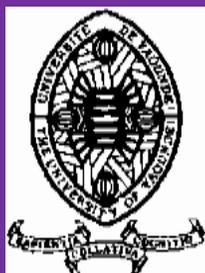


UNIVERSITÉ DE YAOUNDE I

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

Laboratoire de Recherche sur la Tuberculose et la Pharmacologie

Laboratory for Tuberculosis Research and Pharmacology

(BTC/UII)

**Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques
plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les
infections urogénitales.**

THESE

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

Option Biotechnologie et Développement

Spécialité Pharmacologie

Par

TABOUGUA Octavie Merveille

Matricule 06R088

Master en Biochimie



Sous la Direction de :

ASSOB NGUEDIA Jules Clément

Professeur

Université de Buea

Et la Supervision de :

PENLAP BENG Véronique

Professeur

Université de Yaoundé I

Année académique : 2022-2023

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

Laboratoire de Recherche sur Tuberculose et la Pharmacologie

Laboratory for Tuberculosis Research and Pharmacology

(BTC/UIYI)

**Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques
plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les
infections urogénitales.**

THESE

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

Option Biotechnologie et Développement

Spécialité Pharmacologie

Par

TABOUGUIA Octavie Merveille

Matricule 06R088

Master en Biochimie

Sous la co-direction de

ASSOB NGUEDIA Jules Clément

Professeur
Université de Buea

PENLAP BENG Véronique

Professeur
Université de Yaoundé I

Année 2022 -2023

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I

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

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

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE



THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

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

RESEARCH DOCTORATE TRAINING UNIT
IN LIFE SCIENCES

DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY

ATTESTATION DE CORRECTION

Nous soussignés, membres du Jury de la soutenance de Thèse de Doctorat/ Ph. D de Biochimie (Option Biotechnologie et Développement) de Madame **TABOUGUIA Octavie Merveille**, Matricule **06R889**, soutenance autorisée par la correspondance N° **223132/UY1/VREPDTIC/DAAC/SSPE/CB-nsr** du 07 Novembre 2022, et défendue le **13 Décembre 2022** à 11 heures dans la salle multimédia du nouveau bloc pédagogique de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I sous le Thème : « **Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales de la pharmacopée camerounaise sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales** » attestons que les corrections exigées à la candidate lors de cette évaluation ont été effectuées et que le dit document peut être déposé sous sa forme actuelle.

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

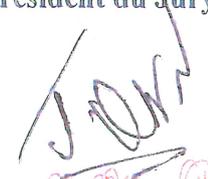
Fait à Yaoundé, le **03 FEB 2023**

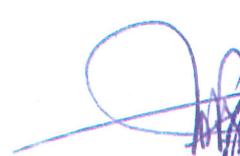
Examineurs

Président du Jury

Chef de Département de Biochimie


Rosalie Anne Ngono Ngame
Professeur


Julius E. Oben, Ph.D
Professor


Paul F. MOUNG
Professor
Enzymology & Toxicology




Claude Kamdem Sylvain, PHD
Associate Professor
Food technologist & Food Microbiologist

LISTE PROTOCOLAIRE DE LA FS DE L'UYI

ANNEE ACADEMIQUE 2022-2023

UNIVERSITE DE YAOUNDE I FACULTE 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 PERMENENT TEACHING STAFF	

ANNÉE ACADEMIQUE 2021/2022

(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION 31 OCTOBRE 2022

ADMINISTRATION

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

VICE-DOYEN / DPSAA: ATCHADE Alex de Théodore, *Maître de Conférences*

VICE-DOYEN / DSSE : NYEGUE Maximilienne Ascension, *Professeur*

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

Chef Division Administrative et Financière : NDOYE FOE Florentine Marie Chantal, *Maître de Conférences*

Chef Division des Affaires Académiques, de la Recherche et de la Scolarité DAARS : AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (39)

N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1.	BIGOGA DAIGA Jude	Professeur	En poste
2.	BOUDJEKO Thaddée	Professeur	En poste
3.	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
4.	FOKOU Elie	Professeur	En poste
5.	KANSCI Germain	Professeur	En poste
6.	MBACHAM FON Wilfred	Professeur	En poste
7.	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	<i>Chef de Département</i>
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 F. M. C.	Maître de Conférences	Chef DAF / FS

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

13.	DJUIDJE NGOUNOUE Marceline	Maître de Conférences	En poste
14.	EFFA ONOMO Pierre	Maître de Conférences	<i>Vice Doyen CRC/FS/ UE CD faculté d'agriculture et agropastoral ENSET Ebolowa</i>
15.	EWANE Cécile Annie	Maître de Conférences	En poste
16.	KOTUE TAPTUE Charles	Maître de Conférences	En poste
17.	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	Doyen FS / UDs
18.	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
19.	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
20.	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
21.	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
22.	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste

23.	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
24.	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
25.	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Chargé de Cours	En poste
26.	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
27.	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
28.	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
29.	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
30.	KOUOH ELOMBO Ferdinand	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.	OWONA AYISSI Vincent Brice	Chargé de Cours	En poste
35.	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
36.	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En poste
37.	WILFRED ANGIE Abia	Chargé de Cours	En poste
38.	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Chargée de Cours	En poste

39.	FOUPOUAPOUOGNIGNI Yacouba	Assistant	En poste
-----	---------------------------	-----------	----------

2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (51)

1.	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	<i>DAARS/FS</i>
2.	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	Chef de Département
3.	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4.	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5.	DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré	Professeur	En Poste
6.	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>Vice Doyen/FMSB/UIYI</i>
7.	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
8.	KEKEUNOU Sévilor	Professeur	En poste
9.	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
10.	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
11.	NOLA Moïse	Professeur	En poste

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

12.	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
13.	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service</i> <i>Coord.Progr./MINSANTE</i>
14.	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	En poste

15.	ALENE Désirée Chantal	Maître de Conférences	<i>Chef Service/ MINESUP</i>
16.	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
17.	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
18.	GOUNOUÉ KAMKUMO Raceline épouse FOTSING	Maître de Conférences	En poste
19.	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHÉ	Maître de Conférences	En Poste
20.	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Maître de Conférences	En poste
21.	MBENOUN MASSE Paul Serge	Maître de Conférences	En poste
22.	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
23.	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
24.	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
25.	NGUEMBOCK	Maître de Conférences	En poste
26.	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste

27.	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
28.	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Chargé de Cours	En poste
29.	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
30.	ESSAMA MBIDA Désirée Sandrine	Chargée de Cours	En poste
31.	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
32.	FEUGANG YOUNSSI François	Chargé de Cours	En poste
33.	GONWOUO NONO Legrand	Chargé de Cours	En poste
34.	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
35.	KOGA MANG DOBARA	Chargé de Cours	En poste
36.	LEME BANOCK Lucie	Chargé de Cours	En poste
37.	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
38.	METCHI DONFACK MIREILLE FLAURE EPSE GHOUMO	Chargé de Cours	En poste
39.	MOUNGANG Luciane Marlyse	Chargée de Cours	En poste
40.	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
41.	NGOULATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
42.	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	<i>Chef Div. Uté Bamenda</i>
43.	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
44.	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
45.	TAMSA ARFAO Antoine	Chargé de Cours	En poste
46.	YEDE	Chargé de Cours	En poste
47.	YOUNOUSSA LAME	Chargé de Cours	En poste

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

48.	AMBADA NDZENGUE GEORGIA ELNA	Assistante	En poste
49.	FOKAM Alvine Christelle Epse KEGNE	Assistante	En poste
50.	MAPON NSANGO Indou	Assistant	En poste
51.	NWANE Philippe Bienvenu	Assistant	En poste

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

1.	AMBANG Zachée	Professeur	<i>Chef DAARS /UYII</i>
2.	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
3.	MBOLO Marie	Professeur	En poste
4.	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
5.	YOUMBI Emmanuel	Professeur	<i>Chef de Département</i>
6.	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste

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

17.	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
18.	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
19.	GONMADGE 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.	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
24.	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
25.	NSOM ZAMBO EPSE PIAL ANNIE CLAUDE	Chargé de Cours	<i>En détachement/UNESCO MALI</i>
26.	GODSWILL NTSOMBOH NTSEFONG	Chargé de Cours	En poste
27.	KABELONG BANAHOU Louis-Paul-Roger	Chargé de Cours	En poste
28.	KONO Léon Dieudonné	Chargé de Cours	En poste
29.	LIBALAH Moses BAKONCK	Chargé de Cours	En poste
30.	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Chargé de Cours	En poste
31.	TAEDOUNG Evariste Hermann	Chargé de Cours	En poste
32.	TEMEGNE NONO Carine	Chargé de Cours	En poste
33.	MANGA NDJAGA JUDE	Assistant	En poste

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (31)

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

10.	ACAYANKA Elie	Maître de Conférences	En poste
11.	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.	KENNE DEDZO GUSTAVE	Maître de Conférences	En poste
15.	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
16.	MBEY Jean Aime	Maître de Conférences	En poste
17.	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	En poste
18.	NEBAH Née NDO SIRI Bridget NDOYE	Maître de Conférences	<i>CT/ MINPROFF</i>
19.	NJIOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
20.	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste
21.	NYAMEN Linda Dyorisse	Maître de Conférences	En poste
22.	PABOUDAM GBAMBIE AWAWOU	Maître de Conférences	En poste
23.	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Maître de Conférences	En poste

24.	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	<i>Chef Service/ ENS Bertoua</i>
25.	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
26.	KOUOTOU DAOUDA	Chargé de Cours	En poste
27.	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
28.	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
29.	NJANKWA NJABONG N. Eric	Chargé de Cours	En poste
30.	PATOUOSSA ISSOFA	Chargé de Cours	En poste
31.	SIEWE Jean Mermoz	Chargé de Cours	En Poste

5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (38)

1.	DONGO Etienne	Professeur	<i>Vice-Doyen/FSE/UYI</i>
2.	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	<i>Chef de Département UDS</i>
3.	NYASSE Barthélemy	Professeur	En poste

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

4.	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP/ Chef de Département</i>
5.	WANDJI Jean	Professeur	En poste
6.	MBAZOA née DJAMA Céline	Professeur	En poste

7.	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DPSAA</i>
8.	AMBASSA Pantaléon	Maître de Conférences	En poste
9.	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste
10.	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste
11.	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
12.	KAMTO Eutrophe Le Doux	Maître de Conférences	En poste
13.	KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
14.	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
15.	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
16.	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
17.	MVOT AKAK CARINE	Maître de Conférences	En poste
18.	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	<i>Chef de Cellule MINRESI</i>
19.	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	<i>C.E.A/ MINESUP</i>
20.	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	<i>DAAC/Uté Bertoua</i>
21.	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
22.	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
23.	TAGATSING FOTSING Maurice	Maître de Conférences	En poste
24.	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen /FS/ UYI</i>
25.	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
26.	ZONDEGOUMBA Ernestine	Maître de Conférences	En poste

27.	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
28.	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
29.	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
30.	SIELINOUE TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste
31.	MESSI Angélique Nicolas	Chargé de Cours	En poste
32.	TCHAMGOUE Joseph	Chargé de Cours	En poste
33.	TSAMO TONTSA Armelle	Chargé de Cours	En poste
34.	TSEMEUGNE Joseph	Chargé de Cours	En poste

35.	MUNVERA MFIFEN Aristide	Assistant	En poste
36.	NONO NONO Éric Carly	Assistant	En poste
37.	OUETE NANTCHOUANG Judith Laure	Assistante	En poste
38.	TSAFFACK Maurice	Assistant	En poste

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (22)

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.	TSOPZE Norbert	Maître de Conférences	En poste

5.	ABESOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	<i>Sous-Directeur/MINFOPRA</i>
6.	AMINOU Halidou	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
7.	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
8.	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Chargé de Cours	En poste
9.	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
10.	HAMZA Adamou	Chargé de Cours	En poste
11.	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Chargé de Cours	En poste
12.	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
13.	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
14.	MONTHÉ DJIADEU Valéry M.	Chargé de Cours	En poste
15.	OLE OLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	<i>Directeur adjoint ENSET. Ebolowa</i>
16.	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste

17.	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
18.	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste
19.	MAKEMBE. S . Oswald	Assistant	En poste
20.	MESSI NGUELE Thomas	Assistant	En poste
21.	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste
22.	NZEKON NZEKO'O ARMEL JACQUES	Assistant	En poste

7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (30)

1.	AYISSI Raoult Domingo	Professeur	Chef de Département
----	-----------------------	------------	----------------------------

2.	KIANPI Maurice	Maître de Conférences	En poste
3.	MBANG Joseph	Maître de Conférences	En poste
4.	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
5.	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Maître de Conférences	En poste
6.	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>Chef Service des Programmes & Diplômes/FS/UYI</i>
7.	TAKAM SOH Patrice	Maître de Conférences	En poste
8.	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	<i>Directeur/AIMS Rwanda</i>

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

9.	TCHOUNDJA Edgar Landry	Maître de Conférences	En poste
10.	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	<i>Chef Cellule MINEPAT</i>
11.	BOGSO ANTOINE MARIE	Chargé de Cours	En poste
12.	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
13.	DJIADU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
14.	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
15.	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
16.	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
17.	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	<i>Chef Dpt /ENS Uté Bertoua</i>
18.	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
19.	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
20.	OGADOA AMASSAYOGA	Chargée de Cours	En poste
21.	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	<i>En stage</i>
22.	TCHEUTIA Daniel Duviol	Chargé de Cours	En poste
23.	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargé de Cours	En poste

24.	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste
25.	FOKAM Jean Marcel	Assistant	En poste
26.	LOUMNGAM KAMGA Victor	Assistant	En poste
27.	MBATAKOU Salomon Joseph	Assistant	En poste
28.	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
29.	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
30.	TENKEU JEUFACK Yannick Léa	Assistant	En poste

8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (22)

1.	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2.	NYEGUE Maximilienne Ascension	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE/FS/UYI</i>
3.	NWAGA Dieudonné M.	Professeur	En poste

4.	ASSAM ASSAM Jean Paul	Maître de Conférences	En poste
5.	BOUGNOM Blaise Pascal	Maître de Conférences	En poste
6.	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
7.	KOITCHOU MABEKU Epse KOUAM Laure Brigitte	Maître de Conférences	En poste
8.	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
9.	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste

10.	BODA Maurice	Chargé de Cours	En position d'absence irrégulière
11.	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
12.	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
13.	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste
14.	ESSONO Damien Marie	Chargé de Cours	En poste

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

15.	LAMYE Glory MOH	Chargé de Cours	En poste
16.	MEYIN A EBONG Solange	Chargée de Cours	En poste
17.	NKOUDOU ZE Nardis	Chargé de Cours	En poste
18.	TAMATCHO KWEYANG Blandine Pulchérie	Chargée de Cours	En poste
19.	TOBOLBAÏ Richard	Chargé de Cours	En poste

20.	MONI NDEDI Esther Del Florence	Assistante	En poste
21.	NKOUÉ TONG ABRAHAM	Assistant	En poste
22.	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Assistante	En poste

9. DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY) (43)

1.	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2.	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Professeur	En poste
3.	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Professeur	<i>Vice-Recteur. Uté Ngaoundéré</i>
4.	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
5.	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
6.	NANA NBENDJO Blaise	Professeur	En poste
7.	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	<i>Chef de Département</i>
8.	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	En poste
9.	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
10.	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
11.	SAIDOU	Professeur	<i>Chef de centre/IRGM/MINRESI</i>
12.	TABOD Charles TABOD	Professeur	<i>Doyen FSUniv/Bda</i>
13.	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
14.	WOAFO Paul	Professeur	En poste
15.	ZEKENG Serge Sylvain	Professeur	En poste

16.	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	<i>DG/HYDRO Mekin</i>
17.	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
18.	BOYOMO Marthe	Maître de Conférences	<i>DA / ENSPY</i>
19.	ENYEGUE A NYAM épouse BELINGA	Maître de Conférences	En poste
20.	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
21.	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
22.	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
23.	MBINACK Clément	Maître de Conférences	En poste
24.	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Maître de Conférences	En poste
25.	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
26.	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

27.	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
28.	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
29.	WAKATA née BEYA Annie	Maître de Conférences	Directeur/ENS/UYI

30.	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
31.	CHAMANI Roméo	Chargé de Cours	En poste
32.	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
33.	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	<i>Chef Cell. MINADER</i>
34.	MELI'I Joelle Larissa	Chargée de Cours	En poste
35.	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	En poste
36.	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	<i>Absente depuis Janvier 2022</i>
37.	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Chargé de Cours	En poste
38.	DJIOTANG TCHOTCHOU Lucie Angennes	Chargée de Cours	En poste
39.	OTTOU ABE Martin Thierry	Chargé de Cours	En poste
40.	TEYOU NGOUPOU Ariel	Chargé de Cours	En poste

41.	KAMENI NEMATCHOUA Modeste	Assistant	En poste
42.	LAMARA Maurice	Assistant	En poste
43.	NGA ONGODO Dieudonné	Assistant	En poste
44.	WANDJI NYAMSI William	Assistant	En poste

10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (42)

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

8.	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
9.	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
10.	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	En poste
11.	FUH Calistus Gentry	Maître de Conférences	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT</i>
12.	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
13.	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	<i>Chef de Département /Uté Maroua</i>
14.	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	CT/ MINIMDT
15.	NGO BIDJECK Louise Marie	Maître de Conférences	En poste
16.	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	CEA/MINRESI
17.	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
18.	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
19.	ONANA Vincent Laurent	Maître de Conférences	<i>Chef service Maintenance & du Matériel/UYII</i>

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

20.	TCHAKOUNTE J. épouse NUMBEM	Maître de Conférences	<i>Chef.cell / MINRESI</i>
21.	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
22.	TEMGA Jean Pierre	Maître de Conférences	En poste
23.	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. /MINTP</i>
24.	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>

25.	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
26.	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
27.	ELISE SABABA	Chargé de Cours	En poste
28.	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
29.	EYONG JOHN TAKEM	Chargé de Cours	En poste
30.	MAMDEM TAMTO LIONELLE ESTELLE	Chargé de Cours	En poste
31.	MBESSE CECILE OLIVE	Chargée de Cours	En poste
32.	MBIDA YEM	Chargé de Cours	En poste
33.	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
34.	MINYEM Dieudonné	Chargé de Cours	<i>CD/ Uté Maroua</i>
35.	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
36.	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
37.	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargé de Cours	En poste
38.	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
39.	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
40.	FEUMBA Roger	Chargé de Cours	En poste
41.	MBANGA NYOBE Jules	Chargé de Cours	En poste

42.	NGO'O ZE ARNAUD	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	8 (00)	14 (10)	15 (05)	02 (01)	39 (16)
BPA	14 (01)	12 (08)	21 (06)	04 (02)	51 (17)
BPV	06 (01)	10(01)	16 (09)	01 (00)	33 (11)
CI	09(01)	14(04)	08 (01)	00 (00)	31 (06)
CO	06 (01)	20 (04)	08 (03)	04 (01)	38(09)
IN	02 (00)	02 (00)	12 (01)	06 (00)	22 (01)
MAT	01 (00)	08 (00)	14 (01)	07 (01)	30 (02)
MIB	03 (01)	06 (02)	10 (03)	03 (02)	22 (08)
PHY	15 (01)	13 (02)	11 (03)	04 (00)	43 (06)
ST	07 (01)	16 (03)	18 (04)	01 (00)	42(08)
Total	71 (07)	115 (34)	133 (36)	32 (07)	351 (84)

Soit un total de **351 (84)** dont :

- Professeurs	71 (07)
- Maîtres de Conférences	115 (34)
- Chargés de Cours	133 (36)
- Assistants	32 (07)

() = Nombre de Femmes **84**



DEDICACE



A mes Enfants,

Gapinsi Nkon'né Bérénice Samuella

et

Bounsté Nkonné Nissim Gabriel,



« Sur le torrent, sur ses bords de chaque côté, croîtront toutes sortes d'arbres fruitiers. Leur feuillage ne se flétrira point et leurs fruits n'auront point de fin, ils mûriront tous les mois parce que les eaux sortiront du sanctuaire. Leurs fruits serviront de nourriture et leurs feuilles de remède ». EZ 47 :12.

REMERCIEMENTS

Ma gratitude va à tous ceux qui ont contribué d'une façon ou d'une autre à la réalisation de ce modeste travail. Je pense notamment :

Au Professeur **PENLAP BENG Véronique**, vous avez toujours été pour moi ce modèle scientifique qui inspire, et auquel j'aspire, merci d'avoir une fois de plus accepté de m'accompagner dans la réalisation de ce travail ;

Au Professeur **ASSOB NGUEDIA Jules Clément**, je ne trouve pas les mots justes pour exprimer toute ma reconnaissance à votre égard. Vous avez été bien plus qu'un Directeur, un père, une aide de destinée... merci Professeur;

Aux **membres du jury** de cette thèse, pour leur dévouement et leur contribution à l'amélioration de ce travail ;

Au Professeur **MOUNDIPA FEWOU Paul**, Chef de Département de Biochimie et à tous les **enseignants dudit département**, pour toutes les connaissances acquises tout le long de ma formation académique ;

Aux Docteurs **ZOFOU Denis**, et **NJOUENDOU Jelil abdel**, **FOSSI TCHINDA Cédric** qui ont accordé de leurs temps et ont suivi avec rigueur et esprit scientifique l'évolution de ce travail ;

Au Docteur **NDE FON** de regreté mémoire **et à la « Solidarity Clinic », la clinique « St Albert » et l'hôpital Laquintinie de Douala** pour leur assistance dans le processus d'obtention des souches microbiennes cliniques utilisées dans ce travail ;

A la **Faculté des Sciences de la Santé de l'Université de Buea** qui a accepté abriter les travaux de cette thèse ;

A tous les membres du Laboratoire de Recherche sur la Tuberculose et la Pharmacologie ;

Au **Département** de Chimie Organique de l'Université de Buea;

A la **BEI RESSOURCES**, **NIAID**, **NIH**, Manassas USA, pour l'approvisionnement des souches microbiennes de références ;

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

A la **Pharmacie de l'hôpital Régional de Buea** pour l'attribution des prix des antibiotiques ;

Au **Centre de Phytomédecine Africain à Dschang**, par le Biais du **Pr NKENG EFOUET Alango Pépin** pour leur orientation dans vers les plantes utilisées dans ce travail ;

Aux Botanistes **M. NANA Victor** et **M. William** pour la récolte et l'identification des plantes utilisées dans ce travail;

A l'**Herbier National du Cameroun** ;

A mon ami et camarade, Dr **TOGHUEO Rufin** ;

Aux étudiants **SIMAA Rene** et **NEBA Lawrence** de l'Université de Buea, dont l'assistance a été d'un grand soutien dans ce travail ;

Toute ma reconnaissance **aux camarades du Laboratoire de Recherche Médicale et de Biochimie Appliquée** de l'Université de Buea. Je pense notamment à Clarisse, Kofia et les autres ;

A mon cher époux **KANA Richard Pérès** ; Tes innombrables sacrifices et ton soutien inconditionnel me touchent énormément;

A mes parents **TABOUGUIA Gabriel** et **WACHIE Marceline**, qui n'ont ménagé aucun effort financier pour que ce rêve devienne réalité. Ce travail est l'aboutissement vos perpétuels sacrifices ;

Mes profonds remerciements vont par ailleurs à tous les **membres de ma famille** qui depuis mon enfance ce sont investis moralement, matériellement et financièrement pour que mon succès scolaire et académique soit garanti ;

A **mes amies** Mme **NDEMBA Félicité Lariboise** et Emma **TIENCHEU** epse **SOMO** ;

Aux communautés de la **Mission du Plein Evangile de Molyko Buea, d'Obobogo, de Nsimyong II** et de **LEAD UNIVERSITY CHAPEL Damas à Yaoundé**, pour les prières, les encouragements et le financement qu'elles m'ont apportées.

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.

Enfin, Merci à **l'Eternel**, pour sa grâce, sa fidélité et son infinie bonté.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS.....	i
LIST OF PERMENENT TEACHING STAFF	i
<i>DEDICACE</i>	xiii
<i>REMERCIEMENTS</i>	xiv
TABLE DES MATIERES	xvi
RESUME.....	xx
ABSTRACT	xxii
LISTE DES ABBREVIATIONS	xxiv
LISTE DES TABLEAUX.....	xxvi
LISTE DES FIGURES.....	xxvii
LISTE DES PHOTOGRAPHIES.....	xxviii
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE.....	4
I- REVUE DE LA LITTERATURE	5
I.1. Les infections urogénitales.....	5
I.1.1. Définitions	5
I.1.2. Infections du tractus génital.....	6
I.1.2.1. Les sites d’infections du tractus génital.....	6
I.1.2.1.1. Infections du tractus génital chez la femme	6
I.1.2.1.2. Infections du tractus génital chez l’homme.....	8
I.1.2.2. Les infections endogènes du tractus génital.....	9
I.1.2.2.1. La vaginose bactérienne	10
I.1.2.2.2. Les candidoses.....	11
I.1.2.3. Les infections iatrogènes du tractus génital	12
I.1.2.4. Les infections sexuellement transmissibles du tractus génital.....	13
I.1.2.4.1. La trichomonase	14
I.1.2.4.2. La Gonococcie ou Blennorrhagie.....	15
I.1.2.4.3. Le Chlamydia	17
I.1.2.4.4. Les infections à mycoplasmes.....	20
I.1.2.4.5. La syphilis.	22
I.1.3. Infections du tractus urinaire.	25
I.1.3.1. IU simple.....	28
I.1.3.1.1. Cystites aiguës.....	28
I.1.3.1.2. Les pyélonéphrites aiguës	28
I.1.3.2. IU à risque de complication	28
I.1.3.3. Diagnostique des IU.....	28
I.1.3.3. Prise en charge des IU.....	29
I.2. La chimiothérapie antimicrobienne.....	30
I.2.1. Les antibactériens	30
I.2.1.1. Définitions.....	30
I.2.1.2. Classification des antibiotiques.....	30
I.2.1.2.1. Origine des antibiotiques.....	30
I.2.1.2.2. Mode d’action des antibiotiques	31
I.2.1.2.3. Le Spectre d’activité.....	31
I.2.1.2.4. La nature chimique.....	31
I.2.1.3. Mécanismes d’action des antibiotiques	32

I.2.1.4. Structure chimique de quelques antibiotiques	35
I.2.2. Les antifongiques	36
I.3. La résistance microbienne	38
I.3.1. Résistance innée ou naturelle ou intrinsèque	38
I.3.2. Résistance acquise	38
I.3.3. Mécanismes biochimiques de la résistance antimicrobienne	39
I.3.3.1. Mécanismes d'inactivations enzymatiques de l'antibiotique	39
I.3.3.2. Modification de la pénétration des antibiotiques	41
I.3.3.2.1. Mécanismes d'entrée des antibiotiques dans la cellule bactérienne	41
I.3.3.2.2. Résistance par imperméabilité de la structure externe de la bactérie....	41
I.3.3.2.3. Perte de porines membranaires	42
I.3.3.2.4. Résistance liée à une modification de la perméabilité de la membrane interne	42
I.3.3.3. Résistance par mécanisme d'efflux actif	42
I.3.3.4. Résistance par modification ou substitution de la cible	43
I.3.3.4.1. Modifications des Protéines liant les pénicillines	43
I.3.3.4.2. Modification de la cible ribosomiale	43
I.3.3.4.3. Altération de la synthèse des acides nucléiques	44
I.3.3.4.4. Modification du précurseur du peptidoglycane	44
I.3.3.4.5. Modification enzymatique de la cible	44
I.3.3.5. Protection de la cible	45
I.3.3.6. Piégeage de l'antibiotique	45
I.3.4. Résistance aux antibiotiques par développement de biofilms	45
I.3.5. Persistance des bactéries	46
I.3.6. Détermination du profil de résistance d'un microorganisme	47
I.4. Les plantes médicinales et substances antimicrobiennes	48
I.4.2. Les terpènes et stéroïdes	52
I.4.3. Les alcaloïdes	52
I.4.4. Généralités sur les plantes médicinales utilisées dans ce travail	54
I.4.4.1. <i>Rumex abyssinicus</i>	54
I.4.4.2. <i>Nauclea pobeguinii</i>	54
I.4.4.3. <i>Picralima nitida</i>	55
I.4.4.4. <i>Shirakiopsis elliptica</i>	55
I.4. Les thérapies combinées	56
I.4.1. Généralités	56
I.4.2. Les différents types d'interactions	57
I.4.3. Les différents niveaux d'étude d'interactions	57
I.4.2.1. L'interaction plante – plante	57
I.4.2.2. L'interaction plante – composés d'origine non botanique	58
I.4.2.3. Les méthodes d'étude des interactions plantes – médicaments conventionnels	60
I.5. Les méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne	62
I.5.1. La méthode de diffusion en milieu solide	62
I.5.2. La méthode de dilution en milieu liquide ou solide	63
I.6. Evaluation de l'effet thérapeutique <i>in vivo</i>	64
I.6.1. Généralités sur les tests <i>in vivo</i>	64
I.6.2. Les paramètres pharmacocinétiques	65

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

I.6.3.1. Les tests <i>in vitro</i>	66
I.6.3.2. Les tests <i>in vivo</i>	66
CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES.....	68
II.1. Matériel.....	69
II.1.1 Matériel végétal.....	69
II.1.2 Les antimicrobiens conventionnels.....	71
II.1.3 Les Milieux de culture.....	71
II.1.4. Les souches microbiennes.....	72
II.1.5. Les animaux d'expérience.....	72
II.2. METHODES.....	72
II.2.1. Identification des germes multirésistants causant les infections urogénitales..	72
II.2.1.1. Screening des germes à infection urogénitales.....	72
II.2.1.1.1. Collectes des échantillons microbiens.....	72
II.2.1.1.2. Isolement des germes multirésistants.....	73
II.2.1.1.3. Caractérisation biochimique des germes multirésistants.....	73
II.2.1.1.3.1. Caractérisation biochimique des bacilles à Gram négatif.....	74
II.2.1.1.3.2. Caractérisation biochimique des cocci à Gram positif.....	75
II.2.1.1.3.3. Identification par le kit d'identification Urin System Plus (Liofilchem).....	76
II.2.1.2. Antibiogramme des souches isolées et identifiées.....	77
II.2.2. Criblage des propriétés antimicrobiennes des extraits aqueux, méthanoliques, hydroéthanoliques et méthanol-dichlorométhane de <i>Shirakiopsis ellyptica</i> , <i>Rumex abyssinicus</i> , <i>Nauclea pobeguini</i> , et <i>Picralima nitida</i> , contre les germes identifiés.....	78
II.2.2.1. Souches microbiennes.....	78
II.2.2.2. Préparation des extraits hydroéthanoliques, chlorure de méthylène-méthanol et aqueux pour la suite de l'étude.....	79
II.2.2.3. Détermination des paramètres d'inhibitions antimicrobiens.....	80
II.2.2.4. Screening phytochimique des différents extraits de plantes.....	82
II.2.2.4.1. Test des triterpènes et stérols.....	82
II.2.2.4.2. Test pour le screening des alcaloïdes.....	82
II.2.2.4.3. Test pour les saponines:.....	82
II.2.2.4.4. Test pour les tanins.....	82
II.2.2.4.5. Test pour les flavonoïdes.....	83
II.2.3. Evaluation du pouvoir potentialisateur des extraits les plus actifs sur les antibiotiques conventionnels contre des germes multirésistants à infections urogénitales. ...	84
II.2.3.1. Choix des antibiotiques.....	84
II.2.3.2. Microorganismes testés.....	84
II.2.3.3. Etude de l'interaction extrait-antibiotique, méthode Checkerboard : Procédure opérationnelle standard.....	85
II.2.4. Evaluation de l'effet thérapeutique <i>in vivo</i> des extraits actifs chez les souris infectées.....	88
II.2.4.1. Extraits bruts et antibiotique de référence.....	88
II.2.4.2. Souche bactérienne.....	88
II.2.4.3. Animaux de l'expérience.....	88
II.2.4.4. Anesthésie.....	89
II.2.4.5. Préparation d'inoculum.....	89
II.2.4.6. Induction de l'infection urinaire.....	89

