites secondaires présents à l'intérieur des dites plantes (Cowan, 1999 ; Sharma & Singh, 2011). Le criblage phytochimique de l'ensemble des extraits bruts testés dans le cadre de ce travail a révélé la présence d'alcaloïdes, de polyphénols, des triterpènes et de saponines etc. De nombreuses molécules appartenant à ces classes de composés ont montré plusieurs propriétés pharmacologiques parmi lesquelles les propriétés antibactériennes (Cowan, 1999 ; Kuete *et al.*, 2009).

Les bactéries MDR de la famille des entérobactéries ainsi que l'agent par excellence des infections nosocomiales *Pseudomonas aeruginosa* sont largement impliqués dans les échecs thérapeutiques en clinique (Chevalier *et al.*, 2000 ; Pradel & Pagès, 2002). Les bactéries utilisées dans la présente étude sur-expriment activement les pompes à efflux (Chevalier *et al.*, 2000 ; Ghisalberti *et al.*, 2005) et représentent de ce fait de bons modèles dans la recherche de substances chimiques dans la lutte contre la multirésistance par l'efflux actif aux antibiotiques usuels. Selon l'échelle définie par Kuete (2010), les activités des différents extraits obtenues dans le cadre de ce travail ont été en général modérées ($100 \leq \text{CMI} \leq 625 \mu\text{g/mL}$) ; les plus actifs étant les extraits des écorces et racines de *Albizia adianthifolia*. Des investigations antérieures portant sur les extraits de plantes utilisés dans le cadre de ce travail ont montré la présence de plusieurs composés appartenant à des classes de métabolites secondaires (triterpènes, phénols et alcaloïdes etc...) ; les activités de celles-ci vis-à-vis des microorganismes pathogènes utilisés seraient liées à la présence de ces constituants. Cependant, il est important de relever que la détection d'un groupe de composés n'est en aucun cas une garantie d'une quelconque propriété biologique, car celle-ci dépend de la nature des composés, de leurs concentrations ainsi que des interactions éventuelles avec d'autres constituants de l'extrait (Sharma & Singh, 2011). Dans l'ensemble, les différences de sensibilité constatées pour le même extrait avec des souches différentes pourraient s'expliquer par des différences intrinsèques dans la composition chimique de la paroi bactérienne et/ou dans les éléments génétiques de résistance transférables ou non entre les souches comme les plasmides ou les transposons (Nikaido, 2003). Les différences constatées pour la même bactérie et les extraits différents s'expliqueraient quant à elles par des différences qualitatives et quantitatives des principes actifs antimicrobiens ou encore par des différences dans les

mécanismes d'action des composés bioactifs (Takeo *et al.*, 2004). En effet, les principes actifs ayant pour cible la paroi bactérienne doivent y trouver des récepteurs complémentaires pour leur fixation et appropriés pour leur action ; alors que ceux qui agissent à l'intérieur de la cellule doivent être à la fois capables de traverser la membrane et de trouver des éléments cibles dans la cellule.

L'activité antibactérienne obtenue avec les feuilles de *Alchornea laxiflora* peut être considérée comme significative car à part le fait qu'elle soit active sur 80% (12/15) des souches testées, nous notons une CMI de 256 µg/mL et de 512 µg/mL sur des souches surexprimant les pompes à efflux AcrAB (*E. coli* AG102 et *E. aerogenes* CM64 respectivement). La présence de ces protéines au sein des bactéries est responsable d'échecs thérapeutiques car elles sont impliquées dans la résistance à plusieurs antibiotiques tel que tétracycline, chloramphénicol, rifampin, quinolones, et certaines β-lactames entraînant ainsi une élévation des CMI au-dessus des seuils thérapeutiques (Okusu *et al.*, 1996 ; Hancock, 1998 ; Poole, 2001). Cette remarquable activité sur les bactéries Gram négatif serait due à la présence des composés phytochimiques au potentiel antimicrobien à l'instar de la Quercétine-7,4'-disulphate, quercétine-3,4'-disulphate, quercétine- 3,4'-diacétate, de la rutine et de la quercitrine dont les propriétés antibactériennes vis-à-vis des bactéries Gram négatif et Gram positif ont été démontrées (Ogundipe *et al.*, 2001 ; Hirai *et al.*, 2010). En outre, Akinpelu *et al.* (2015) a mis en exergue le potentiel antibactérien de l'extrait brut au méthanol de cette plante vis-à-vis des phénotypes résistants et multirésistants. Dans la présente étude, une CMI de 64 µg/mL a été obtenue avec l'extrait des écorces de *Alchornea laxiflora* sur *E. aerogenes* EA289, et il a été actif sur neuf autres microorganismes parmi les quinze étudiés (Tableau V). L'activité obtenue dans cette étude avec cet extrait des écorces est considérée comme modérée et présente ainsi le potentiel antibactérien de cet extrait brut vis-à-vis des phénotypes multirésistants. Les extraits des feuilles de *Combretum hispidum* et de *Alchornea laxiflora* ont présenté une meilleure activité comparée à celle obtenue avec leurs écorces (Tableau V). Cette activité antibactérienne sélective traduit la répartition des différentes classes de composés phytochimiques qui diffèrent d'une partie de la plante à une autre ; et s'il advienne qu'une même classe de composés se retrouve dans plusieurs parties de la plante, la structure des composés phytochimiques sera différente d'une partie à l'autre car les plantes produisent ces substances pour la défense, la coloration ou encore l'odeur (Cowan, 1999). L'activité antibactérienne obtenue avec les extraits de *Combretum hispidum* serait due aux différents métabolites secondaires présents dans cette plante, et dans ce travail, nous avons mis en évidence les propriétés antibactériennes des extraits méthanoliques de *Combretum hispidum*

(Tableau V). Les résultats obtenus dans cette étude, peuvent servir de base pour l'étude approfondie de l'activité antibactérienne des différentes parties de cette plante contre les phénotypes multirésistants.

Les valeurs des CMI obtenues avec la plante *Laportea ovalifolia* sont comprises entre 128-1024 µg/mL (Tableau V). Parmi les composés au potentiel antibactérien préalablement isolés de cette plante, on peut citer le laportoside A et le laportomide A (Tazoo *et al.*, 2007), qui sont des composés de la classe des cérébrosides et céramides respectivement, dont les activités antimicrobiennes ont été démontrées. Cette plante fait partie des plantes qui ont été les plus actives sur la majorité des espèces bactériennes (14/15) utilisées dans cette étude ; ceci traduit le large spectre d'activité des composés phytochimiques contenus dans cette plante à l'instar des triterpènes, polyphénols, tanins (Tableau VI), dont les études phytochimiques ont montré des activités antimicrobiennes, antidiabétiques et hypolipidémiques entre autres (Momo *et al.*, 2006). Les extraits bruts des plantes *Boerhavia diffusa* et *Scoparia dulcis* ont présenté des activités relativement faibles sur la plupart des microorganismes étudiés. Néanmoins, on note une CMI de 256 µg/mL et de 512 µg/mL avec la plante *Scoparia dulcis* vis-à-vis d'*E. aerogenes* EA289 et *P. stuartii* NEA16 respectivement et une CMI de 512 µg/mL avec la plante *Boerhavia diffusa* contre *E. coli* AG102, d'*E. aerogenes* EA 289 et *P. stuartii* NEA16 qui sont des souches cliniques multirésistantes. Ceci pourrait expliquer l'usage de ces plantes en médecine traditionnelle. *P. aeruginosa* PA124 a été insensible à l'action des différents extraits de plantes utilisés dans le cadre de ce travail. Voukeng *et al.* (2012) ont mis en exergue l'implication des pompes à efflux de types RND comme étant le phénomène de résistance majeure des bactéries Gram négatif étudiées vis-à-vis des extraits de plantes. *P. aeruginosa* comparée aux autres espèces étudiées possède plus de gènes codant les productions des pompes à efflux RND de type AcrB/Mex ; de plus, *P. aeruginosa* possède des systèmes de chimiotaxie lui permettant de produire des biofilms, ce qui augmente son degré de résistance lorsqu'elle est combinée aux pompes à efflux (stover *et al.*, 2000). Le potentiel antibactérien des extraits de *Albizia adianthifolia* (écorces et racines) pourrait s'expliquer par la présence de plusieurs classes phytochimiques mises en exergue dans les différents extraits de cette plante. Ces différents extraits ont présenté les meilleures activités et ont été aussi les plus actifs vis-à-vis des bactéries (14/15) utilisés dans le cadre de cette étude. L'activité antibactérienne de l'extrait des racines de *Albizia adianthifolia* (AAR) pourrait être considérée comme modérée, car des valeurs de CMI inférieures à 625 µg/mL ont été obtenues sur la majorité des bactéries testées et peu de composés issus de cette plante ont déjà fait l'objet d'une étude antibactérienne.

Le processus d'isolement des composés phytochimiques à partir des fractions et sous fractions actives issues de l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* (AAR) a conduit à l'obtention de plusieurs produits dont neuf ont été clairement identifiés. Il s'est agi d'un acide gras (**1**), d'un stéroïde (**2+3**), d'un stéroïde glycosylé (**4**), d'un alcaloïde (**5**), deux xanthones (**6, 7**) et deux saponines triterpéniques (**8, 9**) (Figure 9). Plusieurs composés terpéniques isolés de cette plante à savoir les adianthifoliosides A, B, D, le lupeol, l'acétate d'aurantiamide et les prosapogenines ont déjà été caractérisés (Haddad *et al.*, 2002 ; Haddad *et al.*, 2003 ; Haddad *et al.*, 2004 ; Tamokou *et al.*, 2012). Cependant, du fait de la purification bioguidée par l'activité antimicrobienne, toutes les fractions n'ont pas été purifiées. Bien que tous les composés purifiés soient déjà connus à l'exception du composé **8**, notons que ce composé est caractérisé pour la première fois dans cette plante. Le fractionnement de AAR a conduit à l'obtention d'échantillons plus actifs (Tableaux VII– X). Les CMI renseignant cette bonne activité ont été obtenues avec AARb vis-à-vis de *E. coli* AG100Atet (64 µg/mL) et de *E. aerogene* EA27 (8 µg/mL), AARa2 et AARa3 contre *E. aerogene* EA27 (32 µg/mL et 16 µg/mL respectivement), AARb1 et AARb2 contre *K. pneumoniae* KP63 (8 µg/mL et 16 µg/mL respectivement), AARb14 et AARb11 contre *E. coli* ATCC8739 (16 µg/mL et 64 µg/mL respectivement) et AARb13 vis-à-vis de *K. pneumoniae* KP63 (8 µg/mL). Ceci démontre à suffisance l'augmentation de l'activité liée au fractionnement consécutif de l'extrait de plante, traduisant ainsi le bon potentiel antibactérien de *Albizia adianthifolia*. Il convient également de remarquer que AARb1 et AARb2 ont présenté des valeurs de CMI inférieures à 100 µg/mL sur la plupart des bactéries testées (11/15) (Tableau IX). Les rapports CMB/CMI obtenus étaient généralement supérieurs à 4, indiquant que les extraits étudiés ainsi que les fractions actives exerçaient le plus souvent des effets bactériostatiques (Mims *et al.*, 1993 ; Mbaveng *et al.*, 2011). Selon Kuete (2010), l'activité antibactérienne d'un composé est dite significative lorsque la CMI est inférieure à 10 µg/mL, modérée quand la valeur de la CMI est comprise entre 10 et 100 µg/mL et faible si la CMI est supérieure à 100 µg/mL. Sur la base de cette échelle, seul le composé **4** a eu à présenter de façon sélective un potentiel antibactérien significatif (CMI = 2 µg/mL) vis-à-vis de la souche *P. aeruginosa* PA01. Dans l'ensemble, les valeurs des CMI obtenues avec les composés étaient beaucoup plus élevées que celles des sous-fractions les plus actives où les composés ont été isolés (AARb1-2 et AARb13). Ceci suggère que l'activité antibactérienne de ces sous-fractions serait due aux effets synergiques de ses différents constituants. Cela indique également que la lutte contre les bactéries testées avec des fractions et sous-fractions et principalement AARb13 pourrait être plus efficace qu'avec des composés isolés. En ce qui concerne la relation structure – activité,

l'analyse structurale des deux composés **8** et **9** suggère que la fonction acide carboxylique présente sur le carbone C-28 et les groupements hydroxyles (-OH) sur les sucres seraient responsables de leurs activités. Cependant, la différence d'activité observée entre ces deux composés serait due à la présence d'un sucre supplémentaire dans le composé **9** qui serait à l'origine d'un encombrement stérique qui favorise la baisse d'activité de ce composé en comparaison au composé **8**. L'identification des constituants antibactériens de *A. adianthifolia* est réalisée pour la première fois dans le cadre de cette étude. Cependant, l'activité antibactérienne des extraits organiques (acétate d'éthyl) des écorces de *A. adianthifolia*, a été rapportée sur des bactéries Gram négatif (Tamokou *et al.*, 2012). La présente étude fournit donc plus d'informations sur le potentiel antibactérien de *Albizia adianthifolia* vis-à-vis des phénotypes multirésistants et identifie les composants bioactifs de cette plante.

Compte tenu de tout ce qui précède, les résultats de l'activité antibactérienne obtenus vis-à-vis des bactéries multirésistantes Gram négatif avec l'extrait brut au méthanol des racines de *A. adianthifolia* (CMI comprise entre 128 µg/mL et 1024 µg/mL) et ses composés isolés (CMI comprises entre 2 µg/mL et 128 µg/mL) comparées aux autres plantes médicinales camerounaises et leurs composés isolés, ayant démontré des activités antibactériennes significatives vis-à-vis de ces derniers occupent une place assez importantes au regard des résultats obtenus. Les résultats obtenus avec les écorces de *Erythrina sigmoidea* (CMI comprises entre 16 µg/mL et 1024 µg/mL) et composés isolés (CMI comprises entre 8 µg/mL et 512 µg/mL) (Djeussi *et al.*, 2015); écorces de *Nauclea pobeguinii* (CMI comprise entre 32 µg/mL et 1024 µg/mL) et composés isolés (CMI comprises entre 16 µg/mL et 1024 µg/mL) (Seukep *et al.*, 2016a); feuilles de *Elaeophorbia drupifera* (CMI comprise entre 256 µg/mL et 1024 µg/mL) et composés isolés (CMI comprises entre 64 µg/mL et 256 µg/mL) (Voukeng *et al.*, 2017); fruits de *Myristica fragans* (CMI comprises entre 32 µg/mL et 1024 µg/mL) et composés isolés (CMI comprises entre 4 µg/mL et 256 µg/mL) (Dzotam *et al.*, 2018) montrent que l'extrait brut des racines de *A. adianthifolia* ayant des activités modérées comparativement à celles des autres plantes mentionnées plus haut a permis d'obtenir des composés isolés dont la gamme de variation des CMI est plus appréciable par rapport à celle des auteurs sus-cités. De plus, la CMI la plus basse des composés isolés de *A. adianthifolia* était plus petite que celle des autres composés isolés des plantes étudiées par les autres auteurs. De ce fait, l'extrait des racines de *A. adianthifolia* et ses composés isolés occupent une place importante dans la lutte contre les bactéries multirésistantes Gram négatif et pourraient être une alternative de choix pour l'amélioration de l'antibiothérapie.

Les différents mécanismes de résistance développés par les bactéries ciblent un ou plusieurs modes d'action des substances antibactériennes (action sur la paroi bactérienne, la membrane bactérienne, l'ADN et la synthèse protéique etc.) afin de les empêcher d'exercer leurs actions inhibitrices, mais les bactéries peuvent également sur-exprimer les systèmes de pompes à efflux pour expulser les molécules antibactériennes hors de la cellule et donc leur empêcher d'exercer leurs activités. Ce dernier mécanisme est le principal utilisé par les bactéries MDR testées dans le cadre de cette étude. Les systèmes d'efflux impliqués dans ce mécanisme sont des complexes tripartites, notamment les pompes AcrAB-TolC et MexAB-OprM des entérobactéries et *P. aeruginosa* respectivement (Chevalier *et al.*, 2000 ; Ghisalberti *et al.*, 2005), qui jouent un rôle central dans la multirésistance des bactéries à Gram négatif. La restauration de la sensibilité des bactéries par l'utilisation des inhibiteurs des pompes à efflux (IPE) pour permettre une atteinte de la concentration seuil en antibactériens, capable d'induire la mort de la cellule bactérienne est le moyen le mieux connu à nos jours dans la lutte contre ce type de résistance. La PABN est un puissant inhibiteur des pompes susmentionnées (Pagès & Amaral, 2009). En présence de cet IPE, l'activité du composé **8** a été multipliée par un facteur ≥ 4 sur l'ensemble des souches testées (Tableau XII), activité comparable à celle du chloramphénicol (CHL) utilisé comme antibiotique de référence. Ceci démontre en effet la forte implication des pompes à efflux sur l'activité antibactérienne de ce dernier, pouvant indiquer que ce composé serait le substrat préférentiel de ces pompes, de même, ceci pourrait faire penser que l'une des cibles de ce constituant bioactif pourrait être intracellulaire. De cette observation, il peut être suggéré que l'association de ce composé **8** avec des IPE pourrait être utilisée dans la lutte contre les infections bactériennes dues aux phénotypes multirésistants. Cette assertion pourrait tout aussi être rapportée à l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* et aux composés **2+3** et **4** avec lesquels une amélioration de l'activité en présence de l'IPE a été observée sur 100% des pathogènes utilisés. Les autres composés à savoir **5**, **6**, **7** et **9** dont l'amélioration a été modérée aussi bien sur le plan de l'intensité que de la fréquence seraient très peu affectés par l'effet des pompes à efflux. Les CMI's notées avec le chloramphénicol et l'amélioration de son activité en présence du PABN (Tableau XII), témoignent du fait que les bactéries utilisées dans le présent travail expriment la résistance via la sur-expression des pompes à efflux. Par conséquent, les activités de l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* (8 - 1024 $\mu\text{g/mL}$) et de ses différents composés isolés (1- 128 $\mu\text{g/mL}$) observées tout au long de cette étude, devraient être considérées comme importantes. L'amélioration de l'activité de ces substances (extrait brut et composés) en présence du PABN peut s'expliquer par une facilitation de la pénétration des principes actifs

dans les cellules bactériennes comme préalablement démontré par Lamers *et al.* (2013) avec *P. aeruginosa*.

Pour améliorer l'activité des antibiotiques en ciblant des mécanismes de résistance, ils peuvent être combinés avec des molécules adjuvantes telles que des chimio-sensibilisateurs (par exemple perméabilisant membranaire ou inhibiteur d'efflux) (Bolla *et al.*, 2011). En outre, ces types d'inhibiteurs de transport peuvent bloquer l'activité des pompes d'efflux et ainsi réduire la colonisation bactérienne et la virulence (Davin-Regli *et al.*, 2016). A cet effet, plusieurs travaux sur la combinaison des composés isolés d'extraits brut de plantes avec les antibiotiques ont démontré des effets prometteurs et ont été rapportés dans la littérature (Tankeo *et al.*, 2015 ; Dzutam *et al.*, 2016a). La modulation de l'activité des antibiotiques par les produits phytochimiques issus de *Albizia adianthifolia* n'avait pas encore fait l'objet d'une quelconque étude. Les composés **2+3**, **4** et **8** associés aux antibiotiques vis-à-vis de la souche *Pseudomonas aeruginosa* PA124 n'ont présenté aucun effet antagoniste (Tableau XIII). Ceci traduit l'absence d'interaction entre les principes actifs des antibiotiques et les différents composés phytochimiques isolés. Aux concentrations sub-inhibitrices testées, ces composés ont potentialisé la plupart des antibiotiques étudiés, exceptés le chloramphénicol et la pénicilline. Les effets synergiques observés varieraient en fonction de la concentration des composés phytochimiques. La forte activité de potentialisation des effets des antibiotiques par les composés isolés des racines de *Albizia adianthifolia* telle qu'observée dans le cadre de ce travail constitue une information importante concernant une éventuelle combinaison à visée thérapeutique. Il est suggéré que des substances ayant une activité potentialisatrice des antibiotiques usuels à plus de 70% contiendraient (cas des extraits) ou sont (cas des composés) des inhibiteurs de pompes à efflux (Braga *et al.*, 2005). Des effets synergiques suite à la combinaison des composés (**2+3**, **4** et **8**) avec ERY, STR, ainsi que ceux du composé **8** avec GEN et des composés **2+3** et **4** avec TET vis-à-vis de toutes les bactéries testées ont été notés (Tableau XIV, XV et XVI). Des effets synergiques ou modulateurs des composés (**2+3**, **4** et **8**) avec d'autres antibiotiques ont été relevés sur plus de 70% des bactéries multirésistantes testées dans plusieurs cas, ce qui suggère qu'ils peuvent agir comme inhibiteurs des pompes à efflux (Braga *et al.*, 2005). Cette assertion est d'autant plus renforcée lorsqu'on constate qu'aucun effet synergique n'a été obtenu avec une phénicolé (CHL) et une bêta-lactamine (PEN) lors du test préliminaire mentionné plus haut ; leur cible se trouve dans le cytoplasme bactérien et, par conséquent, ne sont généralement pas affectées par les pompes à efflux AcrAB-TolC et MexAB-oprM des entérobactéries et *P. aeruginosa* respectivement (Noumedem *et al.*, 2013a). Le potentiel antibactérien des composés (**2+3**, **4** et

8) dans l'inhibition des bactéries multirésistantes à Gram négatif est rapporté ici pour la première fois, ainsi que leur effet modulateur de la résistance aux antibiotiques par potentialisation de ceux-ci. Cette étude fournit également plus d'informations sur le potentiel inhibiteur des composés (**2+3, 4 et 8**) contre les bactéries MDR exprimant l'efflux actif ainsi que leurs capacités à potentialiser l'activité des antibiotiques. Les résultats présentés dans le présent travail sont très intéressants, en ce qui concerne l'importance médicale des microorganismes étudiés. Ces données fournissent des preuves que l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* et ses différents composés isolés, particulièrement les composés (**2+3, 4 et 8**) sont des sources potentielles de préparations utiles dans la lutte contre les espèces bactériennes multirésistantes sur-exprimant l'efflux actif. Les composés (**2+3, 4 et 8**) peuvent être utilisés en association avec des antibiotiques pour combattre la multirésistance bactérienne associée aux bactéries Gram négatif.

Les substances antibactériennes exercent leurs activités via différents mécanismes. C'est ainsi que l'évaluation de la cinétique antibactérienne en présence des substances candidates au développement des médicaments revêt une importance particulière car elle prépare aux études pharmacodynamiques. Ainsi, dans la présente étude, le temps de latence des souches *E. coli* AG102 et *K. pneumoniae* KP55 était de 1,57 heures et de 3,76 heures respectivement pour les cellules non traitées après adaptation au modèle de Baramyi. Au cours de cette période, les bactéries s'adaptent à leur environnement et synthétisent des enzymes nécessaires au métabolisme de dégradation des substrats présents dans le milieu. Ainsi, toute augmentation de la durée du temps de latence pourrait être directement corrélée soit à l'inactivation de ces enzymes, ou tout simplement à l'inhibition de leur synthèse. Les travaux d'Amrouche *et al.* (2011) montrent en effet qu'en présence de certaines substances telles que les phénols, le temps de latence augmenterait proportionnellement à la concentration de l'échantillon introduit dans le milieu, ceci expliquerait les résultats obtenus avec l'extrait brut de *Albizia adianthifolia* [Figure 10 (a) et 11 (a)], dans lequel a été détecté plusieurs classes de composés phénoliques. L'analyse des courbes des Figures 10 – 11 montre que l'extrait brut et le composé **8** ont exercé leurs activités inhibitrices à diverses étapes de la croissance bactérienne. Le déroulement de la phase de latence serait perturbé lorsque les microorganismes sont en contact avec ces substances, car on observe un prolongement de cette phase à concentration 0,5 x CMI le cas échéant. L'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* et le composé **8** aux concentrations CMI et 2 x CMI ont impacté sur le bon déroulement de la phase exponentielle. Au cours de cette phase, il se produit une assimilation

rapide des différents facteurs de croissance ; nos substances test pourraient donc inhiber l'activité d'une enzyme importante dans la production de l'énergie, ou encore inhiber l'absorption des différents éléments nutritifs pour la bactérie. Les courbes des cinétiques bactériennes aux concentrations 0,5 x CMI, CMI et 2 x CMI corroborent les résultats obtenus lors de l'évaluation de l'impact des substances tests sur la membrane bactérienne (Figure 12 et 13). En effet, la baisse significative du nombre de colonies bactériennes observée à l'issue des tests renseigne sur l'effet bactériostatique de l'extrait des racines de *Albizia adianthifolia* et le composé **8**. Les valeurs élevées (ou inexistantes) des CMB vis-à-vis des CMI obtenues entraînent un rapport CMB/CMI > 4, ce qui traduit un effet bactériostatique (Mbaveng *et al.*, 2011). Cette bactériostase est confirmée par les résultats obtenus à l'issue de l'évaluation de l'impact des substances d'intérêt sur la membrane des bactéries Gram négatif (*E. coli* et *K. pneumoniae*). Les variations significatives des quantités (concentrations) extracellulaires des substances protéiques témoignent de l'altération de la membrane des bactéries traitées aux différentes concentrations testées ; et de ce fait, de l'effet bactériostatique des substances testées. La classification du mode d'action d'une substance antibactérienne est basée sur l'interaction entre la molécule active et la cible. Bien qu'il existe plusieurs modes d'action des molécules bactéricides telles que l'inhibition de la synthèse protéique, l'inhibition de la réplication et de la réparation de l'ADN etc. (Kohanski *et al.*, 2007), la membrane bactérienne demeure un site d'action privilégié des molécules bactéricides. L'effet de notre extrait et de son produit (composé **8**) (Figure 12 et 13) sur les différentes souches (*K. pneumoniae* KP55 et *E. coli* AG102) s'est traduit par une augmentation des protéines dans les différentes suspensions. En effet, cette augmentation significative ($p < 0,05$) des protéines dans le milieu par rapport au contrôle négatif traduit une lyse membranaire induite par ces substances tests. L'étude menée par Lopez-Romero *et al.* (2015) sur les mécanismes d'action de quelques constituants d'huiles essentielles a montré que le citronellol et le citronellal (monoterpènes) ont une forte activité quant à la lyse de la membrane bactérienne, surtout chez les bactéries à Gram négatif. Ainsi, les résultats obtenus avec l'extrait sur les souches *K. pneumoniae* KP55 (12^{ème} heure) et *E. coli* AG102 (4^{ème} heure) aux concentrations 0,5 x CMI, CMI et 2 x CMI pourraient se justifier par la présence des composés terpéniques et phénoliques présents dans l'extrait brut au méthanol des racines de *Albizia adianthifolia* qui seraient responsables de son effet lytique sur la membrane des cellules bactériennes (Figure 12).

Certaines bactéries ont la capacité d'empêcher ou de retarder l'entrée des antibiotiques en sécrétant une matrice d'exopolysaccharides communément appelée biofilm. La formation

des biofilms est un phénomène responsable d'échecs thérapeutiques et d'émergence de nouvelles souches résistantes (Slobodnikova *et al.*, 2016). La formation des biofilms par les souches de *E. coli* AG102, *E. aerogenes* EA27 et *K. pneumoniae* KP55 a été inhibée par l'extrait et le composé **8** issus des racines de *A. adianthifolia* (Tableau XVII). L'extrait brut a présenté une meilleure activité inhibitrice des biofilms mais n'a pas permis l'éradication de ces derniers chez toutes les souches utilisées. Cette activité inhibitrice pourrait être due à la présence des composés terpéniques (stigmastérol et β -sitostérol (**2+3**) ; β -sitostérol 3-O- β -D-glucopyranoside (**4**) dans l'extrait brut testé. En effet, Beoletto *et al.* (2016) ont rapporté l'activité des terpènes vis-à-vis des biofilms formés par les souches Gram négatif et Gram positif résistantes et sensibles à la méthicilline. Les tests phytochimiques (confère Tableau VI) ont mis en exergue la présence des composés phénoliques bioactifs dans l'extrait au méthanol des racines de *A. adianthifolia* à l'instar des composés **6** et **7**. Ces molécules agiraient en diffusant à travers la couche d'exopolysaccharide afin d'exercer les effets antimicrobiens auprès des cellules sessiles. Par ailleurs, certains composés phénoliques inhibent la production des biofilms en mimant le fonctionnement des molécules *Quorum sensing* (Murugan *et al.*, 2013). En effet, le *Quorum sensing* est un système de production des signaux moléculaires corrélé à la population microbienne, afin d'induire ou de réduire la croissance. De plus, les flavonoïdes présents dans l'extrait brut seraient impliqués dans l'activité antibiofilm, car elles ont le potentiel de perturber la stabilité de la couche d'exopolysaccharide préformée ; ce qui entraîne une réduction de l'activité métabolique du biofilm (Onsare & Arora, 2015). Les résultats obtenus avec le composé **8** mettent en évidence la faible capacité de cette molécule à inhiber la formation des biofilms et à détruire ces derniers. Ceci pourrait se justifier par le fait que, les saponines triterpéniques auraient une faible activité antibiofilm.