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

II.2.4.7. Administration de traitements.	90
II.2.4.8. Collecte des urines et culture : Détermination de la charge bactérienne dans les urines.	91
II.2.4.9. Variation de la charge bactérienne et détermination du taux d'élimination des bactéries.	91
II.2.4.10. La morbidité/mortalité de l'infection.	92
II.2.5. Analyses statistiques	92
CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION	93
III.1. Résultats.....	94
III.1.1. Screening les germes multirésistants à infections urogénitales.....	94
III.1.1.1. Obtention des isolats cliniques multirésistants responsable des IUG...94	
III.1.1.1.3. Résultats de l'antibiogramme	95
III.1.2.1. Potentiel antimicrobien	97
III.1.2.2. Analyses phytochimiques des extraits aqueux, méthanolique et hydroéthanoliques des plantes sélectionnées	99
III.1.3. Effet potentialisateur des extraits sur les antibiotiques.....	104
III.1.4. Induction de l'infection urinaire et évaluation de l'effet thérapeutique des extraits.....	106
III.1.4.1. Mortalité de l'IU.....	106
III.1.4.2. Morbidité de l'IU : Paramètres de la morbidité	106
III.1.4.2.1 La Charge bactérienne dans les urines	106
III.1.4.2.2 La masse pondérale	108
III.1.4.3.Évaluation de l'effet des traitements sur les marqueurs de la morbidité.110	
III.1.4.3.1. Variation du poids au cours de l'expérience	110
III.1.4.3. 2. Variation de la charge bactérienne au cours de l'expérience 112	
III.2. Discussion.....	116
CHAPITRE IV: CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	124
IV.1. Conclusion.....	125
IV.2. Perspectives	127
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	128
REFERENCES WEBOGRAPHIQUES.....	146
ANNEXES	147
PUBLICATIONS ISSUES DE LA THESE.....	m

RESUME

Les infections urogénitales (IUG) demeurent une préoccupation majeure en santé publique en particulier chez les femmes. La maîtrise de ces infections devient de plus en plus compliquée à cause des phénomènes de résistance et de multirésistance des germes vis-à-vis des traitements existants. De ce fait, la recherche perpétuelle de nouvelles molécules antimicrobiennes est indispensable pour faire face à ce défi. De plus, les composés issus des plantes médicinales pourraient être utilisés en synergie avec les médicaments conventionnels afin d'améliorer l'efficacité de ces derniers. Cette étude a ainsi été initiée dans le but d'évaluer le potentiel antimicrobien et thérapeutique de divers extraits (aqueux, hydroéthanolique, méthanolique, chlorure de méthylène-méthanol), de *Nauclea pobeguinii* (NP), *Picralima nitida* (PN), *Rumex abyssinicus* (RA) et *Shirakiopsis elliptica* (SE), utilisées dans le traitement des infections diverses, contre quelques germes multirésistants causant les infections urogénitales. Pour atteindre nos objectifs, des isolats cliniques provenant des patients malades ont été identifiés. Leur caractère multirésistant a été mis en évidence par la méthode de diffusion, le criblage antimicrobien des extraits vis-à-vis des isolats a été effectué par la méthode de dilution, et l'analyse qualitative des constituants phytochimiques de chaque extrait de plante a également été effectuée. Le pouvoir potentialisateur des extraits sur les antibiotiques a été déterminé grâce à la méthode de Checkerboard. Enfin, le potentiel thérapeutique des extraits les plus actifs a été évalué *in vivo*, en induisant transurétralement une infection urinaire à *UPEC* (*uropathogenic E. coli*), aux jeunes souris femelles de souche Balb/c qui ont ensuite été traitées par les extraits de plante actifs aux doses de 100, 200, 400mg/kg de poids corporel. Les résultats ont permis l'identification présomptive de 9 isolats cliniques (*Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida famata*, *Cryptococcus laurentii*) prouvés multirésistants vis-à-vis de diverses classes d'antibiotiques et d'antifongiques. L'étude du potentiel antimicrobien des différents extraits de plantes étudiés a révélé leur potentiel vis-à-vis des microorganismes testés, avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) variant de 0,125 à 64mg/mL. Dans certains cas, les CMI des extraits brutes étaient inférieures aux CMI de plusieurs antibiotiques de référence. Tous les extraits issus de *Shirakiopsis elliptica* ont démontrés un fort potentiel antimicrobien vis-à-vis de 5 des 8 espèces bactériennes testées. Quant aux extraits issus de *Rumex*

abyssinicus, l'extrait à l'eau (RAE) seul a démontré une activité modérée sur l'ensemble des souches bactériennes testées. Pour ce qui est des extraits issus de *Picralima nitida*, l'extrait à l'eau (PNE) a démontré une activité modérée sur les bactéries Gram positif mais une faible activité sur les bactéries Gram négatif. L'extrait aqueux de *Nauclea pobeguinii*, s'est également distinguée des autres extraits en présentant un pouvoir antimicrobien modéré vis-à-vis de l'ensemble des espèces bactériennes testées. Au final, tous les extraits de plantes étudiés ont démontré des activités intéressantes au regard des CMI obtenues ($\leq 8\text{mg/ml}$) vis-à-vis d'au moins 5 microorganismes testés. L'ensemble des résultats de l'analyse phytochimique a montré que les extraits actifs contenaient en majorité les tannins, les alcaloïdes et les saponines pouvant être responsables des activités observées. Comparativement aux extraits méthanoliques et hydro-éthanoliques issus des mêmes plantes, les extraits aqueux ont montré une meilleure activité antimicrobienne *in vitro*. En ce qui concerne la capacité des extraits de plantes à potentialiser les différents antibiotiques, les résultats ont montré que 37 interactions ont été additives, avec les indices de concentration inhibitrice fractionnelle (ICIF) compris entre 0,56 et 0,95 ; tandis que 35 interactions ont été indifférentes avec des ICIF compris entre 1,03 et 1,98. Ces interactions additives ont entraîné une réduction de la CMI de la plus part des antibiotiques pouvant aller jusqu'à 64 fois. Ainsi, la concentration de la doxycycline a été réduite jusqu'à 64 fois par les extraits aqueux de *Nauclea pobeguinii* vis-à-vis de *Staphylococcus saprophyticus*; celles de la norfloxacine et de la doxycycline ont été réduite de 32 et de 16 fois respectivement par les extraits aqueux de *Skirakiopsis elliptica* (SEE) sur *Eschérichia coli*, agents causaux des cystites et polynéphrites. L'étude *in vivo* a permis de démontrer que les extraits aqueux de *Nauclea pobeguinii*, *Rumex abyssinicus* et de *Skirakiopsis elliptica* auraient des effets thérapeutiques contre la cystite induite. Au terme de ce travail, il a été établi que les extraits aqueux de *Nauclea pobeguinii*, *Skirakiopsis elliptica* et *Rumex abyssinicus*, possèderaient un potentiel antimicrobien et thérapeutique contre les germes multirésistants causant les infections urogénitales et peuvent de ce fait servir comme point de départ de développement des médicaments contre la cystite et la polynéphrite.

Mots clés: Infections urogénitales, résistance microbienne, plantes médicinales, chimiothérapie antimicrobienne, interaction plante-médicament, *in vitro*, *in vivo*.

ABSTRACT

Urogenital tract infections (UTI) remain a serious global treat particularly among women. The control of these infections is increasingly complicated due to development of resistance against available drugs. This phenomenon known as Multidrug resistance is plaguing the use of antibiotics nowadays. Therefore a perpetual search of new antimicrobial molecules is essential to face this challenge. In addition, compounds from medicinal plants could be used in synergy with conventional drugs to improve the effectiveness of the latter. This study was thus initiated to evaluate the antimicrobial and therapeutic potential of various plant extracts (hydroethanolic, aqueous, methanolic, methylene chloride - methanolic) from *Nauclea pobeguinii* (NP), *Picralima nitida* (PN), *Rumex abyssinicus* (RA), *Shirakiopsis elliptica* (SE), Cameroonian medicinal plants, used in the treatment of various infectious diseases, against multidrug resistant pathogens causing urogenital infections. To achieve our goals, resistant clinical isolates from patients presenting urogenital tract infections symptoms were identified. The antimicrobial screening of the extracts against the isolates was determined using microdilution method, and the qualitative analysis of the phytochemical components of each plant extract has been also carried out. The potentiation effect of extracts on antibiotics was determined using the checkerboard methods. Finally, the therapeutic effect of the most active extracts was evaluated *in vivo*, by inducing transurethrally a urinary infection with UPEC (uropathogenic *E. coli*), in young female mice of the Balb/c strain which subsequently underwent a treatment consisting of most active plant extracts at different doses (100, 200, 400mg/kg body weight). The results permitted to identify 9 clinical isolates (*Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida famata*, *Cryptococcus laurentii*) which were resistant against various classes of antibiotics and antifungals. The study of antimicrobial potential of various plant extracts revealed theirs, on the tested microorganisms, with minimum inhibitory concentrations (MIC) ranging from 0.125 to 64mg/ml. The MICs of plants crude extracts was lower than that of some reference antibiotics in many cases. All the extracts from *Shirakiopsis elliptica* demonstrated strong antimicrobial potential against 5 out of 8 bacterial species tested. Concerning *Rumex abyssinicus* extracts, aqueous extract (RAE) was the only one which demonstrated moderate activity on all the eight tested bacterial strains. As for *Picralima nitida* extracts, aqueous extract (PNE) showed moderate activity on Gram-positive bacteria but weak activity on Gram-negative bacteria. The aqueous extract of *Nauclea pobeguinii*

on the other hand, also stood out from the rest by showing a moderate antimicrobial activity against all the bacterial species tested. Finally, all the studied plant extracts showed interesting activities considering the MIC obtained (≤ 8 mg/mL) against at least 5 tested microorganisms. The overall results of phytochemical screening showed that most active extracts contained mainly tannins, alkaloids and saponins that could be responsible of observed activities. *In vitro* antimicrobial tests of various plants extracts also showed that aqueous extracts from SE, RA, NP, were the most active as compare to methanolic and hydro-ethanolic extracts, positioning water as the best extraction solvent for these plants. Concerning the ability of plant extracts to potentiate the activity of various antibiotics, a total of 37 interactions were additive with Fractional Inhibitory Concentration index (FICI) comprise between 0.56-0.95 meanwhile 35 interactions were indifferent with FICI comprise between 1.03-1.98. These additive interactions induced a decrease in MIC of most antibiotics at up to 64 fold. In fact, the concentration of Doxycycline was decreased by *Nauclea pobeguini* aqueous extracts (NPE) at up to 64-fold on *Staphylococcus saprophiticus*; that of Norfloxacin and Doxycycline was reduced by aqueous extract of *Skirakiopsis elliptica* (SEE) on *E.coli* at up to 32 and 16-fold respectively. *In vivo* study revealed the anticystitis therapeutic effect of aqueous extracts of *Nauclea pobeguini*, *Rumex abyssinicus* and *Skirakiopsis elliptica*; the effective dose could be 100mg/kg and 200mg/kg respectively for the two first plants and the last one. To conclude, the aqueous extracts of *Nauclea pobeguini*, *Skirakiopsis elliptica* and *Rumex abyssinicus* could possess antimicrobial and therapeutic effect against multi drug resistant microorganism causing urogenital tract infections. They can therefore be used as a starting point for drug development for the control and the treatment of these infections among which cystitis and pyelonephritis.

Key words: Urogenital tract infections, microbial resistance, medicinal plants, Antimicrobial chemotherapy, plant-drug interaction, *in vitro*, *in vivo*.

LISTE DES ABBREVIATIONS

ADN :	Acide Désoxyribonucléique
APAB :	Acide Para Amino Benzoïque
ARN :	Acide Ribonucléique
BMR :	Bactérie Multi-Résistante
CIF :	Concentration Inhibitrice Fractionnelle
CMB	Concentration Minimale Bactéricide
CMF	Concentration Minimale Fongicide
CMI :	Concentration Minimale Inhibitrice
CMM :	Concentration Minimale Microbicide
DHFR :	Dihydrofolate Réductase
DHPS :	Dihydroptéroïlsynthétase
DIU	Dispositif intra-utérin
DMSO :	Diméthylsulfoxyde
ECBU :	Examen Cytobactériologique Urinaire
ELISA :	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FIC :	<i>Fractional Inhibitory Concentration</i>
FTA :	<i>Fluorescent Treponemal Assay</i>
GB	Globule blanc
GR	Globule rouge
ICIF :	Indice de Concentration Inhibitrice Fractionnelle
IST :	Infection Sexuellement Transmissible
IU :	Infection Urinaire
IUG :	Infection Urogénitale
IUM :	Infection Urinaire Masculine
KIA :	<i>Kligler Iron Agar</i>
MIP :	Maladie Inflammatoire Pelvienne

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

MLS :	Macrolides, Lincosamides, Streptogramines
NP	<i>Nauclea pobeguinii</i>
NPE	Extrait à l'eau de <i>Nauclea pobeguinii</i>
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
PBS :	<i>Phosphate Buffered Saline</i>
PCR :	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PLP :	Protéine Liant les Pénicillines
PN	<i>Picralima nitida</i>
PO	<i>Per os</i>
PNA :	Pyélonéphrite Aigue
RA	<i>Rumex Abyssinicus</i>
RAE	Extrait aqueux de <i>Rumex Abyssinicus</i>
SCN :	Staphylocoque à Coagulase Négative
SE	<i>Shirakiosis elliptica</i>
SEE	Extrait aqueux de <i>Shirakiosis elliptica</i>
TPHA :	<i>Treponema Pallidum Haemagglutination Assay</i>
UFC :	Unité Formant Colonies / Unité Formant cellules
UNG :	Urétrites Non Gonococciques
VB:	Vaginose Bactérienne
VDRL:	<i>Venereal Diseases Research Laboratory</i>
WHO:	<i>World Health Organization</i>

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: méthodes diagnostiques des infections urogénitales à <i>C. trachomatis</i>	19
Tableau II : Mécanismes d'action et cibles des antibiotiques	33
Tableau III : Mécanismes d'action et cibles de quelques antifongiques usuels	36
Tableau IV: Classification des composés phénoliques à activité antimicrobienne	49
Tableau V: Quelques alcaloïdes à activités antimicrobiennes	53
Tableau VI : Combinaison des plantes avec les dérivés non botanique	58
Tableau VII: Informations détaillées sur les plantes médicinales	69
Tableau VIII : solvant, masses et volumes du matériel végétal	79
Tableau IX : Gamme de concentrations des extraits et antibiotiques à tester sur chaque microplaque	83
Tableau X : antibiotiques sélectionnés pour l'étude de l'effet potentialisateur des extraits actifs	84
Tableau XI: Différents traitements et doses à administrer	90
Tableau XII: Microorganismes caractérisés	94
Tableau XIII: Résultats de l'antibiogramme des bactéries (Gram – et Gram +) prélevées chez les patients fréquentant les hôpitaux de Buea et de Laquintinie	95
Tableau XIV: Résultats de l'antifongogramme des levures prélevées chez les patients	96
Tableau XV : CMI, CMM et rapports CMM/CMI des extraits bruts contre les germes	100
Tableau XVI: Composition phytochimique des différents extraits	104
Tableau XVII : Différents extraits sélectionnés pour chaque pathogène pour l'étude de l'effet potentialisateur	106
Tableau XVIII: Indice de Concentration Inhibitrice fractionnelle (<i>ICIF</i>) des différentes combinaisons/ facteur de réduction minimal (<i>FRM</i>) de la <i>CMI</i> des antibiotiques	107
Tableau XIX: Charge bactérienne des différents groupes d'animaux infectés	108
Tableau XX : pourcentage de gain de poids de chaque lot étudié au cours de l'expérience	112
Tableau XXI: Taux de d'élimination de la Charge bactérienne à la fin de l'expérience	115
Tableau XXII : Résultats de la Caractérisation biochimique des bactéries	c
Tableau XXIII : Identification présomptive des microorganismes	c
Tableau XXIV : Tableau d'assimilation des sucres chez les levures	d

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Anatomie des régions vaginale et rectale : Proximité de l'anus avec le vagin et la vessie.....	5
Figure 2: le tractus génital de la femme	7
Figure 3: le tractus génital de l'homme	8
Figure 4: Colonisation du vagin par les pathogènes qui migrent du système digestif	9
Figure 5: Arbre urinaire de l'homme et de la femme	25
Figure 6 : Cible bactérienne de quelques antibiotiques usuels.....	32
Figure 7: structure chimique de quelques antibiotiques	35
Figure 8 : Structure chimique de quelques antifongiques usuels	37
Figure 9: Différents mécanismes de résistance chez une Bactérie Gram -	40
Figure 10 : méthode de Checkerboard pour l'étude d'interaction	87
Figure 11: Influence de l'infection urinaire sur la croissance pondérale des souris.	109

LISTE DES ANNEXES

Annexe I : Questionnaire administré aux médecins.....	a
Annexe II : Fiche d'attribution des prix d'antibiotiques.....	b
Annexe III : Identification présomptive des Bactéries.....	c
Annexe IV : Identification présomptive des levures.....	c
Annexe V: Photographie de la caractérisation biochimique des germes cliniques et de leur identification présomptive.....	e
Annexe VI: Fiche de résultats de l'étude des interactions.....	g
Annexe VII: Fiche de collecte des données quotidienne pour l'étude in vivo.....	h
Annexe VIII: schéma expérimental de l'étude l'effet thérapeutique.....	i
Annexe IX: photographies des plantes utilisées dans ce travail.....	j
Annexe X: Photographies Performances expérimentales.....	l

LISTE DES PHOTOGRAPHIES

Photographie 1: Matériel végétal végétal utilisé dans ce travail.....	70
Photographie 2 : méthode de microdilution.....	81
Photographie 3: Résultats des tests de caractérisation biochimique des microorganismes.	e
Photographie 4: identification présomptive de microorganismes.....	f
Photographie 5 <i>Rumex abyssinicus</i>	j
Photographie 6 : <i>Naulea pobeguinii</i>	j
Photographie 7 : <i>Picralima nitida</i>	k
Photographie 8 : <i>Shirakiopsis elliptica</i>	k
Photographie 9 : Performance méthode de diffusion.....	l
Photographie 10 : Performance de la méthode de microdilution.....	m
Photographie 11 : Cathétérisme de la souris.....	m
Photographie 12 : Cathétérisme de la souris (suite).....	m

INTRODUCTION

Les infections urogénitales (IUG) sont des infections affectant l'appareil urinaire et/ou l'appareil génital chez l'homme et chez la femme. Elles demeurent une préoccupation majeure pour la santé des populations. En effet, l'OMS estimait en 2013, jusqu'à 500 millions de cas d'IUG chaque année à l'échelle mondiale (OMS, 2013). Cette prévalence reste dix fois plus élevée dans les pays en voies de développement (Population council, 2002). Les IUG affectent aussi bien les hommes que les femmes mais les femmes tendent à être plus vulnérables pour des raisons anatomiques et physiologiques (Salvatore et *al.*, 2011). En effet, les IUG restent l'une des premières infections bactériennes chez la femme (Colgan et Williams, 2011). Parmi les symptômes des infections urogénitales, on peut citer chez la femme les démangeaisons et douleurs vaginales, les pertes blanches, les sensations de brûlures lors des mictions, le mal de dos, l'écoulement urétral, la présence du sang dans les urines et la fièvre (Colgan et Williams, 2011). Cependant, on note une forte prévalence des malades asymptomatiques ce qui compromet d'avantage le control de ces infections (Elias, 1992). Négligées ou mal traitées, ces infections peuvent entraîner de graves conséquences telles que les lésions des organes reproducteurs pouvant aboutir à la stérilité, au cancer, à l'augmentation de la vulnérabilité au VIH/SIDA et autres infections sexuellement transmissibles ainsi qu'au décès. Celles-ci sont également les premières infections mises en cause dans la mortalité néonatale et les complications liées à la grossesse et à l'accouchement (les grossesses ectopiques, les accouchements prématurés, les fausses couches), (OMS, 2013a). Au Cameroun il n'existe pas à notre connaissance de données nationales sur la prévalence des infections urogénitales. Néanmoins, des études menées sur les échantillons urinaires et génitales à Buea en 2009 ont révélées une prévalence de 55% dans la population d'étude (Assob et *al.*, 2009). D'autres études menées à travers le Cameroun ont révélées des taux de prévalence variant entre 26% à 50% (Vroumsia et *al.*, 2013 ; Bissong et *al.*, 2017; Kamga et *al.*, 2019 ; Kouomo Motse et *al.*, 2019) démontrant la menace que présente toujours ces infections pour la santé publique. L'antibiothérapie reste jusqu'à présent le pilier pour le traitement et le control de ces infections. Cependant, bien que plusieurs antibiotiques se soient souvent révélés très efficace, (Zalmanovici et *al.*, 2010) on note néanmoins une forte recrudescence de ces infections, due à l'augmentation perpétuelle des souches microbiennes résistantes, ce qui réduit alors l'efficacité de la plupart des protocoles thérapeutiques. Parmi les alternatives pouvant apporter d'éventuelles solutions à ce problème de résistance, nous avons la

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

valorisation de nos ressources naturelles. En effet, la résistance microbienne, a conduit ces dernières années au screening de centaines de plantes médicinales à la recherche de nouveaux composés biologiquement actifs, de même qu'au développement de nouvelles approches de lutte contre elle. Ainsi, les thérapies combinées dans laquelle l'un des agents potentialise l'effet de l'autre, est une approche pouvant permettre d'augmenter la susceptibilité de certains agents pathogènes moins sensibles et leur revalorisation. Au Cameroun comme dans la plus part des pays en développement, on observe une indisponibilité des soins et services médicaux principalement dans les zones rurales. Cette population aux ressources financières limitées, est incapable de se procurer les soins médicaux adéquats et se tournent la plupart du temps vers les lignes de traitement moins coûteux susceptibles au phénomène de résistance et de multirésistance. C'est pourquoi, la majorité de la population (80%) (OMS 2013b) dépend principalement de la médecine traditionnelle qui est le système de santé de proximité, relativement peu coûteux, intégrant au mieux les aspects culturels, et faisant souvent usage des plantes médicinales sous forme de décoction, ou de macérât. Toutefois de nos jours, l'usage de médecine traditionnelle n'est plus l'apanage exclusive des zones rurales depuis la publication de la stratégie 2002-2005 de l'OMS sur l'intégration de la médecine traditionnelle dans les systèmes de santé nationaux (OMS, 2002). La consommation et l'usage des médicaments traditionnels a connu une croissance significative même dans les pays développés (OMS, 2013b). Au Cameroun, en particulier, la prise simultanée des médicaments conventionnels et de certains breuvages traditionnels par les patients hospitalisés ou non, souffrants des maladies infectieuses ou non est régulière (Soussi, 2015). Ceci expose le malade à une interaction plante –médicament pouvant lui être bénéfique (synergique ou additive) ou alors néfaste (antagoniste ou toxique). Les thérapies combinées utilisées dans le traitement des infections telles que le paludisme, le VIH, les hépatites virales, la tuberculose, est une approche qui s'avère mieux adaptée pour la lutte contre les germes multirésistants. Cette thérapie s'inspire du concept thérapeutique des tradi-thérapeutes africains qui utilisent rarement une seule plante pour soigner mais plutôt plusieurs plantes d'espèces différentes pour optimiser l'activité biologique attendue (Van Vuuren et Viljoen, 2011). Elle est basée sur le principe selon lequel dans la combinaison, la formulation pourrait augmenter l'efficacité des substances, réduire la toxicité aussi bien que les effets secondaires, augmenter la biodisponibilité des principes actifs, réduire les doses et limiter considérablement le développement de la résistance par le pathogène (Inui et *al.*, 2007). La reformulation des

combinaisons thérapeutiques présente également des avantages économiques en ce sens qu'elle minimise toutes les procédures de mise sur le marché d'un médicament. Plusieurs travaux ont eu à démontrer l'activité antimicrobienne *in vitro* des extraits de plantes contre les germes à infections urogénitales (Sohail *et al*, 2014 ; Monali *et al*, 2017). D'autres auteurs ont également démontré la capacité des extraits de plantes à potentialiser l'activité des antibiotiques qui avaient déjà perdu leur efficacité (Ghaleb *et al*, 2010; Ngouana *et al*, 2015). Toutefois, l'évidence d'une activité *in vitro* n'est toujours pas la garantie qu'on obtiendra les mêmes effets *in vivo* ; Ceci du fait de la complexité des organismes et de la pharmacocinétique souvent mis en place par l'hôte pour éliminer le xénobiotique avant même que celui-ci ait atteint sa cible. C'est pour cette raison que d'autres travaux ont été menés *in vivo* à l'instar des travaux sur l'induction des infections urogénitales chez les animaux (Hvidberg *et al*, 1999). Cependant, à notre connaissance, aucune étude n'a combiné jusqu'ici, toutes ces approches pour lutter contre les IUG d'une part, et il n'existe pas d'étude à notre connaissance, ayant eu à démontrer l'effet thérapeutique *in vivo* des extraits de plantes de la pharmacopée camerounaise contre les germes multirésistants causant les IUG. Sur la base de tout ce qui précède, nous avons posé l'hypothèse selon laquelle, les plantes de la pharmacopée Camerounaise utilisées dans le traitement des infections diverses, possèderaient un potentiel antimicrobien et thérapeutique contre les germes multirésistants causant les IUG et pourraient permettre de potentialiser l'activité des antibiotiques couramment utilisés dans le traitement de ces infections, de réduire leurs toxicités et leurs effets secondaires.

Objectif général :

L'objectif général de ce travail était de déterminer le potentiel antimicrobien et thérapeutique de quelques plantes de la pharmacopée camerounaise contre les germes multirésistants causant les infections urogénitales.

Objectifs spécifiques

Les objectifs spécifiques de ce travail se présentaient comme suit :

1. D'identifier les germes multirésistants causant les infections urogénitales ;
2. D'effectuer un criblage antimicrobien des extraits de plantes contre les germes identifiés;
3. De déterminer le pouvoir potentialisateur des extraits actifs sélectionnés sur les antibiotiques vis-à-vis des isolats;
4. D'étudier l'effet thérapeutique *in vivo* des extraits actifs sur les souris induites.

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE

I- REVUE DE LA LITTÉRATURE

I.1. Les infections urogénitales

I.1.1. Définitions

Le système urogénital est une combinaison du tractus urinaire et du système reproductif. Le système urinaire qui joue le rôle de filtre du sang, d'excréteur de déchets, de maintien de l'équilibre électrolyte-eau ; et le système reproducteur dont le rôle est de produire les gamètes, de prendre part à conception, et aussi d'assurer le développement du fœtus chez la femme, font souvent l'objet d'études communes du fait de leur proximité et de leur superposition. (Population Council, 2002). La proximité de ces deux systèmes avec l'anus de même que leur exposition à l'environnement externe leur rendent vulnérables aux infections. Les infections urogénitales (IUG) sont alors celles affectant l'appareil urinaire (infection du tractus urinaire (ITU)) et/ou l'appareil génital (infection du tractus génital (ITG)).

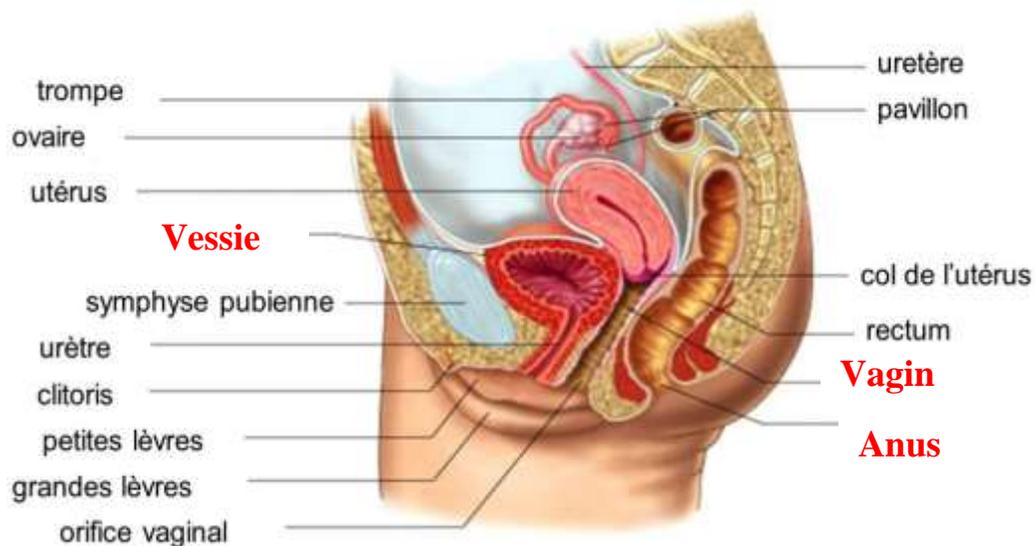


Figure 1: Anatomie des régions vaginale et rectale : Proximité de l'anus avec le vagin et la vessie (Reid et Bruce, 2003).

Chez la femme, la proximité rapprochée du vagin et de la vessie par rapport à l'anus, favorise la colonisation microbienne autour de ces régions.

I.1.2. Infections du tractus génital

Les infections du tractus génital sont de plus en plus reconnues comme de graves problèmes de santé à l'échelle mondiale dont les répercussions se font ressentir chez les femmes, les hommes, leur famille et les communautés. Le diagnostic et le traitement de ces infections sont compliqués en raison de la confusion qui règne autour des définitions et les caractéristiques des diverses situations. Ceci entraîne souvent des taux de prévalence contradictoires et des mesures excessives de traitement. Afin d'éviter cette confusion et d'améliorer la prise en charge de telles infections, il bon de distinguer les sites d'infections, des types d'infections et leur cause.

Les infections du tractus génital (ITG) se rapportent à trois différents types d'infections : Les infections endogènes, Les infections iatrogènes et les infections sexuellement transmissibles. Ces infections peuvent affecter la zone génitale externe aussi bien que les organes reproducteurs. Il existe plusieurs sites possibles concernant de telles infections chez l'homme et chez la femme (Population Council, 2002).

I.1.2.1. Les sites d'infections du tractus génital

I.1.2.1.1. Infections du tractus génital chez la femme

La figure 2 ci-dessous indique le tractus génital de la femme. Les infections dans la zone de la vulve, du vagin et du col sont appelées infections du tractus génital inférieur. Les infections de l'utérus, des trompes de Fallope et des ovaires sont appelées infections du tractus génital supérieur.

❖ Infections du tractus génital inférieur

- **La vaginite**

Il s'agit d'une ITG qui affecte les parties génitales externes et le tractus génital inférieur chez les femmes. Couramment appelée vulvo-vaginite ou simplement vaginite, c'est une inflammation de la vulve et/ou du vagin. Parfois douloureuse, elle occasionne des démangeaisons. La vaginite est causée le plus souvent par des infections endogènes telles que la candidose ou la vaginose bactérienne. Toutefois certaines infections sexuellement transmissibles telles que la trichomonase peuvent également avoir les mêmes signes et symptômes. La vaginite peut généralement être traitée et est moins grave que les infections cervicales.

- **Les infections cervicales**

Divers pathogènes peuvent être responsables de l'infection du col, notamment des infections sexuellement transmissibles telles que la gonorrhée et l'infection à chlamydia. Les infections du col sont jugées d'une plus grande gravité que la vaginite car elles entraînent le plus souvent des infections du tractus génital supérieur dont les conséquences sont graves. Elles sont également plus difficiles à détecter car elles sont souvent asymptomatiques.

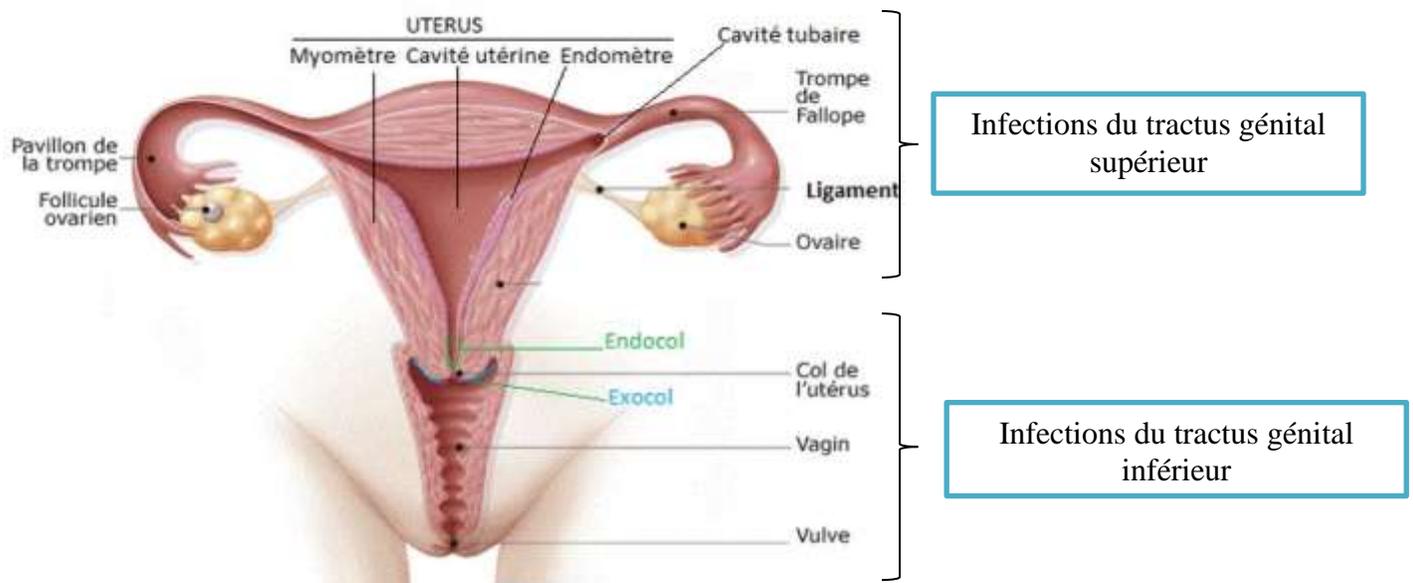


Figure 2: le tractus génital de la femme (Population Council, 2002)

- ❖ **Infections du tractus génital supérieur**

Les infections du tractus inférieur si elles ne sont pas traitées, peuvent monter dans le tractus génital supérieur. L'infection du tractus génital supérieur est généralement facilitée par toute procédure transitant par le col, à savoir la régulation menstruelle, l'avortement ou l'insertion du DIU. La migration des infections vers le tractus génital supérieur, à savoir l'utérus, les trompes de Fallope et les ovaires, comporte des conséquences nettement plus graves que les infections du tractus génital inférieur. Ces infections sont souvent dues à une complication venant des infections inférieures, l'inflammation pelvienne ou salpingite aiguë (IP) en est une des conséquences. Elles peuvent entraîner des douleurs abdominales chroniques, une grossesse extra-

utérine, des irrégularités du cycle menstruel et la stérilité comme conséquence de lésions cicatricielles des trompes de Fallope. La grossesse extra-utérine, avec le risque de décès qu'elle entraîne, est une complication particulièrement grave. En effet, elle exige des interventions d'urgence qui ne sont pas toujours disponibles dans des contextes où les ressources sont modiques.

I.2.1.1.2. Infections du tractus génital chez l'homme

La figure 3 ci-après montre le tractus génital chez l'homme. Généralement, les ITG commencent dans la partie inférieure du tractus génital (urètre). Si elles ne sont pas traitées, elles peuvent remonter par le canal déférent (conduit qui livre passage au sperme) vers les parties supérieures du tractus génital (épididyme et testicules, situés dans le scrotum où est produit le sperme). En général, les ITG chez les hommes sont plus faciles à détecter et à traiter car elles ont tendance à être plus symptomatiques. Les premiers signes d'infection chez l'homme se présentent sous forme d'urétrite. Les symptômes sont les suivants : douleur ou brûlure à la miction et souvent écoulement du bout du pénis. Ulcères et lésions sont également les signes d'autres infections du tractus génital chez l'homme. Les infections du tractus génital supérieur bloquent parfois une partie ou l'intégralité des conduits du sperme et causent des problèmes au niveau de la production du sperme. Cela peut être à l'origine de faibles numérations de spermatozoïdes ou d'un sperme anormal, contribuant à la stérilité chez l'homme (Burns et *al.*, 1997).

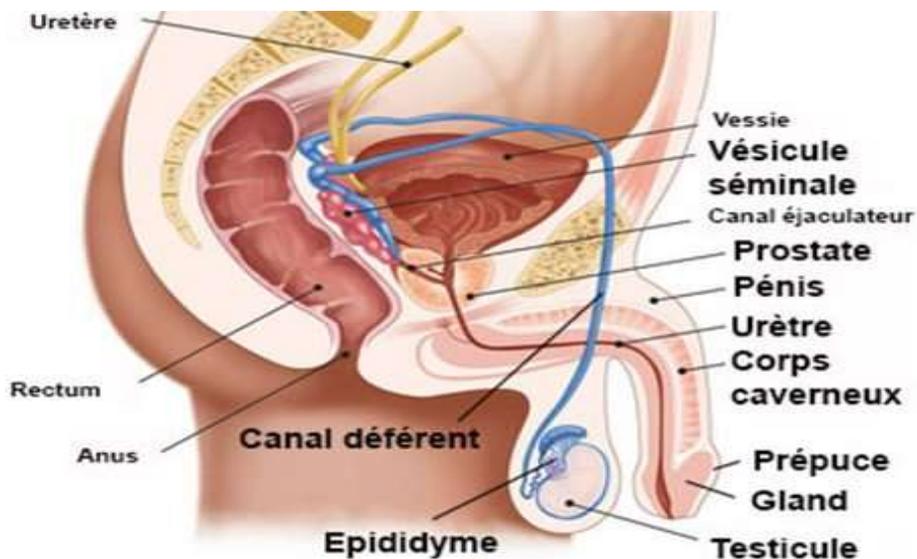


Figure 3: le tractus génital de l'homme (PROSAD, 2006)

I.1.2.2. Les infections endogènes du tractus génital

Elles sont probablement les ITG les plus courantes à travers le monde. On estime à 1 milliard, le nombre de femmes souffrant d'IUG non sexuellement transmissibles chaque année à l'échelle mondiale (Reid et Bruce, 2003). Quand l'équilibre normal de la flore vaginale est perturbé, il peut y avoir une croissance excessive de certains organismes. La candidose et la vaginose bactérienne sont parmi les infections les plus courantes qui en résultent. Ce sont les causes les plus courantes des ITG chez les femmes à travers le monde. De manière générale, ces infections sont traitées facilement. Mais si elles ne sont pas traitées, elles peuvent causer des problèmes allant des irritations locales à des conséquences plus graves, telles que les inflammations pelviennes (IP). La vaginose bactérienne et la candidose figurent parmi les infections endogènes. Beaucoup de conceptions erronées entourent les infections endogènes. Par exemple, de nombreuses femmes croient, ou sont informées à tort par leur médecin, que leurs symptômes peuvent venir d'infections sexuellement transmissibles bien plus graves. C'est le cas lorsque la présence d'inflammation ou de pertes causées par les infections endogènes est prise à tort pour des pertes dues à des IST telles que la gonorrhée ou chlamydia.

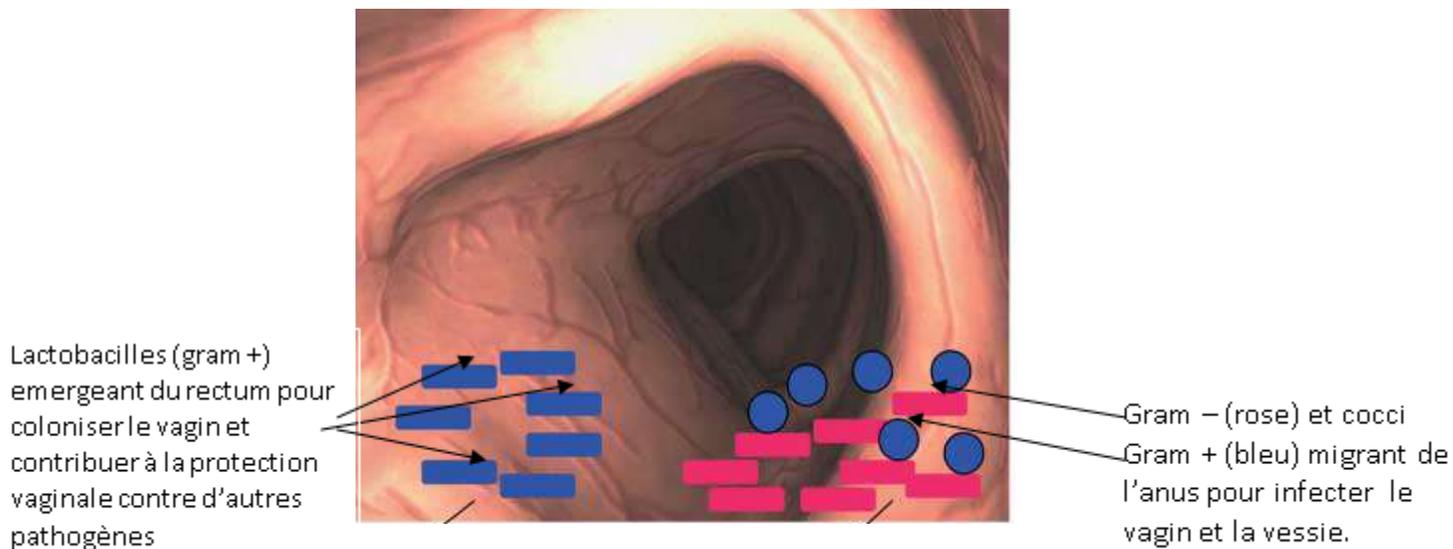


Figure 4: Colonisation du vagin par les pathogènes qui migrent du système digestif (Reid et Bruce, 2003)

I.1.2.2.1. La vaginose bactérienne (VB)

La vaginose bactérienne est un syndrome polymicrobien causé par un changement dans l'équilibre complexe de microflore dans le vagin. Il y a une diminution de *Lactobacilli* et une prolifération de cilli facultatifs et anaérobies bactéries seules ou en combinaison. Ces bactéries comprennent *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides fragilis*, *Atopobium vaginae*, *Prevotella*, *Peptostreptococcus*, *Mobiluncus*, *Sneathia*, *Leptotrichia*, *Propionibacterium*, *Fusobactérie*, *Veillonella* spp, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Fusobacterium* spp., et membres des *Enterobacteriaceae* (Kamga et al., 2019) . La liste n'est pas exhaustive. En effet, les causes spécifiques associées à la vaginose bactérienne sont mal comprises mais les auteurs s'accordent sur le fait qu'elle serait due à un déséquilibre de la flore vaginale entraînant une perte de *lactobacillus* et un changement dans le pH vaginal. Les causes de ce déséquilibre étant multiples : douches vaginales, excès d'hygiène, carences œstrogéniques, antibiotiques etc. Les rapports sexuels peuvent être en cause, non par transmission de germes, mais par action mécanique ou chimique (contact avec le sperme très alcalin (Population Council, 2002; Lumen Learning, 2018 ; Kamga et al., 2019). La réduction de l'activité lactobacillaire entraîne une élévation du pH vaginal qui dépasse 5. Cette alcalinité relative aggrave l'un des facteurs cliniques les plus caractéristiques de la VB : la malodeur vaginale. Cliniquement, la VB se manifeste par des leucorrhées grisâtres, fluides, peu abondantes et très malodorantes. Elle peut cependant rester asymptomatique. Une élévation du pH vaginal (> 5) et la présence de *clue-cells* à l'examen microscopique confirme le diagnostic. L'examen au spéculum note peu d'irritation locale. Le germe est mis en évidence par culture mais son association avec des anaérobies est facilement reconnue par le test à la potasse (Sniff test) qui révèle, par application d'une goutte de potasse à un prélèvement sur lame, l'odeur caractéristique de poisson pourri (Bohbot, 2007).

Le traitement est justifié du fait de l'inconfort. Soit un traitement mono dose par métronidazole 2g, soit un traitement associant amoxicilline pendant 7 jours et métronidazole ovule pendant 7 jours. Le traitement du partenaire est discuté, les récidives font proposer un traitement complémentaire pour améliorer la flore vaginale. Récemment les scientifiques se sont penchés sur l'utilisation des probiotiques comme traitement d'IUG (Reid, 2006).

Si elles ne sont pas traitées, les infections endogènes peuvent causer des complications plus graves. En cas de grossesse, il peut s'agir de la rupture prématurée des membranes, de naissances prématurées et de l'insuffisance pondérale à la naissance qui l'accompagne. Il convient d'éviter les douches vaginales qui dessèchent ou causent des déséquilibres dans le vagin et qui peuvent donc entraîner une vaginose bactérienne. L'utilisation de produits desséchants et resserrants peut également entraîner ces déséquilibres et autres problèmes. Bien que de sérieuses preuves scientifiques ne viennent pas le confirmer, l'on pense qu'une bonne hygiène menstruelle et personnelle, y compris des bains fréquents et l'utilisation de produits propres pour l'hygiène menstruelle, limite les risques de contracter des infections endogènes. D'autres comportements sanitaires sont également importants. On encourage les femmes à utiliser des contraceptifs oraux à faible dose (et non à dose élevée), à éviter les traitements inutiles par des antibiotiques polyvalents et à consulter rapidement les services de santé dès l'apparition de symptômes (Population Council, 2002).

I.1.2.2.2. Les candidoses

Il existe un seul pathogène majeur d'origine fongique qui affecte le système urogénital. Le genre *Candida* est un champignon capable d'exister sous forme de levure ou de champignons pluricellulaire. Les espèces *Candida* se retrouvent généralement dans la flore normale de la peau, du tractus gastro-intestinal, du système respiratoire, et du système urogénital de la femme. Elles peuvent cependant être pathogéniques grâce à leur capacité d'adhésion et d'invasion des cellules ; elles forment alors des biofilms et secrètent des hydrolases (protéases, phospholipases, et lipases) qui facilitent l'invasion de l'hôte et adaptent leur phénotype à l'environnement hostile du système immunitaire. Cependant, elles ne sont capables de créer une infection que lorsque le système de défense est compromis. Il existe une vingtaine d'espèces *Candida* d'importance clinique, mais *C. albicans* est celle la plus souvent responsable des candidoses fongiques. Les lactobacilles présents dans le vagin inhibent la croissance des bactéries et des levures il y a alors équilibre ; mais la rupture de cet équilibre par les traitements antibiotiques, les maladies telles que le diabète, la grossesse, la présence d'autres germes qui transitent par les voies urogénitales, de même que l'immunodépression et l'immunodépression sévère associée à l'infection à VIH permet la surcroissance des candidas qui peut déboucher sur une candidose vaginale. Cette condition est

souvent caractérisée par une vaginite (inflammation du vagin), avec prurit, des démangeaisons, et la présence des pertes blanches grumeleuses et nauséabondes (Lumen Learning, 2018).

Le diagnostic de la candidose peut se faire par l'examen microscopique des sécrétions vaginales, et par culture. La présence des filaments pseudomycéliens dans le sérum humain après deux heures de culture met en évidence la présence de *Candida albicans* dans l'échantillon. Les tests moléculaires sont également disponibles notamment le test d'identification microbien *Affirm VPII* qui est un test capable d'identifier simultanément les microbes de l'écosystème vaginal (Lumen Learning, 2018).

En ce qui concerne le traitement d'une candidose vaginale, il peut être local ou systémique. Pour ce qui est des antifongiques d'application locale, on peut citer butoconazole, miconazole, clotrimazole, tioconazole, et nystatine. Le fluconazole ou le kétoconazole peuvent être utilisés comme traitement oral. (Lumen Learning, 2018).

En dehors des infections urogénitales d'origines endogènes, on distingue également également les infections iatrogènes des infections sexuellement transmissibles.

I.1.2.3. Les infections iatrogènes du tractus génital

Les infections iatrogènes se présentent quand la cause de l'infection (une bactérie ou autre micro-organisme) est introduite dans le tractus génital à la suite d'une procédure médicale telle que la régulation menstruelle, l'avortement provoqué, l'insertion d'un dispositif intra-utérin (DIU) ou encore pendant l'accouchement. Cela est parfois dû à des instruments chirurgicaux qui n'ont pas été correctement stérilisés ou encore à une infection déjà présente dans la partie inférieure du tractus génital qui est introduite dans les parties supérieures par le biais du col. Diverses procédures médicales peuvent être responsables du développement d'une infection iatrogène mais c'est l'avortement à risques qui est la source la plus courante de danger. La grande majorité des avortements à risques sont pratiqués dans les pays en voies de développement et des complications se présentent dans 10 à 50 % des cas (Population Council, 2002).

Ces infections présentent généralement les mêmes symptômes que les infections endogènes (Population Council, 2002).

Suivant la nature spécifique de la condition, les infections iatrogènes peuvent souvent être traitées efficacement avec des antibiotiques si elles sont diagnostiquées rapidement. Le problème est que la plupart du temps les soins ne sont donnés que trop tard, quand ces infections ont déjà causé des conséquences irréparables telles que lésions cicatricielles ou trompes de Fallope bloquées ou lésions des tissus.

L'amélioration de la qualité et de l'accessibilité de bons services médicaux réduit la fréquence et les conséquences des infections iatrogènes. Contrairement aux IST, dont la prévention repose essentiellement sur le changement de comportement, les infections iatrogènes peuvent être évitées en élargissant l'accès à des soins de bonne qualité et en améliorant la compétence technique des prestataires de services de santé. Cela suppose également des ressources et des politiques publiques favorables. Il faut aussi encourager les personnes à venir consulter rapidement les services de santé. Des services complets de santé reproductive doivent être disponibles, notamment la prise en charge des infections endogènes et des infections sexuellement transmissibles, afin de limiter les facteurs de risques qui sont à l'origine des infections iatrogènes. Il faut fournir des services d'avortement de bonne qualité, accessibles à des prix abordables, dans la mesure où la loi le permet, afin d'éviter le recours à l'avortement à risques. Des services de planification familiale de bonne qualité réduisent également la prévalence de l'avortement. Les femmes et leurs communautés devraient être sensibilisées à l'importance de la consultation rapide des services de santé en cas de symptômes indiquant une infection du tractus génital et à la nécessité de recevoir des soins cliniques dans des conditions hygiéniques et en toute sécurité. Les femmes qui ont subi des procédures transitant par le col telles que l'insertion du DIU, l'avortement ou un accouchement par voie chirurgicale devraient être mises au courant des signes alarmants pouvant indiquer une infection subséquente et il faudra leur dire de consulter immédiatement les services de santé lorsque ces signes avant-coureurs apparaissent. (Population Council, 2002).

I.1.2.4. Les infections sexuellement transmissibles (IST) du tractus génital

Les infections sexuellement transmissibles (IST) sont causées par des virus, des bactéries ou des micro-organismes parasitaires qui sont transmis lors des rapports sexuels avec un(e)

partenaire infecté(e). Certains agents ne causent aucun symptôme et d'autres sont traités facilement. Par contre, d'autres entraînent des conséquences graves à long terme et ne peuvent pas être traités. Le VIH, virus responsable du sida, peut mener à la mort. Les IST affectent aussi bien les hommes que les femmes et peuvent être transmises des mères aux bébés pendant la grossesse ou l'accouchement

Plus de trente (30) organismes différents peuvent être transmis par voie sexuelle. Ils peuvent causer divers symptômes et conséquences entre autres, les ulcérations génitales, l'inflammation, les douleurs, la stérilité, les grossesses extra-utérine, les avortements spontanés, la résorption du fœtus l'accouchement prématuré, ainsi que la cécité et les infections néonatales (OMS, 2019).

I.1.2.4.1. La trichomonase

C'est une affection fréquente due à un protozoaire flagellé très mobile: le *Trichomonas vaginalis*, Il fait partie de la micro-flore vaginale normale et peut comme *Candida* et *Garnerella* causer une vaginite lorsqu'il y a déséquilibre. On le retrouve généralement sous sa forme trophozoïtes et ne forme pas de cystes. *T. vaginalis* peut se servir des adhésines telles que les lipoglycanes pour s'attacher aux cellules. Il possède également d'autres facteurs de virulence tels que les tétraspanines généralement impliqués dans l'adhésion et la motilité et l'invasion des tissus de l'hôte. Il est également capable de phagocyter d'autres microbes de la flore normale contribuant ainsi au déséquilibre favorable à l'infection.

Les hommes aussi bien que les femmes peuvent développer une trichomonase. Les hommes ne présentent pas généralement de symptômes, et bien que les femmes puissent en développer, elles peuvent également paraître asymptomatiques.

Les 3 principaux symptômes chez la femme sont : la leucorrhée, les brûlures et les prurits vulvaires. La leucorrhée se manifeste par un écoulement vaginal abondant de coloration verte tirant sur le jaune, de consistance mousseuse et généralement avec une odeur désagréable. Ces symptômes peuvent s'accompagner de dyspareunie (douleur au moment du rapport sexuel), de douleurs du périnée ou de dysurie. A l'examen, on voit une vulve et un périnée irrités avec parfois un œdème des lèvres. A l'intérieur du vagin, on distingue quelques fois la présence de

petites taches sur la muqueuse écarlate qui va favoriser une sécrétion accrue. Chez l'homme, les infections sont souvent très discrètes mais peuvent néanmoins faire apparaître quelques symptômes tels qu'un écoulement urétral de nature mousseuse, des rougeurs et un gonflement au niveau de l'orifice urétral et de la base du gland ainsi que des difficultés à uriner (Sibylle, 2009).

La transmission est le plus souvent sexuelle, et exceptionnellement indirecte par l'intermédiaire du linge.

La confirmation du diagnostic s'effectue par l'examen de sécrétions vaginales ou urétrales à l'état frais entre lame et lamelle sous le microscope. Le parasite peut rester vivant plusieurs heures sur un écouvillon et 24h dans un milieu de transport. Il est possible de rechercher le germe dans le culot de centrifugation des urines. L'examen microscopique montre de nombreux polynucléaires et le trichomonas qui est mobile. C'est la principale méthode de diagnostic des Trichomonases. En culture, on utilise des milieux adaptés à isolement notamment ceux de Diamond ou de Kupferberg (Garber ; 1987). Parmi d'autres méthodes de diagnostic, on distingue l'immunofluorescence, l'Elisa, l'Agglutination au latex par anticorps (Mamoudou, 2003), il est également possible voire préférable d'utiliser les tests d'amplification d'acide nucléique à cause de leur hypersensibilité (Lumen Learning, 2018) et du fait du caractère asymptomatique de cette pathologie chez la plupart des hommes infectés et chez 50% de femmes infectées (Akram, 2009).

Le traitement de choix contre la Trichomonase est le métronidazole sauf au cours du premier trimestre d'une grossesse ou le clotrimazole en traitement superficielle pendant 14 jours. Une dose unique de 2g par voie orale est généralement très efficace. D'autres nitroimidazoles tel que la nimorazole, l'ornidazole sont également efficaces. Il est par ailleurs très important de soumettre au traitement l'autre partenaire sexuel afin d'éviter toute récurrence (Lumen Learning, 2018).

I.1.2.4.2. La Gonococcie ou Blennorragie

C'est l'une des infections sexuellement transmissibles les plus courantes du système reproductif. L'incidence est plus élevée chez les jeunes de 15 à 24 ans. L'agent causal est *Neisseria gonorrhoeae*, diplocoque à Gram négatif réniforme (en grains de café.) il possède des microvillosités qui favorisent son adhésion aux cellules épithéliales. Il possède également les endotoxines, lipopolysaccharides de la membrane externe qui jouent également un rôle majeur

dans la pathogénicité de ce dernier. En dehors des voies reproductrices, *N. gonorrhoeae* peut infecter la peau, les méninges, le pharynx et les conjonctives (Lumen Learning, 2018).

Certains individus peuvent être porteurs asymptomatiques de *N. gonorrhoeae* mais lorsqu'il y a occurrence des symptômes, elle se manifeste chez l'homme par des urétrites, des pharyngites, des proctites, de ténesme, de douleur prurit anal. Chez la femme, la maladie est asymptomatique. Les manifestations cliniques sont marquées par des pertes vaginales, la dysurie et la miction fréquente. Parmi les complications, on distingue chez l'homme : les balanites, le trépidement urétral, les prostatites, les vésiculites et les épидидymites. Les femmes quant à elles peuvent développer des douleurs pelviennes, les leucorrhées, les règles irrégulières ou la dysurie. L'infection peut devenir chronique tout comme chez l'homme et augmenter ainsi le flux menstruel. On peut également observer une infection du rectum accompagnée de douleurs et de saignements. L'infection de l'endomètre et des tubes de Fallope peuvent causer la maladie inflammatoire pelvienne (MIP) caractérisée par des douleurs abdominales basses, la dysurie, les pertes vaginales et la fièvre qui a pour conséquence les grossesses ectopiques et la stérilité secondaire. On peut également observer l'avortement septique, le retard de croissance intra-utérin, rupture prématurée des poches des eaux (Mamoudou, 2003; Lumen Learning, 2018).

En ce qui concerne le diagnostic, le type de prélèvement et les techniques d'identification dépendent de la situation clinique. L'examen extemporané des sécrétions génitales « spontanées » : Deux lames sont examinées, l'une avec du sérum physiologique, l'autre avec de la potasse à 5 ou 10%. Chez l'homme on peut ajouter une lame colorée par le bleu de méthylène, le Gram, ou le May-Grünwald-Giemsa. Le prélèvement est fait au niveau de l'urètre chez l'homme et de l'urètre et du col utérin chez la femme, d'abord pour la recherche du gonocoque à l'aide d'un écouvillon fin. Selon le contexte on fera des prélèvements complémentaires de l'anus, de la muqueuse rectale et du pharynx. Lors du diagnostic de l'infection à gonocoque chez l'homme, l'examen extemporané est un examen simple, sensible (85%) et spécifique, il n'en est pas de même chez la femme. La certitude absolue est apportée par la culture. Elle est réalisée sur milieux spécifiques (gélose chocolat ou de Thayer Martin au sang cuit) dont les résultats sont obtenus en 24 à 48 heures (Beani, 2005). La confirmation et l'identification se font par: la fermentation sucrée, la recherche d'enzymes spécifiques aux différents *Neisseria gonorrhoeae*, sur les caractères morphologiques, culturels et biochimiques.

Le gonocoque est un diplocoque Gram négatif : oxydase(+), catalase(+), Glucose(+), maltose(-). Il existe des galeries d'identifications des *Neisseria* dans le commerce. L'antibiogramme est obligatoire à cause de la fréquence des souches de plus en plus résistantes aux antibiotiques. Il existe des galeries d'ATB (API) pour les *Neisseria* (Mamoudou, 2003). Il n'existe pas de sérologie fiable des infections gonococciques. Les méthodes de biologie moléculaire détectent les acides nucléiques du génome bactérien par hybridation moléculaire ou après amplification *in vitro*. Elles ne requièrent pas la viabilité des bactéries, et rendent possible la détection de *N. gonorrhoeae* dans tous les prélèvements et en particulier ceux inadaptés à la culture. Ces méthodes peuvent être ainsi pratiquées sur des échantillons comme les urines, le sperme, les autoprélèvements vaginaux, anorectaux et pharyngés, mais aussi le liquide articulaire, les pustules cutanées, etc. (HAS, 2010)

Les souches de *N. gonorrhoeae* résistantes à la pénicilline représentent entre 10 et 30 %. Les antibiotiques actuellement recommandés sont pour une gonococcie génitale non compliquée telles que le ceftriaxone en injection unique intramusculaire de 250 mg à 500 mg ; c'est l'antibiotique de choix des urétrites gonococciques, il est efficace dans près de 100 % des cas ; le céfixime en prise orale unique de 400 mg présente le grand avantage d'être administré par voie orale. Son efficacité est comparable à la ceftriaxone dans le traitement des urétrites gonococciques. La spectinomycine en injection unique intramusculaire de 2 g et la ceftriaxone est efficace dans 90 % des urétrites gonococciques. La ciprofloxacine en prise orale unique de 500 mg présente des possibilités de résistance ou de sensibilité intermédiaire. Son indication doit être reconsidérée dans les urétrites gonococciques. Il est impératif de toujours faire un contrôle clinique à J7 (Mamoudou, 2003).

I.1.2.4.3. Le Chlamydia

Le chlamydia est l'infection sexuellement transmissible d'origine bactérienne la plus fréquente au monde (WHO, 2016). C'est une affection cosmopolite. Elle est la cause la plus répandue des cervicites chez la femme et des urétrites non gonococciques chez l'homme. Il est causé par un diplocoque intracellulaire obligatoire *C. trachomatis* dont les sérotypes de A à K peuvent être à l'origine de la maladie (WHO, 2016).

Les infections génitales causées par *Chlamydia trachomatis* sont asymptomatiques dans approximativement 70% de cas de femmes et 50% d'hommes infectés (Malhotra et al., 2013).

Les hommes symptomatiques se plaignent le plus souvent d'un écoulement urétral clair, modéré et intermittent ; de la dysurie souvent accompagnée de douleurs aux testicules. (CNED, 2011). Les manifestations cliniques chez la femme sont beaucoup moins spécifiques. La cervicite est la manifestation la plus fréquente des infections génitales basses à *C. trachomatis*. Elle se traduit par : des leucorrhées verdâtres, jaunes ou blanches, parfois peu différentes en aspect et en quantité des pertes physiologiques ; des cystalgies ; un syndrome urétral, une dyspareunie, un spotting. Elle est dans 50 à 90 % des cas, totalement asymptomatique. C'est le plus souvent une découverte lors d'un examen gynécologique systématique ou motivé par l'urétrite du partenaire ou un comportement sexuel à risque. L'examen au spéculum montre une fragilité du col de l'utérus, des sécrétions mucopurulentes, parfois un ectropion friable et hémorragique, évocateur d'infection à *C. trachomatis*. La complication majeure est la salpingite. Elle est plus souvent subaiguë ou chronique qu'aiguë, se manifestant par des douleurs abdominales vagues, en particulier au moment des règles. À l'examen, il existe une douleur au toucher vaginal et un empâtement d'un cul-de-sac vaginal. Son diagnostic est tardif et difficile ce qui retarde également le traitement et augmente des complications sévères surtout chez la jeune femme. Ainsi, *C. trachomatis* est responsable de 50 % des salpingites chez les femmes jeunes et de 70 % des stérilités tubaires avec le risque de grossesse extra-utérine (Venereol, 2005).

Le caractère asymptomatique de cette maladie accroît le spectre d'infections causé par *C. trachomatis*. Ceci traduit la nécessité absolue d'utiliser pour son diagnostic des méthodes fiables et sensibles. L'expertise dans la collecte et le transport des échantillons ainsi que la qualité des échantillons influence sur la précision, la sensibilité et la spécificité des tests lors du diagnostic. *C. trachomatis* étant un parasite intracellulaire obligatoire, la cellule de l'hôte qui le contient doit faire partie de l'échantillon. Le prélèvement endocervical, vaginal, vulval, urétral et rectal ainsi que les premiers jets d'urine sont les échantillons généralement prélevés chez la femme ; tandis que chez l'homme nous avons le prélèvement urétral et les premiers jets d'urine (Malhotra et al., 2013). Parmi les méthodes de diagnostic, on distingue :

- Les méthodes classiques pour le diagnostic des infections à Chlamydia étaient la culture et la détection d'antigènes par immunofluorescence ou ELISA. Ces méthodes ont montré leurs limites, du fait de leur complexité et/ou de leur manque de sensibilité et spécificité.

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

- les méthodes d'amplification génomique telles que la PCR (*Polymerase chain reaction*) sont les méthodes de choix pour la détection de *C. trachomatis*. Ces méthodes ont une sensibilité supérieure à la culture (tableau I). Un de leurs avantages est qu'elles s'appliquent également, avec une bonne sensibilité, sur les urines, pour autant que les patients n'aient pas uriné dans les deux heures précédant le prélèvement (afin que les cellules urétrales soient présentes dans les urines). La PCR à partir d'un échantillon d'urine présente l'avantage de permettre le dépistage d'une population asymptomatique (dépistage systématique) (Jaton et Greu, 2005; WHO, 2016).

- La sérologie n'est pas utile au diagnostic d'une infection aiguë à *C. trachomatis*. En effet, une seule sérologie positive ne permet pas de distinguer entre une infection récente ou passée. L'utilisation d'un second sérum (convalescent) peut théoriquement mettre en évidence l'augmentation des anticorps. Cependant, leur augmentation tardive en environ un mois est un délai inacceptable pour prendre une décision thérapeutique. De même, les IgM (souvent absents), ne sont pas prédictifs d'une infection récente, car ils peuvent être le reflet d'une réaction croisée avec *C. pneumoniae* ou d'une infection passée (Jaton et Greu, 2005).

Tableau I: méthodes diagnostiques des infections urogénitales à *C. trachomatis* (Jaton et Greu, 2005)

Méthodes diagnostiques	Caractéristiques	Informations complémentaires
Culture	Spécifique Sensibilité de 70-85% Frottis urogénitaux nécessaires Chère	Méthode de choix pour les cas médicaux légers Utilisée surtout en recherche
Amplification des acides nucléiques	Spécificité et sensibilité élevée (90-98%) Frottis urogénitaux et/ou urine	Utile pour le dépistage systématique (pas d'examen gynécologique nécessaire)
Détection d'Ag par immunofluorescence (sur frottis)	Spécifique Sensibilité de 75-80%	
Sérologie	Pas de rôle dans l'infection aiguë	

Chez la femme, la guérison bactériologique ne permet pas d'affirmer la guérison anatomique et fonctionnelle. En effet, des lésions tubaires ou pelviennes irréversibles peuvent s'être constituées et perdurer après éradication des agents microbiens.