Toutes molécules éligibles à la recherche de nouveaux médicaments doivent présenter des propriétés toxiques nulles ou faibles ; c'est dans cette optique que le test d'hémolyse érythrocytaire a été réalisé dans le cadre de ce travail. Les concentrations largement au-dessus des CMI et CIB₅₀ ont été utilisées pour ce test car la prise médicamenteuse (pour la majorité des infections bactériennes) est régulière jusqu'au traitement complet. En outre, l'excrétion ne suit pas directement après l'action du médicament, ce qui explique le séjour plus ou moins long de certains médicaments à l'intérieur de l'organisme. Le traitement des érythrocytes avec concentrations élevées d'extrait au méthanol des racines de *Albizia adianthifolia* (2560 $\mu\text{g/mL}$) et du composé **8** (250 $\mu\text{g/mL}$) ont entraîné une détection de faible quantité d'hémoglobine dans le milieu extracellulaire. Ceci a respectivement correspondu à un pourcentage d'hémolyse érythrocytaire de 12,25% et 10,94% pour l'extrait brut et le composé

8 respectivement. Les standards émis par le fabricant du compteur automatique de cellules sanguines utilisé pour la quantification des globules rouges situent l'intervalle des valeurs normales entre $3,5 \times 10^6$ et $5,6 \times 10^6/\mu\text{L}$ (confère annexe 7). Etant donné qu'une diminution d'un pourcentage susmentionné n'entraîne pas une baisse significative du nombre d'érythrocytes, il est possible que les échantillons testés soient faiblement toxiques sous réserve d'autres analyses toxicologiques. Par ailleurs, *Lv et al.* (2007) ont démontré que 50 à 100% d'érythrocytes sont lysés en présence d'amphotéricine B aux concentrations comprises entre 30 et 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ tandis que le chloramphénicol à une concentration de 4 mg/mL entraîne une hémolyse de 14 à 15% d'érythrocytes.

CONCLUSION

Au regard de la recrudescence des maladies dues aux microorganismes multirésistants, couplée à la rareté de nouveaux antibiotiques, le dessein de la présente étude était de déterminer le potentiel antibactérien de plantes médicinales, fractions/sous-fractions et produits cibles, ainsi que le mécanisme d'action et l'effet potentiateur des antibiotiques. Les résultats issus de ces travaux renseignent que :

➤ À l'issue du criblage antibactérien, l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* a présenté la meilleure activité ; cependant les composés appartenant à au moins une classe de métabolites secondaires ont été mis en évidence dans chacun des neuf extraits bruts. Les polyphénols et les triterpènes ont été détectés dans tous ces extraits bruts, tandis que les alcaloïdes et les flavonoïdes n'ont pas été détectés dans la plante *Laportea ovalifolia*. Ainsi, les différentes plantes testées dans le cadre de ce travail constituent des substances à potentiel antibactérien.

➤ Le fractionnement bioguidé de l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* a conduit à l'isolement et à l'identification de neuf composés biologiques à savoir l'acide stéarique (**1**), un mélange de stigmastérol et de β -sitostérol (**2+3**) en proportion 1:1, β -sitostérol 3-O- β -D-glucopyranoside (**4**), la palmatine (**5**), l'homomangiférine (**6**), la mangiférine (**7**), l'acide 3-O- $\{\alpha$ -L-o-arabipyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl}oleanolique (**8**) et l'acide 3-O- $\{\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabipyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl}oléanolique (**9**). Le composé **8** s'est avéré être un composé nouveau au regard de la revue de littérature effectué jusqu'ici. Seul le composé **4** a présenté de façon sélective un potentiel antibactérien significatif vis-à-vis de la souche *Pseudomonas aeruginosa* PA01 et le composé **8** a présenté le meilleur spectre d'action. Les composés **2+3**, **4**, **5**, **6**, **7**, **8** et **9** sont donc les principes actifs des racines de *Albizia adianthifolia*.

➤ L'utilisation d'un inhibiteur de pompes à efflux (PA β N) a permis d'améliorer l'activité de l'extrait le plus actif et ses composés phytochimiques isolés. Ainsi, la combinaison de cette molécule avec l'extrait des racines de *Albizia adianthifolia* et le mélange **2+3** isolés ont amélioré l'activité d'une valeur supérieure à 64 (>64) fois vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* PA124. Ceci démontre que l'usage d'un inhibiteur de pompes à efflux pourrait améliorer la lutte contre les infections des bactéries multirésistantes Gram négatif. En ce qui concerne la potentialisation de l'activité des antibiotiques contre le panel de bactéries utilisées, les composés **2+3**, **4** et **8** ont eu un effet synergique avec tous les antibiotiques testés. Ainsi, une association des composés **2+3**, **4** et **8** aux antibiotiques pourraient améliorer

la lutte contre les bactéries Gram négatif multirésistantes. L'analyse de la courbe de croissance bactérienne couplée à la détection des substances protéiques (enzymes) dans le milieu extracellulaire permet de confirmer l'effet bactériostatique de l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* et de son composé **8**. L'extrait brut de *Albizia adianthifolia* a entraîné une lyse membranaire des souches *K. pneumoniae* KP55 (à la 12^{ème} heure) et *E. coli* AG102 (à la 4^{ème} heure) aux concentrations testées (0,5 x CMI, CMI et 2 x CMI). Par ailleurs, le composé **8** a entraîné une lyse membranaire des souches *K. pneumoniae* KP55 (à la 2^{ème} heure) et *E. coli* AG102 (2^{ème} et 4^{ème} heure) aux concentrations testées. Ces substances tests ont inhibé la formation des biofilms et l'extrait brut a été le plus actif vis-à-vis de la formation des biofilms. Aucun échantillon test n'a éradiqué complètement les biofilms formés par toutes souches bactériennes testées. Ainsi, l'extrait brut des racines de *A. adianthifolia* et le composé **8** agissaient en inhibant les phases de latence et exponentielle des souches testées au niveau de leur croissance. Elles ont provoqué une lyse membranaire chez les souches *K. pneumoniae* KP55 et *E. coli* AG102 aux concentrations testées (0,5 x CMI, CMI et 2 x CMI) et seul l'extrait brut a présenté un effet sur la formation des biofilms. L'hémolyse érythrocytaire due à la présence des substances testées (extrait brut et composé **8**) n'a pas entraîné une diminution significative du nombre de globules rouges. Ceci témoignerait de la faible toxicité de l'extrait brut et plus particulièrement de son composé le plus actif (composé **8**) testés.

L'ensemble des résultats présentés à l'issue de cette étude montre que l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des racines de *Albizia adianthifolia* pourrait être la conséquence de la synergie entre tous les constituants phytochimiques dudit extrait. Ainsi, l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* et ses constituants bioactifs pourraient améliorer l'antibiothérapie vis - à - vis des phénotypes multirésistants. De plus, l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* et le composé **8** plus particulièrement pourraient servir à la mise sur pied des phytomédicaments ou des médicaments. En outre, les composés phytochimiques (**2+3**, **4** et **8**) pourraient faire l'objet d'associations aux antibiotiques pour des fins thérapeutiques.

PERSPECTIVES

Les résultats de cette étude permettent d'ouvrir de nouvelles pistes de recherche et constituent les prémices d'une contribution à la conception d'un médicament efficace vis-à-vis des bactéries multirésistantes ou à la potentialisation de l'activité des antibiotiques jadis efficaces. A travers ce travail nous avons fait un pas ; le suivant consistera à :

- Effectuer un screening phytochimique par Chromatographie Liquide couplée à la Spectrométrie de Masse (CL-SM) des extraits et fractions ;
- Tester les composés isolés sur une large gamme de microorganismes ;
- Réaliser une cinétique *time to kill* de l'extrait brut et du composé **8** ;
- Evaluer la cytotoxicité du composé **8** sur d'autres cellules telles que les hépatocytes ;
- Etudier les toxicités aiguë et subaiguë du composé **8** ;
- Approfondir des tests complémentaires dans l'optique de développer un phytomédicament.

REFERENCES

- Adaikpoh, M. A., Orhue, N. E. J. & Igbe, I. (2007). The protective role of *Scoparia dulcis* on tissue antioxidant defense system of rats exposed to cadmium. *Africa Journal Biotechnology*, 6(10):1192-1196.
- Adjanohoun, J. E., Aboubakar, N., Dramane, K., Ebot, M., Ekpere, J. A., Enow-Orock, E. G., Focho, D., Gbile, Z. O., Kamanyi Kom, J., Keita, A., Mbeukum, T., Mbi, C. N., Mbiele, A. L., Mbome, I. L., Mubiru, N. K., Nancy, W. L., Nkongmenek, B., Satabie, B., Sofowora, A., Tamze, V. & Wirmum, C. K. (1996). *Traditional medicine and pharmacopoeia: contribution to ethnobotanical and floristic studies in Cameroon*. Porto-Novo : STRC/OUA, 641p.
- Ahmed-Belkacen, A., Macalou, S., Borrelli, F., Capasso, R., Fattorusso, E., Tagliatalata-Scafati, O. & Di Pietro, A. (2007). Nonprenylated rotenoids, a new class of potent breast cancer resistance protein inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 50(8):1933-1938.
- AIRES, J. (2011). Les systèmes d'efflux actifs bactériens : caractérisation et modélisation pour quelles perspectives ? *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 164(3):265-270.
- Akinpelu, D. A., Abioye, E. O., Aiyegoro, O. A., Akinpelu, O. F. & Okoh, A. I. (2015). Evaluation of antibacterial and antifungal properties of *Alchornea laxiflora* (Benth) Pax. & Hoffman. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2015:1-6.
- Amburs, J. I. (2008). *Development of potential dual-action antibacterial agents*. PhD thesis, University of Willogong, Australia, 285p.
- Amin, A. H., Subbaiah, T. V. & Abbasi, K. M. (1969). Berberine sulfate: antimicrobial activity, bioassay, and mode of action. *Canadian Journal of Microbiology*, 15:1067-1076.
- Amrouche, F., Namane, A. & Hellal, A. (2011). Cinétiques de biodégradation du phénol par des bactéries autochtones librement suspendues dans un réacteur batch. *Revue des Energies Renouvelables*, 14(3):533-541.
- Bambeke, F., Pages, J-M. & Lee, V. J. (2010). Inhibitor of bacterial efflux pumps as adjuvants in antibacterial therapy and diagnostic tools for detection of resistance by efflux. *Frontiers in Anti-Infective Drug Discovery*, 1:138-175.
- Baron, S. (1996). *Medical Microbiology*, 4th edition. Galveston (TX) : University of Texas Medical Branch at Galveston, 1273p.
- Beoletto, V.G., de las Mercedes Oliva, M., Marioli, J. M., Carezzano, M. E. & Demo, M. S. (2016). Antimicrobial natural products against bacterial biofilms. In Kateryna, K. &

- Mahendra, R. *Antibiotic Resistance. Academic Press is an imprint of Elsevier*, pp.291-307.
- Beppe, G. J., Dongmo, A. B., Foyet, H. S., Tsabang, N., Olteanu, Z., Cioanca, O., Hancianu, M., Dimo, T. & Hritcu, L. (2014). Memory-enhancing activities of the aqueous extract of *Albizia adianthifolia* leaves in the 6-hydroxydopamine-lesion rodent model of Parkinson's disease. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14:142-152.
- Berge, G., Diallo, D. & Hveem, B. (2005). *Les plantes sauvages du Sahel malien : les stratégies d'adaptation à la sécheresse des Sahéliens*. Paris : Karthala, 330p.
- Bibbal, D. (2008). *Impact des β -lactamines sur l'émergence d'entérobactéries résistantes dans la flore digestive chez le porc : caractérisation et stratégies de prévention*. Thèse de Doctorat, Université de Toulouse, France, 151p.
- Billing, J. & Sherman, P. W. (1998). Antimicrobial function of spices. *Quarterly Review of Biology*, 73:3-49.
- Biomerieux. (2017). *Rapport annuel 2017*. [En ligne] Disponible sur <https://www.fondation-merieux.org/IMG/pdf/fondation-merieux-rapport-annuel-2015.pdf>. Consulté le 18 Juin 2018.
- Birgand, G. & Lucet, J.C. (2011). Les bacilles à Gram négatif multi-résistants : où va-t-on ? *Journal des Antinfectieux*, 13(2):122-132.
- Bolla, J. M., Alibert-Franco, S., Handzlik, J., Chevalier, J., Mahamoud, A., Boyer, G., Kiec-Kononowicz, K. & Pagès, J. M. (2011). Strategies for bypassing the membrane barrier in multidrug resistant Gram-negative bacteria. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 585:1682-1690.
- Bonfiglio, G. & Funeri, P. M. (2001). Novel streptoGramin antibiotics. *Expert Opinion Investigation Drugs*, 10:185-198.
- Borges-Walmsley, M. J., McKeegan, K. S. & Walmsley, A. R. (2003). Structure and function of efflux pumps that confer resistance to drugs. *Biochemical Journal*, 376:313-338.
- Boyd, R. F. (1984). *General microbiology*. London : Times Mirror/Mosby College pub, 829p.
- Braga, L. C., Leite, A. A., Xavier, K. G., Takahashi, J. A., Bemquerer, M. P., Chartone-Souza, E. & Nascimento, A. M. (2005). Synergic interaction between pomegranate extract and antibiotics against *Staphylococcus aureus*. *Canadian Journal of Microbiology*, 51(7):541-547.
- Brantner, A. & Grein, E. (1994). Antibacterial activity of plant extracts used externally in traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 44:35-40.

- Brooks, G. F., Butel, J. S. & Morse, S. A. (2004). Cultivation of Microorganisms. In Brooks, G. F., Butel, J. S. & Morse, S. A. *Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology, 23rd Edition*. New York : McGraw-Hill Compagnies, pp.167-168.
- Brown, M. H., Paulsen, I. T. & Skurray, R. A. (1999). The multidrug efflux protein NorM is a prototype of a new family of transporters. *Molecular Microbiology*, 31:394-395.
- Brown, E. G. (2009). *Providencia Infections: Treatment and Medication*. [En ligne] Disponible sur <http://emedicine.medscape.com/p.st-overview.html>. Consulté le 20 Juin 2017.
- Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales, 3^{ème} édition*. Paris : Tec & Doc Lavoisier, pp.263-309.
- Burkill, H. (1985). *The useful plants of west tropical Africa, 2nd édition*. London UK: Royal Botanic Garden Kew, 960p.
- Butaye, P., Cloeckaert, A. & Schwarz, S. (2003). Mobile genes coding for efflux mediated antimicrobial resistance in Gram-positive and Gram-negative bacteria. *International Journal Antimicrobial Agents*, 22:205-210.
- Caquet, R. (2008). *Guide infirmier des examens de laboratoire*. Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson, 400p.
- Carattoli, A. (2009). Resistance Plasmid Families in Enterobacteriaceae. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(6):2227-2238.
- Carbonnelle, B., Denis, F., Marmonier, A., Pinon, G. & Vargues, R. (1987). *Bactériologie médicale : techniques usuelles*. Paris : SIMEP, pp.227-228, 237-238.
- Carle, S. (2009). La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! Le parrainage des antimicrobiens : version 2010. *Pharmactuel*, 42:6-21.
- Carson, C. F., Mee, B. J. & Riley, T. V. (2002). Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(6):1914-1920.
- Cattoir, V. (2004). Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. *Pathologie Biologie*, 52:607-616.
- CDC (Centres for Disease Control and Prevention). (2013). *Antibiotic resistance threats in the United States, 2013*. U.S. Department of Health and Human Services, 113p.
- Centre d'analyse stratégique. (2012). Les bactéries résistantes aux antibiotiques (Note d'analyse 299). [En ligne] Disponible sur <https://archives.strategie.gouv.fr/cas/content/bacteries-resistantes-antibiotiques-na299.html>. Consulté le 20 Novembre 2018.

- Chaib, K., Kouidhi, B., Jraf, H., Mahdouani, K. & Bakhrouf, A. (2011). Antibacterial activity of thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa* and its potency to prevent bacterial biofilm formation. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11:29-34.
- Cheng, Z. F. & Zhen, C. (2004). The Cheng Zhi-Fan Collectanea of Medical History. Beijing : Peking University Medical Press, 278p.
- Chevalier, J., Pagès, J. M., Eyraud, A. & Malléa, M. (2000). Membrane permeability modifications are involved in antibiotic resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 274:496-499.
- Chollet, R., Chevalier, J., Bryskier, A., Pages, J-M. (2004). The AcrAB-TolC pump is involved in macrolide resistance but not in thelittromycin efflux in *Enterobacter aerogenes* and *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48:3621-3624
- Chopra, I., Hawkey, P. M. & Hinton, M. (1992). Tetracyclines, molecular and clinical aspects. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 29(3):245-277.
- Chopra, I. & Roberts, M. (2001). Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 65(2):232-260.
- CHUPS. (2003). *Bactériologie DCEM 1. Service de Bactériologie*. [En ligne] Disponible sur <http://www.md.ulc.ac.be/dilac/hosp/cours/Bacterio.pdf>. Consulté le 25 Juillet 2017.
- Coburn, B., Sekirov, I. & Finlay, B. B. (2007). Type III secretion systems and disease. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(4):535-549.
- Cohen, Y. (2008). *Pharmacologie*. France : Elsevier Masson, Issy-les-moulineaux, 487p.
- Cowan, M. M. (1999). Plants products as antimicrobial activity. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4):564-582.
- Davin-Regli, A., Masi, M., Bialek, S., Nicolas-Chanoine, M. H. & Pagès, J. M. (2016). Antimicrobial resistance and drug efflux pumps in *Enterobacter* and *Klebsiella*. In Li, X-Z., Elkins, C. A., & Zgurskaya, H. I. *Efflux-Mediated Antimicrobial Resistance in Bacteria: Mechanisms, Regulation and Clinical Implications*. Berlin : Springer, pp.281-306.
- De Angelis, G., D'Inzeo, T., Fiori, B., Spanu, T. & Sganga, G. (2014). Burden of antibiotic resistant Gram-negative bacterial infections: evidence and limits. *Journal of Medical Microbiology & Diagnosis*, 3(1):1-6.
- Debella, A., Haslinger, E., Schmid, M. G., Bucar, F., Michl, G., Abebe, D. & Kunert, O. (2000). Triterpenoid saponins and sapogenin lactones from *Albizia gummifera*. *Phytochemistry*, 53:885-892.

- 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.
- De-Ekmamkul, W. & Potduang, B. (2003). Biosynthesis of beta-sitosterol and stigmasterol in *Croton sublyratus* proceeds via a mixed origin of isoprene units. *phytochemistry*, 62(3):389-393.
- Djeussi, E. D., Sandjo, L. P., Noumeden, K. A., Omosa, K. L., Ngadjui, B. T. & Kuete, V. (2015). Antibacterial activities of the methanol extracts and compounds from *Erythrina sigmoidea* against Gram-negative multi-drug resistant phenotypes. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15:453.
- Denis, F., Ploy, M. C., Martin, C., Bingen, E. & Quentin, R. (2007). *Bactériologie médicale : techniques usuelles*. Paris : Elsevier Masson S.A.S, pp.250-316.
- De Souza, R. R. J. (2012). *Mangiferin: Microencapsulation in Pectin/Chitosan Systems, in vitro intestinal metabolism and anticancer activity*. PhD thesis, University of Cearà, Brazil, pp.1-242.
- Dineshkumar, B., Analava, M. & Manjunatha, M. (2010). Studies on the anti-diabetic and hypolipidemic potentials of mangiferin (XanthoneGlucoside) in streptozotocin-induced Type 1 and Type 2 diabetic model rats. *International Journal of Advances in Pharmaceutical Sciences*, 1:75-85.
- Dougherty, J. T. & Pucci, J. M. (2012). *Antibiotic Discovery and Development*. New York : Springer, 1127p.
- Dziewanowska, K., Patti, J. M., Deobald, C. F., Bayles, K. W., Trumble, W. R. & Bohach, G. A. (1999). Fibronectin binding protein and host cell tyrosine kinase are required for internalization of *Staphylococcus aureus* by epithelial cells. *Infection and immunity*, 67(9):4673-4678.
- Dzotam, K. J., Touani, K. F. & Kuete, V. (2016). Antibacterial and antibiotic-modifying activities of three food plants (*Xanthosoma mafaffa*, *Moringa oleifera* and *Passiflora edulis*) against Multidrug-resistant (MDR) Gram-negative Bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(9):1-8.
- Dzotam, K. J., Simo, k. I., Bitchagno, G., Ilhami, C., Sandjo, L. P., Tane, P., kuete, V. (2018). *In vitro* antibacterial and antibiotic modifying activity of crude extract, fractions and 3', 4', 7- thihydroxyflavone from *Myristica fragans* Houutt against MDR Gram-negative enteric bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18(15):1-9.

- Ebongue, C. O., Tsiazok, M. D., Nda, M. J. P., Ngaba, G. P., Beyiha, G., Adiogo, D. (2015). Evolution de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à l'Hôpital Général de Douala de 2005 à 2012. *Panfrican Medical Journal*, 227:1-11.
- Eloff, J. N. (1998). A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Medica*, 64:711-713.
- Epaulard, O., Brion, J. P. (2009). Phénicolés (chloramphénicol et thiamphénicol). *Encyclopédie Médico-chirurgicale*, 2009:1-6.
- Evans, B. C., Nelson, C. E., Shann, S. Y., Beavers, K. R., Kim, A. J., Li, H., Nelson, H. M., Giorgio, T. D. & Duvall, C. L. (2013). Ex vivo red blood cell hemolysis assay for the evaluation of pH-responsive endosomolytic agents for cytosolic delivery of biomacromolecular drugs. *Journal of Visualized Experiments*, 9(73):e50166.
- Ezo'o, M. F., Tchonang, S. C., Kemaleu, L. H., Kamdem, S. L. S. & Ngang, E. J. J. (2018). Exposure to Plant Extract Causes the Variation of Antibiotic Susceptibility of Two Bacterial Strains (*Salmonella Serotype Typhi* and *Staphylococcus aureus*). *Journal of Advances in Microbiology*, 12(2): 1-14.
- Faizi, S., Khan, R. A., Azher, S., Khan, S. A., Taussef, S. & Ahmad, A. (2003). New antimicrobial alkaloids from the roots of *Polyalthia longifolia* var. *pendula*. *Planta medica*, 69:350-355.
- Fankam, A. G., Kuate, J-R. & Kuete, V. (2014). Antibacterial activities of *Beilschmiedia obscura* and six other Cameroonian medicinal plants against multi-drug resistant Gram-negative phenotypes. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14:241-249.
- FAO. (2004). Trade in medicinal plants. [En ligne] Disponible sur <http://ftp.fao.org/docrep/fao/008/af285e/af285e00.pdf>. Consulté le 20 Juin 2016.
- Farombi, E. O., Ogundipe, O. O., Samuel, U. E., Adeyanju, M. A. & Olarenwaju, M. J. (2003). Antioxidant properties of extracts from *Alchornea laxiflora* (Benth) Pax and Hoffman. *Phytotherapy Research*, 17:713-716.
- Faure, S. (2009). Transfert d'un gène de résistance aux β -lactamines blaCTX-M-9 entre *Salmonella* et les entérobactéries de la flore intestinale humaine : impact d'une antibiothérapie. Thèse de Doctorat, Université de Rennes, France, 184p.
- Finch, R. & Hunter, P. A. (2006). Antibiotic resistance - action to promote new technologies: report of an EU Intergovernmental Conference held in Birmingham, UK, 12–13 December 2005. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 58(1):3-22.
- Finlay, B. B. & Mc Fadden, G. (2006). Anti-immunology: evasion of the host immune system by bacterial and viral pathogens. *Cell*, 124(4):767-782.

- Fiorucci, S. (2006). *Activités biologiques de composés de la famille de flavonoïdes : approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire*. Thèse de Doctorat, Université de Nice, France, 211p.
- Fleiszig, S. M., Wiener-Kronish, J. P., Miyazaki, H., Vallas, V., Mostov, K. E., Kanada, D., Sawa, T., Yen, T. S. & Frank, D. W. (1997). *Pseudomonas aeruginosa*-mediated cytotoxicity and invasion correlate with distinct genotypes at the loci encoding exoenzyme S. *Infection and Immunity*, 65(2):579-586.
- Focho, D. W. T. N. & Fonge, B. (2009). Medicinal plants of Aguambu - Bamumbu in the Lebialem highlands, southwest province of Cameroon. *Africa Journal Pharmacology*, 3:1-13.
- 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 undersimulated conditions of use in fragrances. *Food and Chemical Toxicology*, 39:153-162.
- Freire, S. M., Torres, L. M., Souccar, C., Lapa, A. J. (1996). Effets sympathomimétiques de *Scoparia dulcis* L. et catécholamines isolées à partir d'extraits de plantes. *Le Journal de la pharmacie et la pharmacologie*, 48(6):624-628.
- Freney, J., Girardo, P., Freydière, A. M., Renaud, F. N. R. (2006). Entérobactéries. [En ligne] Disponible sur <http://www.em-consulte.com/article/60989/ent%C3%A9robact%C3%A9ries>. Consulté le 21 Septembre 2017.
- Gangoué-Piéboji, J. (2007). *Caractérisation des bêta-lactamases et leur inhibition par les extraits de plantes médicinales*. Thèse de Doctorat, Université de Liege, France, 104p.
- Gangoué-Pieboji, J., Bedenic, B., Koulla-Shiro, S., Randegger, C., Adiogo, D., Ngassam, P., Ndumbe, P. & Hächler, H. (2005). Extended Spectrum-Beta-Lactamase Producing Enterobacteriaceae in Yaounde, Cameroon. *Journal of Clinical Microbiology*, 4:3273-3280.
- Ghisalberti, D., Masi, M., Pagès, J-M. & Chevalier, J. (2005). Chloramphenicol and expression of multidrug efflux pump in *Enterobacter aerogenes*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 328:1113-1118.
- Gibbons, S. (2008). Phytochemicals for bacterial resistance: strengths, weaknesses and opportunities. *Planta Medica*, 74:594-602.
- Gillespie, H. S., Bamford, B. K. (2012). *Medical Microbiology and Infection at a Glance*, 4th edition. Oxford : Wiley-Blackwell, 128p.

- GlaxoSmithKline (GSK). (2007). Dossier santé : Les maladies infectieuses de l'enfant. [Enligne] Disponible sur http://www.gsk.fr/gsk/votresante/maladie_enfant/pdf/dossier_enfant.pdf. Consulté le 15 Novembre 2016.
- Gonzaga, W. A., Weber, A. D., Giacomelli, S. R., Dalcol, I. L., Aoel Zel, S. C. & Morel, A. F. (2003). Antibacterial alkaloid from *Zanthoxylum thoifalin*. *Planta Medica*, 69(4):371-374.
- Guinoiseau, E. (2010). *Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action*. Thèse de doctorat, Université de Corse, France, 149p.
- Haddad, M., Khan, I. A. & Lacaille-Dubois, M. A. (2002). Two new prosapogenins from *Albizia adianthifolia*. *Pharmazie*, 57:705-708.
- Haddad, M., Miyamoto, T., Laurens, V. & Lacaille-Dubois, M. A. (2003). Two new biologically active triterpenoidal saponins acylated with salicylic acid from *Albizia adianthifolia*. *Journal of Natural Products*, 66:372-377.
- Haddad, M., Laurens, V. & Lacaille-Dubois, M. A. (2004). Induction of apoptosis in a leukemia cell line by triterpene saponins from *Albizia adianthifolia*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 12:4725-4734.
- Hancock, R. E. (1997). The bacterial outer membrane as a drug barrier. *Trends in Microbiology*, 5(1):37-42.
- Hancock, R. E. (1998). Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other non-fermentative Gram-negative bacteria. *Clinical Infectious Diseases*, 27(1):93-99.
- Hang, M. (1999). Basic technics for microbiological research. In Chen, W. & Ming, H. *Microbial research technics*. Beijing : Science press, pp.1-29.
- Haniff, Wahid, M., Eroglu, E., LaVars, M. S., Newton, K., Gibson, T. C., Stroehrer, H. U., Chen, X., Boulos, A. R., Raston, L. C. & Harmer, L. S. (2015). Microencapsulation of bacterial strains in graphene oxide nano-sheets using vortex fluidics. *RSC Advances*, 5(47):37424-37430.
- Harbone, J. B. (1973). *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis*. London : Chapman and Hall Ltd, 116p.
- Hasdemir, U. O., Chevalier, J., Nordmann, P. & Pages, J-M. (2004). Detection and prevalence of active drug efflux mechanism in various multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains from Turkey. *Journal of Clinical Microbiology*, 42:2701-2706.
- Hayley, W. & Wade, P. (2005). Understanding antibiotic resistance. *Pharmaceutical Journal*, 974:500-504.

- Heide, L. (2014). New aminocoumarin antibiotics as gyrase inhibitors. *International Journal of Medical Microbiology*, 304(1):31-36.
- Heymann, D. L. (2004). Emerging infections. In: Schaechter, M. & Lederberg, J. *The desk encyclopedia of microbiology*. Amsterdam : Elsevier Academic Press, 1149p.
- Hirai, I., Okuno, M., Katsuma, R., Arita, N., Tachibana, M. & Yamamoto, Y. (2010). Characterisation of anti-Staphylococcus aureus activity of quercetin. *International Journal of Food Science and Technology*, 45(6):1250-1254.
- Ishikawa, Y., Nagai, J., Okada, Y., Sato, K., Yumoto, R. & Takano, M. (2010). Function and Expression of ATP-Binding Cassette Transporters in Cultured Human Y79 Retinoblastoma Cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 33(3):504-511.
- Jiofack, T., Ayissi, I., Fokunang, C., Guedje, N. & Kemeuze, V. (2009). Ethnobotany and phytomedicine of the upper Nyong valley forest in Cameroon. *Africa Journal of Pharmacology*, 3:144-150.
- Joëlle, N. (2012). *Pédiatrie et santé humanitaire*. Montpellier : DU Santé humanitaire CHU, 32p.
- Jucker, E. (2002). *Progress in drug research*. Oregon : Birkhäuser, 321p.
- Jurgen, B. A. & Kern, W. V. (2005). Selected Arylpiperazines Are Capable of Reversing Multi-drug Resistance in *Escherichia coli* over expressing RND Efflux Pumps. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49:849-852.
- Kaatz, G. W. & Seo, S. M. (1995). Inducible NorA-mediated multidrug resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39(12):2650-2655.
- Kamicker, B. J., Sweeney, M. T., Kaczmarek, F., Dib-Hajj, F., Shang, w., Crimin, K., Duignan, J. & Gootz, T. D. (2008). Bacteria efflux pump inhibitors. *Methods in molecular medicine*, 142:187-204.
- Keating, G. & O’Kennedy, R. (1997). The Chemistry and Occurrence of Coumarins. In O’Kennedy, R. & Thornes, R. D. *Coumarins: Biology, Applications and Mode of Action*. New York : John Wiley & Sons, pp.23-66.
- Kenneth, T. (2006). Today’s online text book of bacteriology. [En ligne] Disponible sur http://www.textbook_ofbacteriology.Net/normalflora-2.html. Consulté le 05 Septembre 2017.
- Khiati, M. (1998). *Guide des maladies infectieuses et parasitaires*. Alger : OPU, 258p.
- Koebnik, R., Locher, K. P. & Gelder, P. V. (2000). Structure and function of bacterial outer membrane proteins: barrels in a nutshell. *Molecular Microbiology*, 37(2):239-253.
- Kohanski, M. A., Dwyer, D. J., Hayete, B., Lawrence, C. A., Collins, J. J. (2007). A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics. *Cell*, 130(5):797-810.

- Kouakou, S., Nguessan, I. & Kablan, B. (2009). Activité antioxydante et antiélastasique de trois plantes à usage antiasthmatique en médecine traditionnelle. *Journal of Pharmaceutical and Biological Sciences*, 12:6-12.
- Kuete, V., Wabo, G. F., Ngameni, B., Mbaveng, A. T., Metuno, R., Etoa, F. X. & Lall, N. (2007). Antimicrobial activity of the methanolic extract, fractions and compounds from the stem bark of *Irvingia gabonensis* (Ixonanthaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 114(1):54-60.
- Kuete, V., Fozing, D. C., Kapche, W. F. G. D., Mbaveng, A. T., Kuate, J. R., Ngadjui, B. T. & Abegaz, B. M. (2009). Antimicrobial activity of the methanolic extract and compounds from *Morus mesozygia* stem bark. *Journal of Ethnopharmacology*, 124:551-555.
- Kuete, V. (2010). Potential of Cameroonian Plants and Derived Products against Microbial Infections: A Review. *Planta Medica*, 76:1-13.
- Kuete, V., Ngameni, B., Tangmouo, J. G., Bolla, J. M., Alibert-Franco, S., Ngadjui, B. T. & Pages, J. M. (2010). Efflux pumps are involved in the defense of Gram-negative bacteria against the natural products isobavachalcone and diospyrone. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54:1749-1752.
- Kuete, V., Alibert-Franco, S., Eyong, K. O., Ngameni, B., Folefoc, G. N., Nguemeving, J. R., Tangmouo, J. G., Fotso, G. W., Komguem, J., Ouahouo, B. M., Bolla, J. M., Chevalier, J., Ngadjui, B. T., Nkengfack, A. E. & Pages, J. M. (2011). Antibacterial activity of some natural products against bacteria expressing a multidrug-resistant phenotype. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 37(2):156-161.
- Kuate, 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, Université de Yaoundé I, Cameroun, 170p.
- Kumar, A. & Schweizer, H. P. (2005). Bacterial resistance to antibiotics: active efflux and reduced uptake. *Advanced Drug Delivery Review*, 57:1486-1513.
- Lamers, R. P., Cavallari, J. F. & Burrows, L. L. (2013). The efflux inhibitor phenylalanine arginine beta-naphthylamide permeabilizes the outer membrane of Gram-negative bacteria. *PLoS ONE*, 8:e60666.
- Laohavaleeson, S., Lolans, K., Quinn, J. P., Kuti, J. L., Nicolau, D. P. (2008). Expression of the MexXY-OprM efflux system in *Pseudomonas aeruginosa* with discordant cefepime/ceftazidime susceptibility profiles. *International Journal of Nanomedicine*, 1:51-55.

- Larpent, J. P. (1997). *Microbiologie Alimentaire, Techniques de laboratoire*. Paris : Tec & Doc Lavoisier, 1074p.
- Lavigne, J. P. (2007). *Effet des antibiotiques, mécanismes de résistance*. France : Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes, pp.1-3.
- Leejae, S., Taylor, P. W. & Voravuthikunchai, S. P. (2013). Antibacterial mechanisms of rhodomyrtone against important hospital-acquired antibiotic-resistant pathogenic bacteria. *Journal of Medical Microbiology*, 62(1):78-85.
- Lemaoui, C., Layaida, H., Badi, A. & Foudi, N. (2017). Stratégies actuelles de lutte contre la résistance aux antibiotiques. *Journal des Anti-infectieux*, 19(1):12-19.
- Leonard, C. T., Ward, D. & Longson, C. (2017). Antimicrobial resistance: a light at the end of the tunnel? *The Lancet*, 389(10071):803-804.
- Levy, S. B. & Mc Murry, L. (1978). Plasmid-determined tetracycline resistance involves new transport systems for tetracycline. *Nature*, 276:90-92.
- Lewis, K. & Ausubel, F. M. (2006). Prospects for plant derived antibacterials. *Nature Biotechnology*, 24:1504-1507.
- Li, H. B., Cheng, K. W., Wong, C. C., Fan, K. W., Chen, F. & Tian, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food Chemistry*, 102:771-776.
- Li, X. Z. & Nikaido, H. (2004). Efflux-mediated drug resistance in bacteria. *Drugs*, 64:159-204.
- Liassine, N. (2000). Problème des pathogènes Gram négatif résistants aux antibiotiques en milieu hospitalier. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift*, 130(50):1930-1936.
- Lin, C. H., Huang, H. T., Chien, C. C., Tzeng, D. S. & Lung, F. W. (2008). Purple urine bag syndrome in nursing homes: ten elderly case reports and a literature review. *Clinical Interventions in Aging*, 3(4):729-734.
- Ling-Ling, Y., Rong-Tao, L., Yuan-Bao, A., Wie, L., Zhang-Shuang, D. & Zhong-Mei, Z. (2014). Protoberberine Isoquinoline Alkaloids from *Arcangelisia gusanlung*. *Molecules*, 19:13332-13341.
- Lonchel, C. M., Meex, C., Gangoué-Piéboji, J., Boreux, R., Assoumou, M. C., Melin, P. & De Mol, P. (2012). Proportion of extended-spectrum β - lactamase producing enterobacteriaceae in community setting in Ngaoundere, Cameroon. *BMC infectious diseases*, 12(1):53-59.
- Lopez-Romero, J. C., González-Ríos, H., Borges, A., Simões, M. (2015). Antibacterial Effects and Mode of Action of Selected Essential Oils Components against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. [En

- ligne] Disponible sur <http://dx.doi.org/10.1155/2015/795435>. Consulté le 25 Novembre 2018.
- Lorenzi, V., Muselli, A., Bernadini, A. F., Berti, L. & Pages, J-M. (2009). Geraniol restores antibiotic activities against multi-drugs resistant isolates from Gram-negative species. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53:2209-2211.
- Lozano, R., Naghavi, M., Foreman, K., Lim, S., Shibuya, K., Aboyans, V. & Almazroa, M. A. (2013). Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet*, 380(9859):2095-2128.
- Lozniewski, A. & Rabaud, C. N. (2010). Résistance bactérienne aux antibiotiques. [En ligne] Disponible sur [https://fr.scibd.com/document/376365711/2010-Resistance antibiotiques-CCLinSE.pdf](https://fr.scibd.com/document/376365711/2010-Resistance%20antibiotiques-CCLinSE.pdf). Consulté le 5 Juillet 2017.
- Lutz, J. K. & Lee, J. (2011). Prevalence and Antimicrobial-Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* in Swimming Pools and Hot Tubs. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 8:554-564
- Lv, J., Yin, L., Liu, T. & Wang, Y. (2007). Synthesis of pseudopeptides based L-tryptophan as a potential antimicrobial agent. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 17(6):1601-1607.
- Ma, D., Cook, D. N., Alberti, M., Pon, N. G., Nikaido, H. & Hearst, J. E. (1995). Genes *acrA* and *acrB* encode a stress-induced efflux system of *Escherichia coli*. *Molecular Microbiology*, 16:45-55.
- Machado, E., Coque, T. M., Cantón, R., Sousa, J. C. & Peixe, L. (2013). Commensal Enterobacteriaceae as reservoirs of extended spectrum beta-lactamases, integrons, and *sul* genes in Portugal Antimicrobials. *Resistance and Chemotherapy*, 4:1-7.
- Mackay, M. L., Milne, K. & Gould, I. M. (2000). Comparison of methods for assessing synergic antibiotic interactions. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 15(2):125-129.
- Maffioli, I. S. (2013). A Chemist's Survey of Different Antibiotic Classes. In Gualerzi, O. C., Brandi, L., Fabbretti, A. & Pon, L. C. *Antibiotics: Targets, Mechanisms and Resistance*. Weinheim : Wiley-VCH Verlag GmbH, pp.1-22.
- Mah, T. F. C. & O'Toole, G. A. (2001). Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends in Microbiology*, 9(1):34-39.
- Mahamoud, A., Chevalier, J., Libert-Franco, S., Kern, W. V. & Pages, J-M. (2007). Antibiotic efflux pumps in Gram negative bacteria: the inhibitory response strategy. *Journal of Antimicrobial agents and Chemotherapy*, 59:1223-1229.

- Mallèa, M., Chevalier, J., Eyraud, A. & Pagès, J-M. (2002). Inhibitors of antibiotic efflux pumps in resistant *Enterobacter aerogenes* strains. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 293:1370-1373.
- Mamelli, L., Amoros, J. P., Pagès, J-M. & Bolla, J-M. (2003). A phenylalanine arginine beta-naphthylamide sensitive multidrug efflux pump involved in intrinsic and acquired resistance of *Campylobacter* to macrolides. *International Journal of Antimicrobial Agent*, 22:237-241.
- Manuel, B. & Andreas, W. (2010). Nouvelles bactéries à Gram négatif résistantes Alarmisme ou menace réelle ? *Forum Medical Suisse*, 10(51-52):916-917.
- Marbou, W. J. T. & Kuete, V. (2016). Bacterial resistance and immunological profiles in HIV infected and non-infected patients at Mbouda AD LUCEM Hospital in Cameroon. *Journal of Infection and Public Health*, 10(3):269-276.
- Marchandin, H. (2007). B2-Physiologie_Bactérienne. France : Faculté de Médecine de Montpellier-Nîmes, pp.1-5.
- Mbaveng, A. T., Kuete, V., Mapunya, B. M., Beng, V. P., Nkengfack, A. E., Meyer, J. J. M. & Lall, N. (2011). Evaluation of four Cameroonian medicinal plants for anticancer, antigonorrheal and antireverse transcriptase activities. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 32(2):162-167.
- McGaw, J. L., Elgorashi, E. E. & Eloff, N. J. (2014). Cytotoxicity of African medicinal plants against normal animal and human cells. In Kuete, V. *Toxicological Survey of African Medicinal Plants*. London : Elsevier Inc, pp.181-233.
- Mesaros, N., Van Bambeke, F., Glupczynski, Y., Vanhoof, R. & Tulkens, P. M. (2005). L'efflux des antibiotiques : un mécanisme ubiquitaire conduisant à la résistance. Etat de la question et implications microbiologiques et cliniques. *Louvain Médical*, 124(8):308-320.
- Meyer, A. & Deiana, J. (1988). *Cours de microbiologie générale*. Paris, Doin : pp.201-224, 234
- Meyer, A., Deiana, J. & Bernard, A. (2004). *Cours de microbiologie générale*. Paris : Doin, 430p.
- Meyer, G. (2007). Antibiotics - protein synthesis, nucleic acid synthesis and metabolism. [En ligne] Disponible sur <http://faculty.ksu.edu.sa/5115/Module%20561%20%20561/Antibiotics.pdf>. Consulté le 2 Septembre 2017.

- Michael, V. H. M. A., Schuurmans, J. M., Smid, M. C., Koenders, B. B. & Kuile B. H. (2011). De novo acquisition of resistance to three antibiotics by *Escherichia coli*. *Microbial Drug Resistance*, 17:141-147.
- Mims, C., Playfair, J., Roitt, I., Wakelin, D. & Williams, R. (1993). Antimicrobials and chemotherapy. *Medical Microbiology Review*, 35:1-34.
- Moat, G. A., Foster, W. J., Spector, P. M. (2002). *Microbial physiology* (4th edition). [En ligne] Disponible sur <http://www.prota4u.org/protav8.asp?p=Rauvolfia+caffra>. Consulté le 22 Septembre 2016.
- Momo, C. E., Oben, J. E., Tazoo, D., Dongo, E. (2006). Antidiabetic and hypolipidaemic effects of a methanol/methylene-chloride extract of *Laportea ovalifolia* (Urticaceae), measured in rats with alloxan-induced diabetes. *Annals Tropical Medecine Parasitology*, 100(1):69-74.
- Monks, T. J., Hanzlik, R. P., Cohen, G. M., Ross, D. & Graham, D. G. (1992). Quinone chemistry and toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 112:2-16.
- Morris, R. P., Leeds, J. A., Naegeli, H. U., Oberer, L., Memmert, K., Weber, E., LaMarche, M. J., Parker, C. N., Burrer, N., Estero, w. S., Hein, A. E., Schmitt, E. K. & Krastel, P. (2009). Ribosomally synthesized thiopeptide antibiotics targeting elongation factor Tu. *Journal of the American Chemical Society*, 131(16):5946-5955.
- Murugan, K., Sangeetha, S., Kalyanasundaram, V. B., Saleh, A. S. (2013). *In vitro* and in silico screening for *Andrographis paniculata* quorum sensing mimics: New therapeutic leads for cystic fibrosis *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Plant Omics*, 6(5):340-346
- Nelson, M. L. & Levy, S. B. (1999). Reversal of tetracycline resistance mediated by different bacterial tetracycline resistance determinant by an inhibitor of the TetB antiport protein. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 43:1719-1724.
- Newton, S. M., Lau, C., Gurcha, S. S., Besra, G. S. & Wright, C. W. (2002). The evaluation of forty-three plant species for *in vitro* antimycobacterial activities; isolation of active constituents from *Psoralea corylifolia* and *Sanguinaria canadensis*. *Journal of Ethnopharmacology*, 79:57-63.
- Ngalani, O. (2015). *Influence de la multi-résistance des bactéries entériques aux antibiotiques sur l'état immunologique des patients séropositifs au VIH venus en consultation à l'hôpital Adlucem Banka de Bafang*. Thèse de Master, Université de Dschang, Cameroun, 98p.

- Ngueguim, K. G. (2014). *Fréquence des bactéries Gram négatif à phénotype multiresistants chez les patients souffrant d'infection entérique à l'hôpital de district de Dschang et effet de l'association d'antibiotiques*. Thèse de Master, Université de Dschang, Cameroun, 70p.
- Nikaido, k. (1996). Multidrug efflux pumps of Gram-negative bacteria. *Journal of Bacteriology*, 178(20):5853-5859.
- Nikaido, H. (2003). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67:593-656.
- Normak, H. B. & Normak, S. (2002). Evolution and spread of antibiotic resistance. *Journal of Internal Medicine*, 252:91-106.
- Noumedem, J. A., Mihasan, M., Kuate, J-R., Stefan, M., Cojocar, D., Dzoyem, J. P. & Kuete, V. (2013a). *In vitro* antibacterial and antibiotic-potential activities of four edible plants against multidrug-resistant Gram-negative species. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13(1):190-199.
- Noumedem, J. A., Mihasan, M., Lacmata, S.T., Stefan, M., Kuate, J-R. & Kuete, V. (2013b). Antibacterial activities of the methanol extracts of ten Cameroonian vegetables against Gram-negative multidrug-resistant bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13:26-34.
- Odebiyi, O. & Sofowora, E. A. (1978). Phytochemical screening of Nigeria medicinal plants. *Lloydia*, 41(3):234-246.
- Ogawa, W., Li, D. W., Yu, P., Begum, A., Mizushima, T., Kuroda, T., Tsuchiya, T. (2005). Multidrug Resistance in *Klebsiella pneumoniae* MGH78578 and cloning of Genes Responsible for the Resistance. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 28(8):1505-1508.
- Ogundipe, O. O., Moody, J. O., Houghton, P. J. & Odelola, H. A. (2001). Bioactive chemical constituents from *Alchornea laxiflora* (benth) pax and hoffman. *Journal of Ethnopharmacology*, 74:275-280.
- Okusu, H., Ma, D., Nikaido, H. D. (1996). AcrAB efflux pump plays a major role in the antibiotic resistance phenotype of *Escherichia coli* multiple-antibiotic resistance Mar. mutants. *Journal of Bacteriology*, 178:306-308.
- Oladunmoye, M. & Kehinde, F. (2011). Ethnobotanical survey of medicinal plants used in treating viral infections among Yoruba tribe of South Western Nigeria. *African Journal of Microbiology Research*, 5:2991-3004.
- Olaleye, M. T., Akinmoladun, A. C., Ogunboye, A. A. & Akindahunsi, A. A. (2010). Antioxidant activity and hepatoprotective property of leaf extracts of *Boerhaavia diffusa*

- Linn against acetaminophen-induced liver damage in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 8(8-9):2200-2205.
- OMS. (2002). *Stratégie de l’OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005*. Genève : OMS, 65p.
- OMS. (2009). World health statistics 2009 : Cause-specific mortality and morbidity. [En ligne] Disponible sur http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/FR_WHS09_Full.pdf. Consulté le 05 Octobre 2016.
- OMS. (2012). Maladies Infectieuses. [En ligne] Disponible sur <http://www.maladiesinfectieuses.mht>. Consulté le 3 Mai 2016.
- Omulokoli, E., Khan, B. & Chhabra, S. C. (1997). Antiplasmodial activity of four Kenyan medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 56:133-137.
- Onsare, J. G. & Arora, D. S. (2015). Antibiofilm potential of flavonoids extracted from *Moringa oleifera* seed coat against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*. *Journal of Applied Microbiology*, 118(2):313-325.
- Orskov, F., Orskov, I. (1992). *Escherichia coli* serotyping and disease in man animals. *Canadian Journal of Microbiology*, 38:669-674.
- Ouattara, O. F. (2005). *Traitement traditionnel des infections sexuellement transmissibles au Mali : Etude de la phytochimie et des activités biologiques d’Annona senegalensis L. (Annonaceae) et de Stachytarpheta angustifolia Valh. (Verbenaceae)*. Thèse de Doctorat, Université de Bamako, Mali, 117p.
- Oussou, K. R., Yolou, S., Boti, J. B., Guessenn, K. N., Kanko, C., Ahibo, C. & Casanova J. (2008). Etude chimique et activité antidiarrhéique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la pharmacopée ivoirienne. *European Journal of Scientific Research*, 24(1):94-103.
- Pagès, J-M. (2004). Porines bactériennes et sensibilité aux antibiotiques. *Médecine/Science*, 20(3):346-351.
- Pagès, J-M., Masi, M. & Barbe, J. (2005). Inhibitors of efflux pumps in Gram-negative bacteria. *Trends in Molecular Medicine*, 11:382-389.
- Pagès, J-M. & Amiral, L. (2009). Mechanisms of drug efflux and strategies to combat them: challenging the efflux pump of Gram-negative bacteria. *Biochemical and Biophysical Acta*, 1794:826-833.

- Pagotto, F. J., Nazarowec-White, M., Bidawid, S. & Farber, J. M. (2003). *Enterobacter sakazakii*: infectivity and enterotoxin production *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Food Protection*, 66(3):370-375.
- Paulsen, I. T. (2003). Multidrug efflux pumps and resistance: regulation and evolution. *Current Opinion in Microbiology*, 6:446-451.
- Paulsen, I. T., Brown, M. H. & Skurray, R. A. (1996). Proton-dependant multidrug efflux systems. *Microbiological Reviews*, 60:575-608.
- Peronny, S. (2005). *La perception gustative et la consommation des tanins chez le maki (Lemur catta)*. Thèse de Doctorat, Muséum National d'Histoire Naturelle Paris, France, 151p.
- Perugini, A. G., Cerrone, A., Agnoletti, F., Mazzolini, E., Fenizia, D., Bartoli, M., Cattoli, G., Bano, L. & Capuano, F. (2005). *Caractérisation de la résistance aux antibiotiques et identification des gènes de résistance de souches d'Escherichia coli entéropathogènes (EPEC) du lapin en Italie. 11èmes journées de la recherche Cunicole, 29-30 novembre 2005*. Paris : ITAVI, pp.245-248.
- Phan, G. (2008). *Etude structurale du système d'efflux membranaire MexXY-OprM impliqué dans la résistance aux antibiotiques chez Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de Doctorat, Université Paris-Descartes, France, 301p.
- Philippon, 2001. *Cours de Bactériologie générale*. Université Paris V, France, 89p.
- Poole, K. (2001). Multidrug efflux pumps and antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and related organisms. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 3(2):255-264.
- Poole, K. (2002). Outer membranes and efflux: the path to multidrug resistance in Gram-negative bacteria. *Current pharmaceutical Biotechnology*, 3(2):77-98.
- Poole, K. (2004). Efflux-mediated multiresistance in Gram-negative bacteria. *Clinical Microbiology and Infection*, 10(1):12-26.
- Poyart, C. (2006). *Les antibiotiques modes d'action : spectre d'activité des différentes molécules*. [En ligne] Disponible sur <https://docplayer.fr/72667918-Les-antibiotiques-modes-d-action-spectre-d-activité-des-différentes-molécules.html>. Consulté le 23 Juin 2017.
- Pradel, E. & Pagès, J-M. (2002). The AcrAB-TolC efflux pump contributes to multidrug resistance in the nosocomial pathogen *Enterobacter aerogenes*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46:2640-2643.

- Projet Collectif. (2009). Schéma d'une bactérie. [En ligne] Disponible sur <http://prepa28concours2009.blogspot.com/2009/12/schema-dune-bacterie.html>. Consulté le 29 Septembre 2015.
- Putman, M., van Veen, H. W. & Konings, W. N. (2000). Molecular properties of bacterial multidrug transporters. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64:672-693.
- Ramaiarantsoa, H., Koffi, A. B., Assi, K. M. & Djakoure, L. A. (2008). Les 3-O-β-D-glucoside du β-sitostérol isolés des feuilles de *Ravenala madagascariensis*. *Journal de la Société Ouest-africaine de chine*, 26:99-103.
- Renau, T. E., Leger, R. & Yen, R. (2002). Peptidomimetics of efflux pump inhibitors potentiate the activity of levofloxacin in *Pseudomonas aeruginosa*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letter*, 12:763-766.
- Reynaud, J. & Lussignol, M. (2005). The flavonoids of *Lotus Corniculatus*. *Lotus Newsletter*, 35:75-82.
- Rouviex, B. (2007). Clinical implications of multiple drug resistance efflux of pathogenic bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 59:1208-1209.
- Schmelzer, G. & Gurib-Fakim, A. (2013). *Plant resources of tropical Africa 11(2)-Medicinal plants*. Wageningen : Plant Ressources Of Tropical Africa, 384p.
- Schumacher, A., Steinke, P., Bohnert, J. A., Akova, M., Jonas, D., Kern, W. V. (2006). Effect of 1-(1-naphthylmethyl)-piperazine, a novel putative efflux pump inhibitor, on antimicrobial drug susceptibility in clinical isolates of Enterobacteriaceae other than *Escherichia coli*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 57:344-348.
- Seukep, J. A., Sandjo, L. P., Ngadjui, B. T. & Kuete, V. (2016a). Antibacterial activities of the methanol extracts and compounds from *Uapaca togoensis* against Gram negative multi-drug resistant phenotypes. *South African Journal of Botany*, 103:1-5.
- Seukep, J. A., Sandjo, L. P., Ngadjui, B. T. & Kuete, V. (2016b). Antibacterial and antibiotic-resistance modifying activity of the extracts and compounds from *Nauclea pobeguini* against Gram-negative multi-drug resistant phenotypes. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16:193-200.
- Sharma, S. K. & Singh, A. P. (2011). Antimicrobial investigations on rhizomes of *Cyperus rotundus* Linn. *Der Pharmacia Lettre*, 3(3):427-431.
- Shefali, O., Joy, E., Daniel, R., Colin, M., Simon, N. (2015). Neonatal causes of death estimates for the early and late neonatale periods for 194 countries. *Bulletin of the World Health Organization*, 93:19-28.

- Sleigh, D. J. & Timbury, M. C. (1998). *Note on Medical bacteriology*. Livingstone : Churchill, 482p.
- Slobodníková, L., Fialová, S., Rendeková, K., Kováč, J. & Mučaji, P. (2016). Antibiofilm Activity of Plant Polyphenols. *Molecules*, 21(12):1717-1723.
- Soro, D., Kone, M. W. & Kamanzi, K. (2010). Evaluation des Activités Antimicrobiennes et Anti-Radicaux Libres de Quelques Taxons Bioactifs de Côte D'ivoire. *European Journal of Scientific Research*, 40(2):307-317.
- Stavri, M., Piddock, L. J. & Gibbons, S. (2007). Bacteria efflux pumps inhibitors from natural sources. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 59:1247-1260.
- Stefanova, T., Nikolova, N., Michailova, A., Mitov, I., Iancov, I., Zlabinger, G. & Neychev, H. (2007). Enhanced resistance to *Salmonella enterica sero var typhimurium* infection in mice after coumarin treatment. *Microbes and infection*, 9(1):7-14.
- Stermitz, F. R., Tawara-Matsuda, J., Lorenz, P., Mueller, P., Zenewicz, L. & Lewis, K. (2000). 5'-Methoxyhydnocarpin-D and pheophorbide A: Berberis species components that potentiate berberine growth inhibition of resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Natural Product*, 63:1146-1149.
- Stern, J. L., Hagerman, A. E., Steinberg, P. D. & Mason, P. K. (1996). Phlorotannin-protein interactions. *Journal of Chemical Ecology*, 22:1887-1899.
- Stover, C. K., Pham, X. Q., Erwin, A. L., Mizoguchi, S. D., Warrenner, P., Hickey, M. J., Brinkman, F. S. L., Hufnagle, W. O., Kowalik, D. J., Lagrou, M., Garber, R. L., Goltry, L., Tolentino, E., Westbrook-Wadman, S., Yuan, Y., Brody, L. L., Coulter, S. N., Folger, K. R., Kas, A., Larbig, K., Lim, R., Smith, K., Spencer, D., Wong, G. K. S., Wu, Z., Paulsen, I. T., Reizer, J., Saier, M. H., Hancock, R. E. W., Lory, S. & Olson, M. V. (2000). Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PA01, an opportunistic pathogen. *Nature*, 406(6799):959-964.
- Streulens, M. J., Denis, O., Rodriguez-Villalobos, H. & Hallin, M. (2007). La résistance aux antibiotiques : origine, impact et perspectives de santé publique. *Revue Médicale de Bruxelles*, 28:381-384.
- Suresh, B., Sriram, S., Dhanaraj, S. A., Elango, K., Chinnaswamy, K. (1997). Anticandidal activity of *Santolima chamaecyparissus* volatile oil. *Journal of Ethnopharmacology*, 55:151-159.
- 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.

- Tala, D. S., Gatsing, D., Fodouop, S. P. C., Fokunang, C., Kengni, F. & Djimeli, M. N. (2015). *In vivo* anti-salmonella activity of aqueous extract of *Euphorbia prostrata* Aiton (Euphorbiaceae) and its toxicological evaluation. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(4):310-318.
- Tamokou, J. D., Simo, M. D. J., Keilah, L. P., Tene, M., Tane, P. & Kuate, J. R. (2012). Antioxidant and antimicrobial activities of ethyl acetate extract, fractions and compounds from stem bark of *Albizia adianthifolia* (Mimosoideae). *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12(1):99-108.
- Tankeo, S., Damen, F., Awouafack, M., Mpetga, J., Tane, P., Eloff, J. & Kuete, V. (2015). Antibacterial activities of the methanol extracts, fractions and compounds from *Fagara tessmannii*. *Journal of Ethnopharmacology*, 169:275-279.
- Tazoo, D., Krohn, K., Hussain, H., Kouam, S., Dongo, E. (2007). Laportoside A and laportomide A: a new cerebroside and a new ceramide from leaves of *Laportea ovalifolia*. *Naturforsch*, 62:1208-1212.
- Tegos, P. G., Haynes, M., Strouse, J. J., Khan, T. M. M., Bologa, G. C., Oprea, I. T. & Sklar, A. L. (2011). Microbial efflux pump inhibition: tactics and strategies. *Current Pharmaceutical Design*, 17(13):1291-1302.
- Tran, Q. T. (2009). Porins vs the unsusceptibility to Imipenem in *Providencia stuartii*. [En ligne] Disponible sur http://www.faculty.iubremen.de/mwinterhalter/antibiotics/2009%20annual%20Meeting%20and%20Workshop/presentations/presentation_Tien.pdf. Consulté le 10 Juillet 2017.
- Van-Wyk, B. & Gericke, N. (2000). *People's plants: a guide to useful plants of Southern Africa*. Pretoria : Briza, 352p.
- Vila, J., Marti, S. & Sanchez-Céspedes, J. (2007). Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 59(6):1210-1215.
- Voukeng, I. K., Kuete, V., Dzoyem, J. P., Fankam, A. G., Noumedem, J. A., Kuate, J. R. & Pages, J. M. (2012). Antibacterial and antibiotic-potential activities of the methanol extract of some Cameroonian spices against Gram-negative multi-drug resistant phenotypes. *BMC Research Notes*, 5(1):299-308.
- Voukeng, I. K., Nganou, K. B., Sandjo, P. L., Celik, I., Penlap, B. V., Pierre Tane, P. & Kuete, V. (2017). Antibacterial activities of the methanol extract, fractions and compounds from *Elaeophorbium drupifera* (Thonn.) Stapf. (Euphorbiaceae). *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1):28-36.