Peu d'antibiotiques sont actifs sur *Chlamydia trachomatis* qui présente une résistance naturelle aux antibiotiques actifs sur la paroi tels que les β -lactamines ou les glycopeptides. Les antibiotiques actifs sont ceux qui ont une bonne pénétration cellulaire. Les macrolides (érythromycine, azithromycine), les tétracyclines (doxycycline) et les quinolones (ciprofloxacine, ofloxacine) sont généralement utilisés, le traitement étant fonction de la situation clinique. Avec certains macrolides comme l'azithromycine, une dose unique suffit, alors qu'avec les tétracyclines, la thérapie recommandée est de sept jours. Afin d'éviter la contamination mutuelle, les deux partenaires doivent être traités conjointement (Jaton et Greu, 2005).

I.1.2.4.4. Les infections à mycoplasmes

Les mycoplasmes sont les plus petits organismes capables de se multiplier de façon autonome. Ils se caractérisent par leur absence de paroi, ce qui explique leur aspect polymorphe et leur insensibilité aux β -lactamines. Ces bactéries sont ubiquitaires, retrouvées chez l'homme, l'animal, les plantes et les insectes. Chez l'homme, les quinze espèces décrites colonisent principalement les muqueuses respiratoires et génitales. Cinq espèces ont été mises en évidence dans le tractus urogénital humain. Trois d'entre elles sont potentiellement pathogènes, *Ureaplasma urealyticum* et *Mycoplasma hominis*, espèces fréquemment isolées et *M. genitalium* (Fourmaux et Bebear, 1997).

Le pouvoir pathogène de *M. hominis* et *U. urealyticum* est souvent difficile à évaluer à cause de leur présence fréquente à l'état commensal et des variations importantes du taux de colonisation. Chez la femme, la colonisation vaginale atteint près de 50% pour *U. urealyticum* et moins de 15% pour *M. hominis*. Elle varie avec l'âge, le niveau socio-économique, la race, l'activité sexuelle. Elle serait plus fréquente pendant la grossesse et diminuerait après la ménopause.

Bien que les infections à mycoplasmes soient le plus souvent symptomatiques, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis* et *Ureaplasma spp.* (Regroupant les espèces *U. urealyticum* et *U. parvum*) sont associés à plusieurs pathologies :

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

- Infections masculines : urétrite non gonococcique (UNG) essentiellement, épididymite, prostatite beaucoup plus rarement ;
- Infections gynécologiques : vaginose bactérienne (*M. hominis*), cervicite, endométrite, salpingite ;
- Troubles de la reproduction : chorio-amnionite, bactériémie du post-partum ou du post abortum, prématurité ;
- Infections néonatales surtout chez les nouveau-nés hypotrophes ;
- Infections extra-génitales, surtout chez le patient immunodéprimé (arthrites chez le patient hypo-gamma-globulinémique) (Bébéar et al., 2015).

Le diagnostic d'une infection à mycoplasmes génitaux (*M. hominis* et *U. urealyticum*) doit faire l'objet d'une demande particulière. Il repose sur la mise en évidence directe du microorganisme. Les prélèvements, urétraux, endocervicaux, urines du premier jet doivent être transportés dans des milieux adaptés. La culture s'effectue par des techniques spécifiques sur milieux gélosés ou liquides. L'identification repose sur les propriétés biochimiques et l'aspect caractéristique des colonies. Leur isolement à partir d'un site normalement stérile signe l'infection, mais la présence de ces bactéries dans le tractus génital à l'état commensal rend souvent difficile l'interprétation des résultats de la culture. Une appréciation quantitative est alors utile. Pour les urétrites non gonococciques, un seuil de positivité à 10^4 UCC (Unité de Changement de Couleur)/mL pour un prélèvement urétral, à 10^3 UCC/mL pour un premier jet d'urine a été proposé. Dans un prélèvement cervico-vaginal, l'isolement de *M. hominis* en quantité importante, plus de 10^4 UCC/ml se rencontre dans les vaginoses ou évoque une infection haute. L'isolement d'*U. urealyticum* au niveau cervicovaginal est difficile à interpréter à cause de la fréquence du portage. La sérologie n'est pas à recommander. Les résultats sont difficiles à interpréter, en l'absence de données sur l'immunité de la population générale. La technique actuellement disponible (inhibition métabolique) n'est pas réalisable chez les sujets traités par des antibiotiques actifs sur les mycoplasmes. La PCR permet de détecter les mycoplasmes peu ou non accessibles à la culture, en particulier *M. genitalium* (Fourmaux et Bébéar, 1997).

Le choix du traitement dépend de l'espèce isolée et de sa sensibilité *in vitro* aux antibiotiques, de l'association éventuelle avec un autre agent pathogène, et du terrain de l'infection. L'isolement de ces bactéries devrait s'accompagner d'une étude de la sensibilité aux antibiotiques, 3 à 5% des souches possèdent une résistance acquise aux cyclines, qui constituent

le traitement de première intention. La sensibilité aux macrolides varie selon l'espèce. *U. urealyticum* est généralement sensible, modérément à l'érythromycine, davantage aux nouveaux produits. *M. hominis* est résistant à l'érythromycine mais sensible à la josamycine. Les fluoroquinolones ont une activité variable, les molécules les plus récentes sont les plus actives. La durée du traitement est liée au tableau clinique observé et ne diffère pas de celle proposée généralement pour les infections à *Chlamydia* (Bébéar et al., 2015).

I.1.2.4.5. La syphilis.

« Syphilis » est le nom donné à l'infection causée par une bactérie Gram négatif, de la famille des spirochètes, le *Treponema pallidum*, ou *tréponème pâle*. Cette maladie se transmet lorsqu'une personne entre en contact avec des lésions syphilitiques (plaies ou chancres). Le mode de transmission le plus fréquent est le contact sexuel, qu'il soit génital, oral ou anal mais également par la mère à l'enfant (syphilis congénitale) et plus rarement par la voie sanguine. L'infection peut être asymptomatique et passer inaperçue. L'évolution naturelle de la syphilis symptomatique se caractérise par une période d'incubation, suivie de trois stades cliniques : primaire, secondaire et tertiaire. La syphilis latente correspond à la phase asymptomatique entre les stades secondaire et tertiaire et peut durer de quelques mois à plusieurs années. La syphilis est contagieuse durant les stades primaires et secondaires ainsi que pendant la phase de latence précoce. La transmission étant rare après la première année, on considère que la syphilis n'est plus contagieuse un an après le début de l'infection, même lorsqu'elle n'est pas traitée (Fortin, 2016).

Après une période d'incubation variant entre 9 et 90 jours (21 jours en moyenne), la maladie évolue en trois phases:

La phase primaire: caractérisée par une ou plusieurs lésions appelées chancres. Le chancre est typique et siège au niveau des organes génitaux. Il est unique, indolore, de couleur rose, de contour régulier, à fond propre, de consistance indurée ou cartonnée d'où l'appellation «chancre dur». Il peut avoir d'autres localisations extra génitales (les lèvres, les doigts, l'oropharynx, ano-rectal ou autres). On trouve aussi des chancres atypiques qui peuvent être douloureux, ulcéreux (Mamoudou, 2003). On observe parfois une enflure au niveau des ganglions lymphatiques de l'aîne, habituellement dans la semaine qui suit l'apparition de la lésion syphilitique. Bien que la lésion puisse disparaître en l'espace de quatre à six semaines, les

ganglions lymphatiques peuvent demeurer enflés pendant plusieurs mois. Toutefois, il est important de savoir que les symptômes de la syphilis primaire sont souvent minimes ou non-existants, si bien que les personnes infectées peuvent ne pas les remarquer (Hosein, 2016).

La syphilis secondaire : elle correspond à la dissémination des tréponèmes dans le sang. Ce stade, survient généralement de 2 à 12 semaines après l'apparition de la lésion, des symptômes traduisant une infection généralisée peuvent se manifester. Ces symptômes peuvent varier considérablement d'une personne à l'autre, mais les plus courants sont les suivants : éruptions cutanées, faible fièvre, manque d'énergie, maux de gorge, perte d'appétit (Hosein, 2016).

La syphilis tertiaire: non traitée, la syphilis secondaire évolue vers celle tertiaire. Le stade tertiaire de la syphilis est atteint au plus tôt un an après l'infection primaire. Toutefois, les symptômes n'apparaissent généralement que plusieurs années, voire dizaines d'années, après l'infection. Ils peuvent toucher la peau, le système cardio-vasculaire ou le système nerveux central (neurosyphilis). Dans ce dernier cas, la syphilis est caractérisée par des modifications cellulaires irréversibles, qui peuvent atteindre le cerveau ou la moelle, donnant comme tableau clinique respectivement la paralysie progressive ou le tabès. L'atteinte osseuse est rare (Itin, 2015).

En ce qui concerne le diagnostic de la syphilis en règle générale, il est établi au moyen d'analyses sanguines visant à détecter la présence d'anticorps contre des protéines non apparentées à *T. pallidum*, mais que le corps produit en cas de syphilis. Les tests de dépistage de la syphilis les plus couramment utilisés sont les suivants :

- Le test VDRL (laboratoire de recherche sur les maladies vénériennes)
- Le test RPR (test rapide de la réagine plasmatique) Chez les personnes atteintes de syphilis primaire ou latente, ces tests de dépistage indirects ne fonctionnent pas toujours. Il est possible que le résultat du test soit négatif, même si la personne est infectée. Pour cette raison, il est recommandé aux médecins, qui soupçonnent une syphilis chez leurs patients malgré un résultat négatif, de leur demander de se soumettre de nouveau au test indirect après un délai de quelques semaines (Hosein, 2016). Elle recommande également de recourir à des tests plus précis qui détectent les anticorps contre *T. pallidum*. Ces tests comprennent les suivants:
 - L'essai immuno-enzymatique (EIA) tréponémique
 - Le test d'immunofluorescence absorbée (FTA-ABS)

- Le test de microhémagglutination pour la détection de *Treponema pallidum* (MHA-TP)

Les tests ELISA peuvent également être utilisés dans le diagnostic de la syphilis. Ils ont l'avantage d'être automatisables. Ils se positivent très précocement au cours de la syphilis (surtout les ELISA/IgM). Mais en cas de positivité, le recours à d'autres tests, non tréponémiques (VDRL/RPR) et tréponémiques (TPHA, FTA, éventuellement recherche des IgM), s'avère nécessaire pour faire le diagnostic. La présence d'IgM permet de confirmer le diagnostic de syphilis active. Cependant l'absence d'IgM ne permet pas d'exclure ce diagnostic avec certitude. La recherche des IgM est particulièrement utile pour confirmer le diagnostic de syphilis congénitale et de neurosyphilis. D'autres tests de diagnostic de la syphilis sont également disponibles sur le marché : tests rapides de dépistage (tests immunochromatographiques), immunoblots.

Dans certains cas, les lésions primaires et secondaires de la syphilis peuvent être examinées au microscope à fond noir. Le *T. pallidum* apparaît en blanc, lumineux sur fond noir. L'immunofluorescence directe (IFD) ou indirecte (IFI) (Mamoudou, 2003).

La benzathine (pénicilline G) est considérée comme le traitement antisyphilitique de référence. Si le diagnostic de la syphilis est établi dans l'année qui suit l'infection, une dose unique de ce type de pénicilline (par injection intramusculaire à raison de 2,4 millions d'unités, habituellement dans une fesse) suffit généralement à traiter la maladie. Il importe de souligner cependant que cette dose est insuffisante pour les personnes atteintes de neurosyphilis. Le traitement des personnes dont l'infection remonte à plus d'un an requiert des doses plus importantes de médicaments et s'étend sur une plus longue période. Dans les cas de neurosyphilis, les lignes directrices recommandent une préparation intraveineuse de pénicilline, comme la pénicilline G. Lorsqu'on l'utilise pour traiter une neurosyphilis, cette préparation intraveineuse de pénicilline est administrée en une dose de plusieurs millions d'unités toutes les quatre heures sur une période comprise entre 10 et 14 jours. (Hosein, 2016).

Voilà jusqu'ici élaboré sur les infections du tractus génital. Cependant, les IUG ne se limitent pas qu'aux infections de l'appareil génital mais elles regroupent aussi les infections affectant l'appareil urinaire.

I.1.3. Infections du tractus urinaire (IU).

Une infection urinaire est une agression de tout ou d'une partie de l'arbre urinaire (figure 5) par un ou plusieurs microorganismes qui génèrent une réaction inflammatoire et des manifestations cliniques (Raghu, 2016). Les IU peuvent être localisées dans les voies urinaires basses (cystite, urétrite, prostatite, épидидymite) ou hautes (pyélonéphrite ou pyélite) (François et *al.*, 2013). Elles se définissent donc par des signes cliniques évocateurs et l'existence d'une bactériurie et d'une leucocyturie considérées comme significatives (Raghu, 2016).

Les infections urinaires sont parmi les infections bactériennes les plus fréquentes. Elles arrivent au deuxième rang des infections communautaires bactériennes après les infections de l'arbre respiratoire. Elles concernent d'avantage les femmes que les hommes car l'urètre est plus court chez la femme (Koeijer et *al.*, 2010). La longueur de l'urètre chez l'homme est un bon moyen de prévenir la migration ascendante des bactéries du méat urétral vers la vessie. La fréquence des infections urinaires augmente néanmoins chez l'homme après 50 ans du fait de la pathologie prostatique qui provoque une stase urinaire favorisant les infections urinaires (Raghu, 2016).

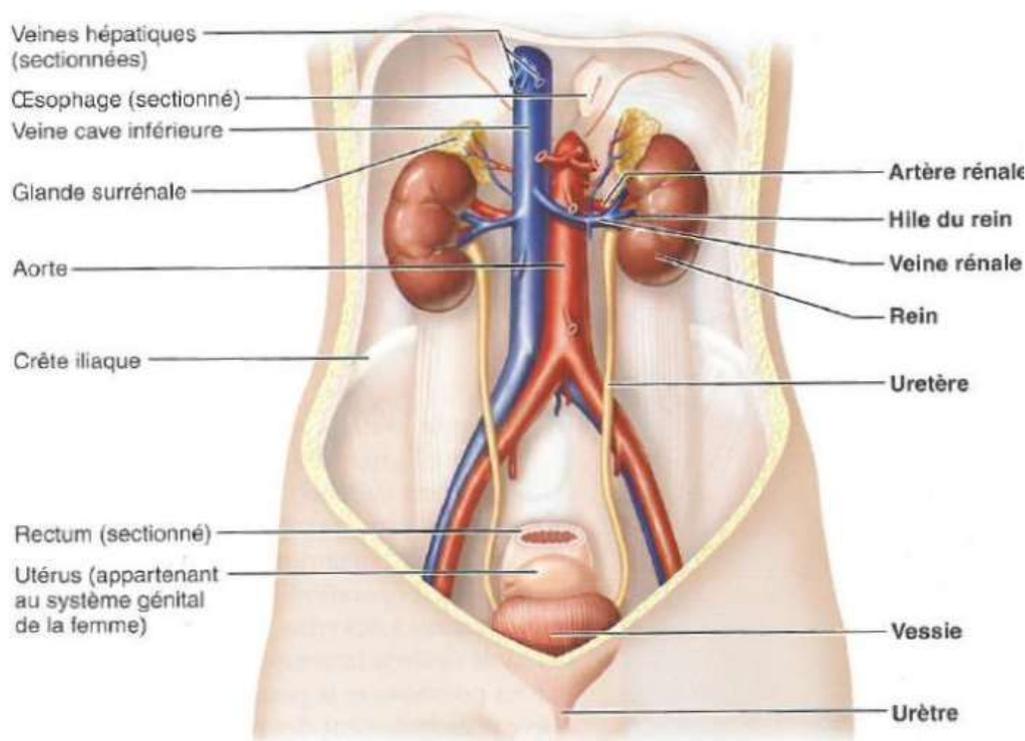


Figure 5: Arbre urinaire de l'homme et de la femme (Hoehn et Marieb, 2010)

Plusieurs facteurs prédisposent à l'infection urinaire.

Les facteurs mécaniques : si les conditions physico-chimiques deviennent favorables, les bactéries peuvent se multiplier rapidement dans la vessie. Pour éviter cette multiplication, la diurèse doit être abondante, les mictions fréquentes et il ne doit pas y avoir de résidus post-mictionnel. Tout phénomène de stase peut favoriser le développement des germes. Ces stases d'origine mécanique peuvent être occasionnées par la grossesse, par la pose de sonde urinaire, par des anomalies congénitales de la vessie (résidus post-mictionnels) ou enfin par des obstacles présents sur les voies excrétrices (lithiase, hypertrophie de la prostate, tumeur). Certaines malformations provoquent un reflux vésico-urétéral favorisant ainsi la progression des germes en direction des reins.

Les facteurs histologiques : Toute lésion des muqueuses du tractus urinaire favorise la fixation du germe et son implantation.

La présence d'une glycosurie : La présence de glucose favorise la multiplication bactérienne. C'est un des facteurs favorisant l'apparition des infections urinaires chez les diabétiques et les femmes enceintes.

Une prédisposition génétique : La nature et le nombre des récepteurs d'adhésines bactériennes présents à la surface de la muqueuse varie d'un individu à un autre. C'est pourquoi certains individus sont plus sensibles aux infections urinaires.

Chez la femme, **La proximité du méat urétral** de l'anus et du vagin favorise sa colonisation ; **L'urètre court :** les bactéries atteignent plus facilement la vessie ; **Le pH vaginal** chez la femme ménopausée ou la femme enceinte est moins acide, ce qui favorise la colonisation du vagin par des bactéries de la flore intestinale (*Escherichia coli* et autres entérobactéries). Ces germes peuvent ensuite progresser vers le méat urétral. **Les rapports sexuels** favorisent également la colonisation de l'urètre par les germes commensaux du vagin.

Chez l'homme avec l'âge, l'hypertrophie prostatique (physiologique ou cancéreuse) ainsi que la diminution des sécrétions acides prostatiques (naturellement bactéricides), augmentent le risque d'infection (Vorkauf, 2011).

A côté de ces facteurs, il existe des facteurs de risques de complications de l'infection urinaire parmi lesquels :

- Toute anomalie organique ou fonctionnelle de l'arbre urinaire, quelle qu'elle soit (résidu vésical, reflux, lithiase, tumeur...)

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

- Le sexe masculin, du fait de la fréquence des anomalies anatomiques ou fonctionnelles sous-jacentes,
 - La grossesse,
 - Le sujet âgé,
 - Patient de plus de 65 ans présentant au moins les trois critères de fragilité de la classification de Fried :
 - Perte de poids involontaire au cours de la dernière année
 - vitesse de marche lente
 - faible endurance
 - faiblesse/fatigue
 - activité physique réduite
 - ou patient de plus de 75 ans car très rares sont les sujets sans facteur de risque de complication,
 - immuno-dépression grave,
 - insuffisance rénale chronique sévère (clairance < 30 ml/min),
 - le diabète, même insulino-dépendant, ne fait plus partie des facteurs de risque de complication.

Les bactéries retrouvées principalement sont *Escherichia coli* dans 60 à 90% des cas selon les sources (identifiée dans 70 à 95% des cystites simples et 85 à 90% des pyélonéphrites aiguës) suivie de *Proteus mirabilis*, *Klebsiella*. On note également que l'incidence des infections communautaires à *Staphylococcus saprophyticus* peut atteindre 10% chez la jeune femme. Plus rarement d'autres Entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacterium urealyticum* et les entérocoques peuvent être en cause (Weber, 2002 ; Assob et al., 2015 ; Alan, 2015).

Les nouvelles recommandations sur les IU ont modifié la terminologie des infections urinaires. On classe désormais les IU en IU simples ou à risque de complication pour insister sur le terrain pouvant rendre l'infection grave. La présence de signes de gravité ne rentre pas dans la définition mais conditionne la prise en charge initiale des pyélonéphrites (PNA) et des infections urinaires masculines (IUM) (Raghu, 2016).

I.1.3.1. IU simple

Une IU simple est une IU survenant chez un patient sans facteurs de risque de complication et regroupe les cystites simples, les PNA simples, les IU masculines ne sont jamais simples.

I.1.3.1.1. Cystites aiguës

Il s'agit d'une inflammation de la vessie se manifestant par un ou plusieurs des signes fonctionnels urinaires suivant : Brûlures et/ou douleurs mictionnelles, Pollakiurie (augmentation de la fréquence des mictions), Impériosité mictionnelle. D'autres signes moins fréquents sont : une pesanteur pelvienne, un spasme rétopubien en fin de miction, une hématurie terminale (30% des cas), urines troubles et/ou malodorantes. Les signes négatifs sont : l'absence de fièvre, de lombalgie, l'absence de signes vaginaux et notamment de prurit faisant évoquer le diagnostic de vaginite (François *et al.*, 2013).

I.1.3.1.2. Les pyélonéphrites aiguës

La présentation clinique typique associe, de façon inconstante, des signes de cystite souvent discrets et des signes témoignant d'une atteinte parenchymateuse rénale : fièvre, frissons, douleurs de la fosse lombaire, typiquement unilatérales, à irradiation descendante vers les organes génitaux, spontanées ou provoquées par la palpation ou la percussion de la fosse lombaire, avec éventuellement un empatement à la palpation (Raghu, 2016).

I.1.3.2. IU à risque de complication

Une IU à risque de complications est une IU survenant chez des patients ayant au moins un facteur de risque pouvant rendre l'infection plus grave et le traitement plus complexe. Les germes impliqués de même que les signes cliniques sont les mêmes que dans l'IU simple. Elle peut être haute ou basse et regroupent : les cystites à risque de complication, les PNA à risque de complication, les IUM à risque de complication (prostatite, et epidymite).

I.1.3.3. Diagnostique des IU

Plusieurs méthodes permettent de diagnostiquer une IU.

❖ Le test rapide indirect qualitatif par bandelette urinaire est l'examen de premier choix. On y recherche la présence de leucocytes, nitrites et/ou de globules rouges. Les nitrites positifs sont témoins de la bactériurie. En effet la plupart des germes uropathogènes possèdent

l'enzyme nitrate réductase et donc capables de réduire les nitrates urinaires en nitrites. Le seuil de détection est de 10^5 UFC /mL. Une leucocyturie positive se manifeste par la présence de leucocytes estérases produites par les granulocytes neutrophiles. Le seuil de détection est de 10^4 leucocytes /mL (François et *al.*, 2013).

❖ L'examen cytobactériologique des urines (E.C.B.U.)

Il est fait le matin, avant toute antibiothérapie si possible, après une toilette locale soignée, en recueillant les urines de milieu de jet. Si le patient est sondé, recueillir les urines directement dans la sonde et pas dans la poche. Pour les petits enfants, il existe des poches autocollantes stériles. Ensuite envoyer l'échantillon au laboratoire en urgence pour la recherche de germes, de globules blancs (GB), de globules rouges (GR) par examen direct et la mise en culture. Si $> 10^5$ GB / ml et si $> 10^5$ germes /ml on est en présence d'une IU ; mais si plus de germes que de GB, cela indique qu'il y a eu contamination au moment du prélèvement. La bandelette urinaire permettra alors de détecter la présence de leucocytes et de nitrites (si présence de nitrites : il y a des bactéries). Si la bandelette est négative, l'E.C.B.U. sera négatif dans 98% des cas. C'est pour cela que l'on pratique la bandelette urinaire avant l'E.C.B.U. L'échographie peut être réalisée pour visualiser le rein (si dilaté ou pas), et une prise de sang pour hémocultures (pour voir si il y a septicémie), recherche de malformation (François et *al.*, 2013).

I.1.3.3. Prise en charge des IU

En première intention la nitrofurantoïne (PO) 3x100 mg/j pendant 5 jours et la fosfomycine (PO) 3g, en dose unique. Les fluoroquinolones peuvent être administrer en deuxième intention pendant 3 jours (norfloxacine 2x400 mg/j). Pour les infections graves ou compliquées, la dose et la durée de traitement peuvent augmenter (François et *al.*, 2013; SPILF, 2015).

Sont non-indiqués: l'amoxicilline, du fait d'un taux de résistance élevé, l'amoxicilline + acide clavulanique, le TMP et le TMP-SMX du fait d'un taux de résistance trop élevé et impact sur le microbiote. Les C3G du fait de leur impact sur le microbiote (SPILF, 2015).

Après cette revue sur les infections urogénitales mis en cause dans ce travail, il convient d'évoquer les moyens de luttés existants contre ces infections.

I.2. La chimiothérapie antimicrobienne

I.2.1. Les antibactériens

I.2.1.1. Définitions

L'antibiotique est le nom donné par Waksman (1941) à toute substance chimique produite par des microorganismes, qui présente à l'état de solution diluée le pouvoir d'inhiber la croissance d'autres microorganismes (bactériostatique) et même de les détruire (bactéricide) par une action au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de bactérie. Cette notion a été étendue aux molécules obtenues par hémisynthèse. Les antibactériens obtenus par synthèse totale comme les quinolones sont des agents antibactériens de synthèse et non des antibiotiques. Cependant, l'usage fait que l'on nomme antibiotique toute substance possédant une activité antibactérienne et qui n'est pas toxique pour l'hôte (Bryskier, 1999).

I.2.1.2. Classification des antibiotiques

La classification des antibiotiques est un exercice complexe compte tenu de la diversité des critères de classifications à considérer. Ainsi, elle peut se faire selon leur origine, le spectre d'activité, le mode d'action et la nature chimique.

I.2.1.2.1. Origine des antibiotiques.

On distingue généralement :

Les antibiotiques d'origine naturelle c'est-à-dire produits par un organisme vivant (bactéries, champignons). On peut citer dans ce groupe les bêta-lactames, les tétracyclines, les phénicolés, les aminoglycosides, les macrolides, les glycopeptides (Yala *et al.*, 2001; Tankeo, 2016).

Les antibiotiques d'origine synthétique, produits à partir de dérivés totalement artificiels ou en recréant des substances initialement extraites de microorganismes ou des végétaux (quinolones, sulfamides) (Yala *et al.*, 2001).

Les antibiotiques d'origine semi-synthétique sont ceux issues de la modification, en laboratoire, de substances produits par les microorganismes ou les végétaux. De nos jours, plusieurs antibiotiques ont été mis sur pied. On peut citer par exemple : l'amoxicilline et l'amikancine (Guardabassi et Courvalin, 2006).

I.2.1.2.2. Mode d'action des antibiotiques

Selon le mode d'action, on distingue les antibiotiques agissant sur la paroi cellulaire bactérienne comme les bêta-lactames, ceux agissant sur la membrane cytoplasmique (polymyxine), ceux qui inhibent la synthèse des protéines (doxycycline, macrolides), ceux agissant sur la synthèse des acides nucléiques (quinolones), et ceux agissant sur le métabolisme intermédiaire de l'acide folique (les sulfamides) (Lavigne, 2007)

I.2.1.2.3. Le Spectre d'activité

Ce critère est basé sur la liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs. On distingue ici les antibiotiques à spectre large et ceux à spectre étroit. Les tétracyclines, les phénicolés, les fluoroquinolones et les céphalosporines de 3^e et de 4^e génération sont considérés comme étant des antibiotiques à large spectre d'action car ils sont actifs sur une grande variété de microorganismes parmi lesquels les Gram négatifs, les Gram positifs, les bactéries aérobiques et anaérobiques. Tandis que les antibiotiques à spectre étroit sont ceux agissant sur un groupe de bactéries spécifiques tels les Gram positifs (pénicilline naturelle, glycopeptide) ou les Gram négatifs (polymyxine) aérobies (aminoglycosides, sulfonamides) les anaérobies (nitroimidazoles). Le spectre d'activité peut cependant être réduit si le microorganisme développe des mécanismes de résistance empêchant à l'antibiotique d'atteindre sa cible (Guardabassi et Courvalin, 2006).

Les antibiotiques capables de causer la mort du microorganisme sont appelés bactéricides tandis que ceux qui inhibent de façon réversible la croissance du microorganisme sont des bactériostatiques. Ce dernier critère de classification est souvent très ambiguë car l'effet bactéricide ou bactériostatique dépend souvent elle-même de certaines conditions telles que la concentration du produit administré, le stade de croissance de la bactérie, mais aussi des conditions expérimentales sous lesquelles l'activité est évaluée (Guardabassi et Courvalin, 2006).

I.2.1.2.4. La nature chimique

Ce critère de classification est souvent très variable, elle est basée sur une structure de base (ex : cycle β lactame) sur laquelle il y a hémi-synthèse. La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles (β lactamines, aminosides, tétracyclines.....etc.) Yala et *al.*, 2001).

I.2.1.3. Mécanismes d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie (Tankeo, 2016) (figure 6). Le mécanisme d'action des antibiotiques diffère suivant le groupe auquel ils appartiennent. De nombreux antibiotiques agissent sur la paroi des bactéries, d'autres sur les ribosomes (au niveau des sous-unités 30 S ou 50 S) perturbant la lecture du code génétique, d'autres encore sur la membrane externe (bacilles Gram négatif) et sur la membrane cytoplasmique. Certains inhibent de façon compétitive la formation des métabolites. C'est ainsi que plusieurs groupes d'antibiotiques sont distincts. Le tableau II décrit les différentes classes d'antibiotiques et leurs mécanismes d'action.

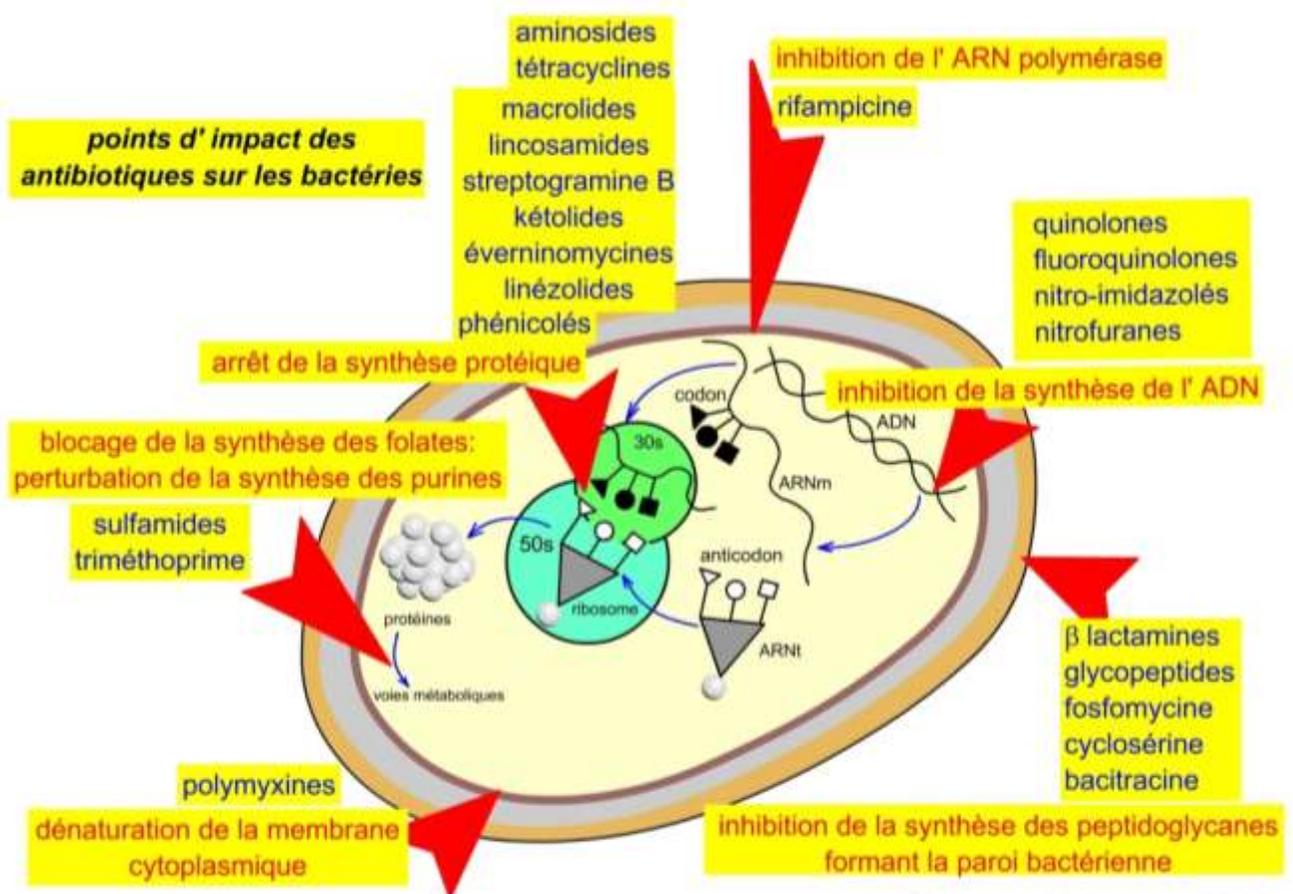


Figure 6 : Cible bactérienne de quelques antibiotiques usuels (Guardabassi et Courvalin, 2006)

Tableau II : Mécanismes d'action et cibles des antibiotiques (Mims et *al.*, 1993 ; Bacq-Calberg et *al.*, 1999)

Agent antibactérien	Cible
Inhibition de la synthèse de la paroi	
BETALACMINES	Inhibent les enzymes de transpeptidation impliqués dans le pontage des chaînes polysaccharidiques du peptidoglycane de la paroi bactérienne, activent les enzymes lytiques de la paroi.
Pénicilline	
Ampicilline	
Carbénicilline	
Méthicilline	
Céphalosporine	
Bacitracine	Inhibe la synthèse du peptidoglycane en interférant avec l'action du transporteur lipidique qui transfère les précurseurs de ces polymères à travers la membrane cellulaire.
Inhibition de la synthèse protéique	
AMINOGLYCOSIDES	
Streptomycine	Se fixe sur la sous unité 30s du ribosome bactérien pour inhiber la synthèse protéique et provoquer l'erreur de lecture de la thymidine
Gentamicine	
PHENICOLES	
Chloramphénicol	Se fixe à la sous unité 50s du ribosome et empêche la formation des liaisons peptidiques par inhibition de la peptidyl transférase
CYCLINES	
Tétracycline	Se fixe sur la sous unité 30s du ribosome bactérien et interfère avec la formation de l' aminoacyl-ARNt.
doxycycline	
MACROLIDE	
Erythromycine	Fixe la sous unité 50s du ribosome et inhibe l'élongation de la chaîne peptidique.
Azythromycine	

Inhibition de la synthèse des acides nucléiques

QUINOLONES Ciprofloxacine et autres fluroquinolones	Inhibent l'ADN gyrase bactérien et interfère de ce fait avec la répllication de l'ADN, la transcription et d'autres activités impliquant l'ADN.
Rifampicine	Inhibe la synthèse de l'ARN en se fixant sur (et en inhibant) l'ARN polymérase ADN dépendante

Destruction de la membrane cellulaire

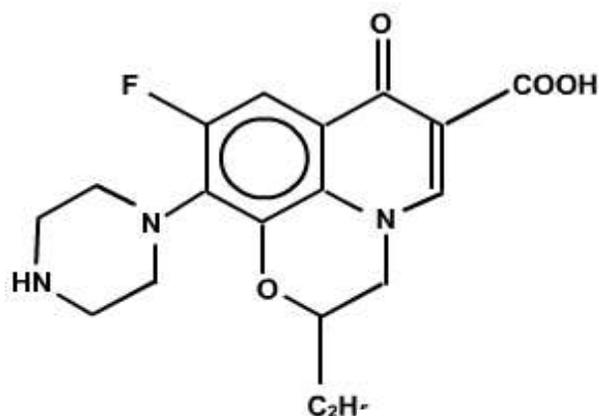
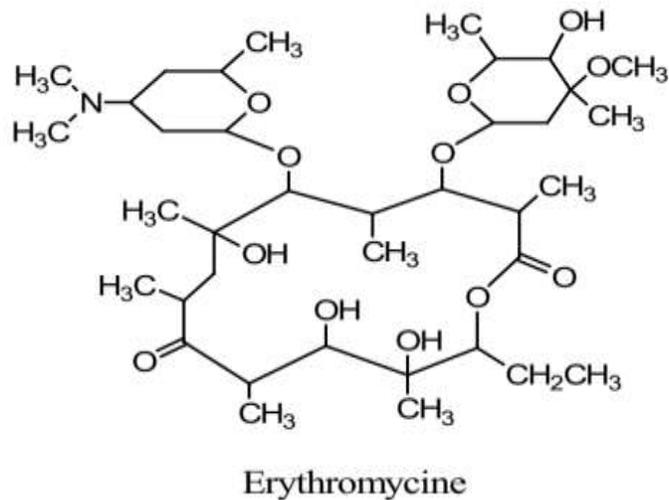
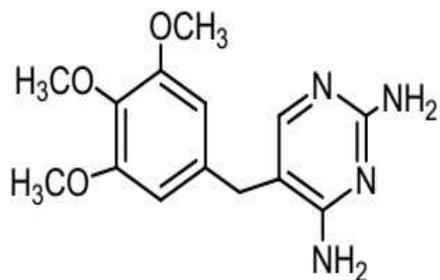
Polymyxine B	Se fixe à la membrane cellulaire et perturbe la structure et les propriétés de perméabilité.
--------------	--

Antagonismes métaboliques

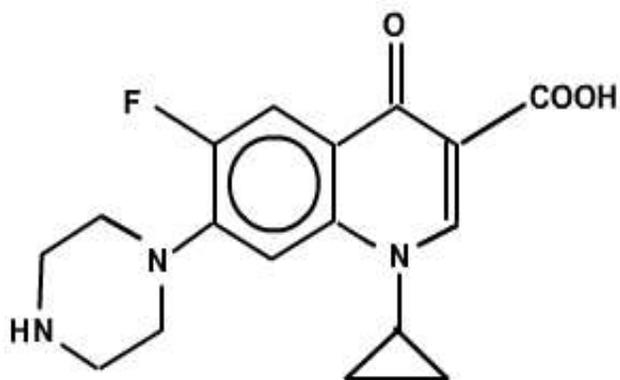
Sulfamides	Inhibent la synthèse de l'acide nucléique par compétition avec l'acide p-aminobenzoïque.
Triméthoprim	Inhibe la synthèse du tétrahydro folate par compétition avec le substrat de la dihydrofolate réductase.
Dapsone	Interfère avec la synthèse de l'acide folique.
Isoniazide	Peut modifier le métabolisme et le fonctionnement du pyridoxal ou du NAD. Il inhibe la synthèse des acides mycoliques.

I.2.1.4. Structure chimique de quelques antibiotiques

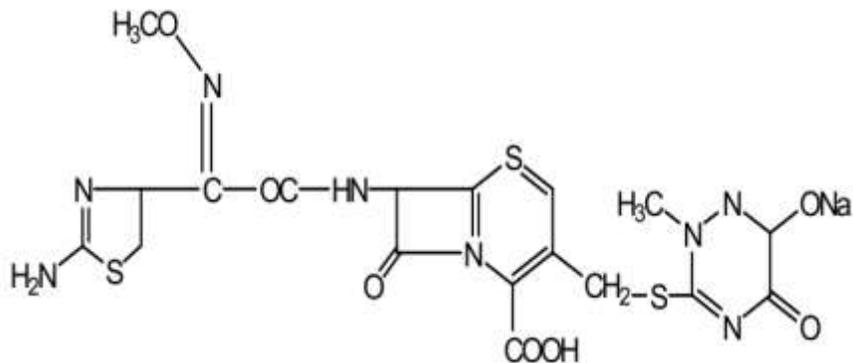
Triméthoprime



Norfloxacin



Ciprofloxacin



Ceftriaxone

Figure 7: structure chimique de quelques antibiotiques (Google image)

I.2.2. Les antifongiques

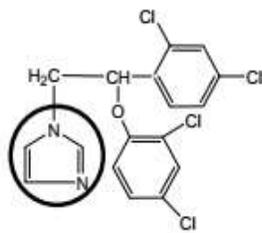
Les antifongiques sont généralement moins efficaces que les antibactériens, principalement parce que les cellules eucaryotes des mycètes sont beaucoup plus proches des cellules humaines que ne le sont les bactéries. De nombreuses substances fongicides ou fongostatiques sont de ce fait toxiques pour les cellules humaines. Néanmoins quelques substances sont utiles dans le traitement des mycoses importantes. Les antifongiques efficaces agissent fréquemment soit par extraction des stérols membranaires ou par inhibition de la synthèse de ceux-ci (amphotéricine B, nystatine, miconazole, cétonazole, fluconazole), soit par inhibition de la chitine synthase (polyoxine D, nikkamycine), soit en inhibant la synthèse des autres acides nucléiques (flucytosine, griséofulvine) (Mims et *al.*, 1993 ; Bacq-Calberg et *al.*, 1999).

Tableau III : Mécanismes d'action et cibles de quelques antifongiques usuels

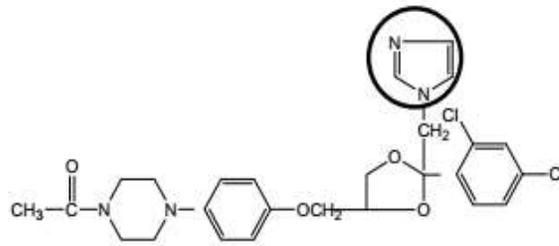
Agent antifongique	Cible d'action
Inhibition de la synthèse de la membrane cellulaire	
Miconazole	Inhibe le lanostérol C14-déméthylase par liaison au cytochrome P450
Kétoconazole	et de ce fait inhibe la synthèse de l'ergostérol
Fluconazole	
Perturbation de la perméabilité membranaire	
Nystatine	Se lie aux stérols (ergostérol, cholestérol) sur la membrane
Amphotéricine B	cellulaire causant une perte des composantes cellulaires et de ce fait la mort de la cellule
Inhibition de la synthèse des acides nucléiques	
Flucytosine	Elle est convertie en 5-fluorouracile par le champignon et est incorporée dans l'ARN au lieu de l'uracile, perturbant le fonctionnement du RNA et empêchant la synthèse des protéines.
Griséofulvine	Inhibe la synthèse des acides nucléiques, perturbe le fuseau mitotique et inhibe la division cellulaire.

Dérivés azolés

imidazoles

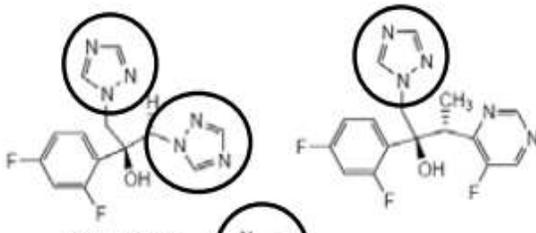


Miconazole



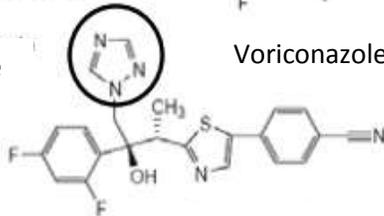
Ketoconazole

triazoles

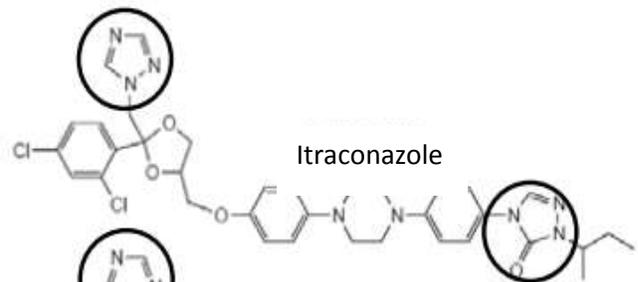


Fluconazole

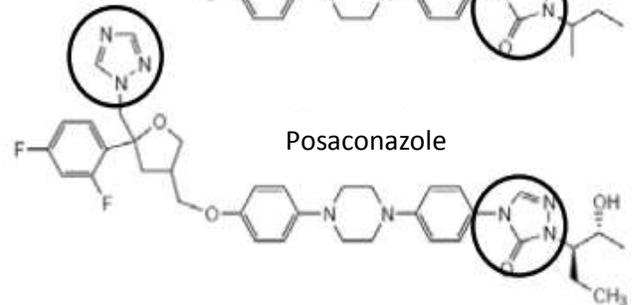
Voriconazole



Ravuconazole



Itraconazole



Posaconazole

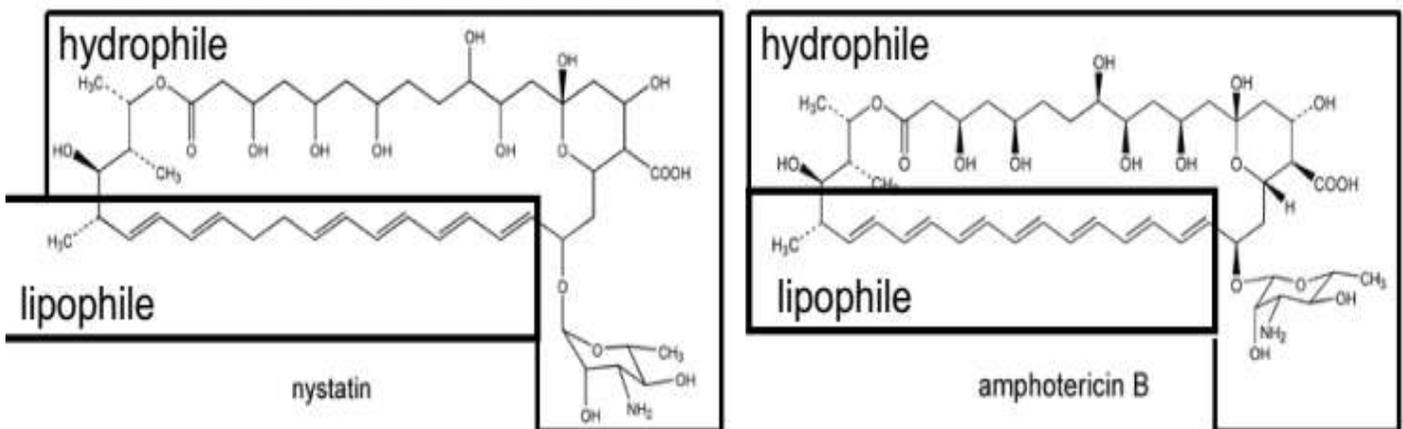


Figure 8 : Structure chimique de quelques antifongiques usuels (Bellet, 2017)

Il est vrai que l'usage des antibiotiques a révolutionné le pronostic des pathologies infectieuses bactériennes, cependant les risques liés à l'utilisation inappropriée de ces molécules sont reconnus par la communauté médicale depuis longtemps. Les pressions exercées sur la flore bactérienne (écosystème des patients et de l'environnement) semblent être à l'origine de l'émergence de résistance bactérienne. L'apparition de bactéries multirésistantes (BMR) aux antibiotiques et leur diffusion, en particulier en milieu hospitalier, constituent actuellement un problème de santé international (Gamra, 2010).

I.3. La résistance microbienne

La résistance microbienne est la faculté, pour une bactérie, de supporter sans dommage une concentration d'antibiotiques supérieure à celle que l'on peut obtenir dans l'organisme. Cette résistance peut être innée ou naturelle ou bien acquise par un contact prolongé des bactéries avec les antibiotiques (Delamare, 2010). Cette dernière est le plus souvent due au non respect des posologies, à l'automédication, les traitements abusifs d'antibiotiques.

I.3.1. Résistance innée ou naturelle ou intrinsèque

La résistance bactérienne peut être naturelle, c'est à dire, propre à une espèce bactérienne. Ce caractère de résistance est présent dans son chromosome bactérien, il est constant et stable, transmis uniquement de manière héréditaire. 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). La résistance innée est prise en compte dans la définition du spectre d'un antibiotique (Le Garo, 2014 ; Hnich, 2017). Il s'agit par exemple de la résistance des bactéries anaérobies aux aminosides car le passage des aminosides à travers la membrane cytoplasmique nécessite un système de transport actif absent chez les anaérobies (Hnich, 2017).

I.3.2. Résistance acquise

Si la résistance n'est pas naturelle, elle peut être acquise. Cette résistance fait suite à une modification du matériel génétique de la bactérie soit au niveau chromosomique via des mutations soit au niveau extra-chromosomique par l'acquisition de gènes de résistance via les plasmides ou les transposons. La résistance chromosomique, acquise par mutation, est permanente et transmise de manière héréditaire comme la résistance innée, mais elle fragilise la bactérie. En effet, la mutation peut survenir n'importe où sur l'ADN bactérien et modifier la

bactérie dans son métabolisme (perte ou modification d'une protéine structurale ou enzymatique). Le plus souvent, les bactéries présentant une résistance chromosomique sont sélectionnées en présence d'antibiotique mais ne survivent pas dans un environnement normal. Les plasmides, au contraire, ne sont pas indispensables au bon fonctionnement du métabolisme bactérien. Ils sont porteurs de caractères de fertilité, de résistance aux antibiotiques, d'autres caractères métaboliques et se multiplient de façon indépendante au sein de la bactérie. Les plasmides peuvent se disséminer dans la population bactérienne par conjugaison ou transduction, sans distinction de genre ou d'espèce, apportant un caractère de résistance à la souche bactérienne qui l'héberge. La résistance plasmidique est instable, la bactérie peut perdre son plasmide, elle perd alors les caractères portés par le plasmide, cette perte est définitive. Un plasmide peut acquérir de l'ADN extra-chromosomique. Il s'agit de gènes «sauteurs», appelés transposons, qui se propagent et s'insèrent dans le génome bactérien ce qui confère à la souche bactérienne de nouveaux caractères. On parle d'«épidémie de gènes». La résistance plasmidique représente 80% des résistances acquises (Le Garo, 2014 ; Ziai, 2014 ; Hnich, 2017).

I.3.3. Mécanismes biochimiques de la résistance antimicrobienne

La modification du matériel génétique (chromosomique ou extrachromosomique) entraîne des modifications biochimiques chez la bactérie, lui permettant de résister par différents moyens (Fig9). Plusieurs mécanismes sont souvent impliqués simultanément dans la résistance aux antibiotiques.

I.3.3.1. Mécanismes d'inactivations enzymatiques de l'antibiotique

Ce mécanisme est le plus fréquent et concerne toutes les classes majeures d'antibiotiques. Des enzymes, produites par les bactéries, inactivent l'antibiotique en le modifiant ou en l'hydrolysant. L'inactivation enzymatique de l'antibiotique représente le principal mécanisme de résistance des bêta-lactames, des aminoglycosides et des phénicolés. On décrit également ce type de résistance pour le groupe MLS (macrolides, lincosamides, streptogramines), pour les tétracyclines, pour la fosfomycine et plus récemment pour les fluoroquinolones, bien que cette inactivation ne représente pas le mécanisme de résistance qui prévaut pour ces molécules. L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

d'activité. Parmi les réactions biochimiques catalysées par ces enzymes bactériennes, on peut citer des hydrolyses, des acétylations, des phosphorylations, des nucléotidylations, des estérifications, des réductions et des réactions d'addition d'un glutathion. Ces enzymes sont généralement associées à des éléments génétiques mobiles (Guardabassi et Courvalin, 2006). Il est toutefois difficile de déduire le génotype de la bactérie du phénotype de résistance observé car chaque enzyme peut modifier plusieurs antibiotiques mais chaque bactérie peut produire des enzymes différentes puisqu'elle peut héberger plusieurs plasmides (Le Garo, 2014).

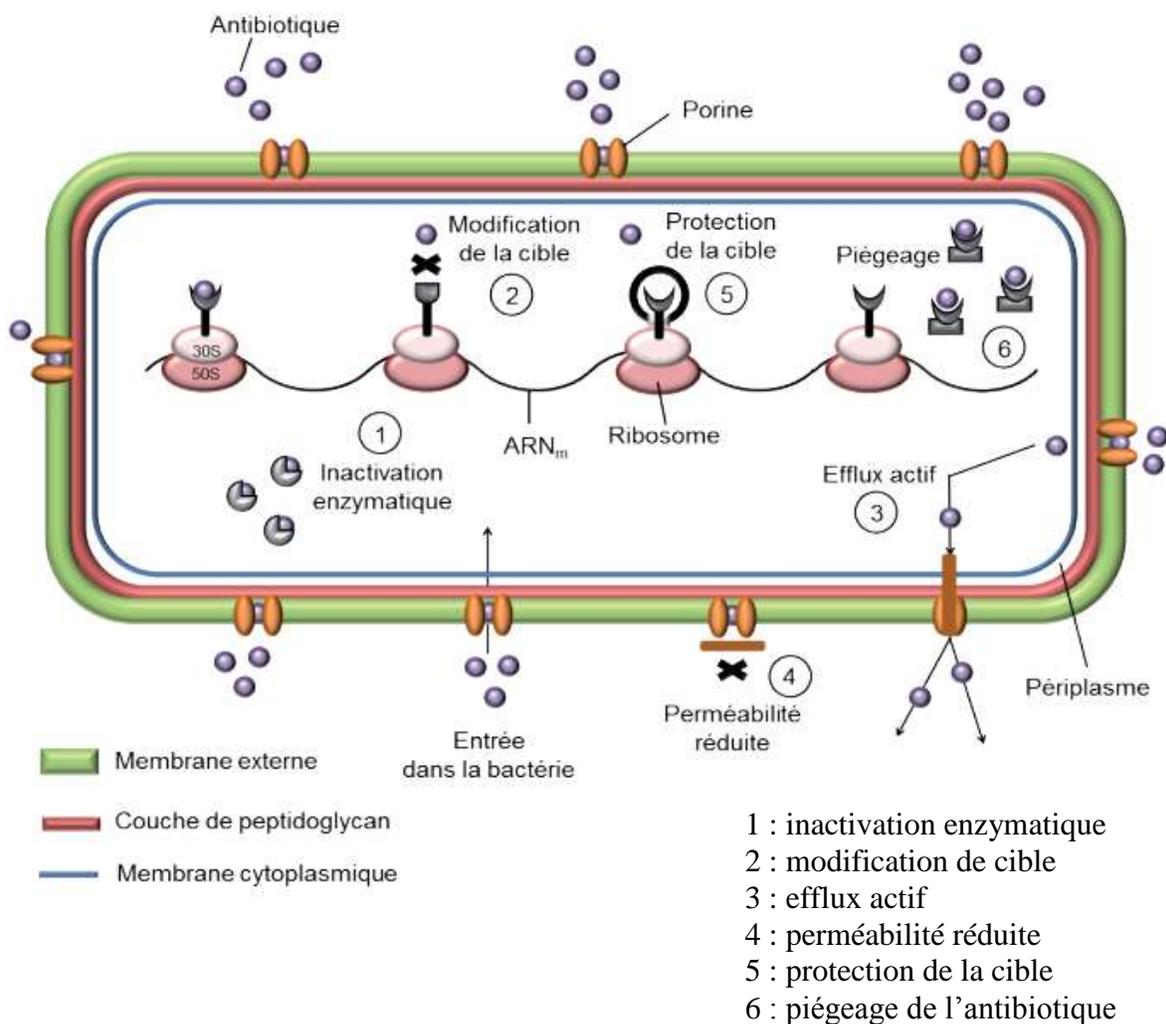


Figure 9: Différents mécanismes de résistance chez une Bactérie Gram - (Guardabassi et Courvalin, 2006)

I.3.3.2. Modification de la pénétration des antibiotiques

Pour comprendre les mécanismes de résistance établis par les microbes par modification de la pénétration des antibiotiques, il est impératif de comprendre les différents systèmes de pénétration des bactéries dans la cellule bactérienne. Cette résistance concerne surtout les bactéries à Gram négatif, et entraîne une diminution de la quantité d'antibiotique atteignant la cible (Aubert, 2009).

I.3.3.2.1. Mécanismes d'entrée des antibiotiques dans la cellule bactérienne

❖ Pénétration à travers la paroi et/ou la membrane externe

Cette pénétration peut se faire principalement par deux mécanismes : l'adsorption et la diffusion passive à travers la paroi (Calgagno et La Croix, 2011). Pour agir l'antibiotique doit pénétrer dans la bactérie et tout facteur altérant la perméabilité cellulaire est cause de résistance (Decoster, 2014). Chez les bactéries à Gram positif, les antibiotiques diffusent librement à travers le peptidoglycane qui constitue la paroi de ces bactéries (Decoster, 2014). Chez les bactéries à Gram négatif, au contraire, la barrière constituée par le lipopolysaccharide de la membrane externe s'oppose à la pénétration des antibiotiques mais des porines, des protéines formant des canaux, permettent le passage de molécules hydrophiles comme les pénicillines à large spectre, les céphalosporines, les aminosides, les phénicolés ou les tétracyclines (Calgagno et La Croix, 2011 ; Decoster, 2014).

❖ Pénétration à travers la membrane cytoplasmique

Elle peut s'effectuer selon deux mécanismes : la diffusion passive à travers les phospholipides, qui ne nécessite pas d'énergie, ou un transport actif qui nécessitera de l'énergie (Calgagno et La Croix, 2011).

I.3.3.2.2 Résistance par imperméabilité de la structure externe de la bactérie

Certaines bactéries produisent une capsule (ex. *Klebsiella pneumoniae*, *Neisseria sp.*, *Streptococcus sp.*) ou sécrètent un slime de nature polysaccharidique (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus sp.*) qui peuvent diminuer la diffusion des antibiotiques par un effet barrière ou une modification de la charge externe des bactéries. Il peut aussi y avoir une augmentation de l'épaisseur de la paroi (*Staphylococcus*) (Aubert, 2009 ; Calgagno et La Croix, 2011). On peut

citer l'exemple des aminosides, dont la pénétration *in vitro* est ralentie chez les souches de *Pseudomonas aeruginosa* sécrétrices d'alginate (Calgagno et La Croix, 2011).

I.3.3.2.3. Perte de porines membranaires

Les modifications ou disparitions des porines entraînent une imperméabilité de la membrane externe pour les antibiotiques qui empruntent ce passage (Calgagno et La Croix, 2011). Ce phénomène est passif, et est par exemple impliqué dans la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à l'imipénème par fermeture de la porine D2 (Aubert, 2009).

I.3.3.2.4. Résistance liée à une modification de la perméabilité de la membrane interne

Les altérations de la membrane cytoplasmique sont plus rarement incriminées. L'exemple qui peut être cité est le cas du transport actif des aminosides à travers la membrane cytoplasmique, nécessitant l'intervention d'un mécanisme oxydatif qui peut être inactivé par mutation entraînant une résistance croisée à tous les aminosides (*Pseudomonas*, *E. coli*) ou par défaut d'oxygène expliquant la résistance naturelle à ces molécules des bactéries anaérobies strictes, microaérophiles ou encore aérotolérantes à métabolisme fermentatif (par exemple *Streptococcus sp.*) (Calgagno et La Croix, 2011).

I.3.3.3. Résistance par mécanisme d'efflux actif

Il s'agit d'un système actif reposant sur la présence de protéines particulières jouant le rôle de pompe permettant l'expulsion des molécules nocives pour la bactérie, dont les antibiotiques, dès qu'ils pénètrent dans la cellule bactérienne. Cela entraîne une diminution de la quantité d'antibiotique atteignant la cible (Mammedi, 2008 ; Aubert, 2009). De nombreux systèmes de ce type ont été identifiés chez les bactéries et rendus responsables de résistance à des antibiotiques très variés, ainsi qu'à des antiseptiques (Calgagno et La Croix, 2011). Une des caractéristiques de ce mécanisme est qu'il peut entraîner parfois la résistance simultanée à des antibiotiques non reliés structurellement, et ainsi constituer de véritables systèmes de multi-résistance. En général, les systèmes d'efflux spécifique (ex. *Escherichia coli* et les fluoroquinolones) sont acquis par la bactérie et n'apportent rien d'autre qu'une résistance de haut-niveau vis-à-vis de l'antibiotique excrété. Les systèmes d'efflux multiples (ex. *Escherichia coli* et résistance aux quinolones, chloramphénicol, cyclines, et β -lactamines) seront, eux, présents naturellement chez l'espèce bactérienne. Leur fonction initiale est d'excréter les

molécules toxiques présentes dans l'environnement de la bactérie. Ces systèmes peuvent être surexprimés en raison d'une mutation des gènes régulateurs, ce qui conduit à une résistance de bas-niveau à certains antibiotiques (Mammedi, 2008; Calgagno et La Croix, 2011). Enfin, la résistance par efflux est souvent associée à une imperméabilité par altération des porines.

I.3.3.4. Résistance par modification ou substitution de la cible

Après l'entrée dans la bactérie, l'antibiotique doit en général se fixer sur sa cible pour agir. Si cette cible est modifiée, cela entraîne une diminution de reconnaissance par l'antibiotique et une diminution de l'efficacité. La bactérie acquiert une résistance qui souvent s'étendra à toute une famille d'antibiotiques. Ce mécanisme est observé avec de nombreux antibiotiques et de nombreuses bactéries (Decoster, 2014). On peut observer une modification partielle de la nature de la cible. Il peut également y avoir substitution de la cible par une cible de moindre affinité (changement total). Une quantité supérieure d'antibiotique sera nécessaire, pour le même effet : la CMI augmente (Calgagno et La Croix, 2011). La modification peut aussi consister en une modification quantitative de la cible. Une hyperexpression par exemple aura pour conséquence la nécessité d'utiliser une quantité supérieure d'antibiotique pour la même efficacité d'action (Decoster, 2014).

I.3.3.4.1. Modifications des Protéines liant les pénicillines (PLP)

Les PLP sont les cibles des β -lactamines. La fixation de ces dernières entraîne une inactivation de l'enzyme et donc de la synthèse de la paroi. Une résistance peut intervenir, soit par augmentation de la production de la PLP déjà présente, soit par synthèse de nouvelles PLP d'affinité diminuée (Calgagno et La Croix, 2011). Ce type de résistance est surtout observé chez les staphylocoques méticillinorésistants, chez les pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline et plus rarement chez les entérocoques. Il s'agit de résistances mutationnelles (staphylocoques, entérocoques) ou acquises par transformation (pneumocoques) (Decoster, 2014).

I.3.3.4.2. Modification de la cible ribosomiale

Les ribosomes sont le lieu des synthèses protéiques. Ils peuvent être altérés dans leur structure et leur fonctionnement par la fixation d'un antibiotique. Une modification de la cible ribosomiale acquise par mutation diminue l'affinité du site de fixation de l'antibiotique et rend la bactérie résistante. Ce mécanisme est responsable de résistances aux tétracyclines, aux

macrolides et lincosamides, aux phénicolés, à la fucidine et plus rarement aux aminosides (Decoster, 2014).

I.3.3.4.3. Altération de la synthèse des acides nucléiques

L'ADN gyrase est une enzyme essentielle pour la réplication de l'ADN bactérien. En paralysant son activité, les antibiotiques de la famille des quinolones ont un effet bactéricide. Des mutations peuvent conduire à la production d'enzymes modifiées insensibles à ces antibiotiques. L'ARN polymérase (transcriptase) est nécessaire à la synthèse des ARN messagers. Les rifamycines bloquent l'action de cette enzyme. Les résistances acquises par mutation sont dues à la production de transcriptase modifiée. L'acide tétrahydrofolique est un coenzyme indispensable à la synthèse des acides nucléiques. La plupart des bactéries n'assimilent pas les folates exogènes et doivent donc en effectuer la synthèse. Celle-ci se fait à partir de l'acide paraaminobenzoïque (PAB) et de la ptéridine en deux étapes essentielles qui nécessitent l'intervention d'enzymes : la dihydroptéroïlsynthétase (DHPS) et la dihydrofolate réductase (DHFR). Les sulfamides inhibent la DHPS et le triméthopime la DHFR. Outre les résistances naturelles de *Enterococcus faecalis* pour les sulfamides et des *Acinetobacter*, *Neisseria*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Enterococcus* pour le triméthopime, on connaît de nombreuses résistances acquises par hyperproduction de PAB, de DHPS, de DHFR, par synthèse directe de la thymine à partir de la thymidine, par modification de la DHPS ou de la DHFR fixant moins bien les sulfamides ou le triméthopime ou encore par diminution de la pénétration des sulfamides. Ces résistances sont acquises par mutation ou codées par des plasmides ou des transposons (Decoster, 2014).

I.3.3.4.4. Modification du précurseur du peptidoglycane

Ce mode de résistance se manifeste chez les entérocoques, leur procurant une résistance aux glycopeptides. La résistance consiste au remplacement de l'acide aminé D-Ala-terminal du précurseur du peptidoglycane, par un groupement lactate avec pour conséquence de rendre les glycopeptides moins affins (Medqual, 2012).

I.3.3.4.5. Modification enzymatique de la cible

Ce mécanisme est impliqué dans la résistance aux macrolides. Il est lié à la production de méthylases dont les gènes sont plasmidiques ou chromosomiques. Cette enzyme va méthyler la sous-unité 50s des ribosomes, et ainsi empêcher les macrolides de s'y fixer. Ce phénomène s'observe chez des bactéries à Gram + (ex. Staphylocoques) (Archambaud, 2009).