- Wagh, S. & Vidhale, N. (2010). Antimicrobial efficacy of *Boerhaavia diffusa* against some human pathogenic bacteria and fungi. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 7:267-272.
- Wamba, N. E. B., Nayim, P., Mbaveng, T. A., Voukeng, K. I., Dzutam, K. J., Ngalani, O. J. T. & Kuete, V. (2018). Syzigium jambos displayed antibacterial and Antibiotic-Modulation activities against resistances phenotypes. *Evidence-Based Complementary and Alternative medicine*, 2018:1-12.
- Watt, J. & Breyer-Brandwyk, M. (1962). *The medicinal and poisonous plants of Southern and Eastern Africa. 2nd edition*. Edinburgh : E & S Livingstone Ltd, 1457p.
- Weast, C. R. M. J. & Astle, M. J. (1985). *CRC Handbook of Data on Organic Compounds. Volumes I and II*. Boca Raton : CRC Press Inc, pp.1-927.
- Wikipedia. (2016). Membrane (biologie). [En ligne] Disponible sur [https://fr.wikipedia.org/wiki/Membrane_\(biologie\)](https://fr.wikipedia.org/wiki/Membrane_(biologie)). Consulté le 30 Juin 2016.
- Wilson, J. W., Schurr, M. J., LeBlanc, C. L., Ramamurthy, R., Buchanan, K. L. & Nickerson, C. A. (2002). Mechanisms of bacterial pathogenicity. *Postgraduate Medical Journal*, 78(918):216-224.
- Yala, D., Merad, A. S., Mohamedi, D. & Ouar Korick, M. N. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, 91:5-12.
- Zhanel, G. G., Dueck, M., Hoban, D. J., Vercaigne, L. M., Embil, J. M., Gin, A. S. & Karlowsky, J. A. (2001). Review of macrolides and ketolides. *Drugs*, 61(4):443-498.
- Zgurskaya, H. I. & Nikaido, H. (2000). Multidrug resistance mechanisms: drug efflux across two membranes. *Molecular Microbiology*, 37:219-222.
- Zulfiker, A. H., Ripa, F. A., Rahman, M., Ullah, M., Obayed Hamid, K., Khan, M. R. & Rana, Sohel. (2010). Antidiabétique et effet antioxydant de *Scoparia dulcis* in alloxan souris albinos induite. *International Journal of Pharmacy Technic recherche*, 2(4):2527-2534.

ANNEXES

Annexe 1 : Photographies des plantes étudiées (Photos Tchinda, 2015).



Albizia adianthifolia



Alchornea latixiflora



Boerhavia diffusa



Combretum hispidum

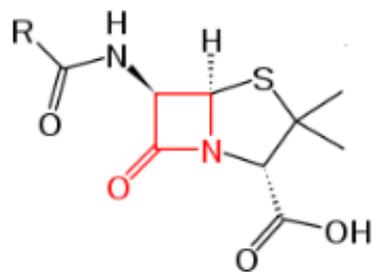


Laportea ovalifolia

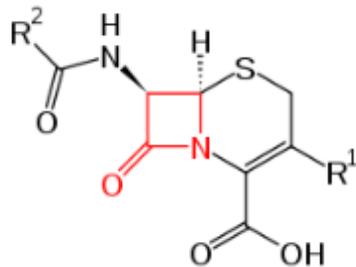


Scoparia dulcis

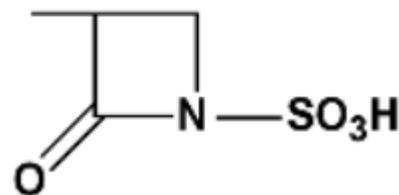
Annexe 2 : Structures chimiques de base de quelques antibiotiques.



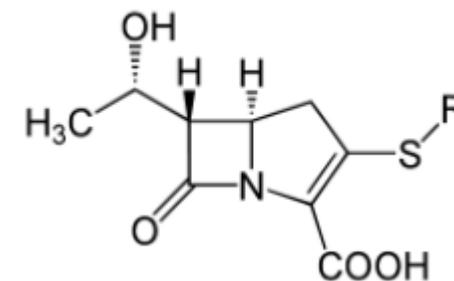
Noyau de base des pénicillines



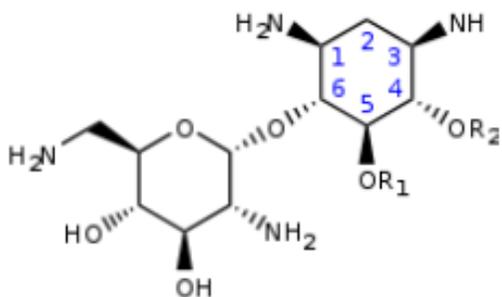
Noyau de base des pénicillines



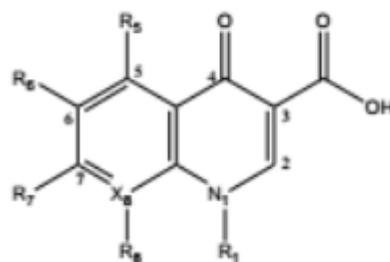
Noyau de base des céphalosporines



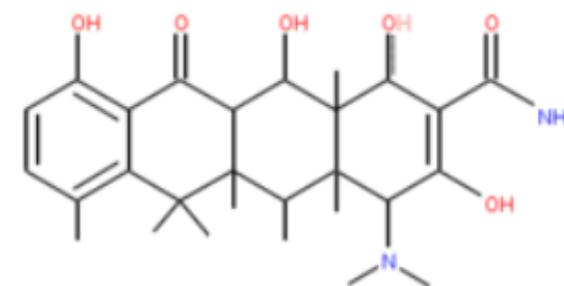
Structure des monobactames



Structure de base des aminosides



Noyau tétracyclique



Structure de base des quinolones

Annexe 3 : Echelle de McFarland (Hang, 1999).

Composition	Echelle McFarland										
	0	0,5	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1% BaCl ₂ (ml)	0,00	0,05	0,10	0,20	0,30	0,40	0,50	0,60	0,70	0,80	0,90
1% H ₂ SO ₄ (ml)	0,00	9,95	9,90	9,80	9,70	9,60	9,50	9,40	9,30	9,20	9,10
Eau distillée (ml)	10,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Densité approximative des cellules (10 ⁸ UFC/ml)	0,00	1,50	3,00	6,00	9,00	12,00	15,00	18,00	21,00	24,00	27,00

Annexe 4 : Composition des milieux de culture utilisés.

❖ **Mueller Hinton Agar « Gélose de Mueller Hinton »**

Composition	g/litre
Extrait de bœuf	300
Caséine	17,5
Amidon	1,5
Agar	17
pH 7.3 ± 0.1	

❖ **Mueller Hinton Broth « Bouillon de Mueller Hinton »**

Composition	g/litre
Extrait de bœuf	300
Caséine	17,5
Amidon	1,5
pH 7,3 ± 0,1	

❖ **Gélose de l'éosine du bleu de méthylène**

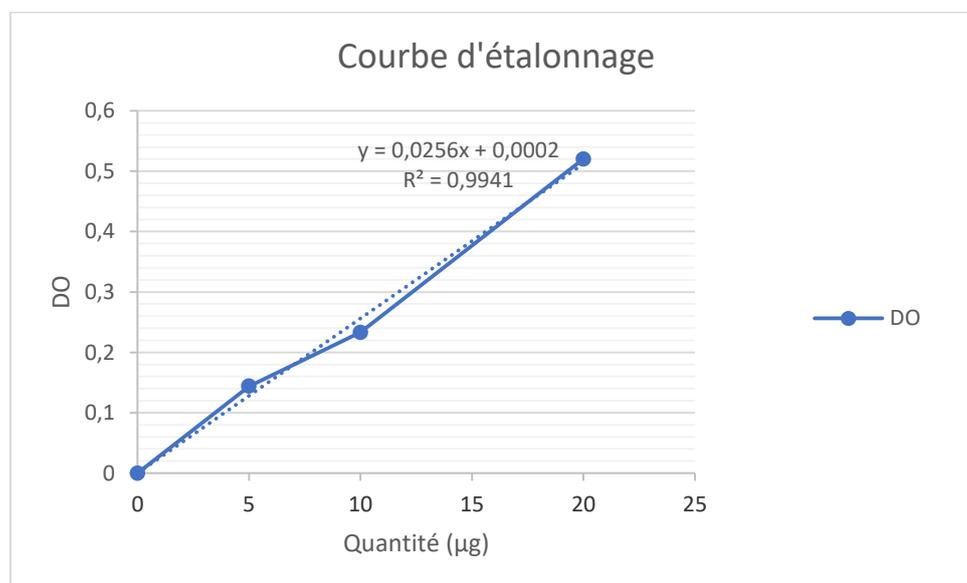
Composition	g/litre
Peptone	10
Lactose	10

Phosphate d'hydrogène dipotassique	2
Éosine Y	0,4
Bleu de méthylène	0,065
Agar	15
pH 6,8 ± 0,2	

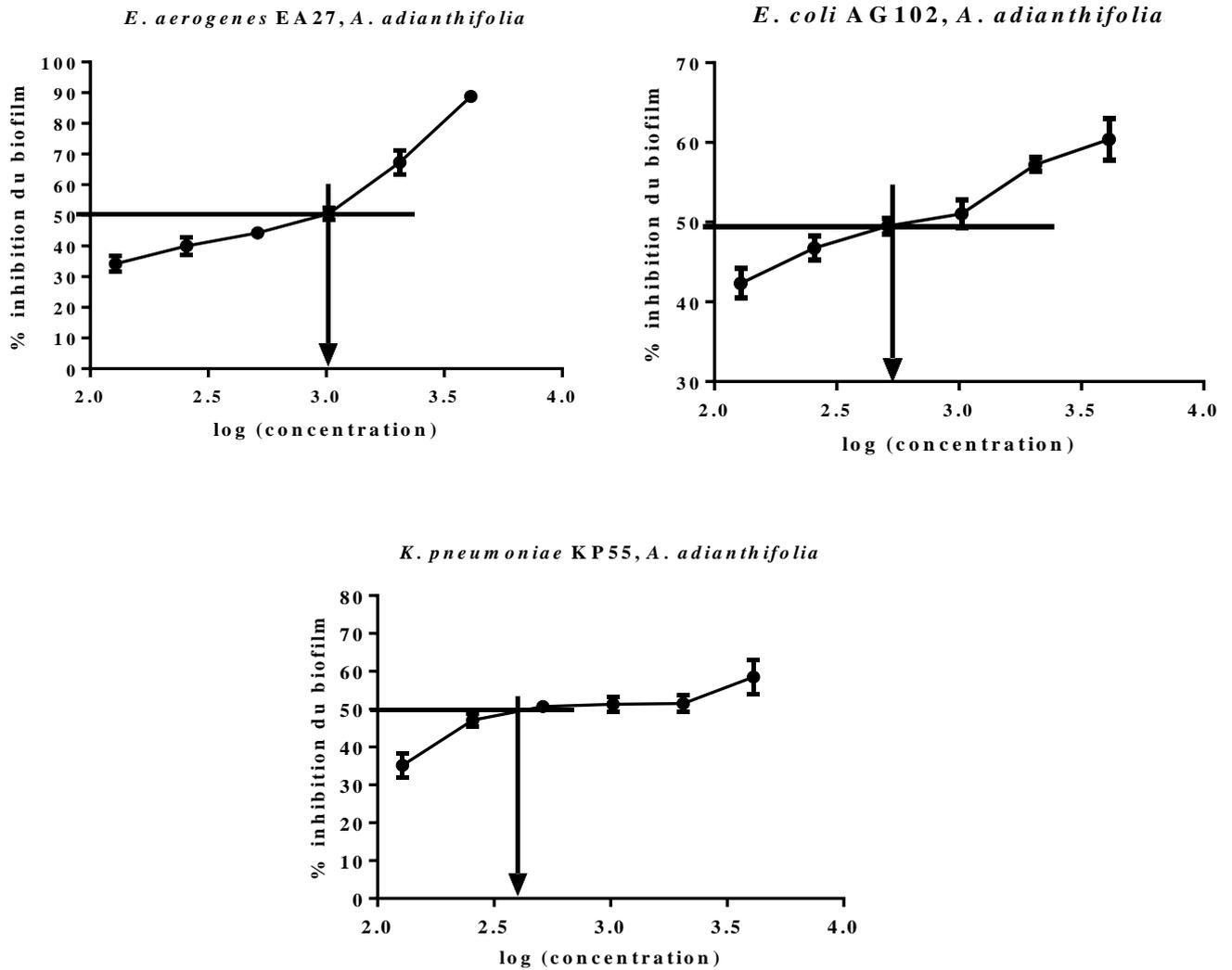
❖ **Gélose de McConkey**

Composition	g/litre
Peptone	20
Lactose	10
Sels biliaires	5
Sodium chloride	5
Rouge neutre	0,075
Agar	12
pH 7,4 ± 0,2	

Annexe 5 : Courbe d'étalonnage du dosage par la méthode de Bradford.



Annexe 6 : Courbes d'inhibition de la formation des biofilms.



Annexe 7 : Fiche des résultats de la NFS.

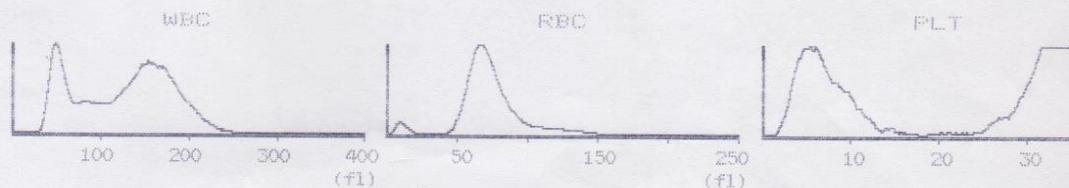
HAEMOGRAM REPORT

DATE : 2018/ 8/ 1 11:34

SAMPLE No. : 00012

PATIENT NAME : [REDACTED] AGE : SEX :

PARAMETERS	+/-	RESULTS	REF. RANGE
WBC		8.4 x10 ³ /u1	(4.0 - 11.0)
LY		2.0 x10 ³ /u1	(1.4 - 3.0)
MO		0.5 x10 ³ /u1	(0.1 - 0.7)
GR	+	5.9 x10 ³ /u1	(2.8 - 5.8)
LY%	-	24.1 %	(25.0 - 45.0)
MO%		5.9 %	(4.0 - 7.0)
GR%		70.0 %	(45.0 - 70.0)
RBC		5.31 x10 ⁶ /u1	(3.50 - 5.60)
Hgb		14.0 g/dl	(11.0 - 18.0)
HCT		41.6 %	(32.0 - 54.0)
MCV	-	78.3 fl	(79.0 -101.0)
MCH		26.3 pg	(26.0 - 36.0)
MCHC		33.6 g/dl	(31.0 - 37.0)
RDW		14.3 %	(11.5 - 14.5)
PLT		336 x10 ³ /u1	(120 - 500)
PCT		0.248 %	(0.130 -0.280)
MPV	-	7.4 fl	(9.0 - 17.0)
PDW	-	9.5 fl	(11.5 - 14.5)

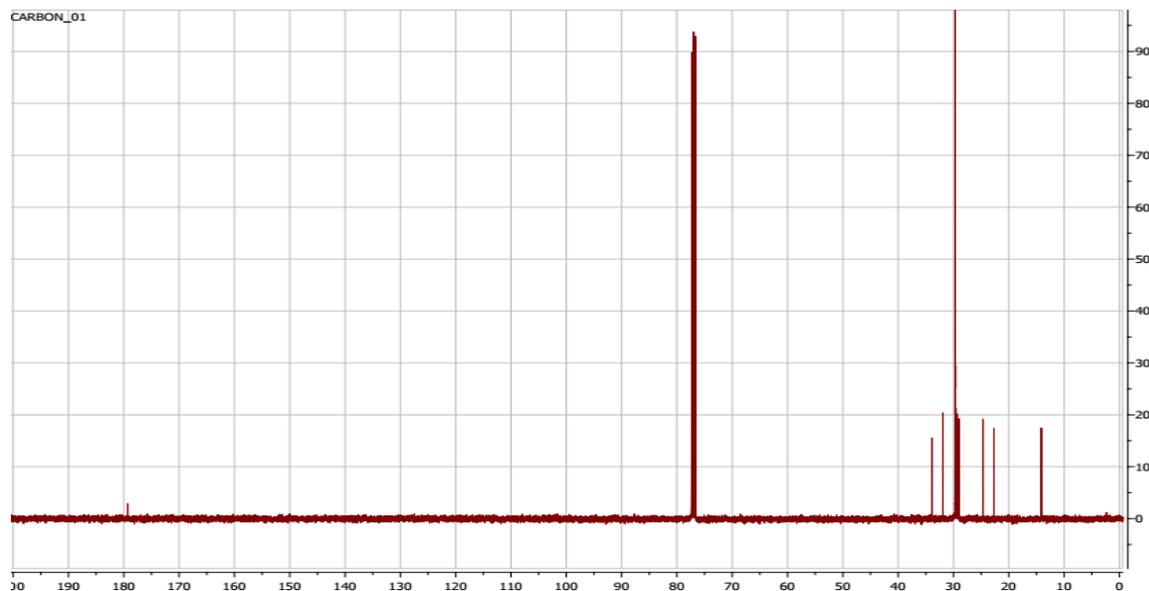


REMARKS :

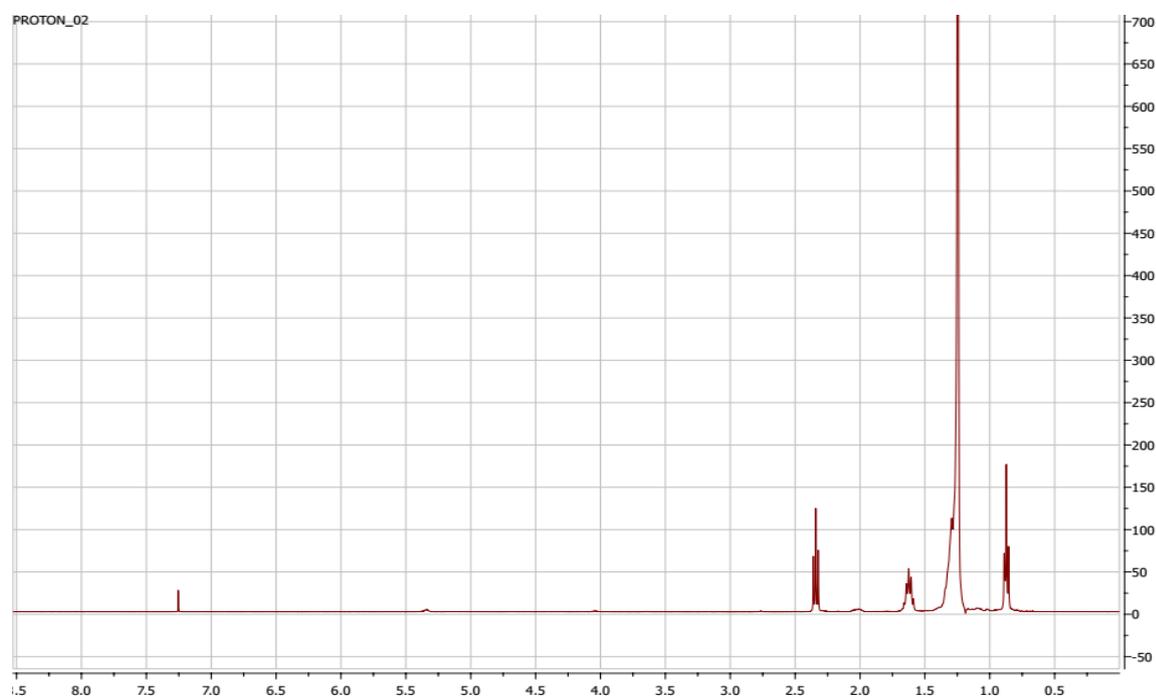
SIGNATURE :

Annexe 8 : Données spectrales du composé **1** (acide stéarique).

Acide stéarique (**1**). Poudre blanche, $C_{18}H_{36}O_2$; (m/z 284, m.p. : 68-70°C). RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ (ppm): 179.3 (C-1), 33.9 (C-2), 31.9-24.7 (Aliphatic methylene), 24.7 (C-3), 14.3 (C-18). RMN 1H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ (ppm): 2.34 (2H, t, H-2, $J=7.5$), 1.61 (1H, m, H-3), 1.50-1.10 (Aliphatic methylene), 0.86 (3H, t, H-18) (Weast et Astle, 1985).



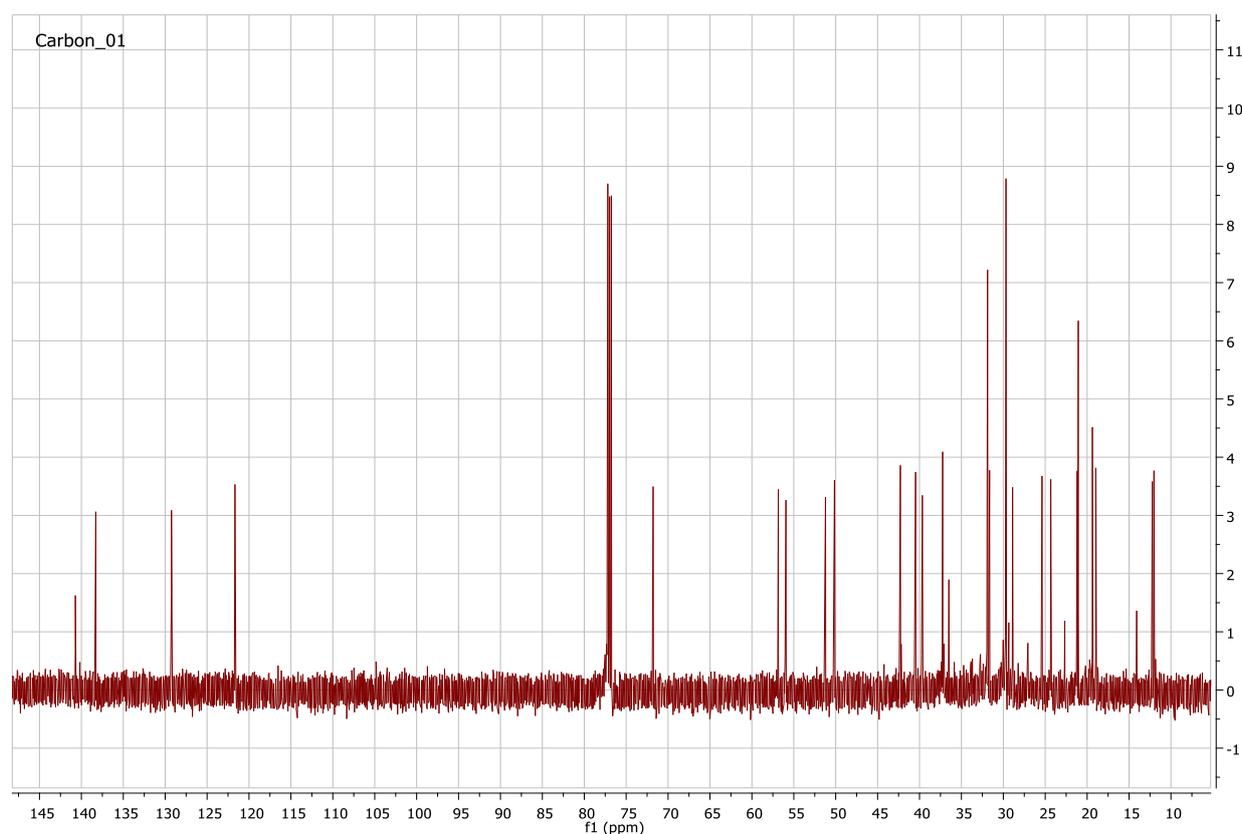
RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) du composé **1**



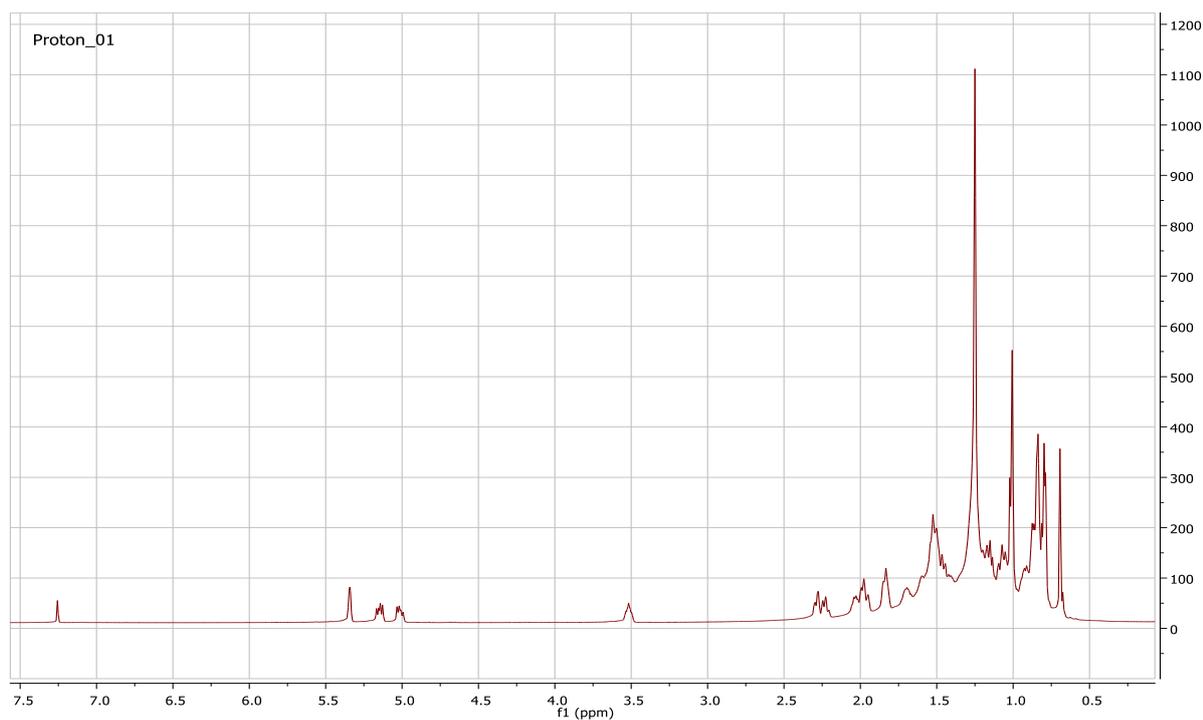
RMN 1H ($CDCl_3$, 400 MHz) du composé **1**

Annexe 9 : Données spectrales des composés **2+3** (stigmastérol et de β -sitostérol).

Mélange de stigmastérol et de β -sitostérol. Poudre blanche. Stigmasterol, $C_{29}H_{48}O$, (m/z 412) et β -sitostérol, $C_{29}H_{50}O$; (m/z 414). Composé **2** (stigmastérol): RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 150 MHz): 12.2 (C-29), 12.5 (C-24), 19.1 (C-28), 19.5 (C-27), 20.1 (C-26), 21.5 (C-11), 24.4 (C-15), 29.4 (C-16), 29.7 (C-25), 31.7 (C-7 et C-8), 31.9 (C-2), 36.5 (C-10), 37.2 (C-1), 39.7 (C-12), 40.6 (C-18), 42.2 (C-13), 42.3 (C-4), 50.2 (C-19), 51.2 (C-9), 55.9 (C-17), 56.8 (C-14), 71.8 (C-3), 121.7 (C-6), 129.3 (C-21), 129.2 (C-23), 138.4 (C-22), 138.5 (C-20) and 140.9 (C-5) (De-Ekmamkul et Potduang, 2003). Composé **3** (β -sitostérol): RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 150 MHz): 12.2 (C-29), 12.5 (C-24), 19.1 (C-28), 19.5 (C-27), 20.1 (C-26), 21.5 (C-11), 22.7 (C-23), 24.4 (C-15), 29.4 (C-16), 25.4 (C-22), 29.7 (C-25), 31.7 (C-7 et C-8), 31.9 (C-2), 36.5 (C-10), 37.2 (C-1), 39.7 (C-12), 40.6 (C-18), 42.2 (C-13), 42.3 (C-4), 50.2 (C-19), 51.2 (C-9), 55.9 (C-17), 56.8 (C-14), 71.8 (C-3), 121.7 (C-6), 129.3 (C-21), 138.5 (C-20) and 140.9 (C-5) (De-Ekmamkul et Potduang, 2003).