I.3.3.5. Protection de la cible

La protection de la cible de l'antibiotique est un mode de résistance bien connu pour la famille des tétracyclines et plus récemment décrit pour les quinolones et les fluoroquinolones. Ainsi, on ne dénombre pas moins de huit protéines de protection ribosomiale qui confèrent une résistance aux tétracyclines en les déplaçant de leur site de fixation par la création d'un encombrement stérique au niveau du ribosome. Depuis quelques années, des souches présentant des résistances sub-cliniques dites à bas niveau aux fluoroquinolones ont été observées. Ces résistances sont notamment dues à la présence de gènes plasmidiques *qnr* (pour quinolone resistance) dont groupes existent. Ce mécanisme a été rapporté parmi différentes bactéries gram négatives à travers le monde, et des analogues de ces gènes ont également été décrits chez des bactéries gram positives (Rodriguez-Martinez et al., 2008). Les protéines *qnr* en se fixant sur les topoisomérases, cibles des fluoroquinolones, réduisent l'affinité de la famille d'antibiotiques pour leurs cibles (Robicsek et al., 2006; Cavallo et al., 2008)

I.3.3.6. Piégeage de l'antibiotique

Les bactéries sont capables de piéger un antibiotique en augmentant la production de sa cible ou en produisant une autre molécule possédant une affinité pour ce dernier. Il en résulte une diminution de l'antibiotique à l'état libre au niveau de la cible. Ainsi des mutations chromosomiques responsables d'une surproduction des cibles des sulfamidés et du triméthoprime ont été décrites chez de nombreuses espèces bactériennes. Ce mécanisme est également impliqué dans des bas niveaux de résistance aux glycopeptides chez certaines souches de *S. aureus*, et à la tobramycine chez *E. coli* (Guardabassi et Courvalin, 2006).

I.3.4. Résistance aux antibiotiques par développement de biofilms

La création de biofilms résistants aux antibiotiques est une autre stratégie aujourd'hui considérée comme un mécanisme de résistance intrinsèque. Une définition communément admise des biofilms est celle de Donlan et Costerton, (2002) : « un biofilm est une communauté microbienne sessile caractérisée par des cellules attachées de manière irréversible à un substrat, une interface ou tout simplement entre elles, enrobées d'une matrice extracellulaire de substances polymériques (en général d'exopolysaccharides) qu'elles ont-elles-même produites et qui présentent un phénotype particulier en terme de taux de croissance et de transcription de gènes ».

Les biofilms protègent les bactéries contre le système immunitaire de l'hôte, la dessiccation et les bioacides (antibiotiques et désinfectants) (Pamp et Tolker-Nielsen, 2007). Le développement sous forme de biofilm sur une surface constitue un moyen efficace pour les bactéries de subsister dans un microenvironnement favorable à leur croissance. Ce qui leur confère des propriétés spécifiques de résistance entraînant de nombreux problèmes en milieu médical, tels que la résistance extrêmement élevée aux agents antibactériens que ce soit les antibiotiques ou les désinfectants. Cette résistance accrue, multifactorielle, est liée aux conditions de vie dans le biofilm (hétérogénéité, accès aux nutriments, oxygène etc.); elles modifient les propriétés physiologiques des micro-organismes et induisent des mécanismes de résistance spécifiques qui s'ajoutent aux mécanismes de résistance connus. La résistance élevée des biofilms aux agents anti-bactériens pourrait également reposer sur la présence d'une sous-population de bactéries résistantes, capables de résister à de fortes concentrations d'antibiotiques. Cette configuration d'agglomération de colonies favorise les transferts de gènes de résistance entre bactéries. Ainsi, alors que les progrès de la médecine moderne permettent de lutter efficacement contre de nombreuses maladies infectieuses, les résistances bactériennes liées à la présence de biofilm échappent largement à ce type de traitements. Les antibiotiques sont en effet très peu efficaces dès lors qu'il existe un biofilm et les symptômes peuvent réapparaître une fois le traitement fini (Ploy, 2012).

I.3.5. Persistance des bactéries

Il y a persistance du germe dans l'organisme, même en présence de l'antibiotique. En effet lors d'un traitement antibiotique, une petite fraction des cellules bactériennes, dites persistantes, ne sera pas tuée. La persistance étant réversible, ces cellules persistantes pourront revenir dans un état normal une fois le traitement antibiotique terminé. Elles auront alors la capacité de se multiplier et de générer une nouvelle infection. Ce mécanisme de résistance implique la perte ou la diminution structurelle ou fonctionnelle d'un gène. Le métabolisme bactérien diminue alors, et les antibiotiques ciblant en général une étape du métabolisme ont peu d'effet (Calgagno et La Croix, 2011). La concentration intracellulaire en antibiotique devient insuffisante pour produire un effet néfaste sur la bactérie.

I.3.6. Détermination du profil de résistance d'un microorganisme

(Muylaert et Mainil 2012; Le Garo, 2014)

Selon la définition clinique, une souche est qualifiée de résistante lorsqu'elle survit à la thérapie antibiotique mise en place. Pour connaître la sensibilité d'une souche bactérienne et l'acquisition de résistance vis-à-vis d'un antibiotique, il faut réaliser un antibiogramme. Ceci permet de déterminer la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI), concentration antibiotique la plus faible pour arrêter la croissance microbienne. En fonction de cette CMI, la souche microbienne est classée en trois catégories :

Souche sensible : forte probabilité de succès thérapeutique dans le cas d'un traitement par voie systémique avec la posologie recommandée dans le résumé des caractéristiques du produit (RCP) de l'antibiotique (la CMI est inférieure ou égale à la concentration critique basse (c) défini par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie) ;

Souche résistante : forte probabilité d'échec thérapeutique quel que soit le type de traitement et la dose antibiotique utilisée (la CMI est supérieure à la concentration critique haute (C))

Souche intermédiaire : succès thérapeutique imprévisible ($c < CMI \leq C$)

Les bactéries sont dites multirésistantes aux antibiotiques lorsqu'elles ne sont plus sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques habituellement actifs en thérapeutique, par l'accumulation de résistances naturelles et/ou acquises.

La concentration minimale bactéricide (CMB) d'un antibiotique correspond à la plus faible concentration capable de tuer 99,99 % des bactéries d'un inoculum prédéfini dans un milieu de croissance spécifique et en conditions de culture standardisées (18 à 20 heures d'incubation, à pression atmosphérique et à une température comprise entre 35 et 37°C pour les bactéries aérobies et aéroanaérobies). Ce paramètre permet de définir la bactériostase et la bactéricidie d'un microorganisme pour un antibiotique.

Etant établi que l'utilisation des antibiotiques d'origine synthétique présente des risques à savoir les effets secondaires pouvant être graves, et des limites notamment l'émergence et la réémergence des microorganismes multirésistants, il existe d'autres méthodes de lutte antimicrobienne permettant de faire face à ces problèmes notamment l'utilisation des plantes médicinales.

I.4. Les plantes médicinales et substances antimicrobiennes

« La médecine traditionnelle est l'ensemble des connaissances, compétences et pratiques basées sur des théories, des croyances et des expériences auxquelles différentes cultures ont recours pour entretenir la santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, soulager ou soigner des maladies physiques et mentales » (WHO, 2002). La médecine traditionnelle, aussi qualifiée de médecine complémentaire, alternative, non conventionnelle ou encore parallèle existe depuis des millénaires. Son apport dans la prise en charge des pathologies est reconnu. Aujourd'hui, cette médecine reste toujours très utilisée dans les pays en développement du fait de l'insuffisance et donc inaccessibilité des centres de santé modernes pour les populations des campagnes isolées mais également du fait du coût plus élevé de la prise en charge d'un patient par la médecine moderne. On note également que, depuis les années 1990, cette médecine se développe à nouveau dans de nombreux pays « développés ». Les plantes représentent la matière première la plus exploitée dans la médecine traditionnelle. Elles sont utilisées entièrement ou en partie (un organe précis) pour leurs propriétés thérapeutiques en santé humaine ou animale.

Selon l'OMS, 80% des populations des pays en voie de développement ont recours aux plantes pour traiter divers problèmes de santé. Si ces « anciennes » pratiques ont continué d'exister jusqu'à aujourd'hui malgré la présence dominante de la médecine « moderne », c'est parce qu'elles enregistrent des succès thérapeutiques. C'est ainsi que l'OMS a mis en évidence leur efficacité à partir de 50 Essais Thérapeutiques Randomisés (ETR) issus des travaux de différents auteurs publiés par "*Therapeutics_letter*", (Therapeutics_letter, 1998; WHO, 2002).

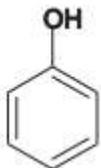
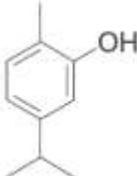
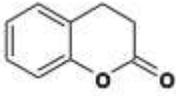
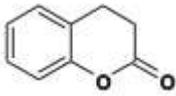
Les plantes sont des êtres vivants qui utilisent la matière minérale et l'énergie du soleil pour produire de la matière organique. Ce processus permet à la plante de synthétiser dans une première étape des hydrates de carbone (les glucides) (Bruneton, 2009; Dewick, 2011). Ces glucides de faibles poids moléculaires (oses) sont utilisés pour la synthèse de métabolites primaires nécessaires pour la survie. Il s'agit de glucides complexes (l'amidon, la cellulose, les pectines ...), des acides aminés (pour la synthèse de protéines), et d'acides gras. Ces métabolites primaires sont exploités par l'homme et les animaux pour leur alimentation et apports énergétiques. A partir des oses et des métabolites primaires, la plante synthétise une grande variété de métabolites dits secondaires, plus complexes. Aujourd'hui, plusieurs de ces phytomolécules ont déjà été décrites mais un grand nombre reste encore mal connu et non

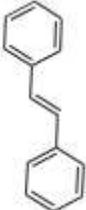
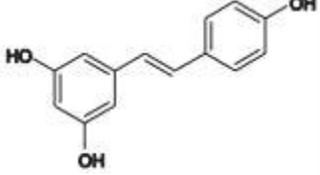
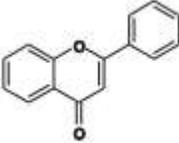
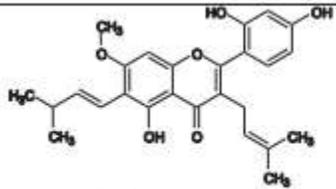
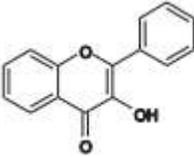
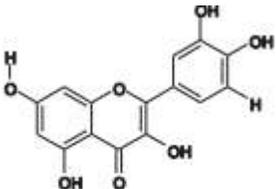
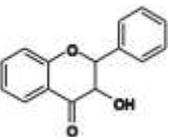
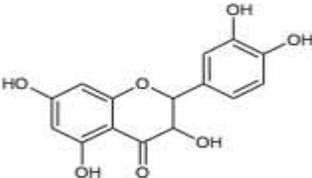
caractérisé. Ces composés constituent les principes actifs des plantes médicinales exploités dans la médecine traditionnelle. En se basant sur leurs structures chimiques, ces phytomolécules issues des métabolites secondaires sont classées en quatre grands groupes chimiques : composés phénoliques, alcaloïdes, terpènes et autres constituants (dérivés simples des métabolites primaires). De nombreux auteurs ont rapporté que les extraits de plantes ont des composés chimiques capables d'avoir une activité antimicrobienne. Ces constituants sont souvent actifs contre une large gamme de bactéries, levures et champignons.

I.4.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques regroupent un grand nombre de substances chimiques qui possèdent au moins un noyau aromatique. Ce noyau porte une ou plusieurs fonctions alcool (groupement hydroxyle). Les phytomolécules phénoliques ont des structures allant des plus simples (acide gallique) aux plus complexes (les tanins). Les composés phénoliques possèdent de nombreuses activités biologiques dont des activités antimicrobiennes (Xiang *et al.*, 2008; Jainkittivong *et al.*, 2009; Rivera *et al.*, 2011; Basli *et al.*, 2012). On peut classer les polyphénols en fonction de leur voie de biosynthèse. On distingue ainsi les phénols simples, les saponines, les flavonoïdes, les coumarines, les stilbènes, les lignanes, les quinones. Le Tableau IV présente les différents groupes de composés phénoliques ayant une activité antimicrobienne décrite.

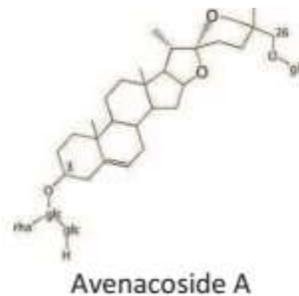
Tableau IV: Classification des composés phénoliques à activité antimicrobienne

Groupe	Sous groupe	Structure de base	Exemple d'antimicrobien	Références
Phénol simple			Carvacrol 	Antifongique, isolé de <i>Satureja hortensis</i> L. (Pauli, 2006)
Coumarine				Antiparasitaire et antibactérien, isolé de

			<i>Amburama cearensis</i> (Hassan et al., 2008)
Stilbènes			
		 Resveratrol	Antifongique, isolé de <i>depolygonum cuspidatum</i> (Docherty et al., 2001)
Flavonoïdes	Flavones		
		 Artocarpin	Antibactérien isolé de <i>Artocarpus heterophyllus</i> (Sato et al., 1996)
	Flavonone		
		 Quercetin	Antiparasitaire, isolé de <i>demorinda morindoides</i> (Cimanga et al., 2006)
	Flavonol		
			Antibactérien isolé de <i>Mimusops elengi L</i> (Hazra et al., 2007)

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

Saponines



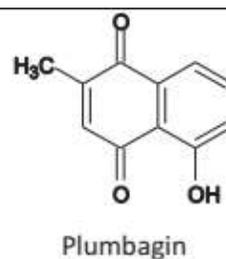
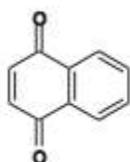
Antibactérien,
isolé de *Avena sativa L*
(Bahraminejad *et al.*, 2008)

Tanins



Antibactérien,
isolé de *Vaccinium vitis-idaea L* (Ho *et al.*, 2001)

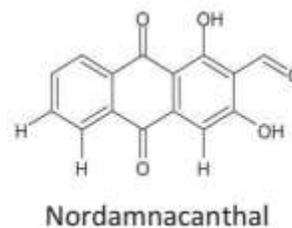
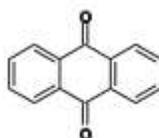
Naphtoquinone



Antibactérien,
isolé de *Plumbago zeylanica L.*
(Jeyachandran *et al.*, 2009)

Quinones

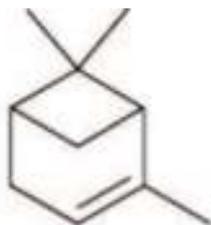
Anthraquinone



Antifongique,
isolé de *Morinda lucida* (Rath *et al.*, 1995)

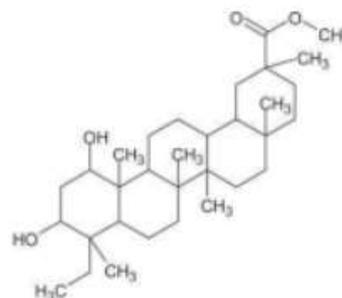
I.4.2. Les terpènes et stéroïdes

Les terpènes sont des huiles essentielles de nombreuses plantes. Ils sont volatils et constituent la résine et les essences des plantes. C'est le cas de l'essence de térébenthine isolée à partir de la résine de pin. Sur le plan structural, les terpènes sont des dérivés de l'isoprène (C₅H₈). Leur nomenclature et leur classification se font en fonction du nombre d'unités isopréniques qui constituent la molécule. Des activités antimicrobiennes des terpénoïdes ont été mises en évidence (Oussou et *al.*, 2004; Bourkhiss et *al.*, 2007). On les classe en monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes et caroténoïdes dont des exemples de structures antimicrobiennes isolées chez certaines plantes sont présentées ci-dessous.



α Pinène

Monoterpène : antifongique isolé de *Pinus sylvestris* L. (Pauli, 2006; Amarti et *al.*, 2010)



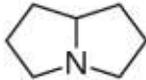
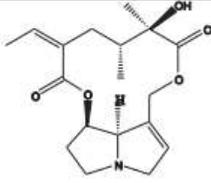
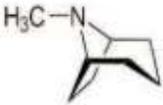
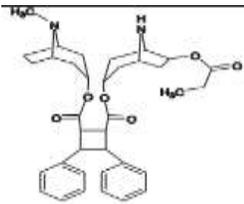
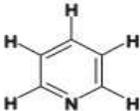
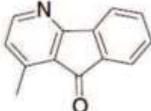
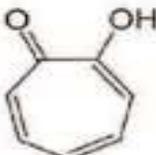
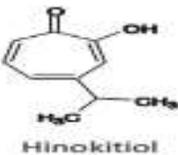
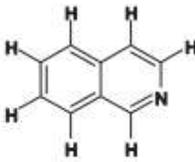
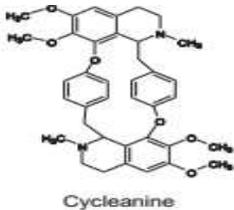
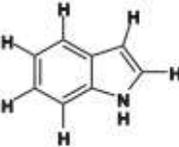
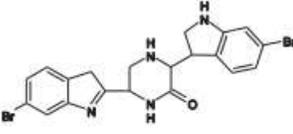
Acide Hydroxyimberbique

Triterpène : antibactérien et antifongique, isolé de *Combretum imberbe* (Katerere et *al.*, 2003)

I.4.3 Les alcaloïdes

Les alcaloïdes représentent une vaste famille de composés chimiques dont la structure comporte au moins un hétérocycle azoté. Ce sont des composés qui présentent plusieurs activités pharmacologiques telles qu'analgésique (la morphine), antimicrobienne (imidazole, chloroquine, quinine), anticancéreux (vinblastine, vincristine). Ils sont des précurseurs de nombreux médicaments. On les divise en sous-groupes structuraux que sont les tropanes, les pyrrolizidines, les pyridines, les tropolones, les isoquinoléines, les indoles, les purines, les imidazoles et les alcalamines.

Tableau V: Quelques alcaloïdes à activités antimicrobiennes. (Moroh, 2013)

Classes	Structures de bases	Exemple	Origine et références
Les pyrrolizidines		 Senecionine	Antibactérien, isolé du genre <i>Senecio</i> (Mandić et al., 2009)
Les Tropanes		 monine A	Antifongique, isolé d' <i>Erythroxyllum mooni</i> (O'Hagan, 2000)
Les pyridines		 Onychine	Antifongique, isolé de <i>Cleistopholis patens</i> (Hufford et al., 1987)
Les tropolones		 Hinokitiol	Antibactérien, isolé de <i>T. Dolabrata SIEB.</i> (Morita et al., 2003)
Les isoquinoléines		 Cycleanine	Antibactérien, isolé d' <i>Albertisia villosa</i> (Lohombo-Ekomba et al., 2004)
Les indoles		 Hamacanthin B	Antibactérien (Oh et al., 2006)

I.4.4 Généralités sur les plantes médicinales utilisées dans ce travail

I.4.4.1. *Rumex abyssinicus*

Rumex abyssinicus de la famille des Polygonaceae est l'une des plantes médicinales les plus répandues de l'Afrique tropicale surtout dans les hautes terres, particulièrement en Afrique centrale et orientale (Getie et *al.*, 2003).

C'est une plante herbacée vivace très trapue atteignant 4 m de haut, à rhizome charnu et tige cannelée, glabre, rouge-vert, atteignant 3 cm de diamètre à la base. Feuilles alternes, simples ; ochréa en entonnoir, de 2–2,5 cm de long, brune, se déchirant aisément ; pétiole souvent aussi long que le limbe ; limbe triangulaire hasté, feuilles basales atteignant 25 cm × 20 cm, à nervures palmées, feuilles caulinaires beaucoup plus petites. Inflorescence : grande panicule fortement ramifiée, sans feuilles, atteignant 50 cm de long, avec des fleurs en petits glomérules (Burkill, 1997).

Dans la médecine traditionnelle, la plante utilisée pour traiter entre autre la gonorrhée, la diarrhée, la malaria, l'hépatite, les plaies, les hémoroïdes etc (Getie et *al.*, 2003 ; Mekonnen et *al.*, 2010). Des travaux antérieurs ont rapporté que *Rumex abyssinicus* possède des activités antimicrobiennes antimalariales, antiinflammatoire, durétique (Mekonnen et *al.*, 2010; Tamokou et *al.*, 2013).

I.4.4.2. *Nauclea pobeguinii*

La plante est distribuée du Sénégal en Zambie en passant par l'Afrique Centrale. *Nauclea pobeguinii* appartient à la famille des Rubiacées. Les Rubiacées font parties des familles des plantes médicinales les plus importantes. *Nauclea pobeguinii* est un arbre caducifolié, de taille petite à moyenne, atteignant 30 m de haut, parfois un arbuste ; le tronc est souvent dépourvu de branches sur 15 m, droit et cylindrique, jusqu'à 100 cm de diamètre, sans contreforts. *Nauclea pobeguinii* est largement utilisé en médecine traditionnelle africaine. Au Nigeria, des préparations de racine soignent la gonorrhée. Au Gabon, la macération ou la décoction d'écorce est absorbée comme boisson pour traiter la gonorrhée. En Guinée, la macération d'écorce se prendrait comme abortif, alors qu'au Cameroun l'écorce se prendrait quand on craint un avortement. La décoction de racine se prend comme vermifuge en Guinée. L'écorce réduite en poudre se prend dans de l'eau contre les douleurs intestinales et la diarrhée au Sénégal, et la décoction d'écorce est oxytocique. En Côte d'Ivoire, les préparations d'écorce servent à traiter la fièvre et la jaunisse.

Au Nigeria, la décoction d'écorce se boit pour traiter les maux d'estomac. En République Démocratique du Congo, la décoction d'écorce se prend pour soigner la malaria, la décoction des écorces se prend contre l'asthénie sexuelle (Burkill, 1997 ; Bridson et Verdcourt, 2003 ; Jiofack et *al.*, 2010).

Les extraits à l'eau, à l'éthanol et au dichlorométhane de l'écorce ont montré une activité antipaludéenne *in vitro* contre *Plasmodium falciparum* et *in vivo* contre *Plasmodium berghei* et *Plasmodium yoellii* chez la souris. Aucun effet toxique significatif a été observé *in vivo* chez la souris pour les extraits aqueux et éthanoliques (Mesia, et *al.*, 2010).

I.4.4.3. *Picralima nitida*.

Picralima nitida est une plante de la famille des Apocynaceae. *Picralima nitida* est un arbuste ou arbre atteignant 35 m de haut, contenant du latex blanc dans toutes ses parties avec glabre. Son fût atteignant 60 cm de diamètre, son écorce dure et fragile, de teinte noir grisâtre ou brune, pâle ou foncée, lisse à légèrement rugueuse ou finement rayée. Les feuilles de cette espèce, contenant du suc laiteux, sont simples et alternes, d'une forme elliptique et avec une largeur pouvant atteindre 26 cm. *Picralima nitida* est une espèce de l'Afrique occidentale trouvée dans les forêts tropicales humides jusqu'à 900 m d'altitude comme espèce du sous-étage. Toutes les parties de la plante sont excessivement amères et sont utilisées comme médicament dans le traitement de plusieurs maladies. Au Gabon, l'écorce est utilisée comme fébrifuge et dans le traitement de certaines infections urogénitales appelées couramment maladies vénériennes. Au Congo, la décoction d'écorce se prend comme purgatif ou pour traiter les hernies et, mélangée à d'autres plantes, pour soulager la gonorrhée. Dans le sud du Cameroun et au Congo, on en boit pour soigner la stérilité masculine (Burkill, 1985).

De nombreux travaux ont abouti à la mise en évidence de plusieurs propriétés de cette plante.

I.4.4.4. *Shirakiopsis elliptica*.

De la famille des Polygonaceae, *Shirakiopsis elliptica* ou encore *Sapium ellipticum* peut se présenter comme un arbuste ou un petit arbre monoïque, fortement ramifié, de hauteur variable atteignant 40m. Son fût (la partie rectiligne du tronc) peut atteindre 100 cm de diamètre, la plante est dépourvue de branches sur 12 m au plus, souvent cannelé. La surface de l'écorce de couleur brun pâle, rougeâtre à presque noire peut être lisse ou rugueuse, tandis que l'écorce interne est jaune sale, orange ou brun. Les feuilles sont alternes et simples, ses stipules

triangulaires et ovales tombant rapidement. En Afrique la plante est distribuée depuis le Sénégal jusqu'en Ethiopie. On la retrouve également en Afrique du Sud et au Kenya. Toutes ses parties sont utilisées en médecine traditionnelle au Cameroun, au Congo, et en Ethiopie pour le traitement de plusieurs maladies mais particulièrement pour les désordres gastrointestinaux (Burkill, 1997). En ce qui concerne les travaux scientifiques menés sur la plante, d'après nos investigations, les données sur ses propriétés biologiques sont encore rares en comparaison aux trois plantes précédentes.

I.4. Les thérapies combinées

I.4.1. Généralités

La valeur thérapeutique des interactions synergiques est connue depuis l'antiquité et de nombreuses cultures en Afrique et en Asie dans leurs systèmes thérapeutiques ont longtemps exploité le principe selon lequel les thérapies combinées augmenteraient l'efficacité thérapeutique (Van Vuuren et Viljoen, 2011). En effet, il est très rare de trouver chez les tradipraticiens africains un traitement constitué d'une seule plante, il s'agit généralement d'un mélange de différentes parties d'une plante voire de mixtures de plantes d'espèces différentes ; ce mélange ayant pour objectif d'optimiser les résultats thérapeutiques. De nos jours, la médecine moderne s'inspire du même principe pour combiner diverses molécules en dose unique ou séparée. Récemment, l'application des thérapies combinées a eu un regain spécialement dans le traitement des maladies infectieuses. En effet, l'organisation mondiale de la santé (OMS) a par exemple recommandé aux firmes pharmaceutiques d'arrêter la promotion de l'artémisin et de ses dérivés pour le traitement du paludisme, mais plutôt de promouvoir l'artémisin en thérapie combinée. Les thérapies combinées sont également aujourd'hui privilégiées dans le traitement de la tuberculose et du VIH en réponse à l'émergence de nouvelles souches microbiennes résistantes. Ainsi, l'effet synergique résultant de l'association d'antibiotique avec les extraits de plantes contre les germes multirésistants est une nouvelle approche de choix pour le traitement des maladies infectieuses (Purushotham, et *al.*, 2010). Plusieurs travaux ont en effet été publiés révélant des effets synergiques avec une réduction considérable de MIC de nombreux antibiotiques lorsqu'ils sont en combinaison avec des extraits de plantes. Ceci qui rendrait alors possible la réutilisation des antibiotiques qui avaient déjà perdu de leur efficacité (Sibanda et Okoh, 2007 ; Ghaleb et *al.*, 2010; Purushotham, et *al.*, 2010. Ngouana et *al.*, 2015, Tabouguia et *al.*, 2018).

I.4.2. Les différents types d'interactions

Lorsqu'on combine deux ou plusieurs produits entre eux, plusieurs types d'interaction peuvent résulter de cette combinaison. On distingue les interactions positives de celles qui sont négatives. Les interactions synergiques et additives font parties des interactions positives tandis que les interactions indifférentes et antagonistes font partie de celles dites interactions négatives.

Une interaction est dite synergique si l'effet des produits combinés constituant l'interaction est significativement supérieur à celui de chaque produit administré individuellement. Elle est dite additive si l'effet des produits combinés est amélioré comparé à l'effet de chacun des produits seul. L'indifférence est observée lorsque l'effet des produits combinés est égal à l'effet de l'un des produits présent dans la combinaison. L'antagonisme est quant à lui observé lorsque l'effet des produits combinés est inférieur à l'effet de l'un des produits de la combinaison; l'un des produits de la combinaison annule l'effet de l'autre (Van Vuuren et Viljoen, 2011).

I.4.3. Les différents niveaux d'étude d'interactions.

I.4.2.1. L'interaction plante – plante

Les plantes possèdent de nombreux constituants pouvant interagir les uns avec les autres. Ces interactions peuvent se produire entre plantes de genres différents, espèces différentes, entre les diverses parties d'une même plante et entre différents extraits ou différentes fractions ou molécules de la même partie d'une plante. Il existe pour plusieurs espèces une grande diversité dans la composition chimique entre les parties souterraines (racines, tronc) et les parties aériennes de la plante. Si par exemple, les racines et les feuilles d'une même plante sont combinées, alors le nombre de « principe actif » pourrait augmenter et accroître ainsi les possibilités d'obtenir des interactions synergiques. Ceci expliquerait l'existence anecdotique d'un grand nombre de publications sur l'étude de combinaisons thérapeutiques entre différentes parties de plante (Cano et Volpato, 2004, Williamson, 2001, Karmegam et *al.*, 2008). Il est également connu que les concoctions qu'utilisent généralement les tradi-praticiens, en médecine alternative sont des mélanges de plusieurs espèces de plantes différentes ceci se fait dans le but de potentialiser leur effet. Un certain nombre de travaux a été publié dans la littérature ethnobotanique concernant l'étude de la combinaison des espèces de plantes différentes pour le traitement des maladies infectieuses. On peut citer par exemple la combinaison de *Portulaca quadrifida* avec

Monadenium lugardiae pour le traitement du mal d'estomac, *Trichilia emetica* en combinaison avec *Cyathula natalensis* pour la lèpre (Hutchings et al., 1996).

I.4.2.2. L'interaction plante –composés d'origine non botanique

De toutes les études d'interactions, les études des phyto-constituants en combinaison avec les composés chimiques d'origine non botanique sont celles qui ont été le plus explorées. Le tableau VI décrit quelques unes de ces études et ainsi que les résultats saillants obtenus. Pour beaucoup d'interactions étudiées, plusieurs ont été démontrées étant synergiques ou additives. Très peu se sont avérées antagonistes bien que ce type d'interaction ne soit pas quasi inexistant entre les plantes et le composé non botanique. Ainsi, des précautions doivent toujours être prises lorsqu'il est question de combiner les composés d'origine botanique et les substances d'origine non botanique.

Tableau VI : Combinaison des plantes avec les dérivés non botanique (Van Vuuren et Viljoen, 2011).

Substance dérivée de la plante	Substance non dérivée de la plante	Microorganismes testés	Interactions	Références
Croton zehntneri	Gentamicine et Tétracycline	<i>S.aureus</i> et <i>P. aeruginosa</i>	Accroissement de l'activité de 42% sur <i>P. aeruginosa</i>	Rodrigues et al., 2009
<i>Ocimum sanctum</i> essential oil	Fluconazole et Ketoconazole	16 isolats de <i>Candida</i> fluconazole-resistant	Valeurs de FIC variant de synergique (0.25–0.50) à indifférent (0.52–0.93)	Amber et al., 2010
Punicalagin isolé de <i>Punica granatum</i>	Fluconazole	<i>Candida albicans</i>	Synergie observée par la méthode de diffusion, dilution et 'time kill'	Endo et al., 2010
Eugenol, thymol, carvacrol, cinnamaldehyde, allyl, et isothiocyanate	Tétracycline, Ampicillin, Penicillin G, Erythromycin, Bacitracin, et Novobiocin	<i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> et <i>S. aureus</i>	Synergie observée avec (FIC 0.11) avec le carvacrol en combinaison avec la pénicilline G contre <i>S. aureus</i>	Palaniappan et Holley, 2010

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

Myrtus communis essential oil	Amphotericin B	<i>Candida albicans</i> et <i>Aspergillus niger</i>	Les indices de CIF et le graphique d'isobogramme indique les des interactions synergiques;	Mahboubi et Bidgoli, 2010
Ocimum basilicum	5% NaCl	<i>Lactobacillus curvatus</i>	Synergie	Lachowicz et al., 1998
Thymol	Sorbate de potassium	<i>E. coli</i> , <i>Listeria innocua</i> , <i>S. typhimurium</i> ,	FIC compris entre 0,5-1,1 FIC compris entre 0,3-0,8 FIC compris entre 0,5-1	Santiesteban-López ,et al., 2007
Carvacrol	Sorbate de potassium	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>Listeria innocua</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>S. aureus</i> ,	FIC compris entre 0,3-0,8 FIC compris entre 0,5-0,8 FIC compris entre 0,4-0,8 FIC compris entre 0,4-0,6 FIC compris entre 0,4-0,9	
Rosmarinus officinalis	butylated hydroxyanisole	<i>Escherichia coli</i> et <i>Staphylococcus aureus</i>	Synergie par la méthode d'isobogramme	Romano et al., 2009

FIC : Fractional inhibitory concentration ; CIF : concentration inhibitrice fractionnelle ;

I.4.2.3. Les méthodes d'étude des interactions plantes – médicaments conventionnels.

Plusieurs méthodes sont proposées lorsqu'il est question de l'évaluation de l'interaction entre deux composés. On distingue entre autres les méthodes *E-test*, *'time-kill'*, *checkerboard*, et la méthode de diffusion. (White et al., 1996 ; Wu et Woolson 1998 ; Bonapace et al., 2000 ; Lewis et al., 2002). Il existe cependant des congruences entre les différentes méthodes. Certains auteurs tel que Lewis et collaborateurs (2002) préfèrent E-test où les antimicrobiens de concentration fixe sont imprégnés sur des bandelettes commercialement disponibles. Cependant, cette méthode n'est pas applicable aux antimicrobiens dérivés de plantes où le test antimicrobien n'est pas un échantillon commercialement disponible à des concentrations standard, mais où chaque expérience requiert un échantillon d'extrait de plante expérimental dont les préparations dépendent des expériences en cours.