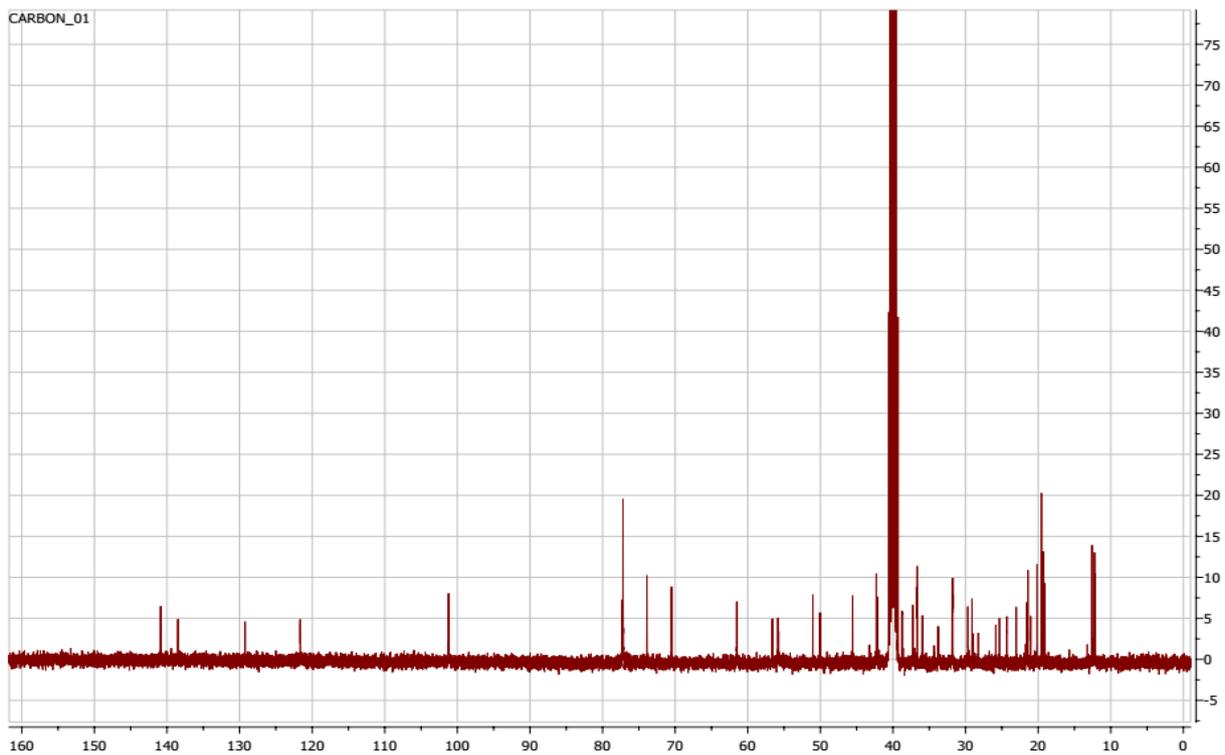
RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 150 MHz) des composés **2 et 3**



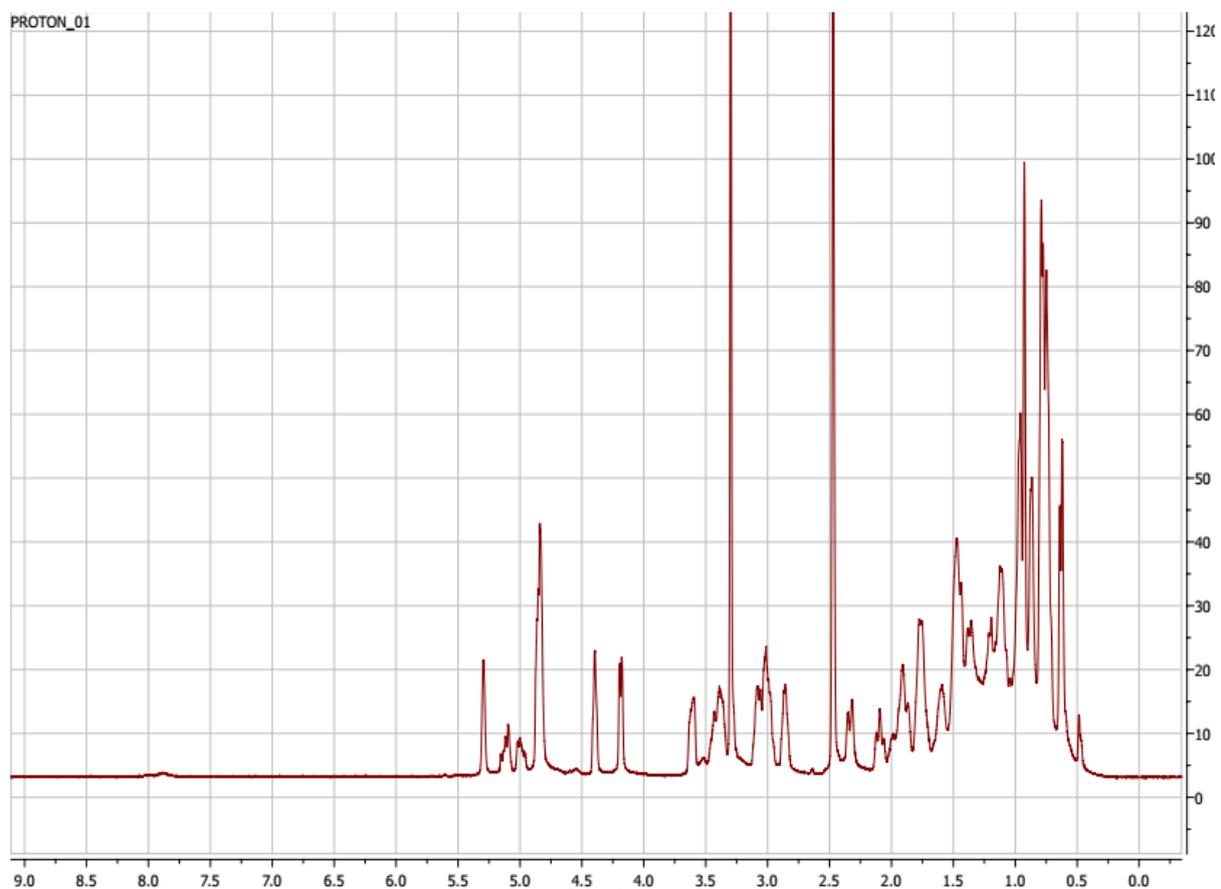
RMN ^1H (CDCl_3 , 600 MHz) des composés **2** et **3**

Annexe 10 : Données spectrales du composé **4** (β -sitostérol 3-*O*- β -D-glucopyranoside).

β -sitostérol 3-*O*- β -D-glucopyranoside (**4**). Poudre blanche, $\text{C}_{35}\text{H}_{60}\text{O}_6$; (m/z 576). RMN ^{13}C (CDCl_3) : 11.7, 11.9, 18.8, 19.0, 19.2, 19.8, 21.1, 23.2, 24.3, 26.1, 28.3, 29.2, 30.0, 31.8, 31.9, 34.0, 36.2, 36.7, 37.2, 39.1, 39.7, 42.2, 45.8, 50.1, 56.0, 56.6, 62.6, 71.4, 75.1, 77.8, 78.4, 102.4, 121.7, 140.7. RMN ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$): 5.25 (1H, d, $J = 4.6$ Hz), 4.97 (1H, d, $J = 7.7$ Hz), 4.48 (1H, dd, $J = 2.1, 11.7$ Hz), 4.33 (1H, dd, $J = 5.2, 11.7$ Hz), 4.23 (1H, m), 4.21 (1H, m), 3.97 (1H, pseudo-t, $J = 8.20$ Hz), 3.90 (1H, m), 3.85 (1H, m), 0.55 (3H, s), 0.83 (3H, s), 0.88 (3H, d, $J = 6.4$ Hz), 0.76 (3H, d, $J = 6.89$ Hz), 0.77 (3H, d, $J = 7.8$ Hz), 0.80 (3H, t, $J = 7.6$ Hz) (Ramaiarantsoa *et al.*, 2008).



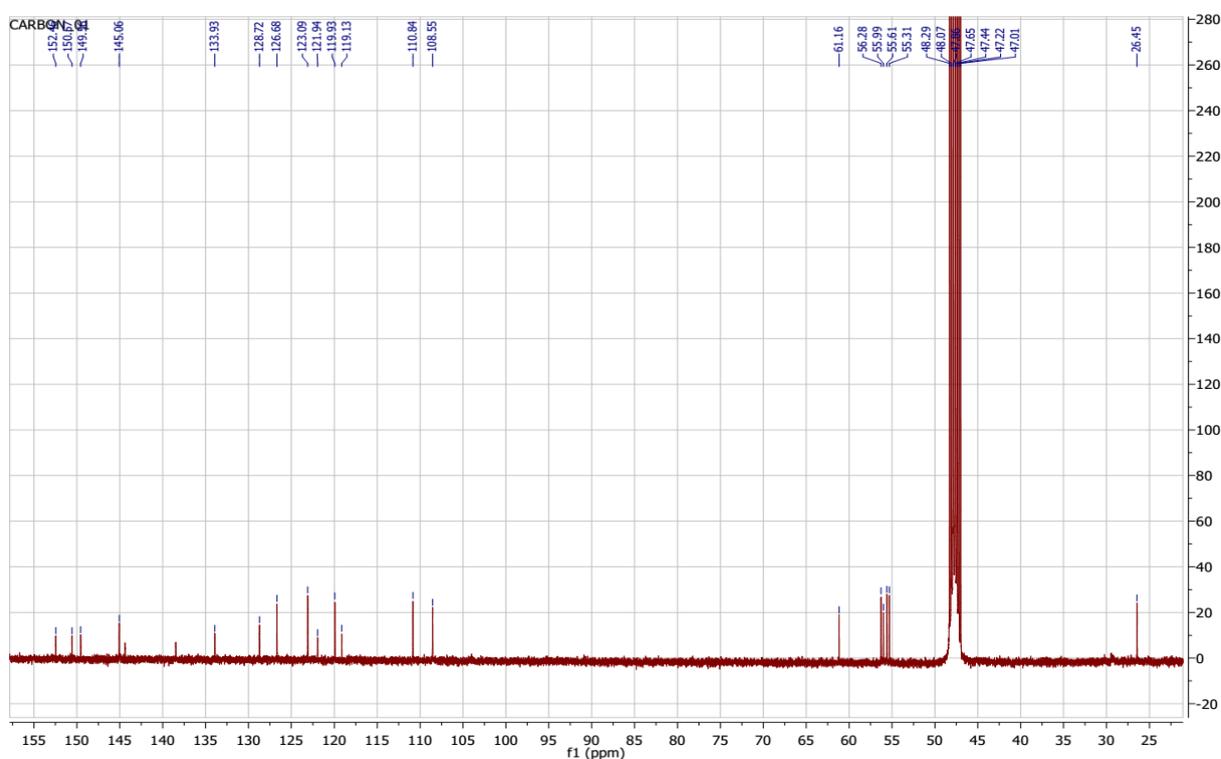
RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz) du composé **4**



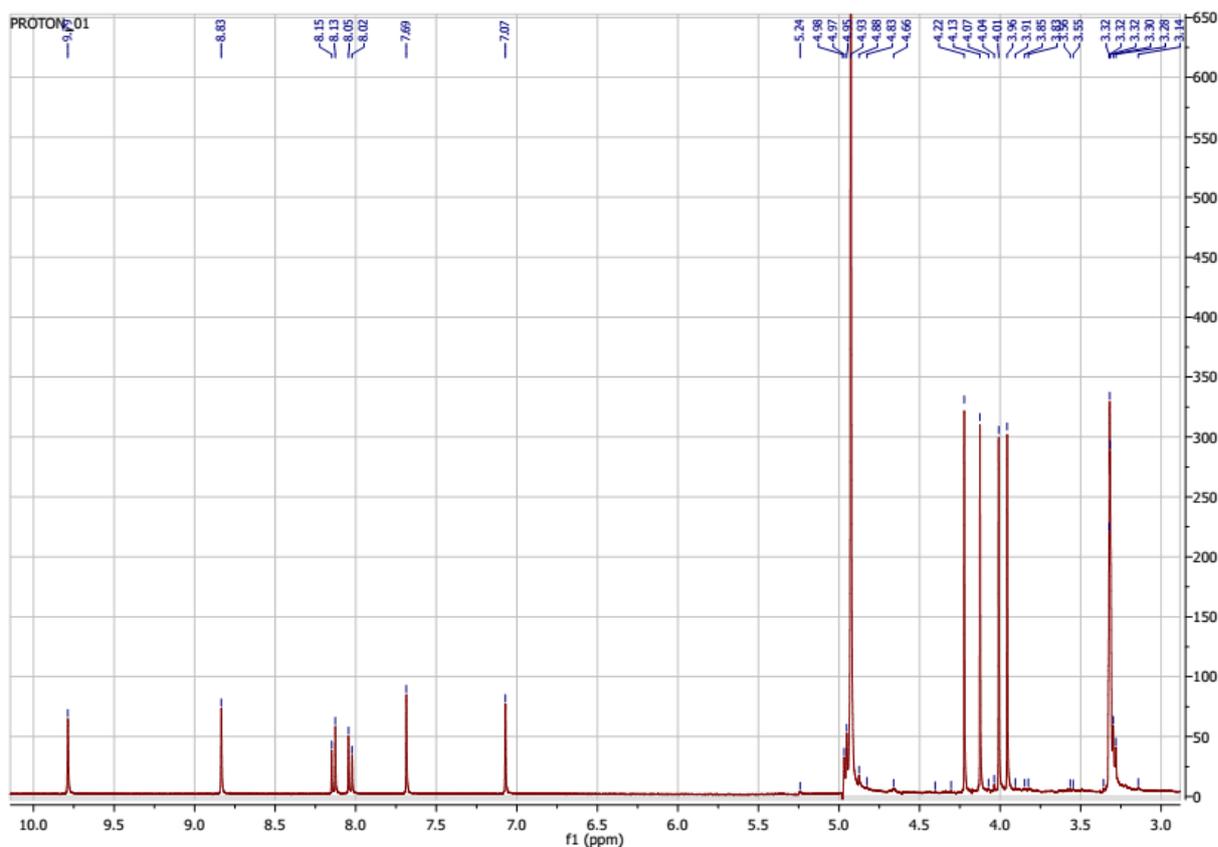
RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) du composé **4**

Annexe 11 : Données spectrales du composé **5** (palmatine).

Palmatine (**5**). Poudre jaune, $C_{21}H_{22}NO_4^+$; (m/z 352, m.p.: 204-206°C). RMN ^{13}C (CD_3OD , 125 MHz): δ (ppm) 152.5 (C-9), 150.6 (C-3), 149.4 (C-2), 145.1(C-8), 144.3 (C-10), 138.4 (C-13a), 133.9 (C-4a), 128.7 (C-12a), 126.7 (C-11), 123.1 (C-12), 121.9 (C-1a), 119.9 (C-13), 119.1 (C-8a), 110.8 (C-4), 108.6 (C-1), 61.2 (9-OCH₃), 56.3 (2-OCH₃), 55.9 (C-6), 55.6 (3-OCH₃), 55.3 (10-OCH₃), 26.6 (C-5). RMN 1H (CD_3OD , 500 MHz): δ (ppm) 9.79 (1H, s, H-8), 8.83 (1H, s, H-13), 8.15 (1H, d, $J=10.0$ Hz, H-11), 8.05 (1H, d, $J= 10.0$ Hz, H-12), 7.70 (3H, s, H-1), 7.07 (1H, s, H-4); 4.93 (2H, d, $J= 5.0$ Hz, H-6); 4.22 (3H, s, H-9-OCH₃); 4.13 (3H, s, H-2-OCH₃); 4.01 (3H, s, H-3-OCH₃); 3.95 (3H, s, H-10-OCH₃); 3.29 (2H, d, $J= 5.0$ Hz, H-5) (De Souza, 2012).



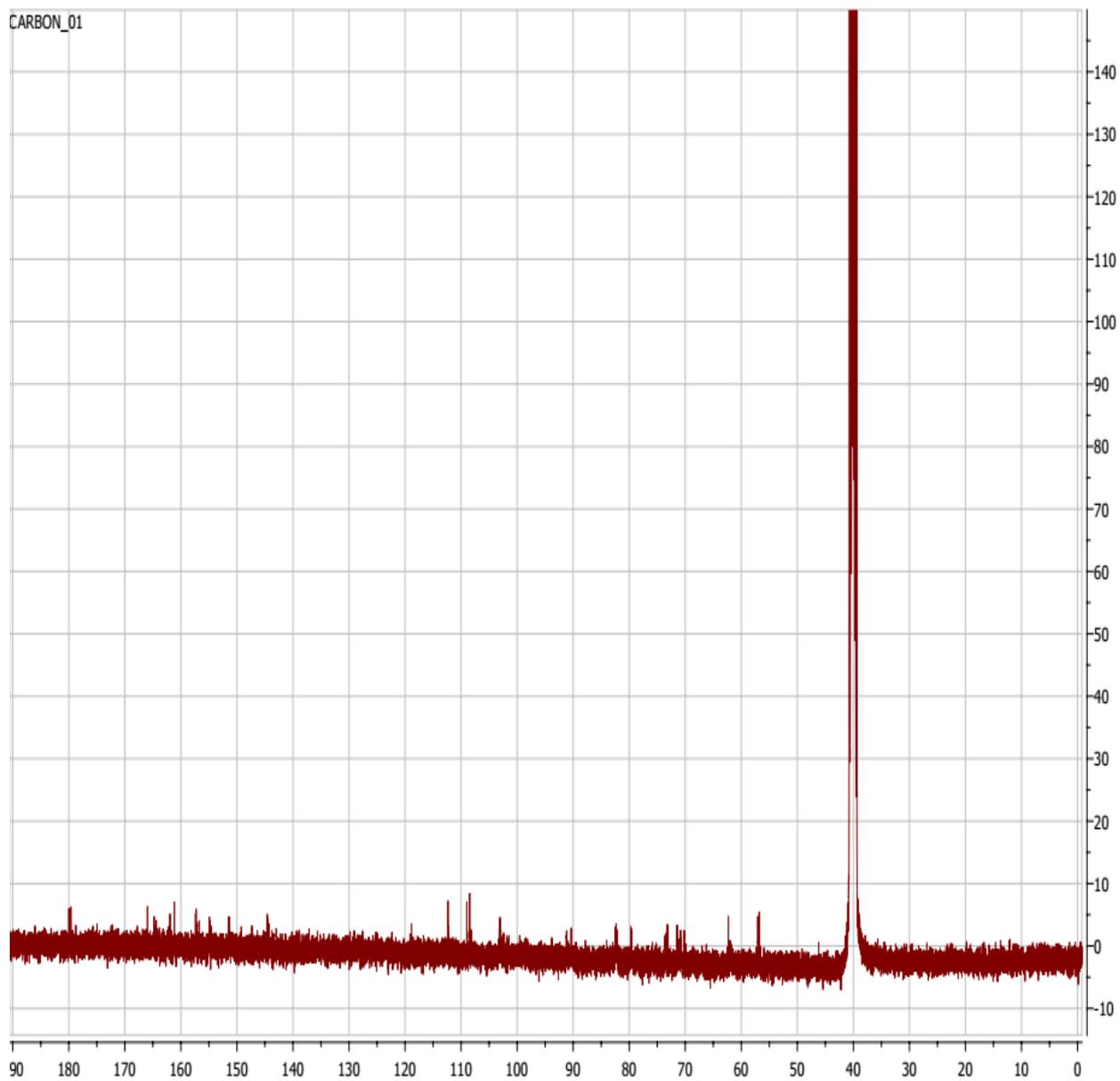
RMN ^{13}C (CD_3OD , 125 MHz) du composé **5**



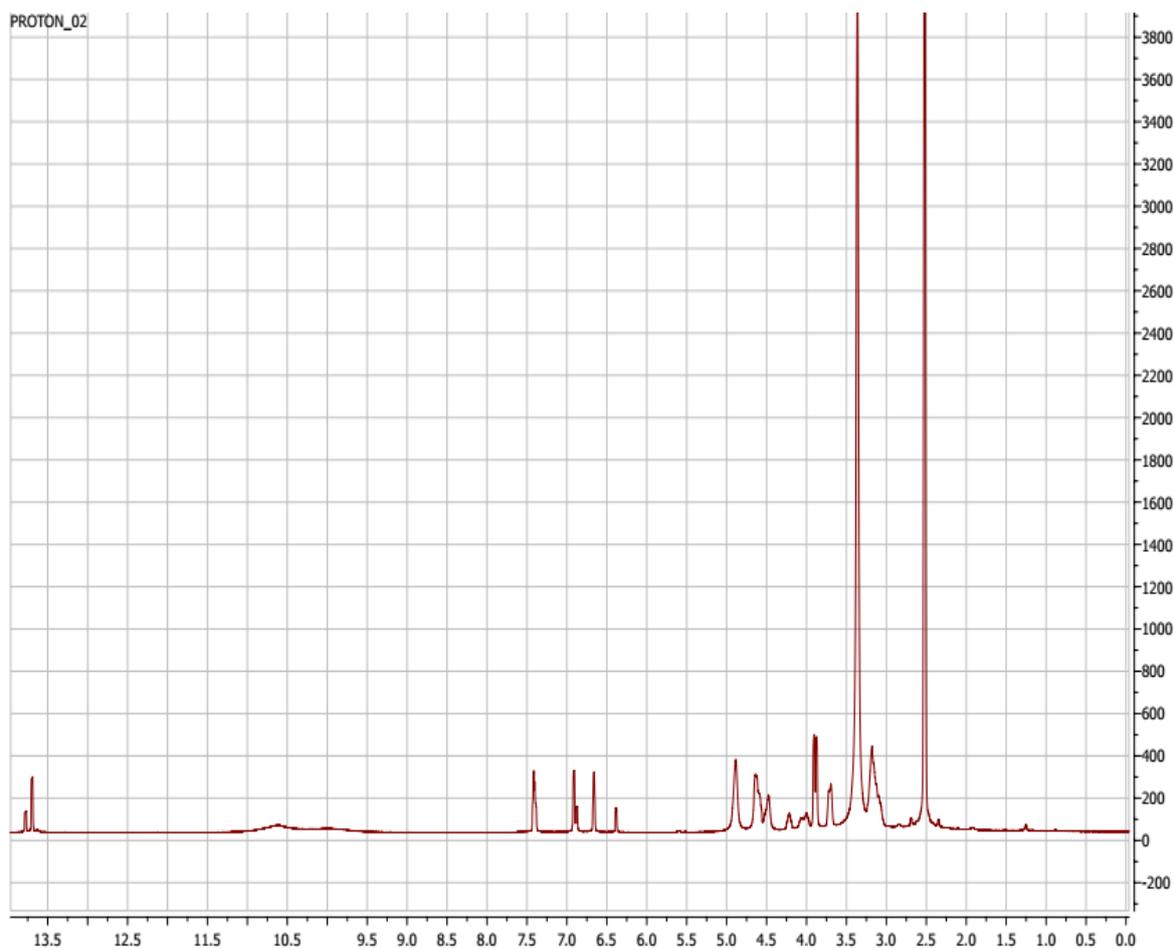
RMN ^1H (CD_3OD , 500 MHz) du composé **5**

Annexe 12 : Données spectrales du composé **6** (homomangiférine).

Homomangiférine (**6**). Poudre jaune, $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$; (m/z 436, m.p: 249-251°C). RMN ^{13}C (DMSO, 125 MHz): δ (ppm) 179.5 (C-9), 164.3 (C-1), 162.2 (C-3), 156.6 (C-4a), 154.6 (C-6), 151.2 (C-10a), 144.2 (C-7), 112.1 (C-8a), 108.4 (C-2), 108.1 (C-8), 103.0 (C-5), 101.7 (C-9a), 93.8 (C-4), 82.1 (C-5'), 79.4 (C-3'), 73.5 (C-1'), 71.1 (C-4'), 70.6 (C-2'), 61.9 (C-6'). RMN ^1H (DMSO, 500 MHz): δ (ppm) 7.35 (1H, s, H-8), 6.85 (1H, s, H-5), 6.35 (1H, s, H-4), 4.53 (1H, d, $J= 10.0$ Hz, H-1'), 4.14 (1H, t, H-2'), 3.70 (1H, d, $J= 15$ Hz, H-6'); 3.30 (1H, s, H-6'); 3.25 (1H, m, H-3'); 3.20 (1H, m, H-5'); 3.15 (1H, m, H-4') (Dineshkumar *et al*, 2010).



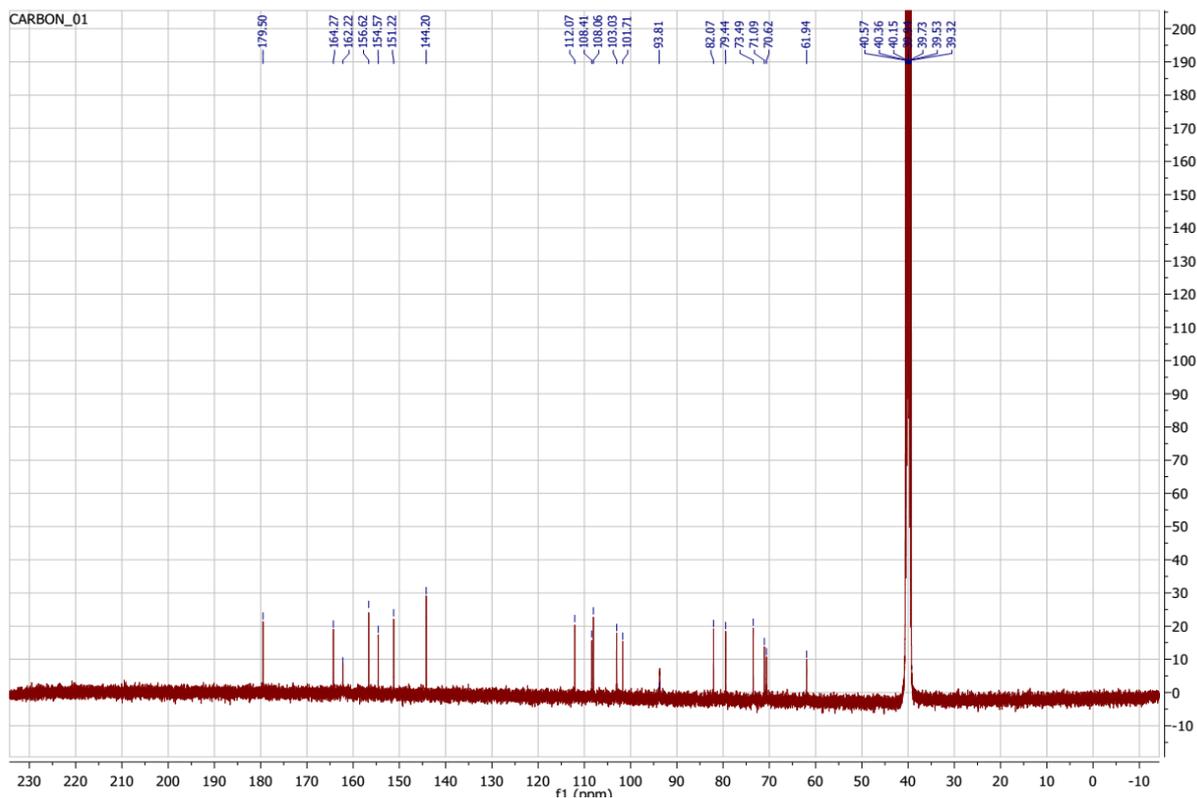
RMN ^{13}C (DMSO, 125 MHz) du composé **6**



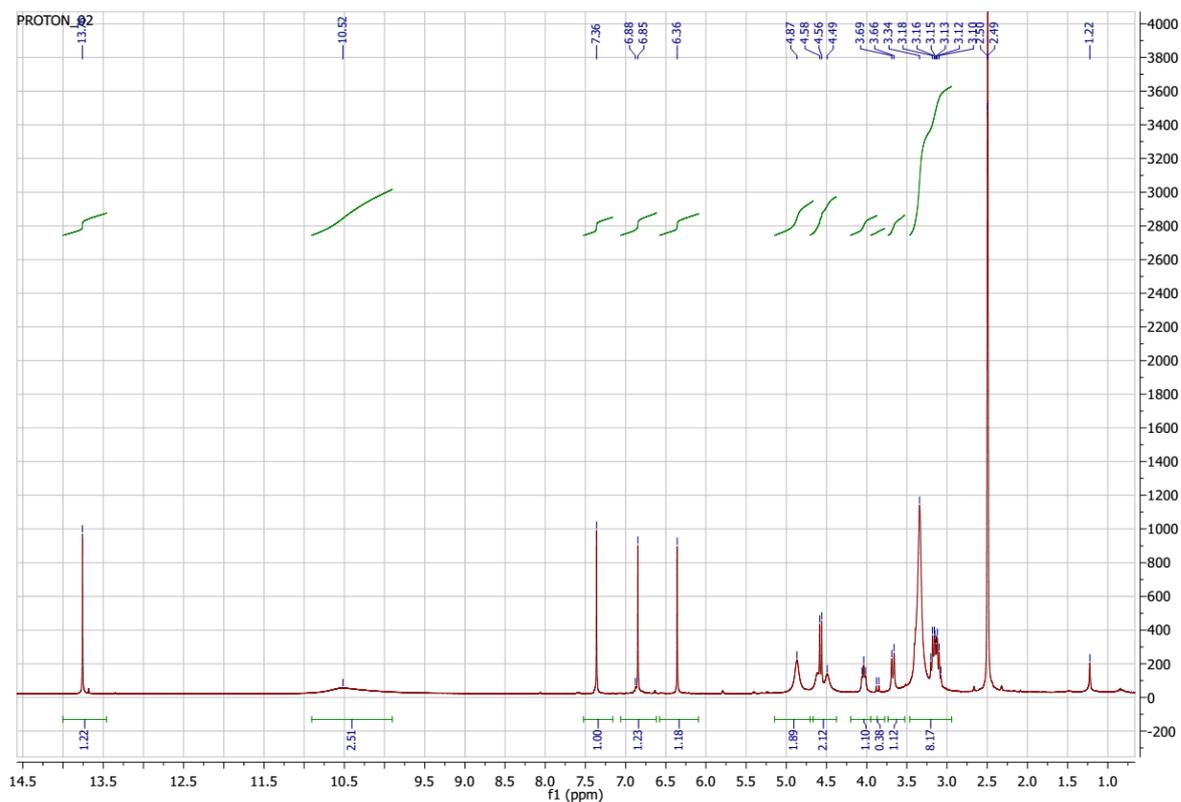
RMN ^1H (DMSO, 500 MHz) du composé **6**

Annexe 13 : Données spectrales du composé **7** (mangiférine).

Mangiférine (**7**). Poudre jaune, $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$; (m/z 422, m.p. 259-260°C). RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz): δ (ppm) 179.7 (C-9), 164.4 (C-1), 162.2 (C-3), 157.3 (C-4a), 154.9 (C-6), 151.5 (C-10a), 144.4 (C-7), 112.4 (C-8a), 108.9 (C-2), 108.4 (C-8), 103.4 (C-5), 102.9 (C-9a), 91.1 (C-4), 82.2 (C-5'), 79.7 (C-3'), 73.4 (C-1'), 71.4 (C-4'), 70.8 (C-2'), 62.3 (C-6'), 57.1 (C-3-OCH₃). RMN ^1H (DMSO, 400 MHz): δ (ppm) 7.42 (1H, s, H-8), 6.90 (1H, s, H-5), 6.66 (1H, s, H-4), 4.62 (1H, sl, H-1'), 4.21 (1H, s, H-2'), 3.70 (1H, s, H-6'), 3.36 (1H, s, H-6'), 3.20 (1H, m, H-3'), 3.17 (1H, m, H-5'), 3.18 (1H, m, H-4') (Ling-ling *et al*, 2014).



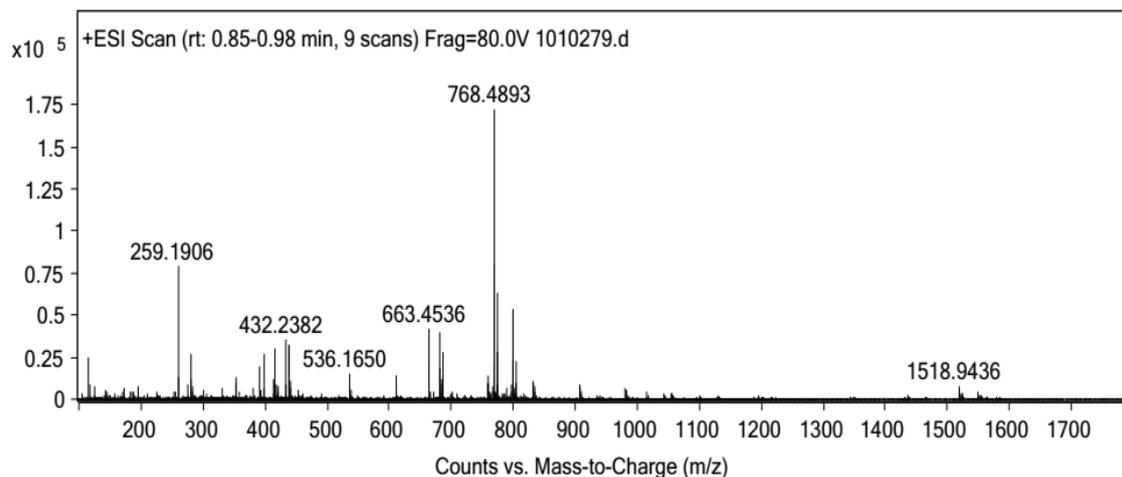
RMN ^{13}C (DMSO, 400 MHz) du composé **7**



RMN ^1H (DMSO, 100 MHz) du composé **7**

Annexe 14 : Données spectrales du composé **8** (acide 3-O- $\{\alpha$ -L arabipyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl}oleanolique ou adianthifolioside GS1).

Acide 3-O- $\{\alpha$ -L arabipyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl}oleanolique ou Adianthifolioside GS1 (**8**). Poudre poupre, C₄₁H₆₆O₁₂.



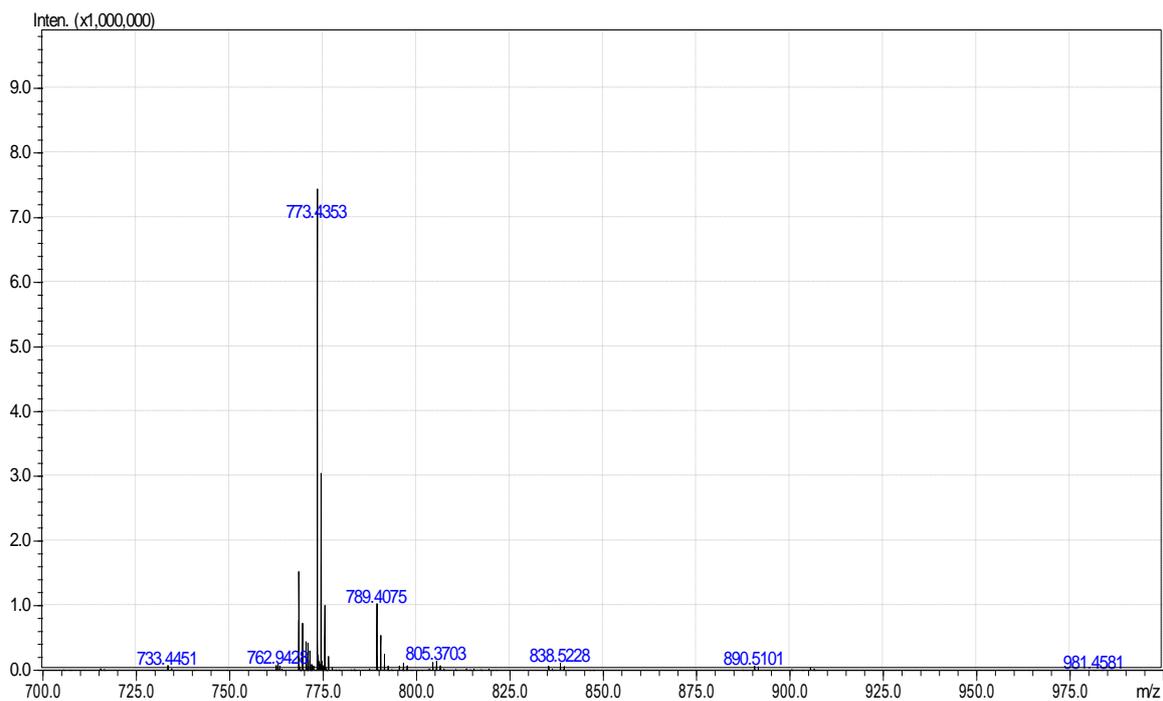
Spectre HRESIMS complet du composé **8**

Peak List

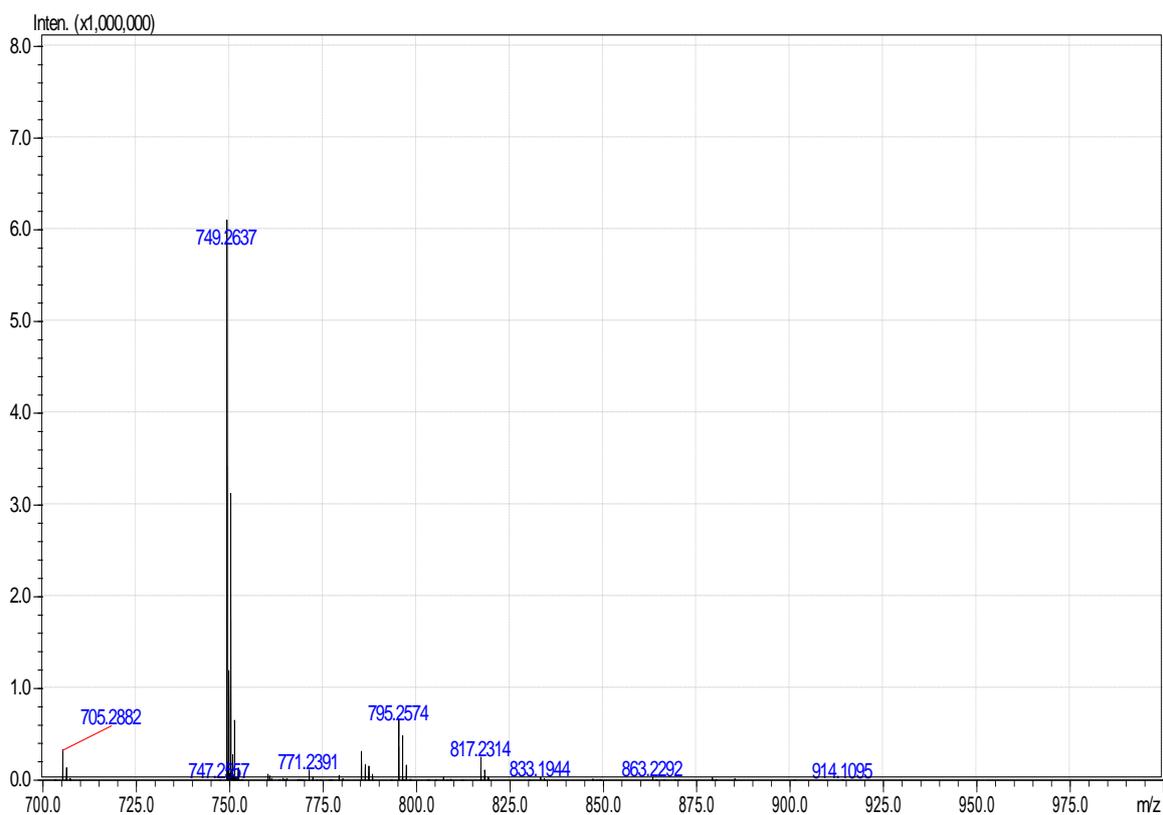
<i>m/z</i>	<i>z</i>	Abund
116.107		24197.35
118.0863		8699.04
124.0874		7109.26
141.9584		5337.54
144.982		3957.43
170.1175		3921.13
172.1331		6689.59
182.9854		4352.64
185.1173		4487.11
188.1281		4205.64
194.1173		7304.77
224.1282		3957.42
252.145		4767.56
259.1906	1	78905.66
260.1937	1	13035.56
276.2171		8845.82
279.1592		11421.14
281.1724	1	26590.76
282.176	1	4275.54
282.2792		7070.7
301.141		5353.09
331.2847		6528.05

352.2459		13152.17
353.2647		9206.84
359.3156		4284.93
381.2975		6904.5
391.2845	1	18750.1
392.2878	1	4898.4
398.2326	1	26699.54
399.2366	1	6934.35
413.2665		11711.52
415.2118	1	29613.71
416.215	1	8121.64
416.2642		7853.12
419.3157		8727.86
420.2147		7640.69
421.2194		4702.57
432.2382	1	35342.11
433.2416	1	8810.24
437.1935	1	32261.77
437.3411		3930.43
438.1971	1	8564.58

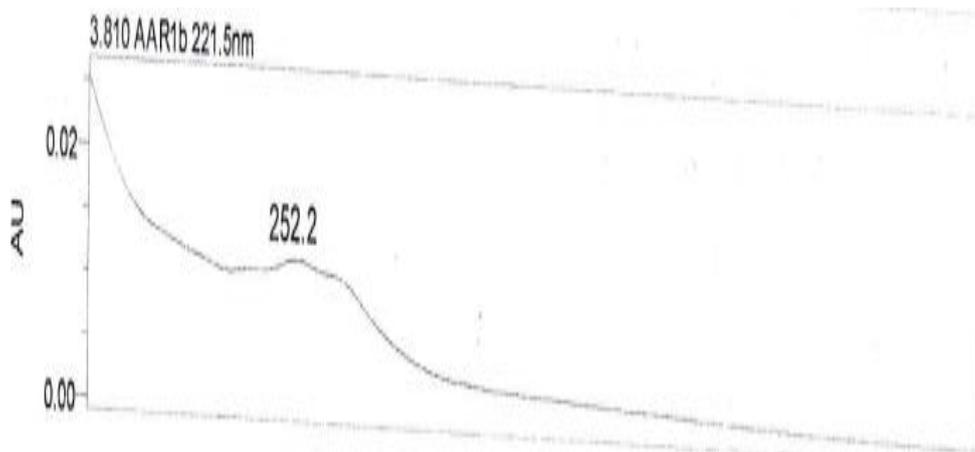
439.3571	1	31621.15
440.3606	1	10838.17
441.2979		6101.55
453.1683		5846.69
536.165	1	14992.3
537.1661	1	7324.21
538.164	1	5341.89
610.1837	1	13944.56
611.185	1	8087.4
612.1826	1	6047.75
663.4536	1	41783.95
664.4568	1	20388.7
665.4606	1	4780.03
670.4675		4629.19
680.4798	1	39344.7
681.4836	1	18208.74
682.4871	1	4713.98
684.2024	1	12340.67
685.2032	1	8514.98
685.4353	1	28294
686.2019	1	6932.39
686.4388	1	13530.22
701.4098		4059.58
758.2213	1	14467.53
759.2219	1	10149.98
760.2212	1	8158.01
761.2202		4193.05
766.4721	1	8017.12
767.4749	1	4386.07
768.4893		172039.2
769.4925	1	80093.91
770.4958	1	20664.29
771.499	1	4757.3
773.4445	1	63204.98
774.4477	1	28201.59
775.4497	1	8317.36
789.4239		6014.09
796.4845	1	8699.85
797.4878	1	4260.51
798.4995		53287.32
799.5028	1	23861.4
800.5057	1	7061.47
801.4389		6893.38
803.4545	1	21983.34
804.4579	1	10133.31
832.2403	1	11051.03
833.2403	1	9297.47
834.239	1	7918.18
835.2385		4277.43
906.2582	1	8744.71
907.2595	1	7959.61



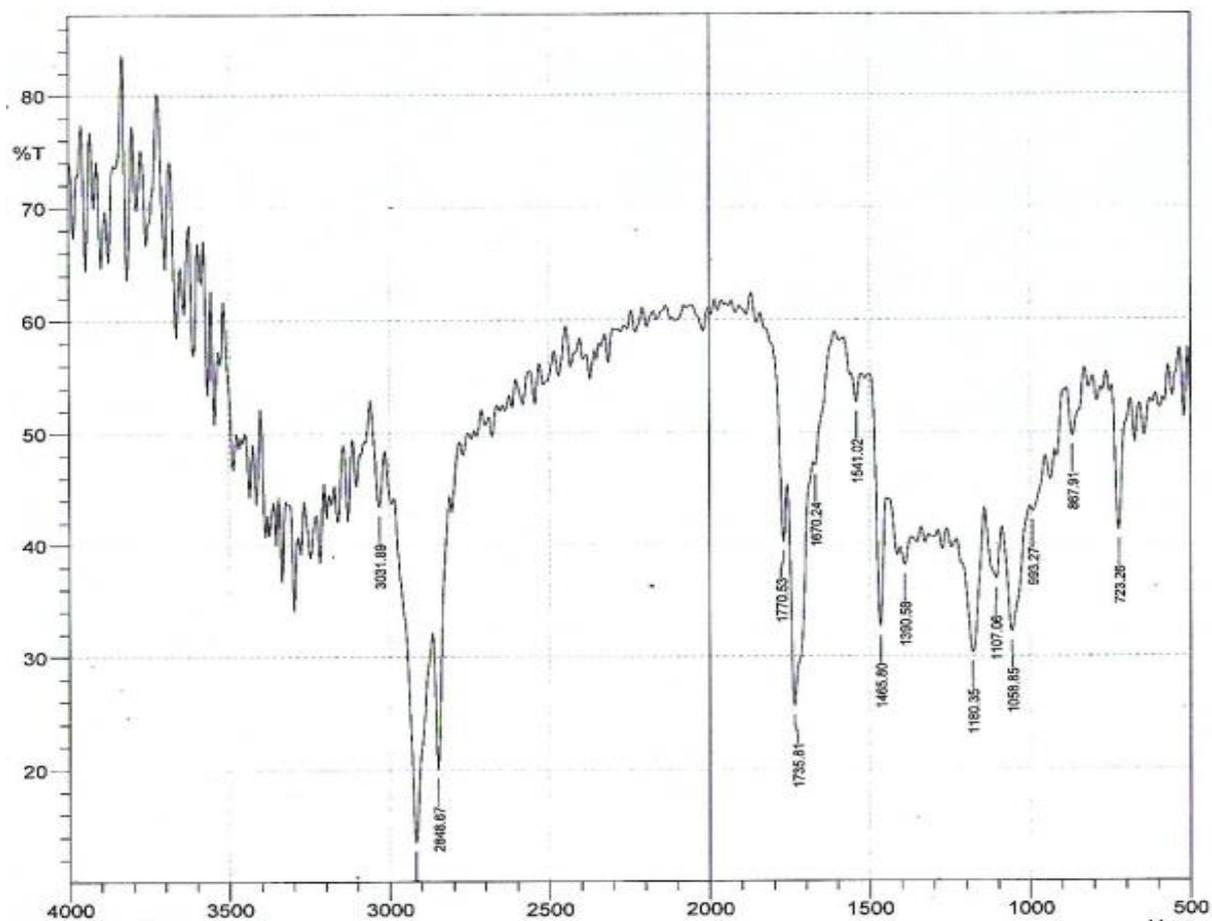
Spectre de masse ESI-MS complet en mode positif à basse résolution du composé **8**



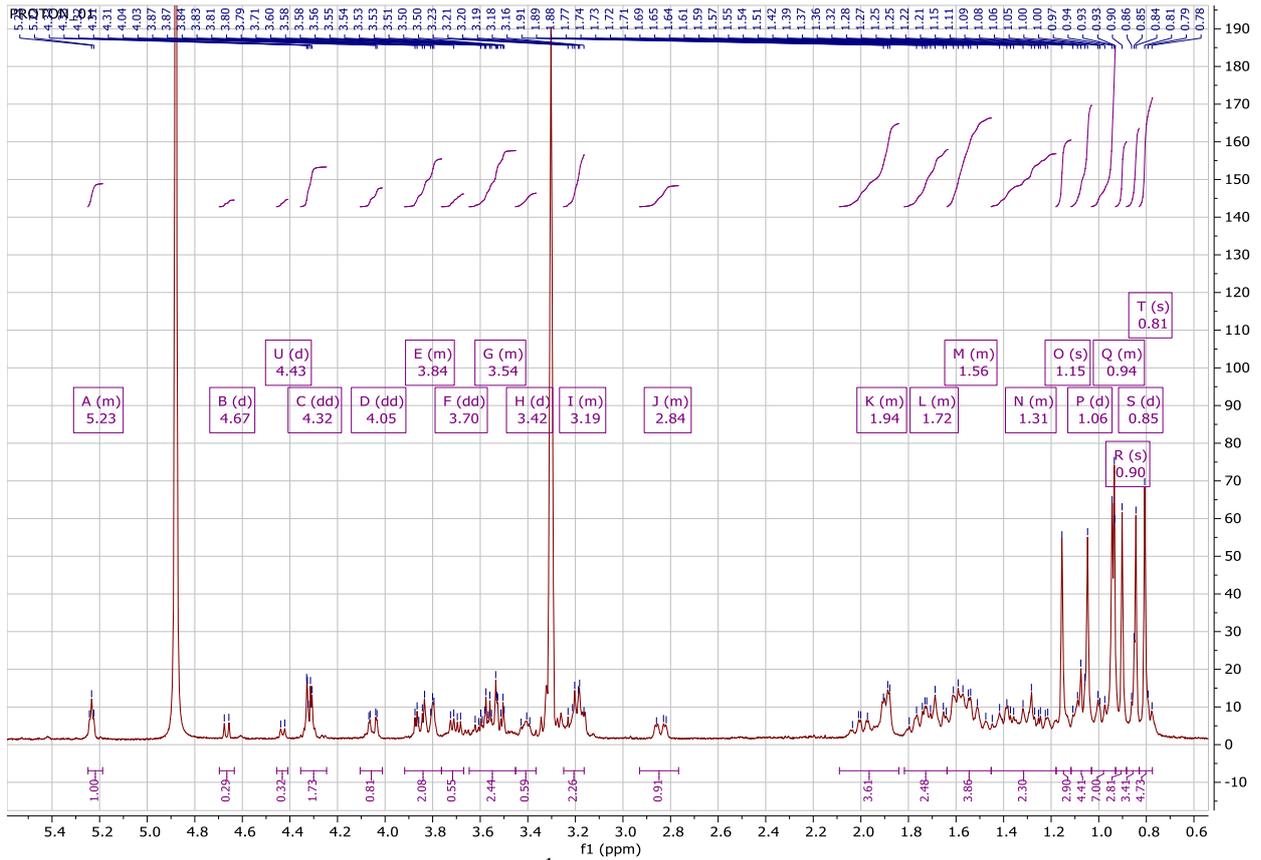
Spectre de masse ESI-MS complet en mode négatif à basse résolution du composé **8**



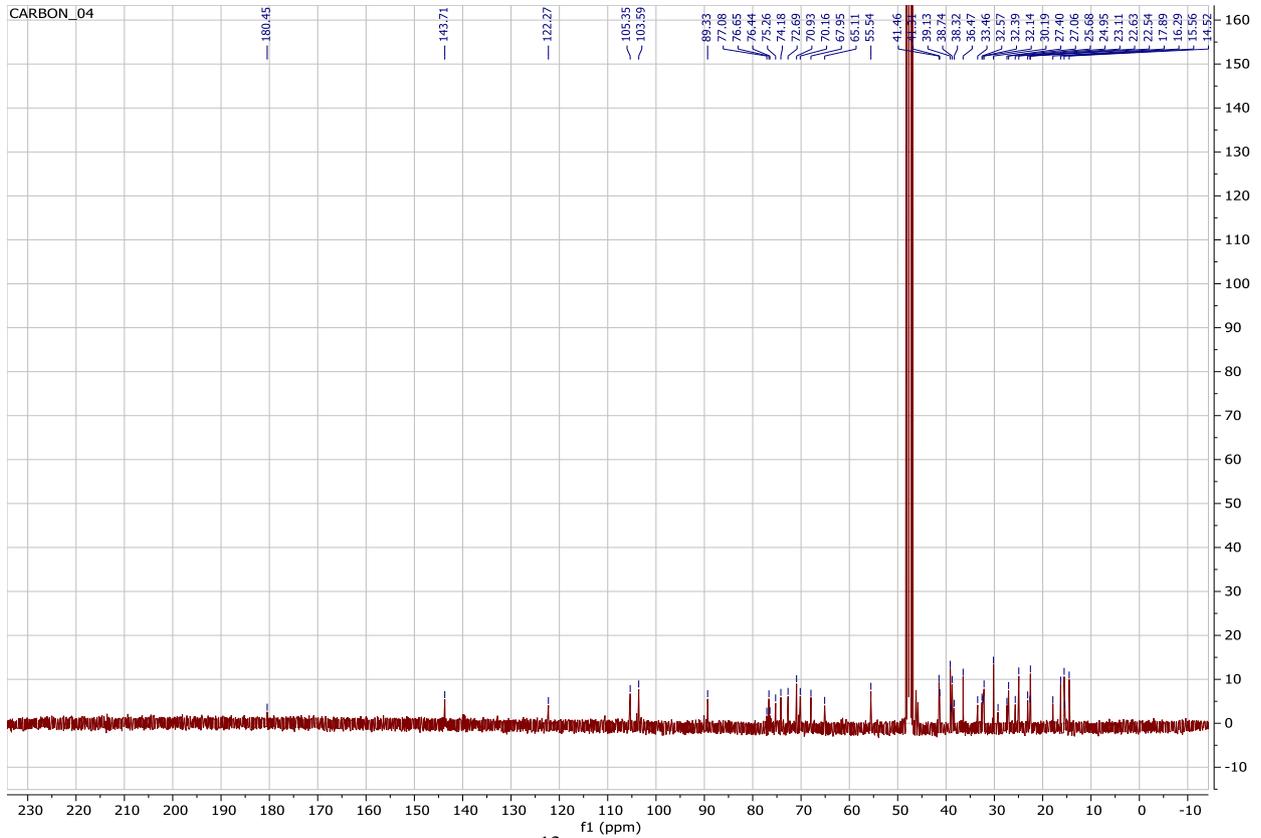
Spectre UV (EtOH-H₂O: 75%) du composé **8**



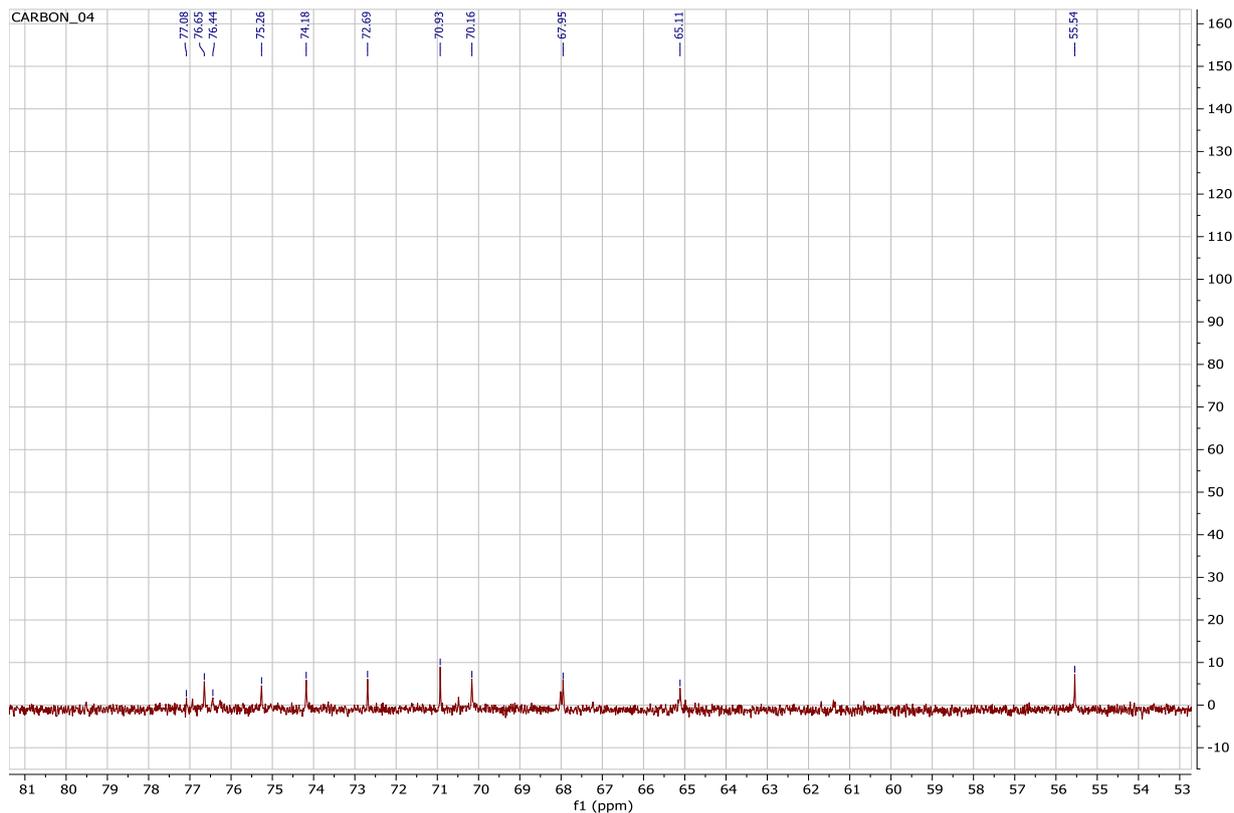
Spectre IR (KBr) du composé **8**



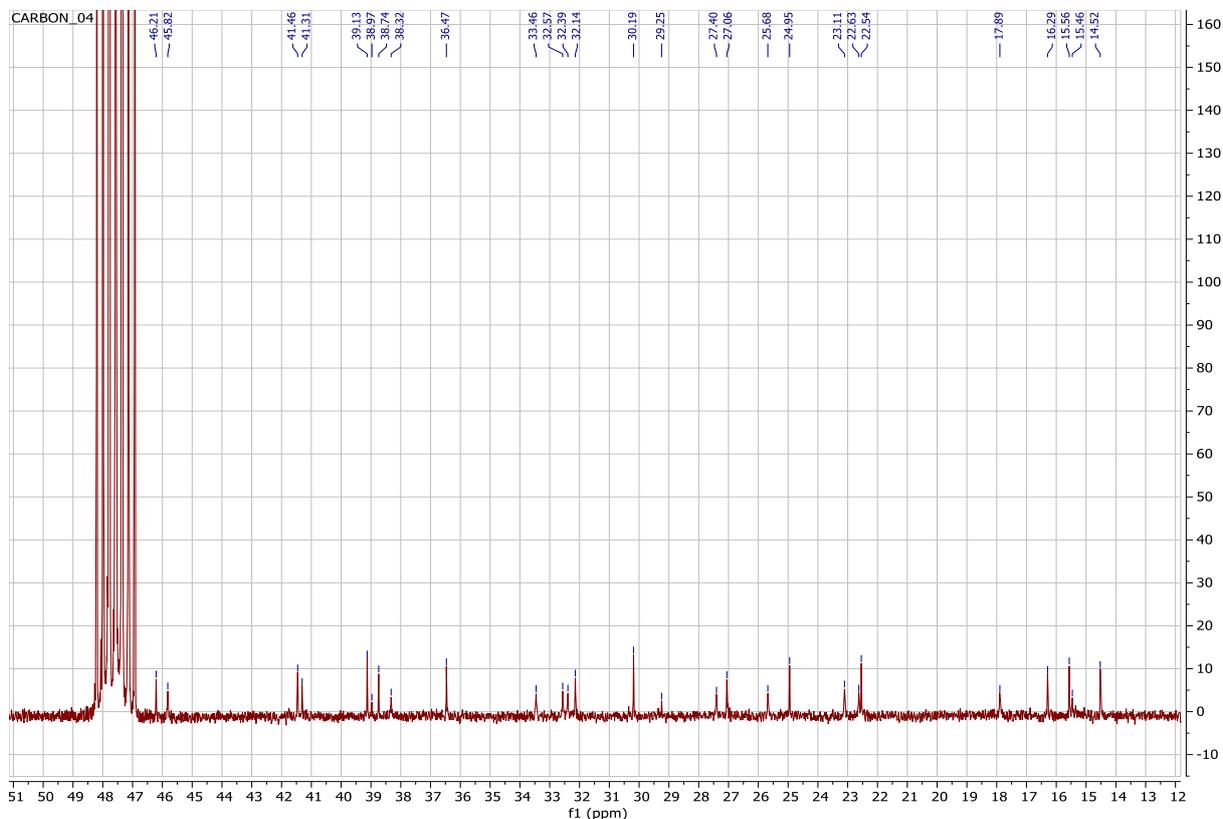
Spectre complet de RMN ^1H (MeOD, 400 MHz) du composé **8**