La méthode de diffusion.

La méthode la plus simple pour la détermination du type d'interaction est la méthode de diffusion utilisant les disques imprégnés ou les puits. Chaque produit à tester (A ou B) est imprégné indépendamment sur un disque ou introduit dans un puits. La combinaison (A+B) est imprégnée sur un disque séparément ou dans un autre puits. Et après incubation dans les conditions optimales de croissance du microorganisme, les diamètres d'inhibition sont alors comparés. Si le diamètre d'inhibition des produits combinés est supérieur à celui de l'un des produits, alors il y a synergie et s'il est inférieur à celui de l'un des produits, il y a antagonisme. Bien que cette méthode ait l'avantage d'être très simple, elle est cependant sujette à plusieurs variables qui pourraient influencer les résultats et ne devrait alors servir que de guide qualitatif (Van Vuuren, 2007).

La méthode microdilution

La microdilution, méthode basique de détermination de la CMI peut également être utilisée pour déterminer le type d'interaction entre deux produits A et B. Les CMI des produits combinés sont simultanément évaluées avec celles des produits indépendants et comparées à partir des concentrations bien précises. Cet arrangement des combinaisons en plusieurs dilutions est connu comme étant la méthode Checkerboard. Certaines études déduisent le type d'interaction en comparant les résultats des CMI des produits combinés avec celles des produits indépendants,

déterminées par lecture de la densité optique ou par appréciation de la turbidité (Dufour, 2003). L'un des inconvénients de cette technique est que la méthode de lecture basée sur la turbidité n'est pas très précise lorsqu'il s'agit de renseigner sur la viabilité des microorganismes.

La somme des indices de concentration inhibitrice fractionnelle (Σ ICIF)

La méthode algébrique de détermination de l'interaction par calcul de la somme des indices de concentration inhibitrice fractionnelle est une méthode largement validée et utilisée. La Σ ICIF est exprimée comme étant l'interaction de deux agents dans laquelle la concentration de chaque agent dans la combinaison est une fraction de la concentration qui produirait le même effet s'il était analysé indépendamment (Berenbaum, 1978). La Σ ICIF est ainsi calculée indépendamment telle que spécifiée dans les équations suivantes :

$$CIF(i) = \frac{CMIA \text{ en combinaison avec } B}{CMIA \text{ seul}}$$
$$CIF(ii) = \frac{CMIB \text{ en combinaison avec } A}{CMIB \text{ seul}}$$

$$\Sigma ICIF = CIF(i) + CIF(ii)$$

Cette équation de base n'a pas été modifiée depuis sa conception. Cependant, l'interprétation des valeurs a souvent variée d'un auteur à l'autre.

Les premières interprétations considéraient les valeurs suivantes : Σ ICIF < 1, synergie ; Σ ICIF = 1 additivité ; Σ ICIF > 1 antagonisme (Berenbaum, 1978). Une autre approche plus conservative a été décrite par Odds tel que suit : Σ ICIF \leq 0,5 synergie ; Σ ICIF > 4, antagonisme ; et Σ ICIF > 0,5-4, indifférence. Malheureusement, selon cette approche, l'intervalle décrivant l'indifférence est trop grand et ne prévoit de d'intervalle pour les interactions additives. Considérant cette remarque, une autre approche la plus utilisée a été décrite et prend en compte Σ ICIF \leq 0,5 synergie ; Σ ICIF > 4, antagonisme ; et Σ ICIF > 0,5-1, additivité, Σ ICIF > 1-4, indifférence. En dépit de toutes ces différences, la plus part des auteurs s'accordent sur le fait une interaction est synergique si la Σ ICIF \leq 0,5.

La méthode d'isobogrammes

La méthode de calcul de la Σ ICIF paraît simple ; cependant, elle présente l'inconvénient selon le quel elle est basée sur le principe qui prend en compte le fait qu'une fraction de la concentration produira la fraction de l'effet lui correspondant ce qui n'est pas toujours le cas. La méthode d'isobogramme quant à elle prend en compte toutes les concentrations possibles et donne des valeurs plus réalistes.

La méthode “Time-kill” ou “death kinetic”

Cette méthode décrit la relation qui existe entre l'effet bactéricide et la concentration du produit testé (Tam et *al.*, 2005) en fonction du temps. Bien que cette méthode soit laborieuse, intensive et requiert un bon nombre d'étapes exigeant parfois l'entrée de nombreux variables, elle génère souvent des informations de qualité. Cette méthode a souvent été décrite comme étant la meilleure méthode de détermination de la synergie entre deux produits (Beale et Sutherland 1983 ; Acar, 2000) même si elle avait été critiquée au paravant par Berenbaum (1980). Dans une revue traitant des différentes méthodes d'évaluation de la synergie entre plantes et antibiotiques conventionnels, la méthode « *time-kill* » a été révélée comme ayant la plus grande reproductibilité (Lewis et *al.*, 2002). Malgré tous les rapports positifs sur la capacité de cette méthode à élucider les interactions, elle n'est pas fréquemment utilisée pour les études impliquant les produits dérivés de plantes. Ceci pourrait être dû aux dilutions laborieuses et répétitives des échantillons (Van Vuuren et Viljoen, 2011).

I.5. Les méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne

Plusieurs méthodes permettent d'évaluer *in vitro* la sensibilité des bactéries aux antibactériens. On peut en effet citer entre autres les méthodes de diffusion en milieu solide (technique des disques et des puits) et les méthodes de dilution en milieu liquide (microméthode de dilution et macrométhode de dilution).

I.5.1 La méthode de diffusion en milieu solide.

❖ La technique des disques

- Le principe de la méthode :

Cette méthode est basée sur la diffusion de la substance à tester de concentration connue, imprégnée sur des disques de papiers filtre en contact avec le milieu de culture solide coulé dans les boîtes de pétri, préalablement ensemencé d'un inoculum bactérien. Après incubation dans les conditions de croissance appropriées du germe testé, la présence des zones d'inhibitions autour des disques indique l'inhibition de la croissance du germe par la substance testée (Brooks et *al.*, 2004 ; Cos et *al.*, 2006).

- Avantages, inconvénients et limites de la méthode :

La méthode présente l'avantage de ne nécessiter qu'un matériel peu coûteux, souvent disponible dans tous les laboratoires de microbiologie. Sa réalisation est simple et son exécution facile par le personnel technique. Elle permet de tester plusieurs antibiotiques à la fois. C'est une

méthode reproductible et répétable qui peut permettre d'obtenir des résultats quantitatifs avec une précision suffisante. Cependant, certaines substances diffusent mal dans la gélose, ce qui constitue une des limites de cette méthode.

❖ **La technique des puits.**

- **Principe de la méthode :**

Cette méthode repose sur le même principe que la technique des disques. Cependant, la substance à tester n'est pas imprégnée sur des disques de papier filtre, mais est distribuée dans des puits de 6 à 7 mm de diamètre préalablement réalisés dans la gélose après ensemencement. Après incubation la présence des zones d'inhibitions autour du puits correspond à une inhibition de la croissance du microorganisme par la substance testée (Kareem et *al.*, 2008).

- **Avantages, inconvénients et limites de la méthode :**

Cette technique présente certes les mêmes avantages que la technique des disques, cependant, son application est plus compliquée et plus difficile que la diffusion à partir d'un disque de papier. De plus, certaines substances diffusent difficilement dans la gélose (OMS, 1961).

I.5.2 La méthode de dilution en milieu liquide ou solide.

Les méthodes de dilution sont effectuées en milieu liquide ou en milieu solide. Elles consistent à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact de concentrations croissantes d'antibiotiques selon une progression géométrique de raison deux (Euzéby, 2005).

En milieu liquide, l'inoculum bactérien est distribué dans une série de tubes (méthode de macrodilution) ou de cupules (méthode de microdilution) contenant la substance à tester. Après incubation, la concentration minimale inhibitrice (CMI) est indiquée par le tube ou la cupule qui contient la plus faible concentration d'antibiotique où aucune croissance n'est visible (Euzéby, 2005).

En milieu solide, l'antibiotique est incorporé dans un milieu gélosé coulé en boîtes de Pétri. La surface de la gélose est ensemencée avec un inoculum des souches à étudier. Après incubation, la CMI de chaque souche est déterminée par l'inhibition de la croissance sur le milieu contenant la plus faible concentration d'antibiotique (Euzéby, 2005).

Avantages, inconvénients et limites des méthodes de dilution :

L'avantage des méthodes par dilution est leur relative souplesse d'utilisation puisqu'on peut supplémenter le milieu de culture pour des germes à besoin particulier et utiliser n'importe quel antibiotique pourvu qu'il soit disponible sous forme de poudre. Elles permettent également de mesurer directement la concentration inhibitrice minimale pour le germe étudié (OMS, 1961). Cependant, elles sont complexes à réaliser et nécessitent une expertise. La microméthode de dilution présente l'avantage d'utiliser des petites quantités de réactifs et de principes actifs par rapport à la macrométhode de dilution.

Au terme de cette partie qui ne s'est focalisée sur les méthodes d'évaluation des activités antimicrobiennes *in vitro*, il est important de relever que l'évidence d'une activité *in vitro* n'est toujours pas la garantie qu'on obtiendra un effet *in vivo*, du fait de la complexité des organismes et de la pharmacocinétique souvent mis en place par l'hôte pour éliminer le xénobiotique avant même que celui-ci ait atteint sa cible d'où l'intérêt de l'évaluation de l'effet thérapeutique *in vivo*.

I.6. Evaluation de l'effet thérapeutique *in vivo*

Le glossaire du Ministère des Solidarités de la Santé (France), définit l'effet thérapeutique comme étant une amélioration mesurable, immédiate ou retardée, transitoire ou définitive, de l'état de santé ou du bien-être d'un sujet, en rapport avec l'utilisation d'un médicament et, a priori, explicable par une ou plusieurs de ses propriétés pharmacologiques (MSS, 2013). En effet, l'effet attendu d'un traitement est l'effet thérapeutique, que ce traitement soit un médicament, une intervention chirurgicale ou encore une radiothérapie. Pour un médicament, l'effet thérapeutique est dû à l'efficacité du ou des principes actifs contenus dans celui-ci (Thomsen, 2017). Dans la recherche des médicaments, l'évaluation de l'effet thérapeutique passe indissolublement par les études *in vivo*.

I.6.1. Généralités sur les tests *in vivo*

Selon le dictionnaire Wikipedia, les tests *in vivo* (en latin : « au sein du vivant ») est une expression latine qualifiant des recherches ou des examens pratiqués sur un organisme vivant, par opposition à *in vitro* ou *ex vivo*. Contrairement aux tests *in vitro* qui sont effectués en laboratoire dans des boîtes de pétri ou encore dans des tubes à essai, les tests *in vivo* permettent d'évaluer ou d'observer l'ensemble des changements provoqués par une substance ou une molécule donnée sur un sujet vivant. Dans la recherche des médicaments par exemple, les tests *in vivo* sont cruciaux

parce que certaines molécules candidates peuvent se révéler très actives *in vitro* mais inactives *in vivo* et vice versa, à cause de plusieurs facteurs pharmacocinétiques.

I.6.2. Les paramètres pharmacocinétiques

La pharmacocinétique (effet de l'organisme sur le médicament) est la branche de la pharmacologie qui a pour but d'étudier le devenir d'un médicament dans l'organisme. La détermination des paramètres pharmacocinétiques d'un médicament apporte les informations qui permettent de choisir les voies d'administration et d'adapter les posologies pour son utilisation future. On peut distinguer schématiquement 4 étapes dans la pharmacocinétique d'un médicament :

- ✓ Son absorption
- ✓ Sa diffusion dans l'organisme
- ✓ Son métabolisme
- ✓ son élimination de l'organisme

Dans la recherche des médicaments, l'effet thérapeutique des substances actives dépend directement des paramètres pharmacocinétiques de ces dernières. En effet, la réduction de l'activité *in vivo* peut trouver son explication dans les mécanismes suivants (Atanasov, 2015) :

- La non atteinte par la substance à tester des foyers infectieux,
- L'incapacité de la substance à tester à atteindre le site d'action *in vivo* du fait de sa catabolisation rapide dans le foie,
- Sa mauvaise ou sa non absorption dans le sang et les cellules,
- De leur non pénétration dans les cellules,
- Une résorption,
- Une mauvaise liaison aux protéines,
- Une élimination précoce du produit.

A l'opposé, un médicament dont l'activité est faible *in vitro* peut dans certains cas contre toute attente, avoir un effet thérapeutique notoire *in vivo*, du fait de la transformation lors de son premier passage dans le foie, de la forme pro-drug en une forme active.

I.6.3. Avantages et inconvénients des tests *in vitro* et des tests *in vivo*

I.6.3.1. Les tests *in vitro*

Les tests *in vitro* présentent l'avantage d'être plus rapides que les tests *in vivo*, moins onéreux et reproductibles. Ils permettent d'évaluer séparément les effets biologiques de chaque substance à tester. Cependant, ils présentent l'inconvénient d'avoir que peu de rapport avec la clinique (Camps, 2009).

I.6.3.2. Les tests *in vivo*.

- **Avantages :** Ils sont beaucoup plus proches de la clinique et permettent d'évaluer les effets d'un principe actif sur des organes loin de l'organe cible. Ils permettent d'évaluer la toxicité des métabolites. Un principe actif peut en effet se révéler très actif alors que ses produits de dégradation, une fois métabolisés par l'organisme se révèlent être toxique (Camps, 2009).

- **Inconvénients :** Les tests réalisés sur des animaux de laboratoire peuvent ne pas avoir de rapport avec l'espèce humaine, l'effet néfaste peut passer inaperçu s'il est non recherché donc non évalué. Le timing de l'essai peut être par ailleurs incorrect (l'effet délétère se manifeste après les périodes d'observation), l'évaluation et l'interprétation des résultats peut être difficile (Camps, 2009).

I.6.4. Induction d'une infection urinaire chez les souris.

I.6.4.1. Biologie d'une infection urinaire.

L'adhérence d'un microorganisme sur les cellules hôtes joue un rôle important dans une colonisation efficace du pathogène et par conséquent dans la mise en place progressive de la maladie lorsqu'il s'agit de l'infection d'une muqueuse. Dans le cas de l'infection de la muqueuse de la vessie, *Escherichia coli* uropathogénique possède des organelles extracellulaires appelés pili de type 1 leur permettant d'adhérer de façon intime avec l'urothélium des muqueuses des voies urinaires. L'expression de ce pili *E. coli* uropathogénique est directement liée à une augmentation de la virulence de microorganisme chez l'être humain (Kisielius *et al.*, 1989). Les modèles d'études d'infection urinaire transurétrale chez les jeunes souris femelles ont permis de comprendre la pathogénèse d'*E. coli* uropathogénique chez l'homme (Hung *et al.*, 2009).

I.6.4.2. Les éléments déterminant le succès d'une infection chez la souris.

- **Le sexe et l'âge des animaux.**

Il est plus facile d'induire une infection urinaire chez les souris femelles que chez les souris mâles, à cause de l'anatomie de l'appareil urinaire et de la distance de la vessie par rapport à l'orifice urétral ce qui rend beaucoup plus difficile la cathétérisation de l'urètre de la souris mâle (Thai et *al.*, 2010). En ce qui concerne l'âge des animaux, selon Hung et collaborateurs (2009), les souris doivent être âgées de 7 à 9 semaines au moment de l'infection car à cet âge, les souris sont adultes. Bien qu'il est possible d'infecter les souris plus âgées, le taux d'infection de même que la consistance de l'infection reste plus élevés avec les souris de cette tranche d'âge. Par ailleurs, le poids des souris de cet âge varie très peu.

- **La charge de l'innoculum bactérien**

Il est possible d'obtenir une infection à une charge de 10^7 UFC/mL, mais un inoculum plus concentré (10^{10} UFC/mL) permet une infection accélérée (Hvidberg et *al.*, 2000 Hung et *al.*, 2009).

- **La taille du cathéter**

La cathétérisation est une procédure extrêmement exigeante. Un cathéter trop long transperce la vessie tandis qu'un trop court ne l'atteindrait pas. Considérant la distance qui sépare l'orifice urétral, de la vessie, il est recommandé de ne pas insérer l'aiguille du cathéter dans l'urètre au-delà de 1,2cm.

- **Le volume de l'innoculum**

Pour éviter un reflux de l'innoculum déposé dans la vessie, il est important que ce volume soit faible mais suffisant pour induire efficacement l'infection. Ainsi un volume de 50 microlitre soit 10 mL/s pendant 5 secondes est recommandé (Hvidberg et *al.*, 2000 Hung et *al.*, 2009 ; Thai et *al.*, 2010).

CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES

II.1. Matériel

II.1.1 Matériel végétal

Quatre plantes médicinales ont été sélectionnées à la suite d'un screening parti de neuf plantes. Ces plantes étaient celles ayant présenté un potentiel antimicrobien meilleur en comparaison aux autres (Tabouguia et *al.*, 2017). Elles servaient au Centre de phytomédecine africain du Professeur Nkeng-Efouet à Dschang, pour le traitement des IUGs entre autres. Ces plantes ont été récoltées dans deux régions du Cameroun (le Nord Ouest et le Centre) et ont par la suite été identifiées à l'Herbier National du Cameroun où des spécimens ont été conservés de même que des numéros de références. Le tableau qui suit donne des informations détaillées sur les différentes plantes et précise les parties utilisées.

Tableau VII: Informations détaillées sur les plantes médicinales

Nom scientifique de la plante	Noms vernaculaires	Partie utilisée	Numéro de référence	Lieu de récolte
<i>Nauclea pobeguinii</i> (NP)	Andinding	Écorces	504710/HNC	Bamenda
Rubiaceae	Ewondo			Ngoketunja
<i>Picralima nitida</i> (PN)	Ebam	Écorces	565411/HNC	Bamenda
Apocynaceae	Ewondo			Ngoketunja
<i>Rumex abyssinicus</i> (RA)	Kintongtong	Rhizomes	27239/SRF Cam	Bamenda
Polygonaceae	OKU, Nord-Ouest			Ngoketunja
<i>Shirakiopsis elliptica</i> (SE)	Osemvot	Écorces	47266/HNC	Yaoundé – Ngoa
Euphorbiaceae	Ewondo			Ekélé

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.



Tronc de *Shirakiopsis ellyptica*



Ecorces de *Picralima nitida*



Ecorces de *Nauclea pobeguinii*



Rhizomes de *Rumex abyssinicus*

Photographie 1: Matériel végétal végétal utilisé dans ce travail (Tabougua)

II.1.2 Les antimicrobiens conventionnels

Les antimicrobiens sélectionnés pour cette étude ont été recensés sur la base de trois critères majeurs :

- L'antibiotique devait faire partie des médicaments couramment prescrits dans les cas d'infections urogénitales ;
- Le coût de l'antibiotique devait être abordable par la majorité de la population ;
- L'antibiotique devait être disponible ;

Pour ce faire, une enquête a été menée auprès des professionnels de la santé pour recenser les antibiotiques couramment prescrits dans les cas d'infections urogénitales. Le document annexe I présente une fiche regroupant les IUG courantes qui a été soumise aux professionnels de la santé (tous médecins). Les informations de ces fiches nous ont permis d'avoir une liste de médicaments couramment prescrits pour le traitement des infections urogénitales.

A la suite de cette étape, la liste des médicaments a été présentée au pharmacien de l'hôpital Régional de Buea, hôpital de référence de la région du Sud-Ouest-Cameroun, par le biais du document annexe II, pour l'attribution des différents prix.

Cette mini enquête nous a permis de recenser les antibiotiques appartenant à diverses classes d'antibiotiques.

II.1.3 Les Milieux de culture

Plusieurs milieux de culture ont été utilisés au cours de ce travail tous de Liofilchem, d'Italie:

Pour l'activation des souches de bactéries : gélose et bouillon nutritif,

Pour l'activation des souches de levures : Sabouraud chloramphénicol agar, sabouraud agar, sabouraud broth,

Pour l'identification des bactéries : CLED, l'agar Mackconkey, la gélose kligler, le bouillon uréa-indole-tryptophane, la gélose Simons Citrate, la galerie API 20E, l'agar Mannitol-salt, la galerie Urin System Plus,

Pour l'identification des Levures : la galerie Integral Yeast System Plus.

Pour les tests de susceptibilité : la gélose et le bouillon Muller Hinton, le bouillon Sabouraud Dextrose

Le bouillon nutritif de même que les urines filtrées pour les études *in vivo*.

II.1.4. Les souches microbiennes

Les souches microbiennes utilisées dans ce travail étaient des souches cliniques multirésistantes provenant des patients présentant une infection urogénitale dont les procédures de caractérisation seront décrites plus loin.

Les souches de références étaient constituées d'*Escherichia coli* JM109, *S. aureus* RN 4220, *E. coli* KTE 181 provenant de NAID BEI ressources Manassas, USA.

Les souches microbiennes étaient préservées à -33°C et une fois réactivées, elles étaient maintenues sur gélose nutritive à 4°C.

II.1.5. Les animaux d'expérience

Afin d'avoir un nombre suffisant d'animaux nécessaire pour la détermination de l'activité antimicrobienne *in vivo*, quelques souris albinos mâles et femelles de la souche Balb/c ont été croisés dans l'animalerie du laboratoire de recherche médicale et de biochimie appliquée de la Faculté des sciences de la santé de l'Université de Buea. Seules les souris femelles ont été utilisées pour les expérimentations car leur anatomie rend possible une procédure de cathétérisation ce qui est beaucoup plus complexe avec le mâle. Les souris d'expérience ont été acclimatées dans des cages stériles sous air conditionné à 25°C dans une salle autre que la salle des animaux.

Les jeunes souris femelles dont le poids variait autour de 10 et 12g ont été sélectionnées. Les souris ont été acclimatées dans des cages stériles pendant 15 jours. La température ambiante a été maintenue à 25°C et une photopériode de 12 h a été observée. Les animaux recevaient quotidiennement à volonté de l'eau et de l'aliment standard pour rongeurs stérilisés à l'autoclave. Au début de l'expérience, les souris pesaient 18±4g.

II.2. METHODES

II.2.1. Identification des germes multirésistants causant les infections urogénitales

II.2.1.1. Screening des germes à infection urogénitales.

II.2.1.1.1. Collectes des échantillons microbiens

Les cultures d'échantillons prélevés des voies urinaires et génitales (urines, prélèvement vaginal) ont été collectées auprès de trois laboratoires (l'hôpital Laquintinie de Douala, la clinique de la Solidarité de Buea et la clinique Saint Albert de Buea). Les échantillons ont été

prélevés et mis en culture par les techniciens de laboratoire qualifiés pour les tests de routine assistés de nous. Ces cultures provenaient d'échantillons d'urines et de prélèvements vaginaux des patients présentant les symptômes d'infections urinaires et ou génitales, et pour qui le médecin consultant avait sollicité un antibiogramme. Pour ce qui est des échantillons d'urines, les premières urines (du matin) à mi-jet (prélèvement au milieu du jet) ont été recueillies dans des flacons stériles, après désinfection au papier Hygiénique imbibé d'une solution de Dakin du méat urétral et des parties alentours du patient. Les Prélèvements cervico-vaginaux (PCV) ont été effectués par méthode d'écouvillonnage sur les patients de sexe féminin ayant remplies les conditions préalables du PCV (absence de rapports sexuels 48 heures avant le prélèvement, absence de toilette intime, absence de traitement antibiotique en cours ou moins 5 jours précédant le prélèvement). Les échantillons ainsi prélevés étaient analysés et mis en culture sur divers milieux usuels pour l'examen d'antibiogramme. Après analyse et interprétation des résultats, les boîtes de pétri à culture positive étaient recueillies et acheminées dans des conditions optimales dans une glacière pour transport d'échantillon biologique isotherme. Ceux-ci étaient rapidement transportés jusqu'au laboratoire de la Faculté des Sciences de la Santé de l'Université de Buea où se poursuivaient les tests d'isolement, de caractérisation et d'identification des isolats microbiens. Au cas échéant, les boîtes de pétri à -33°C jusqu'à leur récupération.

II.2.1.1.2. Isolement des germes multirésistants

❖ Microscopie et culture (Cheesbrough, 2006)

Une fois au laboratoire, la coloration Gram des isolats issus des échantillons d'urines, prélèvements vaginaux, et sperme, a été effectuée telle que décrite par Cheesbrough (2006), puis les microorganismes ont été classés en Gram positif et Gram négatif et cultivés sur les milieux MacConkey pour les Gram négatif, Chapman, pour les Gram positif, Sabouraud au chloramphénicol pour les levures. Les germes isolés ont été par la suite examinés par microscopie directe à l'état frais au microscope optique pour mettre en évidence la morphologie et la motilité du microorganisme. Les colonies issues des cultures pures ont été suspendues dans le bouillon nutritif à 10% au glycérol et préservé à -33°C.

II.2.1.1.3. Caractérisation biochimique des germes multirésistants

Les germes isolés ont ensuite été caractérisés biochimiquement pour leur identification.

II.2.1.1.3.1. Caractérisation biochimique des bacilles à Gram négatif

(Cheesbrough, 2006)

Les bacilles Gram négatif ont été cultivés sur les milieux spécifiques suivants:

- La gélose Kligler (KIA) dont l'objectif était de détecter la capacité de chaque bactérie à métaboliser le glucose, et/ou le lactose avec production ou non de gaz et le sulfure d'hydrogène.

Le test a été effectué suivant la procédure décrite par Biokar (2010):

L'interprétation des résultats s'est effectuée comme suit :

- ✓ Fermentation du glucose *f* Culot rouge : glucose non fermenté *f* Culot jaune : glucose fermenté.

- ✓ Fermentation du lactose *f* Pente inclinée rouge : lactose non fermenté *f* Pente inclinée jaune : lactose fermenté

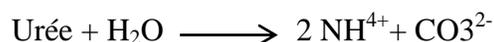
- ✓ Production de gaz *f* Apparition de bulles de gaz dans le culot.

- ✓ Formation de H₂S *f* Production d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqure

- Le bouillon Urée-Indole, nous a permis d'évaluer la capacité des bactéries à produire l'uréase et à mettre en évidence la tryptophanase qui permet la production de l'indole des acides aminés aromatiques.

Principe

- Recherche de l'uréase : L'uréase dégrade l'urée selon la réaction suivante:



Les ions CO₃²⁻ vont entraîner une forte alcalinisation du milieu qui sera révélée par un virage de l'indicateur de pH (le rouge de phénol) à sa teinte basique (rouge).

Procédure : A 2 ou 3ml de milieu de culture stérile, une colonie pure prélevée à l'anse sur un milieu solide a été inoculée et l'ensemble a été homogénéisé et incubé 24 heures à 37°C.

La présence de l'uréase s'est manifestée par un changement de la coloration du milieu de culture qui virait du jaune au rose.

- La présence de l'indole a été mise en évidence par la formation d'un anneau rouge au dessus du milieu après ajout de quelques gouttes de réactif de Kovacs à une culture de 24 heures. L'absence de cet anneau traduisait l'incapacité du microorganisme à produire de l'indole.

- Recherche de la production d'indole (mise en évidence de la tryptophanase)

La tryptophanase hydrolyse le tryptophane selon la réaction suivante:



L'indole forme un complexe coloré rouge en présence du réactif de Kovacs

- La gélose Simmon's Citrate nous a permis de détecter la capacité de la bactérie à métaboliser le citrate.

Principe (BioRad, 2005) : Les bactéries capables d'utiliser le citrate de sodium comme seule source de carbone pourront se développer sur ce milieu. La fermentation du citrate de sodium entraîne alors une acidification qui provoque une coloration bleue du milieu en présence de bleu de bromothymol (indicateur de pH).

Procédure : Au milieu de culture préparé suivant les instructions du fabricant, une colonie issue d'une culture pure a été ensemencée aseptiquement par la méthode de strie. Après 24 heures d'incubation à 37°C ; les boîtes de pétri présentant une coloration bleue étaient classées comme citrate positive, tandis que celle dont la coloration n'avait pas changé (vert) étaient citrate négative.

II.2.1.1.3.2. Caractérisation biochimique des cocci à Gram positif (Cheesbrough, 2006)

Culture sur gélose Chapman.

❖ Principe:

La gélose Chapman est un milieu d'isolement sélectif utilisé pour la recherche des *Staphylococcus*. Son caractère sélectif repose sur sa forte concentration en sel de chlorure de sodium (75g/L). Cette caractéristique unique permet la croissance sélective des bactéries halotolérantes (capables de s'adapter dans un milieu à très forte concentration en sel) en inhibant la croissance des autres types de bactéries. C'est également un milieu différentiel pour les bactéries staphylocoques fermentant le mannitol car il contient le mannitol et un indicateur de pH le rouge phénol. Les bactéries fermentant le mannitol tel que *Staphylococcus aureus* font virer le milieu au jaune par production des acides tandis que les autres staphylocoques pousseront sans changer la coloration du milieu (Biorad, 2014).

Présence de la coagulase : Identification des *S. aureus* et des SCN

En contact du plasma humain, *Staphylococcus aureus* transforme le fibrinogène, soluble dans le plasma, en fibrine solide, un caillot se forme alors au fond du tube incapable de coaguler

seul ce qui n'est pas le cas des autres staphylocoques d'où le terme staphylocoques à coagulase négative (SCN).

Présence de la catalase

En présence de l'eau oxygénée (H₂O₂) les bactéries catalase positive produisent des bulles de gaz suivant l'équation :



I.2.1.1.3.3. Identification par le kit d'identification Urin System Plus (Liofilchem).

C'est un kit d'identification permettant d'effectuer simultanément l'identification présomptive et l'antibiogramme des microorganismes à partir des échantillons d'urine. Il n'a cependant été exploité dans ce travail qu'aux fins d'identification présomptive des espèces microbiennes ceci dû au fait que les antibiotiques évalués ici pour la plupart ne faisaient pas partie de la liste d'antibiotiques sélectionnés au cours de notre procédure.

Procédure du test :

Un examen du sédiment urinaire pour vérifier la présence significative de microorganisme a été effectué au préalable. 0,5ml d'urine a été dispensé dans l'ampoule de la solution physiologique contenue dans le kit ce qui constituait la suspension A. puis 0,2ml de la suspension A a été distribué dans le flacon du milieu de suspension contenue dans le kit (suspension B). Après étiquetage de la plaque, 0,2mL de la suspension A ont été transféré dans les puits 1 à 9, tandis que 0,2mL de la suspension B ont été transféré dans les puits 10 à 24. La plaque a alors été recouverte et incubée à 37°C pendant 18 à 24 heures. A la fin de l'incubation, le virage de couleur des puits a été observé et les résultats ont été interprétés à l'aide du tableau d'interprétation de résultats contenue dans le kit.

II.2.1.1.3.4. Caractérisation des levures (Cheesbrough, 2006)

Les microorganismes ayant poussés sur la gélose Sabouraud supplémentée du chloramphénicol étaient préservés pour la suite de la caractérisation des levures.

II.2.1.1.3.4.1. Identification de *Candida albicans*

Les colonies ovoïdes de levures ont été mises à l'évidence au microscope à l'état frais. Les isolats ont ensuite été examinés en présence du sérum humain pour la mise en évidence des tubes germinatifs caractéristiques de *Candida albicans*. En effet *Candida albicans* a la capacité de former au bout de 2 à 4 heures à 37°C, des tubes germinatifs associés à une forte synthèse de protéines et d'acides nucléiques, lorsqu'il est en présence du sérum. Ce test permet ainsi de le distinguer des autres espèces *Candida* non *albicans* et d'autres types de levures telles que *Cryptococcus* qui n'ont pas cette capacité. Ce test a été conduit suivant la méthode décrite par Menza et collaborateurs (Menza et al., 2013). Une colonie issue d'une culture pure de l'espèce de levure à tester était inoculée dans 2 à 3ml de sérum humain et incubée pendant 2 à 4 heures à 37°C. Puis une goutte du sérum inoculé a ensuite été déposée sur une lame, recouverte d'une lamelle et examinée au microscope optique (objectif 40). Les isolats ont ensuite été classifiés en deux catégories selon qu'il y avait présence ou non des tubes germinatifs.

II.2.1.1.3.4.2. Identification des autres espèces de levure

La caractérisation biochimique des autres espèces de levures a été poursuivie en utilisant le kit d'assimilation des sucres '*Integral yeast System plus*' (Liofilchem). Le test a été conduit suivant les instructions du fabricant. Après 48 heures d'incubation à 37°C, les résultats ont été observés par changement ou non de la coloration des puits tests et interprétés grâce à la fiche de lecture et d'interprétation fournie par le fabricant (voir annexe IV).