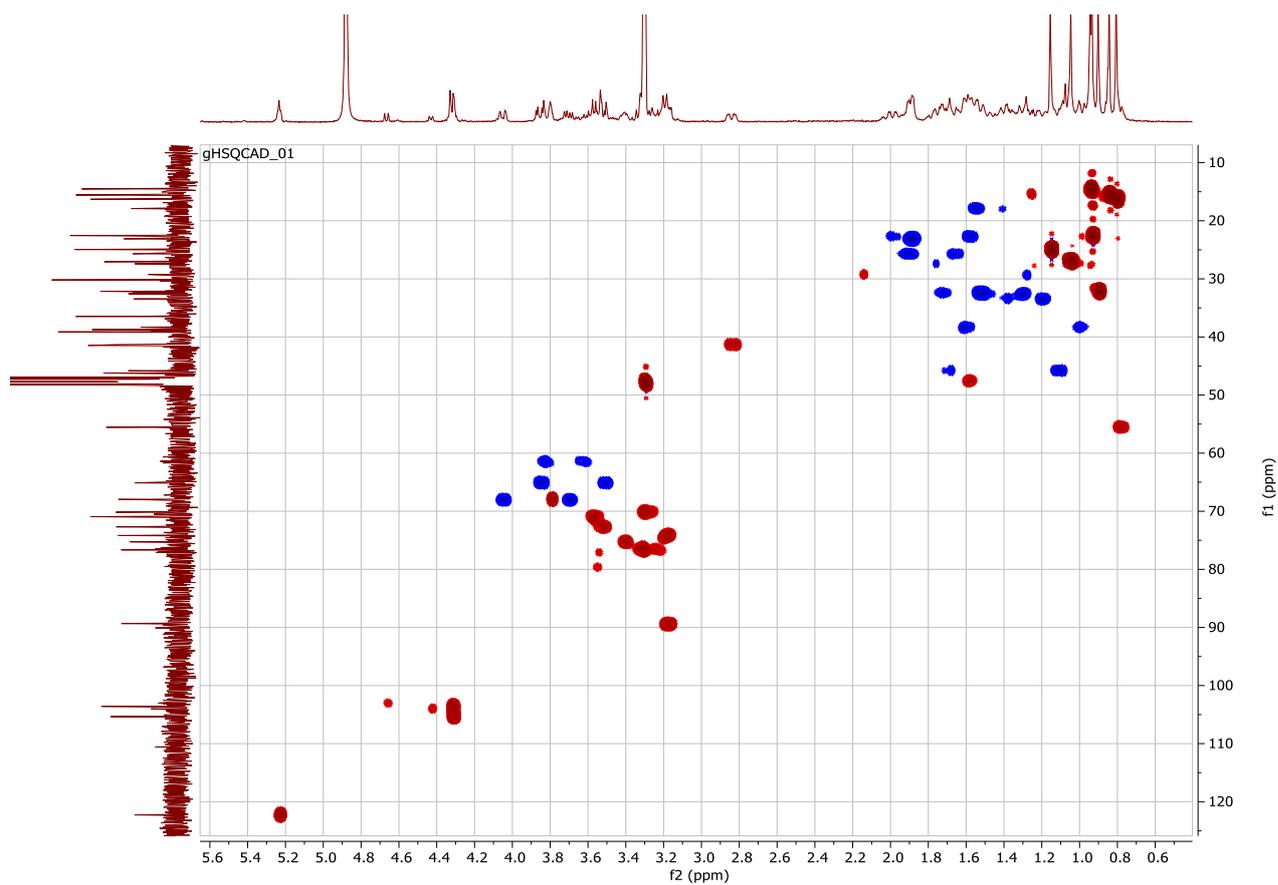
Spectre complet de RMN ^{13}C (MeOD, 400 MHz) du composé **8**



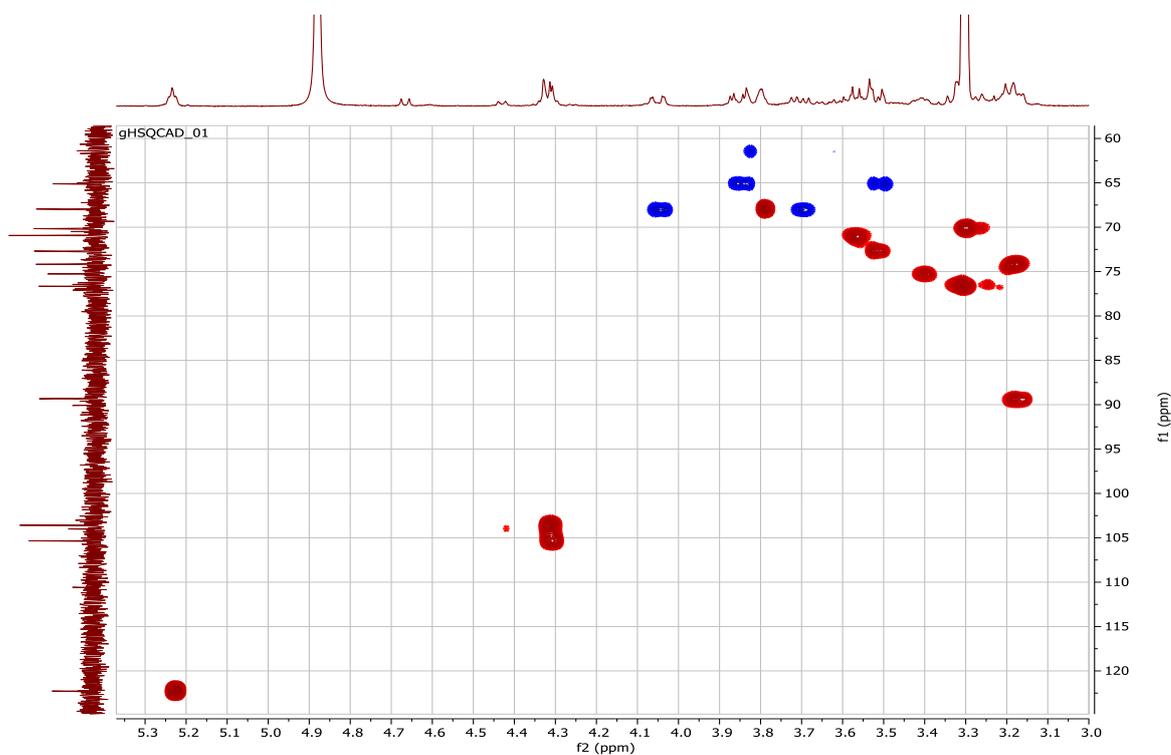
Spectre étendu de RMN ^{13}C (MeOD, 400 MHz) du composé **8** montrant la partie sucre



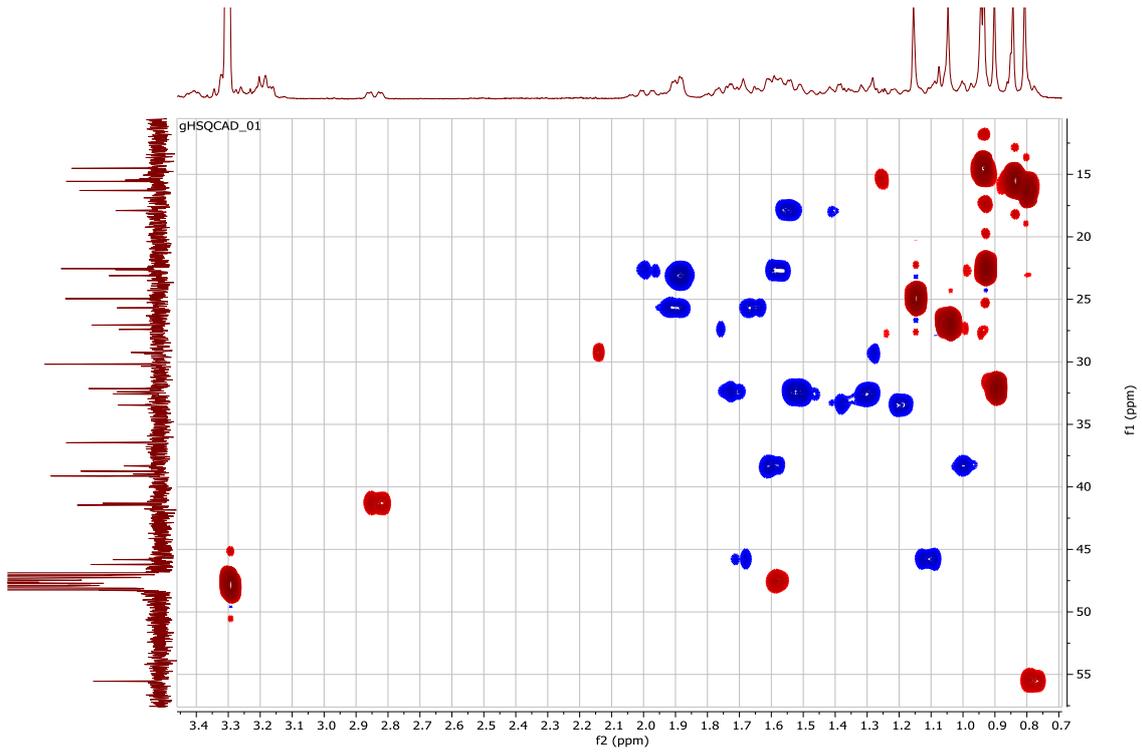
Spectre étendu de RMN ^{13}C (MeOD, 400 MHz) du composé **8** concernant la partie aglycone



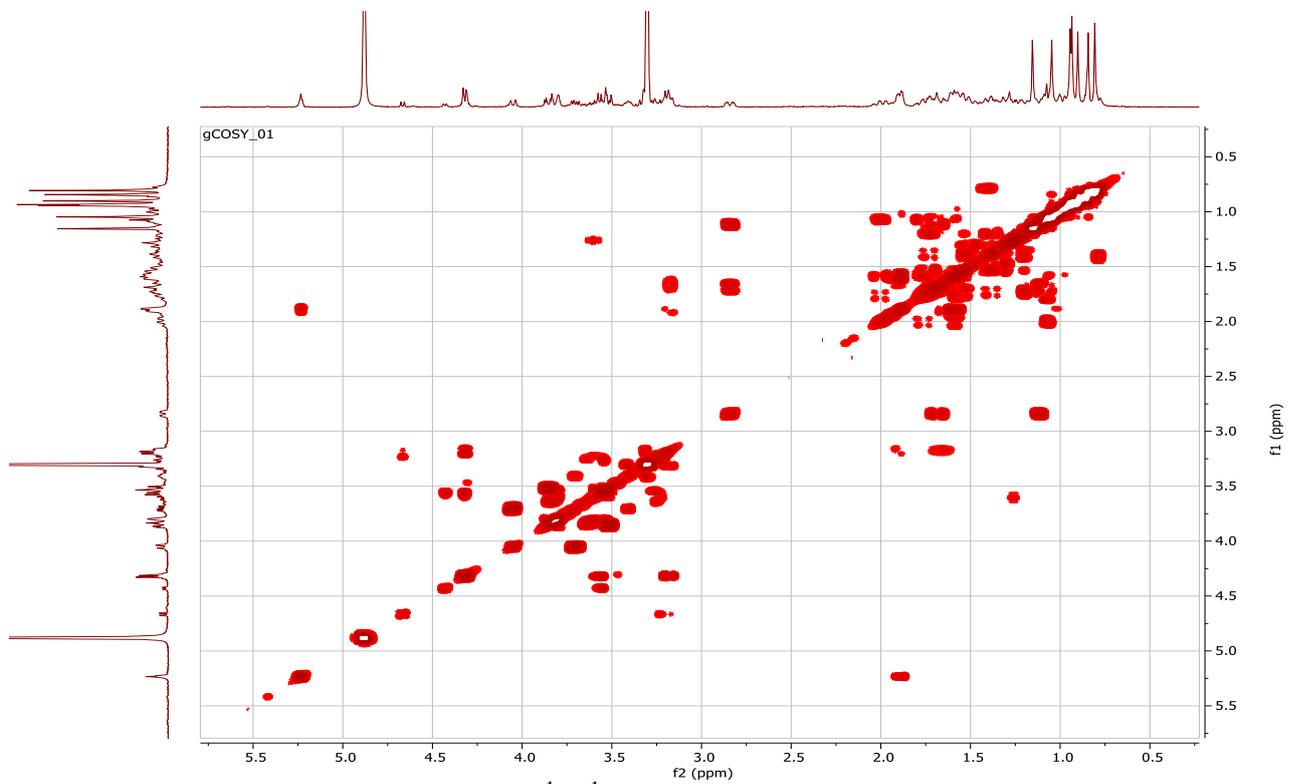
Spctre complet HSQC du composé **8**



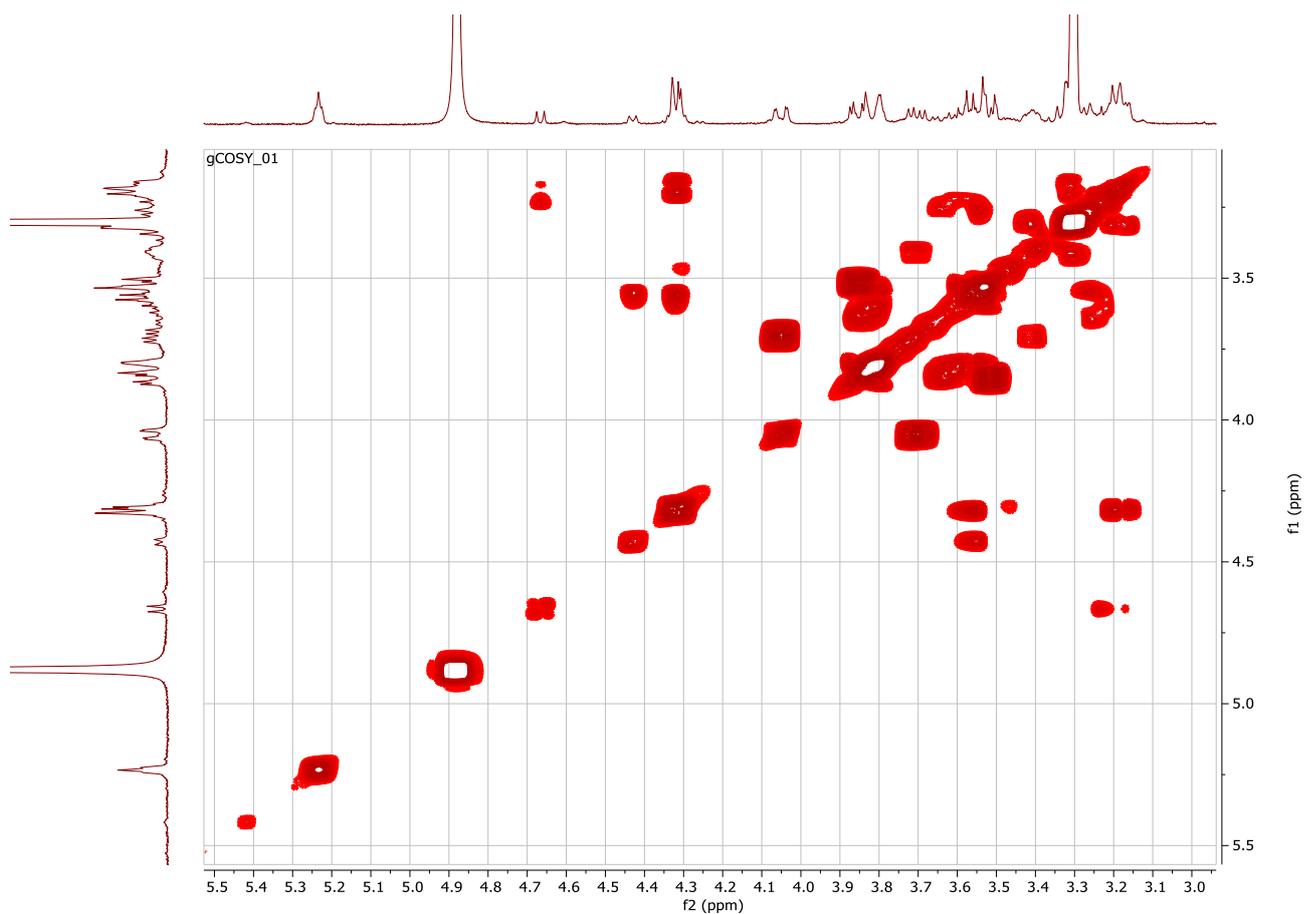
Spctre HSQC élargi du composé **8** montrant une partie anomérique



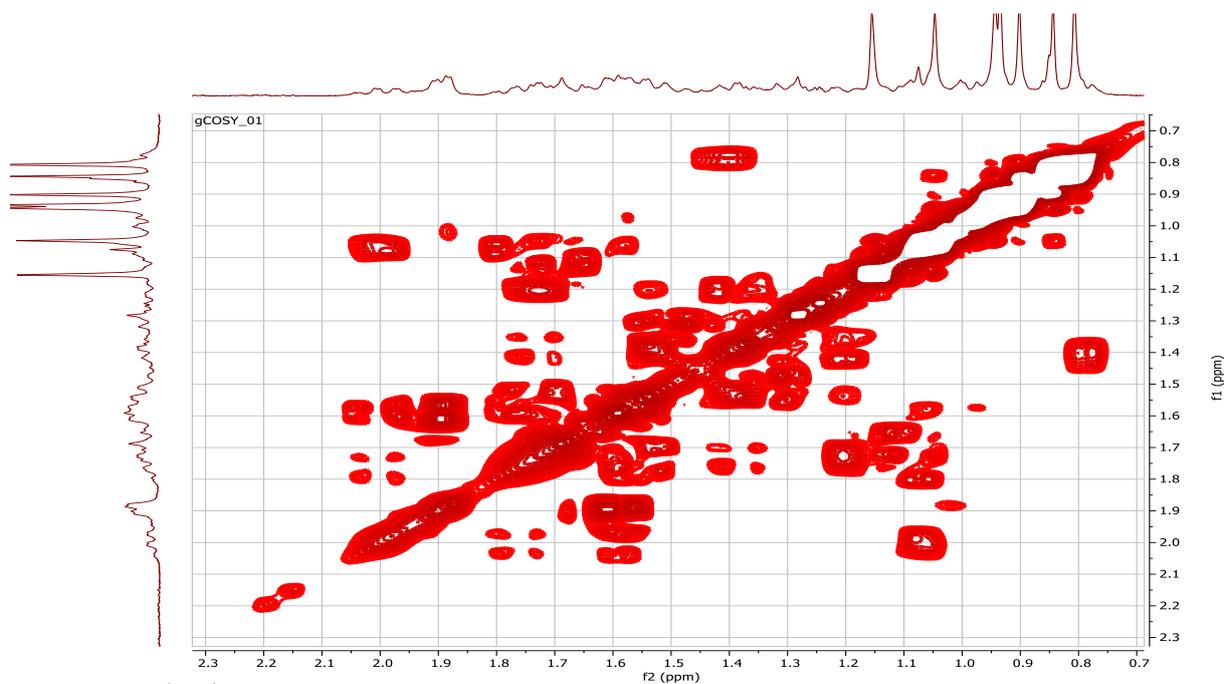
Spectre du composé **8** élargi de HSQC montrant un méthyne angulaire et un méthylène d'aglycone



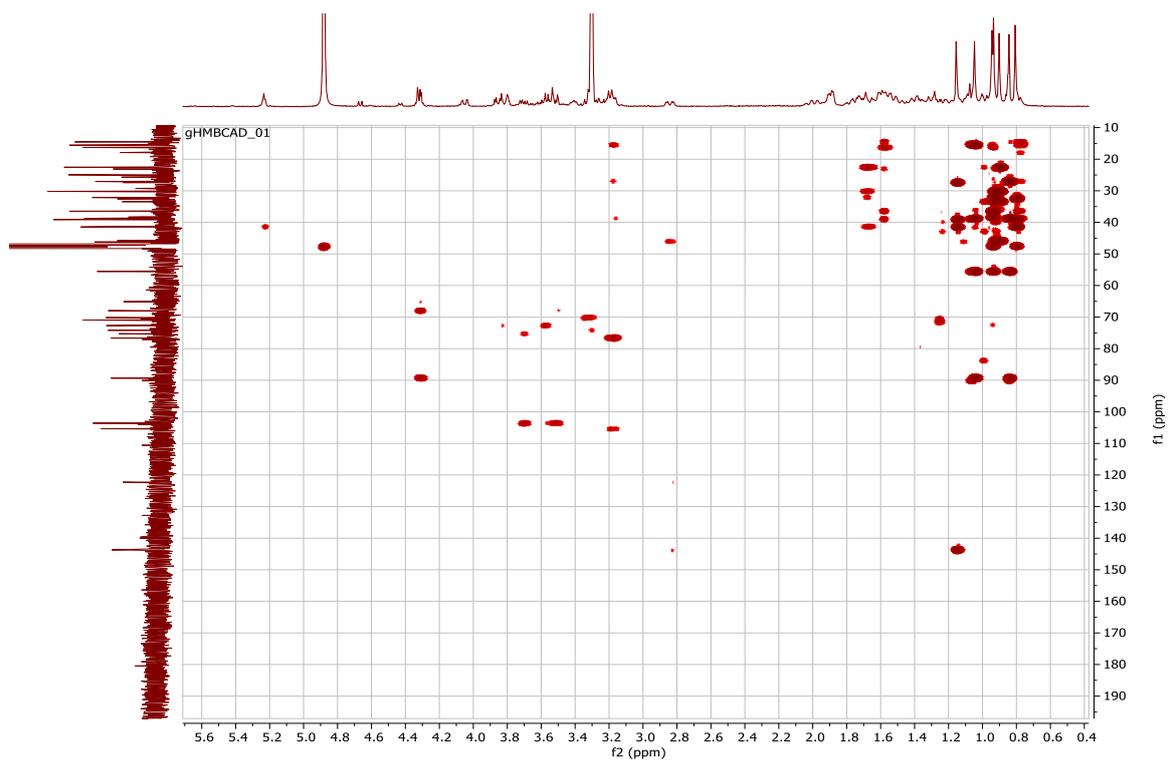
Spectre complet ^1H - ^1H COSY du composé **8**



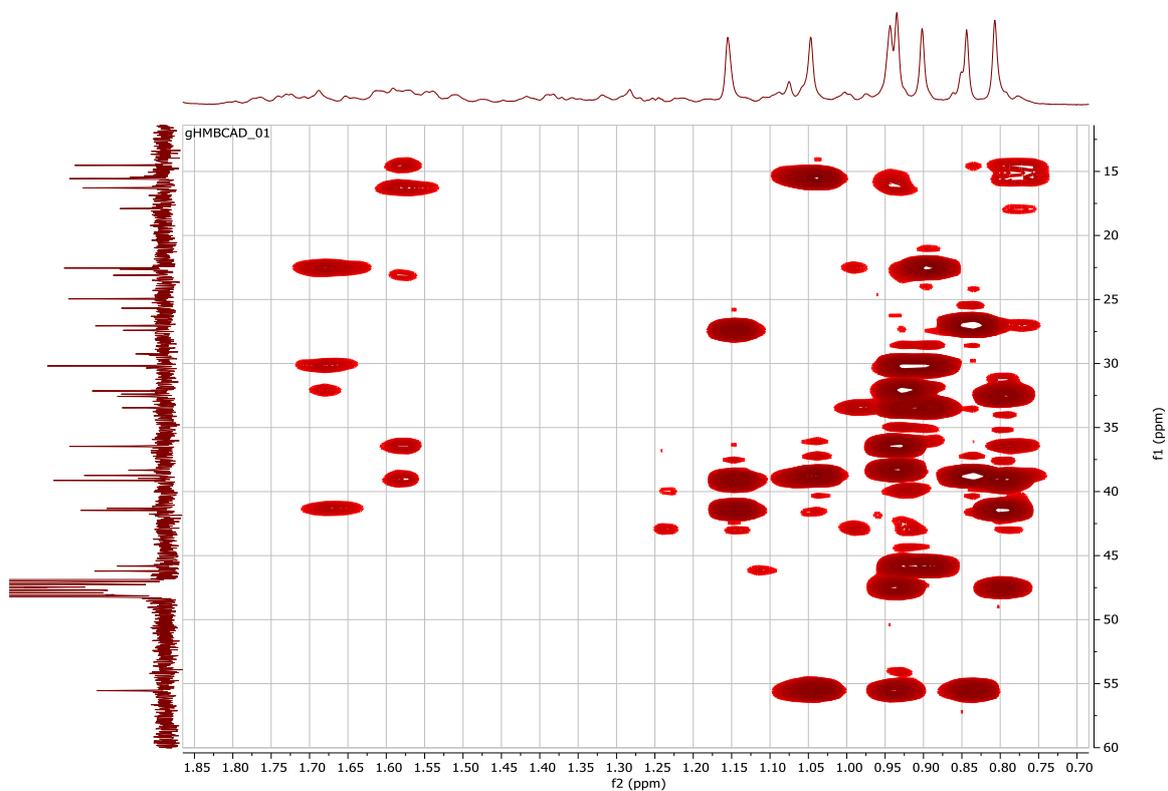
Spectre élargi ¹H-¹H COSY du composé **8** montrant la connexion des sucres et de l'aglycone



Spectre ¹H-¹H COSY élargi du composé **8** montrant la connexion de différents protons d'aglycone



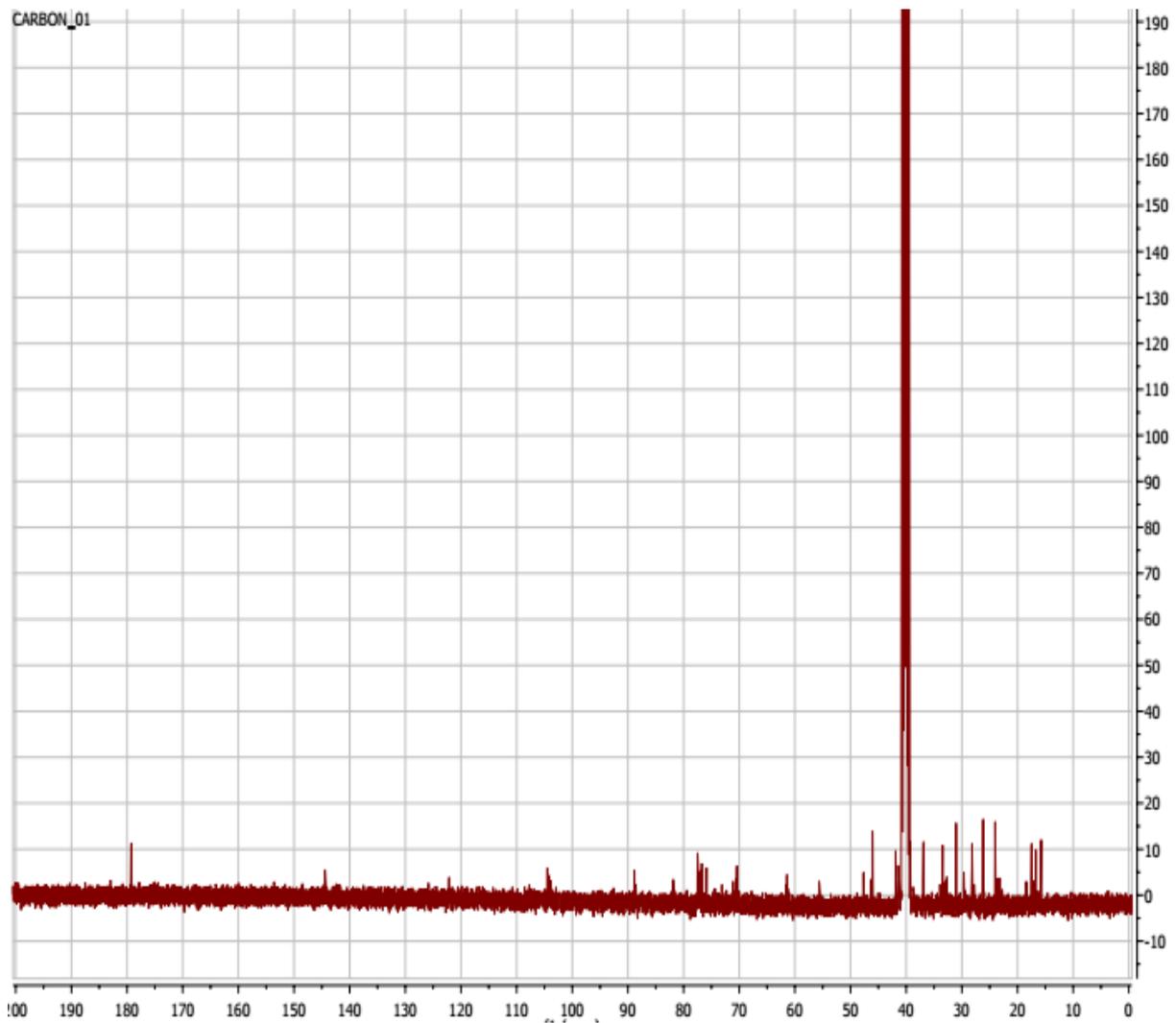
Spectre complet HMBC du composé **8**



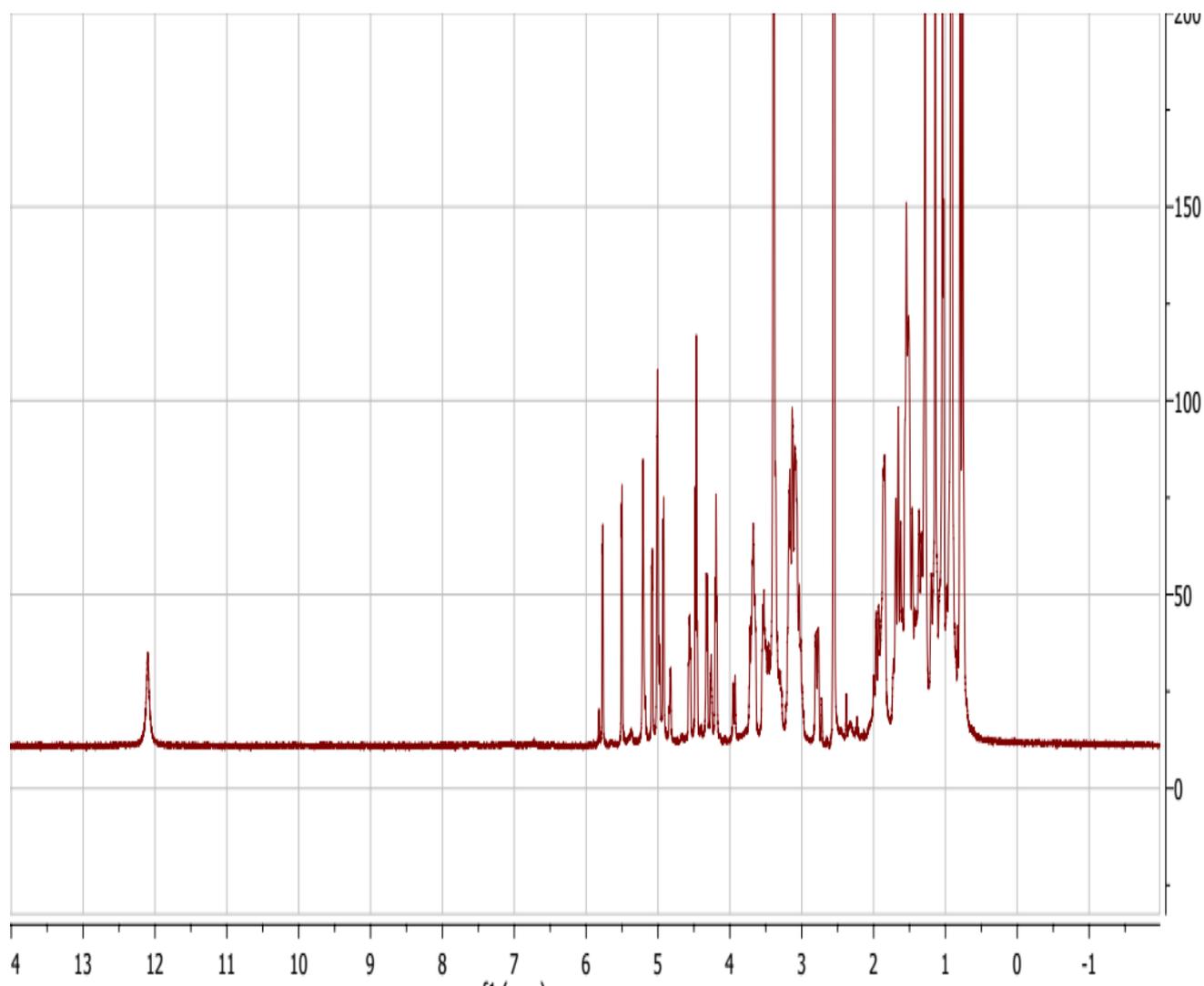
Spectre HMBC élargi du composé **8** montrant la connexion de différents protons d'aglycone

Annexe 15 : Données spectrales du composé **9** (acide 3-O- $\{\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabipyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl}oléanolique).

Acide 3-O- $\{\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabipyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl}oléanolique (**9**). Poudre blanche, C₄₇H₇₆O₁₆ ; (m/z 912). RMN ¹³C (DMSO, 100 MHz) δ (ppm) de l' aglycone: 189.4 (C-28); 144.2 (C-13); 122.1 (C-12); 89.8 (C-3); 55.6 (C-5); 47.7 (C-9); 46.4 (C-17); 46.2 (C-19); 41.9 (C-14); 41.5 (C-8); 40.8 (C-18); 39.5 (C-4); 38.8 (C-1); 36.4 (C-10); 33.5 (C-29); 33.5 (C-21); 33.1 (C-22); 32.8 (C-7); 31.1 (C-20); 29.5 (C-15); 28.1 (C-23); 26.0 (C-2); 26.0 (C-27); 24.0 (C-16); 23.3 (C-11); 23.5 (C-30); 18.5 (C-6); 17.7 (C-26); 16.8 (C-24); 15.7 (C-25) ; RMN ¹³C (DMSO, 100 MHz) δ (ppm) du sucre : 104.5 (C-1'''); 104.2 (C-1'); 103.9 (C-1''); 81.8 (C-2''); 77.5 (C-5'); 77.1 (C-3'''); 76.7 (C-5'''); 76.6 (C-3'); 75.9 (C-2'); 74.8 (C-2'''); 73.0 (C-3''); 72.3 (C-4'''); 71.1 (C-4'); 67.8 (C-6'); 67.8 (C-4''); 65.2 (C-5''); 61.5 (C-6'''). RMN ¹H (DMSO, 400 MHz) δ (ppm) de l'aglycone: 5.21 (1H, brs, H-12); 3.10 (1H, m, H-3); 2.78 (1H, d, *J*= 13.8 Hz, H-18); 1.70 and 1.28 (2H, H-15); 1.96 and 1.84 (2H, H-11/16); 1.67 and 1.06 (2H, H-19); 1.59 (1H, H-9); 1.90 (2H, H-2); 0.99 and 1.54 (2H, H-1); 1.52 (2H, H-6); 1.66 and 1.47 (2H, H-7); 0.90 and 1.47 (2H, H-21); 0.72 and 1.51 (2H, H-22). 1.16 (3H, s, H-27); 1.06 (3H, s, H-23); 0.94 (3H, s, H-29); 0.93 (3H, s, H-25); 0.92 (3H, s, H-30); 0.81 (3H, s, H-24); 0.78 (3H, s, H-26); 0.79 (3H, s, H-26); 0.80 (1H, H-5) ; RMN ¹H (DMSO, 400 MHz) δ (ppm) du sucre : 4.47 (1H, d, *J* = 6.5 Hz, H-1'''); 4.32 (1H, d, *J* = 6.8 Hz, H-1'); 4.19 (1H, brs, H-1''); 3.93 and 3.61 (2H, m, H-6'); 3.71 and 3.36 (2H, m, H-5''); 3.68 and 3.52 (2H, m, H-6'''); 3.65 (1H, m, H-4''); 3.39 (1H, m, H-5'''); 3.37 (1H, m, H-4'); 3.35 (1H, m, H-2''); 3.34 (H, m, H-4'''); 3.33 (1H, m, H-3''); 3.30 (1H, m, H-2'); 3.15 (1H, m, H-3'''); 3.03 (1H, m, H-2'''); 3.0 (1H, m, H-5'); 2.97 (1H, m, H-3') (Debella *et al.*, 2000).

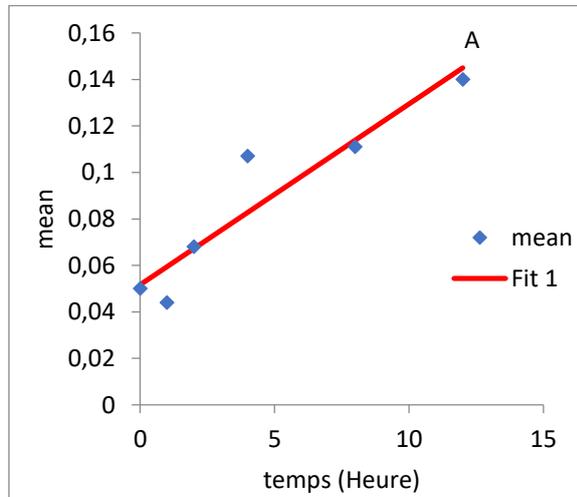


RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz) du composé **9**

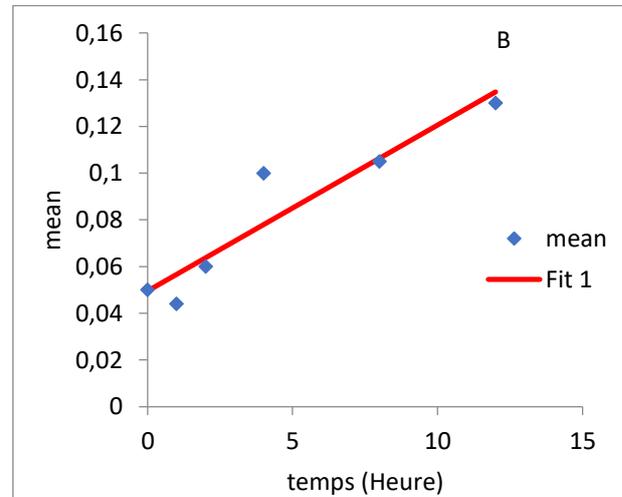


RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) du composé **9**

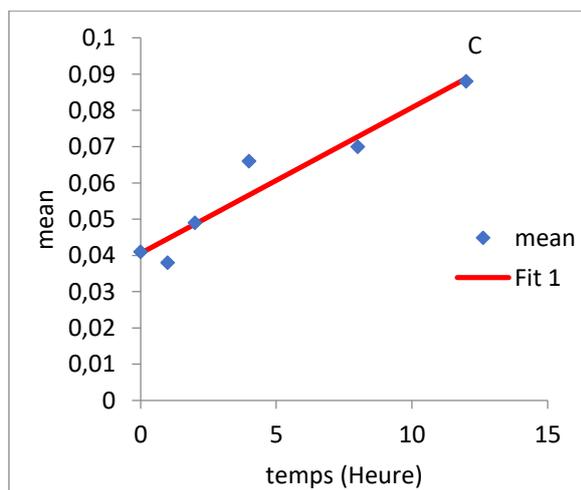
Annexe 16 : Cinétique d'évolution de la souche *E.coli* AG102 en présence de l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* adaptée au modèle de Baranyi.



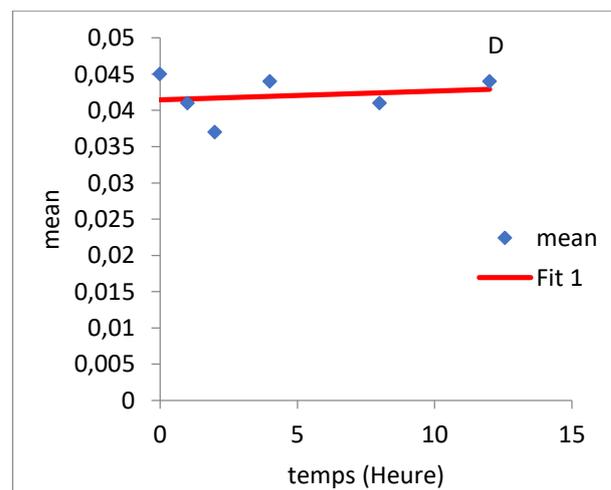
AG102 seul



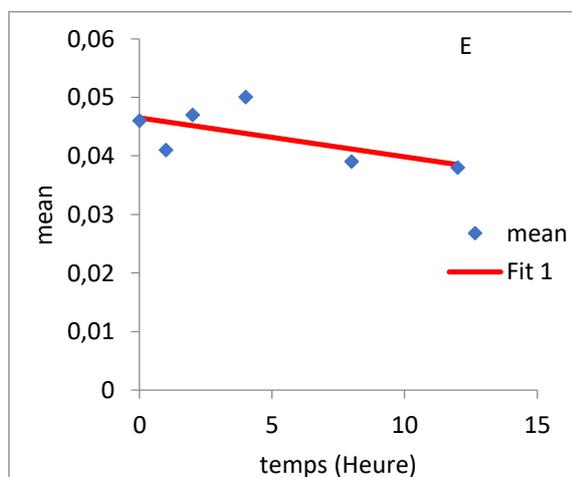
AG102 + DMSO 2,5%



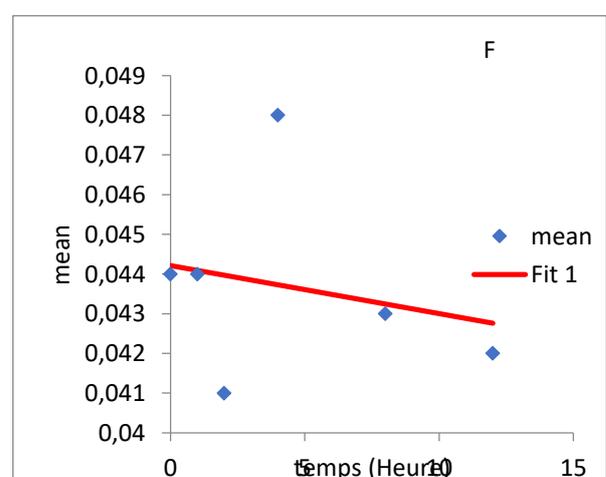
AG102 + Extrait à 0,5 x CMI (512 µg/mL)



AG102 + Extrait à la CMI (1024 µg/mL)

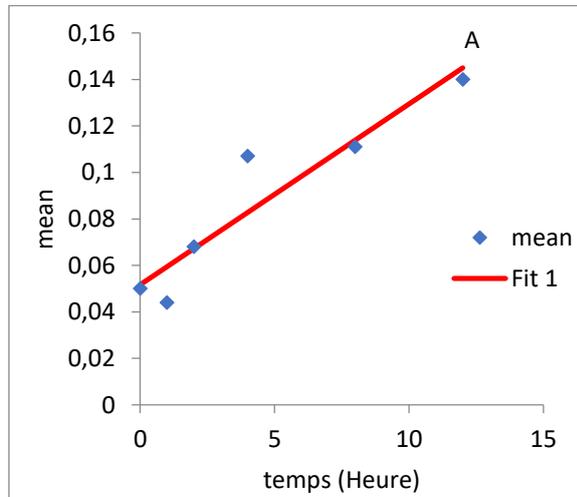


AG102 + Extrait à 2 x CMI (2048 µg/mL)

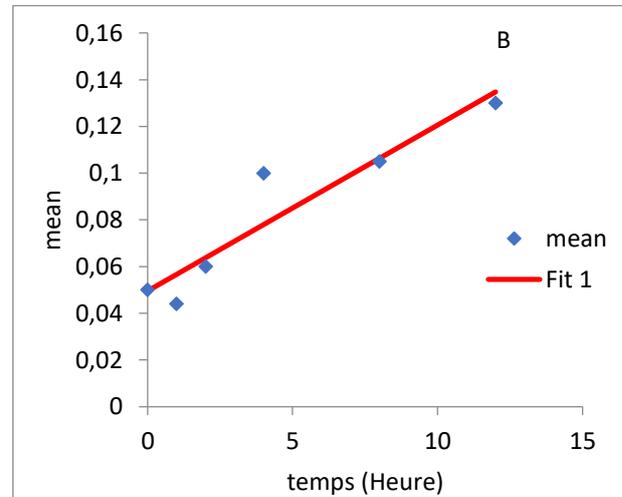


AG102 + CHL

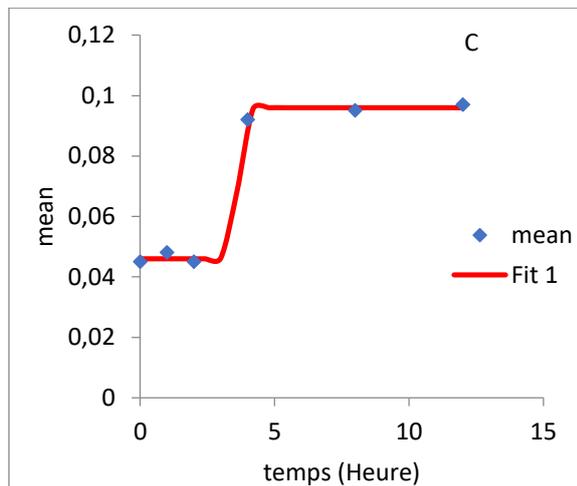
Annexe 17 : Cinétique d'évolution de la souche *E. coli* AG102 en présence du composé **8** adaptée au modèle de Baranyi.



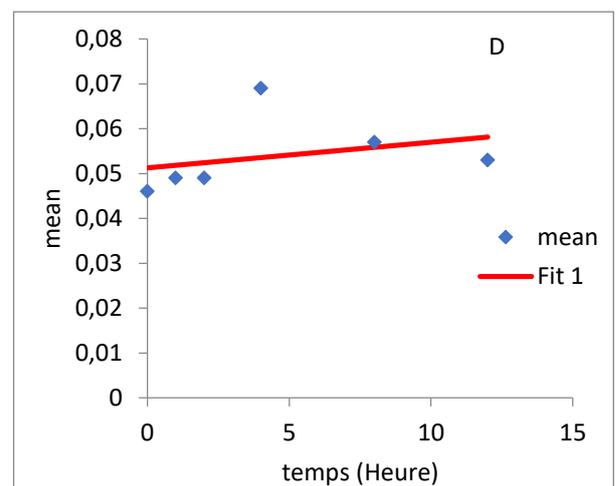
AG102 seul



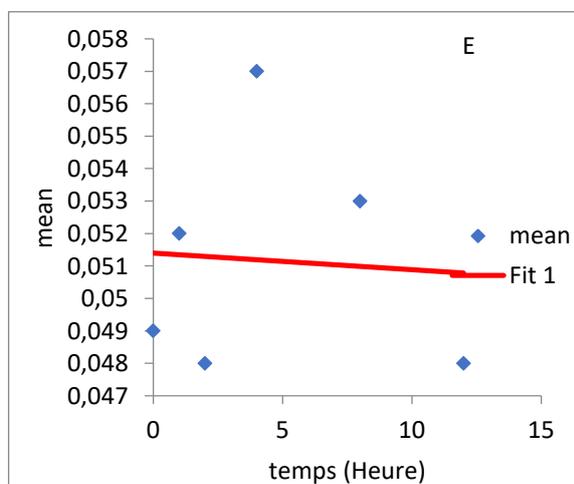
AG102 + DMSO 2,5



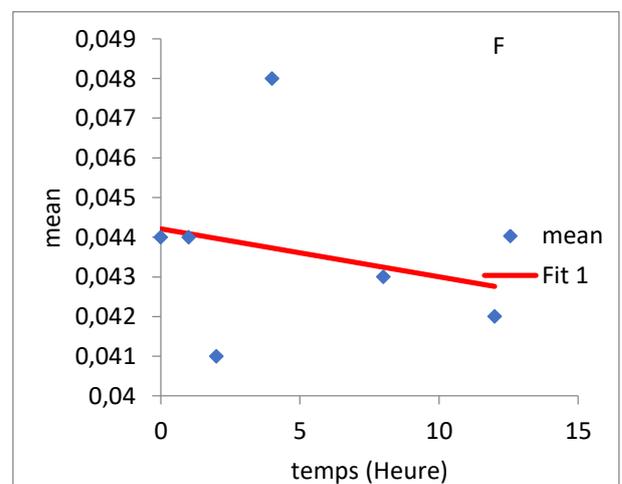
AG102 + Composé **8** à 0,5 x CMI (16 µg/mL)



AG102 + Composé **8** à la CMI (32 µg/mL)

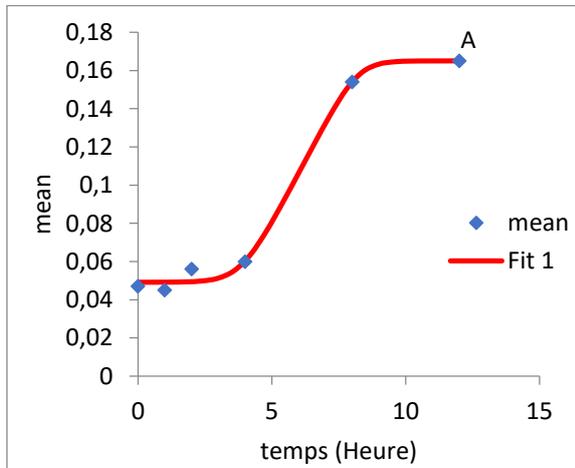


AG102 + Composé **8** à 2 x CMI (64 µg/mL)

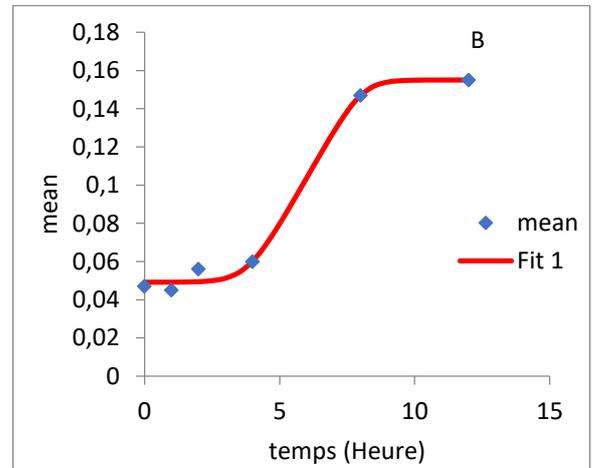


AG102 + CHL

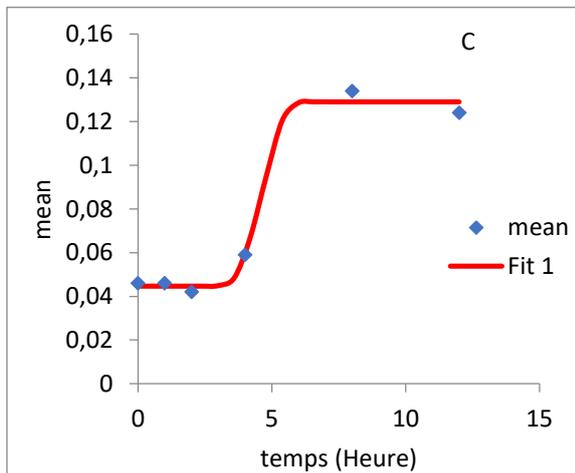
Annexe 18 : Cinétique d'évolution de la souche *K. pneumoniae* KP55 en présence de l'extrait brut des racines de *Albizia adianthifolia* adaptée au modèle de Baranyi.



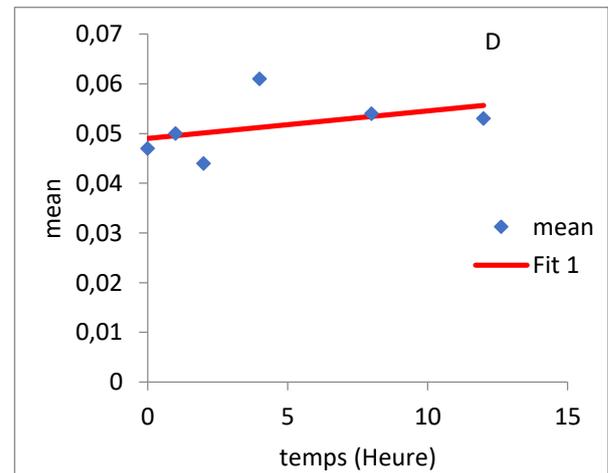
KP55 seul



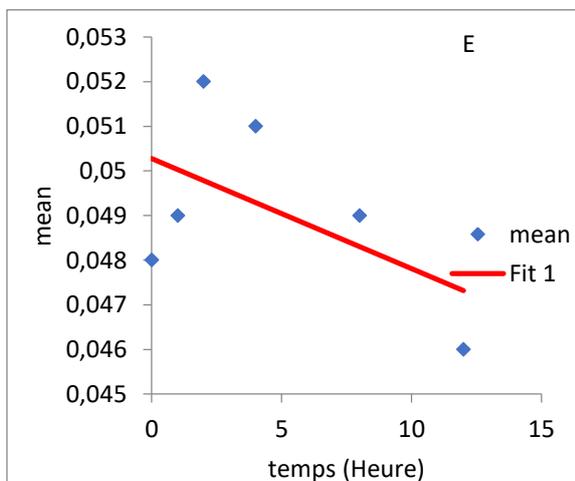
KP55 + DMSO 2,5%



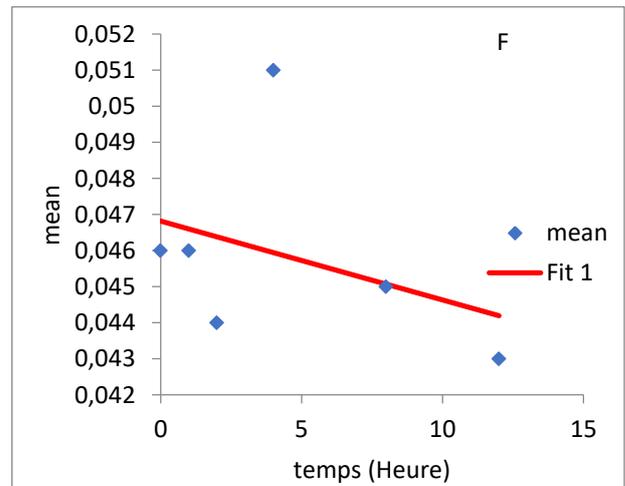
KP55 + Extrait à 0,5 x CMI (128 µg/mL)



KP55 + Extrait à la CMI (256 µg/mL)

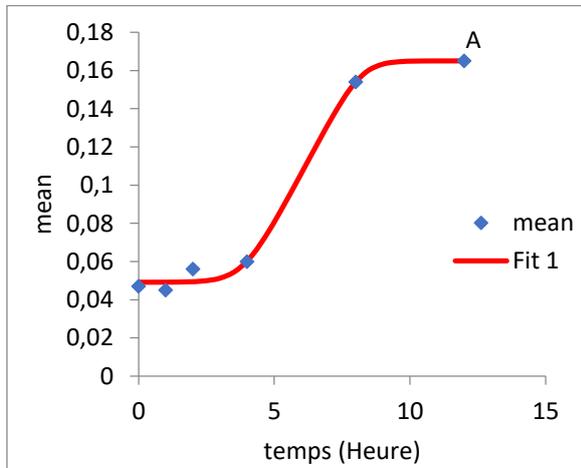


KP55 + Extrait à 2 x CMI (2048 µg/mL)

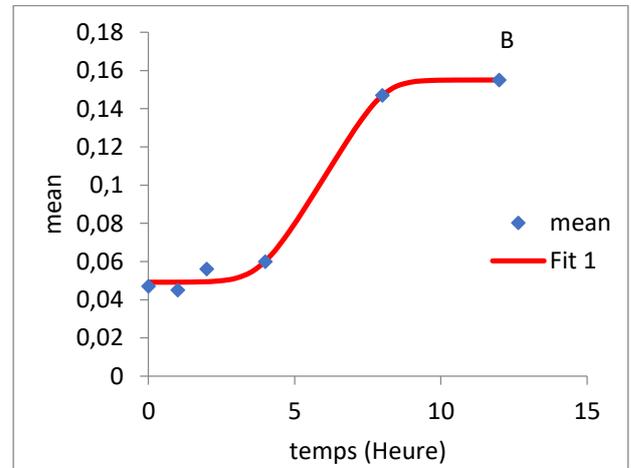


KP55 + CHL

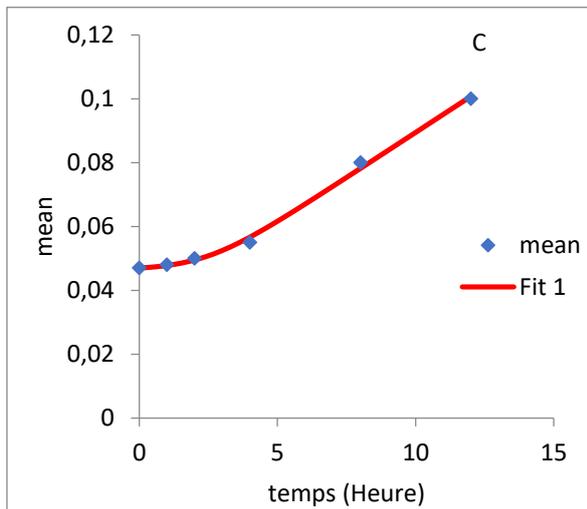
Annexe 19 : Cinétique d'évolution de la souche *K. pneumoniae* KP55 en présence du composé **8** adaptée au modèle de Baranyi.



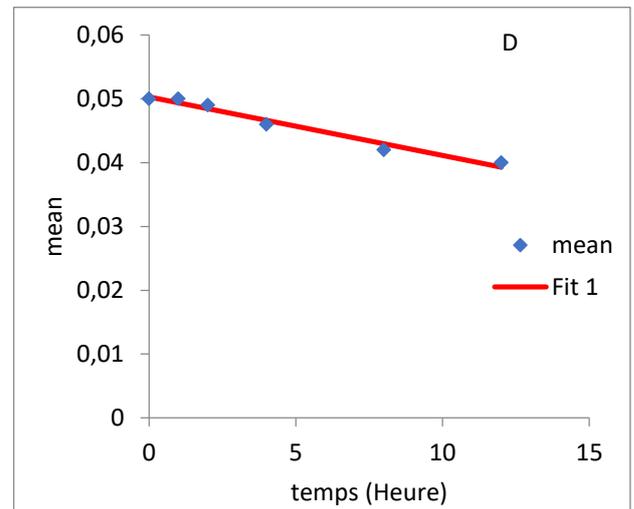
KP55 seul



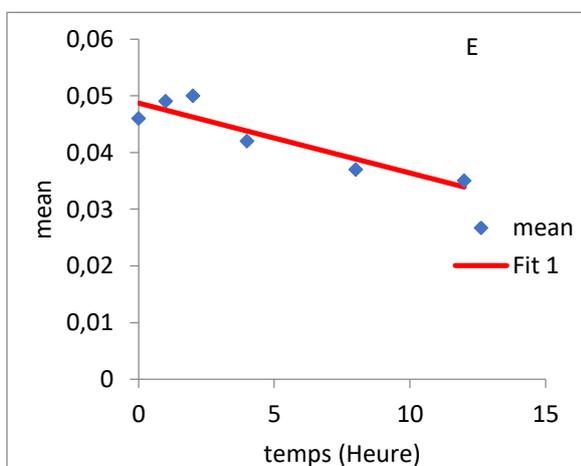
KP55 + DMSO 2,5%



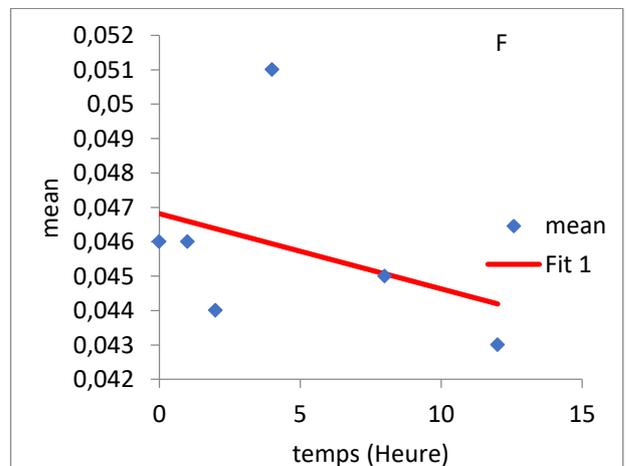
KP55 + Composé **8** à 0,5 x CMI (32 µg/mL)



KP55 + Composé **8** à la CMI (64 µg/mL)



KP55 + Composé **8** à 2 x CMI (2048 µg/mL)



KP55 + CHL