II.2.1.2. Antibiogramme des souches isolées et identifiées

Les colonies isolées ont été soumises à un test d'antibiogramme sur gélose Muller Hinton par la méthode décrite par Bauer et collaborateurs (Bauer et al., 1966).

Le principe de cette méthode est basé sur la présence ou non des zones d'inhibition autour des disques imprégnés de l'échantillon à tester déposés dans les boîtes de pétri préalablementensemencées, qui traduit l'inhibition ou non de la croissance du microorganisme par la substance testée (Brooks et al., 2004; Cos et al., 2006).

Brièvement, la méthode consiste à préparer le milieu de culture (gélose Muller Hinton) suivant les instructions du fabricant ; le milieu est par la suite coulé aseptiquement dans les boîtes de pétri stériles (20mm pour les boîtes de pétri de 90mm). Après refroidissement du milieu, un inoculum standardisé (10^8 UFC/ml correspondant à la turbidité d'une échelle McFarland de 0,5 (CLSI, 2012) du germe à tester est ensemencé à l'aide d'un écouvillon suivant la

méthode décrite par Cheesbrough (Cheesbrough, 2006). Puis les disques commercialisés imprégnés d'antibiotique de quantité connue ont été délicatement déposés sur le milieu ensemencé dans un délai de 15 minutes après l'inoculation de la gélose. Après prédifusion à température ambiante ou au réfrigérateur (4-8°C), les boîtes ont par la suite été incubées aérobiquement à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et pendant 48 heures pour les levures. Après incubation, les diamètres d'inhibition ont été mesurés et interprétés suivant les fiches de lecture proposées par la société française de microbiologie (EUCAST, 2014), la CLSI (2014) et la NCCLS (2008).

II.2.2. Criblage des propriétés antimicrobiennes des extraits aqueux, méthanoliques, hydroéthanoliques et méthanol-dichlorométhane de *Shirakiopsis elliptica*, *Rumex abyssinicus*, *Nauclea pobeguini*, et *Picralima nitida*, contre les germes identifiés.

L'objectif de cette étape était d'aboutir à la mise à part des extraits de plantes ayant des propriétés antimicrobiennes satisfaisantes. Ainsi, l'étude est partie de 4 plantes de la pharmacopée camerounaise (*Nauclea pobeguini* (NP), *Picralima nitida* (PN), *Rumex abyssinicus* (RA), *Shirakiopsis elliptica* (SE)) utilisées dans le traitement d'infections urogénitales.

II.2.2.1. Souches microbiennes

II.2.2.1.1. Souches cliniques

Les souches cliniques provenaient des patients présentant des symptômes d'infections urogénitales, qui ont été isolées et caractérisées suivant les méthodes microscopiques, de cultures et biochimiques décrites plus haut. Ces méthodes nous ont permis de caractériser 9 souches cliniques constituées de 4 bactéries Gram négatif, *Mc1*, *Mc2*, *Mc9*, *Mc13*, une Bactérie Gram positif, *Mc11* et quatre levures, *Yeast1*, *Yeast 2*, *Yeast 3*, *Yeast 4*. Ces isolats étaient maintenues sur gélose nutritive à 4°C et des aliquotes de chaque souche étaient conservées dans le bouillon nutritif/glycérol à -33°C. Un contrôle qualité de la souche microbienne était effectué au début de chaque mois au cours de l'étude.

II.2.2.1.2 Souches de références

Les souches de références utilisées dans ce travail ont été pourvues par la BEI RESSOURCES, NIAID, NIH, Manassas USA, elles étaient constituées de : *Escherichia coli* JM109, *Staphylococcus aureus* RN4220 Les souches de références étaient conservées de la même façon que les souches cliniques.

II.2.2.2. Préparation des extraits hydroéthanoliques, chlorure de méthylène-méthanol et aqueux pour la suite de l'étude.

Suite à l'étude préliminaire, les plantes sélectionnées pour l'étude (*Shirakiopsis elliptica*, *Rumex abyssinicus*, *Nauclea pobeguini*, et *picralima nitida*) ont été préparées dans les systèmes solvants suivants : (chlorure de méthylène-méthanol (50 :50), eau-éthanol (80:20) eau-éthanol (50:50), eau (100), à la recherche du meilleur solvant d'extraction des principes actifs. Ainsi, après séchage à température ambiante en laboratoire, le matériel végétal était broyé et macéré pendant 72 heures dans différents solvants et systèmes solvants tel que décrit par le tableau VIII. Le mélange était agité quotidiennement et filtré au bout de trois jours de macération. Les filtrats d'extrait au système solvant Méthanol-chlorure de méthylène subissaient par la suite le même processus que les extraits au méthanol c'est-à-dire l'évaporation utilisant un évaporateur rotatif de type Büchner. Tandis les filtrats aqueux et hydroéthanoliques étaient séchés à l'étuve sous ventilation à 40°C jusqu'à évaporation complète des différents solvants. Après séchage complet des extraits bruts, tous les extraits ont été pesés et conservés dans boîtes fermées à -33°C jusqu'à sollicitation.

Tableau VIII : solvant, masses et volumes du matériel végétal

Materiel végétal N° de référence	Partie utilisée	Solvant/ système solvant	Masse macérée	Volume du solvant (mL)
(SE) <i>Shirakiopsis elliptica</i> 47266/HNC	Écorces	MeOH-CH ₂ Cl ₂ (1:1) (SEMC)	200g	400-400
		H ₂ O (SEE)	200g	800
		H ₂ O - EtOH (1:1) (SE1:1)	200g	400-400
		H ₂ O -EtOH (8:2) (SE8:2)	200g	600-200
(RA) <i>Rumex abyssinicus</i> 27239/SRF Cam	Écorces	MeOH-CH ₂ Cl ₂ (1:1) (RAMC)	100g	500
		H ₂ O (RAE)	200g	800
		H ₂ O - EtOH (1:1) (RA1:1)	200g	400-400
		H ₂ O -EtOH (8:2) (RA8:2)	200g	600-200
(PN) <i>Picralima nitida</i> 565411/HNC	Écorces	MeOH-CH ₂ Cl ₂ (1:1) (PNMC)	100g	400
		H ₂ O (PNE)	200g	800
		H ₂ O - EtOH (1:1) (PN1:1)	200g	400-400
		H ₂ O -EtOH (8:2) (PN 8:2)	200g	600-200
(NP) <i>Nauclea pobeguini</i>	Écorces	MeOH-CH ₂ Cl ₂ (1:1) (NPMC)	100g	250-250
		H ₂ O (NPE)	100g	500

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

	H ₂ O - EtOH (1:1) (NP1:1)	200g	400-400
504710/HNC	H ₂ O - EtOH (8:2) (NP8:2)	100g	400-100

SEMC: *Skirakiopsis elliptica* extrait méthanol- chlorure de méthylène (50-50), **SEE:** *Skirakiopsis elliptica* extrait aqueux, **SE1:1** *Skirakiopsis elliptica* extrait Hydro-ethanolic (50-50) ; **SE8:2:** *Skirakiopsis elliptica* extrait Hydro-ethanolic (80-20); **(RAMC)** *Rumex abyssinicus* extrait méthanol- chlorure de méthylène (50-50); **(RAE)** *Rumex abyssinicus* extrait aqueux; **(RA1:1)** *Rumex abyssinicus* extrait Hydro-ethanolic (50-50); **(RA8:2)** *Rumex abyssinicus* extrait Hydro-ethanolic (80-20); **(PNMC)** : *Picralima nitida* extrait méthanol- chlorure de méthylène (50-50) ; **(PNE):** *Picralima nitida* extrait aqueux; **(PN1:1):** *Picralima nitida* extrait Hydro-ethanolic (50-50); **(PN 8:2):** *Picralima nitida* extrait Hydro-ethanolic (80-20); **(NPMC):** *Nauclea pobeguini* extrait méthanol- chlorure de méthylène (50-50); **(NPE):** *Nauclea pobeguini* extrait aqueux; **(NP1:1):** *Nauclea pobeguini* extrait Hydro-ethanolic (50-50); **(NP8:2):** *Nauclea pobeguini* extrait Hydro-ethanolic (80-20);

II.2.2.3. Détermination des paramètres d'inhibitions antimicrobiens.

II.2.2.3.1. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

❖ Préparation des extraits

Les extraits étaient préparés dans le DMSO 10% pour constituer une concentration finale des solutions mères égales à 70,4mg/mL.

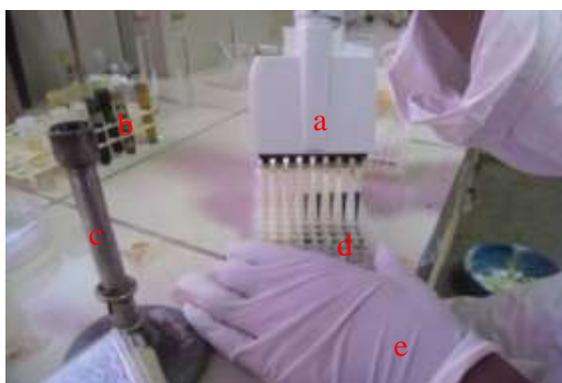
❖ Préparation de l'inoculum

Quelques colonies prélevées sur les boîtes vieilles de 24 H pour les bactéries et de 48 H pour les levures ont été introduites dans des tubes à essai transparents contenant 2 à 3 mL de NaCl 0,9% stérile. Le mélange a ensuite été homogénéisé au vortex, et comparé à la turbidité d'une solution standard de Mc Farland échelle 0,5 (DO compris entre 0,8 et 1,1) qui correspondait à une charge bactérienne sensiblement égale à 10⁸ UFC/mL, (Cheesborough, 2006 ; CLSI, 2014). Puis 100µL de cette solution a été transféré dans 9900µL d'eau distillée stérile pour constituer un inoculum à une charge microbienne de 10⁶UFC/ml pour les bactéries à Gram négatif et de 10⁵UFC/ml pour les bactéries à Gram positif et les levures (Assob, 2011).

❖ Procédure opérationnelle standard

Les CMIs ont été déterminées par la méthode de microdilution sur microplaque de 96 puits précédemment décrite par (Assob et al., 2011). Brièvement, 50 µL de milieu de culture (bouillon Muller hinton supplémenté du rouge phénol 0.005% et du glucose 5%) ont été introduit dans toutes les cupules de la microplaque. 50 µL des substances à tester ont été introduites en triplicate dans la première colonne de chaque ligne de la microplaque. Des dilutions successives de raison 1/2 ont ensuite été effectuées de la première à la deuxième colonne, et de la deuxième à la troisième ainsi de suite jusqu'à la onzième colonne où 50µL a été détruit. La douzième colonne servait de control et ne contenait de ce fait ni extrait ni antibiotique de référence. Enfin, 10µL de

la suspension microbienne a été introduite dans tous les puits test (CSLI, 2006). La gamme de concentration expérimentale des extraits s'étendait alors de 0,031mg/mL à 32mg/mL, tandis que chaque antibiotique possédait sa gamme de concentrations suivant les recommandations de la *Clinical laboratory standard institute* (CLSI, 2014) (voir tableau IX). Les plaques ont par la suite été incubées à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et pendant 48 heures pour les levures. La CMI a été visible à l'œil grâce au virage de coloration de l'indicateur coloré (rouge phénol) du rouge au rose pour les bactéries Gram négatif et au jaune pour les bactéries Gram + et les levures. La CMI est la plus petite concentration qui inhibe de façon visible la croissance des microorganismes.



a : micropipette multichannel
b : extrait de plante
c : bec de bunsen
d : microplaque
e : opérateur

Photographie 2 : méthode de microdilution (Tabouguia)

II.2.2.3.2. Détermination de des concentrations minimales microbicide (CMM) (Odeh and Anyiing, 2014)

La CMM a été déterminée par subculture sur gélose Muller Hinton des contenus de puits ayant une concentration supérieure ou égale à la CMI. Les boîtes ont été ensuite incubées pendant 24 à 48 H à 37°C. La CMM a été considérée comme la plus petite concentration d'extrait et d'antibiotique de référence à laquelle il n'y avait aucune croissance.

Le calcul des rapports CMB/CMI, CMF/CMI (CMM) a permis de déterminer l'activité intrinsèque des substances testées ainsi,

- $CMM/CMI \leq 2$: Substance microbicide
- CMM/CMI compris entre 4 et 16 : Substance microstatique
- $CMM/CMI > 16$: Substances tolérantes (Demoré et al., 2018).

II.2.2.3.3. Interprétation des résultats du potentiel antimicrobien des extraits de plantes

L'extrait était considéré comme ayant une forte activité si la CMI < 1 mg/mL ; modérément actif si $1 \leq \text{CMI} \leq 8 \text{ mg/mL}$, faible activité si CMI > 8 mg/mL. Toutes les plantes ayant présentées une CMI $\leq 8 \text{ mg/mL}$ sur la majorité des souches testées ont été sélectionnées pour la suite des investigations (Fabry *et al*, 1998).

Les CMI obtenus à cette phase nous ont servis de plateforme pour l'évaluation de l'effet potentialisateur des extraits bruts.

II.2.2.4. Screening phytochimique des différents extraits de plantes.

Le screening phytochimique a été effectué suivant les protocoles décrits par Trease et Evans (1983), avec de légères modifications.

II.2.2.4.1. Test des triterpènes et stérols (Test de Libermann –Burchard)

L'extrait de chacune des plantes a été dissout dans une solution de méthanol. À cette solution, a été ajoutée successivement de l'anhydride acétique et de l'acide sulfurique. La présence des triterpènes s'est manifestée par l'apparition de la couleur rouge violacée alors que la couleur bleu verdâtre indiquait celle des stérols.

II.2.4.2.2. Test pour le screening des alcaloïdes (test au réactif de Dragendorff) :

Les extraits ont été dissous dans le méthanol et déposés sur les plaques chromatographiques sur couche mince puis développés dans le système solvant hexane-acétate d'éthyle 20:80. La pulvérisation du réactif de Dragendorff fraîchement préparé dans une hôte a permis de mettre en évidence les alcaloïdes des extraits qui se manifestaient par une coloration jaune-orangée.

II.2.2.4.3. Test pour les saponines:

A environ 1 mL de solution méthanolique d'extrait, a été ajouté 1,5 mL d'eau distillée bouillante. Le mélange a ensuite été vigoureusement secoué pendant au moins 1 min. La présence d'une mousse persistante indiquait la présence des saponines.

II.2.2.4.4. Test pour les tanins (test au chlorure ferrique):

A une solution d'extrait méthanolique bien diluée a été ajouté 1 à 2 mL de chlorure ferrique FeCl₃ le changement de la coloration au bleu-noir indiquait la présence des tanins.

II.2.2.4.5. Test pour les flavonoïdes (Test à la cyanidine) :

A 1mL de solution méthanolique d'extrait a été ajouté quelques copeaux de magnésium puis, quelques gouttes d'acide chloridrique concentré. La réaction effervescente et la coloration rouge caractérisait la présence des flavonoïdes.

Tableau IX : Gamme de concentrations des extraits et antibiotiques à tester sur chaque microplaque

	Gamme de concentrations des produits à tester dans les puits au niveau de chaque colonne											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Extraits (mg/mL)	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,062	0,031	-
Bactrim (µg/mL)	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	-
Chloramphénicol (µg/mL)	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	-
Cipro (µg/mL)	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	-
Norflo (µg/mL)	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	-
Doxycycline (µg/mL)	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	-
Amoxy (µg/mL)	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	-
Ceftriaxone (µg/mL)	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	-
Erythromycine (µg/mL)	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	-

Au terme du criblage antimicrobien, seuls les extraits ayant présentés les meilleures activités pour chaque plante étudiée ont été recrutées pour l'étape suivante. Cette étape consistait à évaluer la capacité de ces extraits, à potentialiser l'activité des antibiotiques conventionnels couramment prescrits pour le traitement des IUGs.

II.2.3. Evaluation du pouvoir potentialisateur des extraits les plus actifs sur les antibiotiques conventionnels contre des germes multirésistants à infections urogénitales.

II.2.3.1. Choix des antibiotiques

Les antibiotiques ont été sélectionnés suite aux antibiogrammes conduits suivant le protocole de Kirby Bauer (1966) qui nous a permis de ne choisir que les antibiotiques vis-à-vis des quels les microorganismes étaient résistants. Ces antimicrobiens font par ailleurs partie de ceux régulièrement prescrits dans les formations sanitaires pour le traitement d'IUG. Ainsi, 8 antibiotiques inactifs vis-à-vis des souches étudiées ont été sélectionnés pour l'étude du pouvoir potentialisateur des extraits.

Tableau X : antibiotiques sélectionnés pour l'étude de l'effet potentialisateur des extraits actifs

Classe d'antibiotique	Bactéries Gram négatif et positif
Triméthoprim/sulfonamide	Bactrim
Phénicolés	Chloramphénicol
Quinolones	Ciprofloxacine Norfloxacine
Betalactamines	Amoxicilline Ceftriazone
Cyclines	Doxycycline
Macrolide	Erythromycine*

*antibiotique appliqué aux gram + seuls

II.2.3.2. Microorganismes testés

Cette partie de l'étude a été menée sur les microorganismes suivants : *Mc1 coli*, *Mc9*, *Mc13*, *Mc11*, tous isolés des voies urinaires et/ou génitales des patients reçus à l'hôpital et présentant une dysurie, des démangeaisons, des douleurs abdominales basses, de la fièvre, ou les leucorrhées ou autres symptômes liés aux infections urogénitales ; et donc les médecins avaient requis un antibiogramme. Excepté la souche de référence *Staphylococcus aureus RN4220*, qui provenait de BEI ressources, NIAID, NIH, Manassas USA.

❖ Repiquages des souches

Quelques colonies de la souche à tester ont été mises en suspension dans 500µL de bouillon nutritif contenu dans des tubes épendorf et la suspension était mixée au vortex puis ensemencée par strie sur gélose nutritive.

❖ Préparation des différentes concentrations

Les produits à combiner (extraits et antibiotiques) étaient préparés à une concentration stock égale à 8,8 MIC.

II.2.3.3. Etude de l'interaction extrait-antibiotique, méthode Checkerboard : Procédure opérationnelle standard

50µL de milieu de culture (le bouillon Muller Hinton a été introduit dans chaque puits de la microplaque principale (plaque test). Ensuite 50µL du produit A (antibiotique) de la combinaison a été introduit dans la première colonne de cette plaque excepté le puits A1. Des dilutions géométriques successives de raison 2 ont ensuite été effectuées de la 1^{ère} à la 10^{ème} Colonne de la microplaque excepté la ligne A. Un aliquot de 50µL issu des 10^{èmes} puits a été détruit. Parallèlement une deuxième plaque (plaque secondaire) a servi à la préparation des dilutions du produit B (Extrait brut). Cette plaque a été remplie d'environ 200µL de milieu de culture, puis 200µL du produit B a ensuite été introduit dans la 1^{ère} ligne de cette plaque excepté le puits A1 et des dilutions successives de raison 2 ont été réalisées de la 1^{ère} ligne (ligne A) à la ligne 6^{ème} ligne (ligne F) excepté la colonne 1. Après préparation des différentes dilutions du produit B sur la plaque secondaire, 50µL du produit était alors pipetée et introduit dans le puits correspondant sur la plaque test. Par la suite, 10µL de la suspension microbienne de charge égale à 10⁶ UFC/mL pour les bactéries Gram négatif et de 10⁵ UFC/mL pour les bactéries Gram positif a été introduit dans chaque ligne test de la microplaque excepté la ligne H qui a servi de control négatif pour le produit A et la colonne 12 qui a servi de control négatif pour le produit B. La plaque préparée était alors légèrement agitée et incubée en aérobie à 37°C pendant 24h. Après incubation, la ligne G donnait la CMI pour le produit A seul, tandis que la colonne 11 donnait la CMI du produit B seul, le puits A1 était le blanc (milieu + microorganismes) et le reste des puits donnaient les CMI des produits en combinaisons (Van Vuuren et Viljoen, 2011) (voir figure10).

La CMI est la plus petite concentration à laquelle il n'y a aucune croissance microbienne visible à l'œil nu, qui ici s'est matérialisée par le changement de la coloration ou de l'aspect des

puits test, en comparaison aux puits control ne contenant que le milieu de culture et le produit à tester.

Ces CMI nous ont permis de calculer les différents Indices de Concentrations Inhibitrice Fractionnelle (*Fractional Inhibition Concentration Index* : FICI) suivant la formule de (Berenbaum, 1978).

$$FICI = FIC_A + FIC_B$$

Avec :

$$FIC_A = \frac{\text{CMI de la fraction A dans la combinaison}}{\text{CMI de la fraction A seule}}$$

$$FIC_B = \frac{\text{CMI de la fraction B dans la combinaison}}{\text{CMI de la fraction B seule}}$$

La détermination de l'effet potentialisateur s'est faite par le moyen de la méthode algébrique selon laquelle l'interaction est déterminée par interprétation de la valeur obtenue en faisant la moyenne des FICI.

Ainsi, $FICI \leq 0,5$ synergie ; $0,5 > FICI \leq 1$ additivité ; $1 > FICI \leq 4$ indifférence ; $FICI > 4$ antagonisme.

Au terme de ces différentes étapes, nous avons entrepris d'évaluer l'effet thérapeutique des extraits actifs *in vivo* sur un modèle de souris Balb/c.

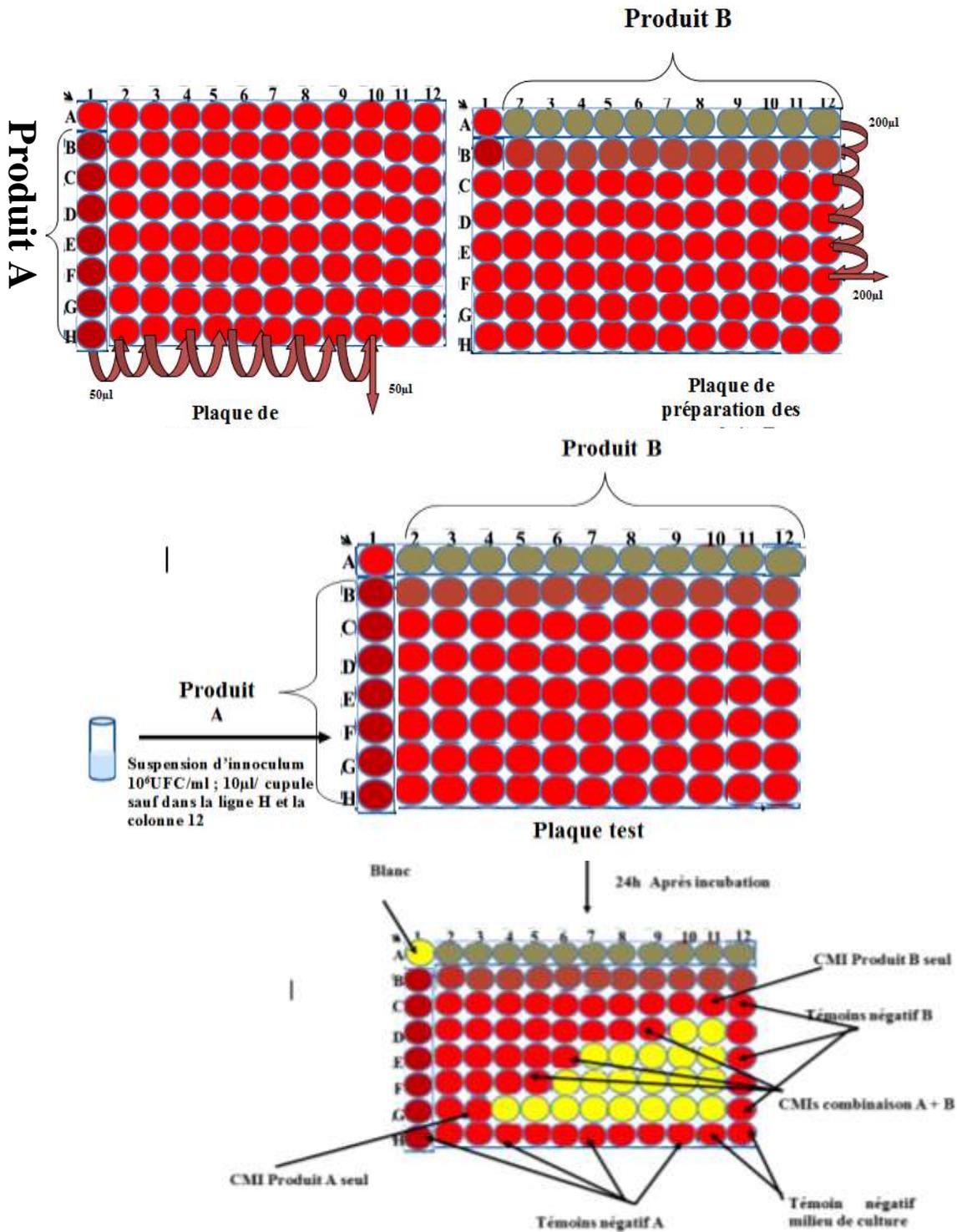


Figure 10 : méthode de Checkerboard pour l'étude d'interaction (Tabouguia)
 ● Croissance microbienne visible Pas ● croissance microbienne

II.2.4. Evaluation de l'effet thérapeutique *in vivo* des extraits actifs chez les souris infectées.

L'infection urinaire a été induite chez les souris albinos de la souche Balb/c et divers traitements issus des extraits de plantes leur ont été administrés puis les souris ont été suivies pour évaluer l'effet thérapeutique *in vivo* des extraits de plantes.

II.2.4.1. Extraits bruts et antibiotique de référence.

Les extraits sélectionnés pour évaluation de l'activité *in vivo* étaient les extraits de chaque plante pour laquelle on avait la meilleure activité *in vitro* (CMI la plus basse). Il s'est agi de l'extrait aqueux de *Shirakiosis elliptica* (SEE), de l'extrait aqueux de *Rumex abyssinicus* (RAE) et de l'extrait aqueux de *Nauclea pobeguinii* (NPE). Les extraits ont été préparés à trois doses différentes : 400mg/kg, 200mg/kg, 100 mg/kg ((Mesia et al, 2010 ; Mekonnen et al 2010; Njouendou et al, 2014); l'antibiotique de référence était la ciprofloxacine 500mg antibiotique de choix pour le traitement des infections urinaires. La ciprofloxacine était préparée à une dose adulte de 1000mg/70kg.

II.2.4.2. Souche bactérienne

La souche bactérienne utilisée pour induire l'infection urinaire était une souche uropathogénique *E.coli KTE181*, provenant de l'institut BEI ressources, NIAID, NIH, Manassas USA.

II.2.4.3. Animaux de l'expérience

Les 53 jeunes souris femelles réparties en lots de dont le poids variait entre 10,4 et 12g ont été sélectionnées (Tsuji et al., 2003). Les souris ont ensuite été acclimatées dans des cages stériles pendant 15 jours. La température ambiante a été maintenue à 25 ° C et une photopériode de 12 h a été observée. Pour remplir les conditions expérimentales, les souris ont été alimentées suivant un régime de rongeurs de laboratoire standard. L'aliment et l'eau ont préalablement été autoclavés et refroidis avant leur administration à l'animal *ad libitum*. Les souris ont cependant été privées d'eau pendant une durée de 20-24 heures (Tsuji et al., 2003) et de nourriture 3h avant le début de l'expérience.

II.2.4.4. Anesthésie

Avant le processus d'inoculation, les souris ont été anesthésiées à la kétamine à une dose de 100mg/kg par voie intrapéritonéale.

II.2.4.5. Préparation d'inoculum (Hvidberg, 2000)

Le premier jour, la souche d'*E. coli* KTE 181 uropathogénique a été Ensemencée par la méthode de strie (pour obtenir des colonies isolées) sur l'agar mackonkey fraîchement préparé et incubé à 37°C pendant la nuit. Le jour suivant, une colonie issue de cette culture a été introduite dans 5mL d'urine stérile humain filtrée contenu dans des tubes de 12mL. L'ensemble a été incubé aérobiquement sous agitation permanente (150tr/min) pendant 24 heures. Puis 10µL de cette suspension a été transféré dans 4990µL de fraîches urines stériles et incubé sous agitation (150tr/min) pendant 24 heures. Le quatrième, jour, les suspensions microbiennes ont été centrifugées à une vitesse de 1500tr/min. le culot a alors été resuspendu dans 100mL de tampon phosphate stérilisé (PBS). La densité optique de l'inoculum a été ajustée entre 0,7 et 0,8 à 600nm pour une charge microbienne $\approx 1-2 \times 10^8$ UFC/mL. L'inoculum a ensuite été concentré pour constitué 1mL de charge microbienne sensiblement égale à 10^{10} UFC/mL.

II.2.4.6. Induction de l'infection urinaire

Les souris ont été infectées transurétralement par cathétérisation suivant le modèle décrit par la *National Institute of Health* (Hung et al, 2009) avec quelques modifications. Une quantité d'inoculum suffisante à l'infection de souris était prélevée dans une seringue d'1mL. Après nettoyage de la pilosité de la souris autour de l'urètre et expulsion de l'excès d'urine par petite massage de la vessie, le cathéter monté à la seringue stérile était immergé dans un lubrifiant (glycérol stérile), et inséré dans l'urètre de la souris allongé sur le dos de façon à atteindre la vessie (1-1,2cm de l'orifice urétral). Une fois le cathéter inséré, le piston de la seringue était lentement poussé pour déposer 50 µL d'inoculum ($\sim 10\mu\text{L} / \text{s}$) dans la vessie de la souris puis le cathéter était lentement retirée et la souris placée dans la cage. Après infection des animaux, elles étaient observées pendant 30 minutes et la nourriture et l'eau leur ont été retournées. L'infection se manifestait par une culture positive des urines issues de l'animal chez lequel l'infection était induite. Seuls les animaux chez qui l'infection persistait pendant 3 jours consécutifs étaient considérés comme étant effectivement malades

II.2.4.7. Administration de traitements.

Randomisation des animaux

Après avoir pesé les animaux d'expérimentation, ceux-ci étaient randomisés selon leur poids en 12 lots de 4 animaux chacun, traités comme suit :

- ✓ Témoin normal : lot d'animaux sains recevant de l'eau distillée à la dose de 1mL/kg ;
- ✓ Témoin positif : lot d'animaux recevant la ciprofloxacine à la dose de 17 mg/kg;
- ✓ Témoin négatif : lot d'animaux infecté recevant de l'eau distillée à la dose de 1mL/kg ;
- ✓ 9 (neuf) Lots tests : lots d'animaux traités à différentes doses d'extraits de plante respectives de 100, 200 et 400mg/kg. Les doses d'extraits administrés étaient choisies à sur la base des études précédentes sur la toxicité des différents extraits ((Mesia et al, 2010 ; Mekonnen et al 2010; Njouendou et al, 2014) .

Le tableau XI décrit les différents lots d'animaux, les doses et traitements administrés. Chaque animal recevait 1ml de la dose expérimentale. Les traitements étaient administrés suivant les informations que donne le tableau XI tous les jours par intubation gastrique en dose unique journalière pendant 10 jours consécutifs. Après administration des produits, les animaux étaient ensuite maintenus à la température ambiante (25 °C) à la lumière naturelle et l'aliment standard pour animaux et l'eau stérile étaient fournis *ad libitum*.

Le schéma expérimental est détaillé à l'annexe VIII de ce document.

Tableau XI: Différents traitements et doses à administrer

Traitement	Doses (mg/kg)	Groupe d'animaux
SEE	400	A
	200	B
	100	C
RAE	400	D
	200	E
	100	F
NPE	400	G
	200	H
	100	I
Ciprofloxacine	17	J (control positif)
Eau distillée stérile	1mL	L (control négatif)
Eau distillée stérile	1ml	K(témoin normal)

SEE : *Shirakiosis elliptica* extrait aqueux ; RAE *Rumex abyssinicus* extrait aqueux ; NPE *Nauclea pobeguinii* extrait aqueux.

I.2.4.8. Collecte des urines et culture : Détermination de la charge bactérienne dans les urines.

Des échantillons d'urine étaient prélevés tous les jours avant administration des produits pendant la période de traitement, suivant la procédure suivante : la souris était attrapé fermement par le dos et retourné de sorte d'avoir les pattes vers le haut. Avec l'autre main, la pilosité autour de l'orifice urinaire de la souris était nettoyé avec de l'alcool 70%, et un volume standard d'urine de 30µL était prélevé à l'aide d'une micropipette et introduit dans un volume de 300µL de PBS. Lorsque le volume d'urine prélevé était inférieur ou supérieur au volume standard, cette différence était prise en considération lors du calcul de la charge bactérienne. Les échantillons prélevés étaient alors transportés dans la salle de culture où 100µL de chaque échantillon a étéensemencé sur l'agar mackonkey, les colonies roses d'*E. coli* KTE181 étaient identifiées et comptées sur les boîtes de pétri après 24 heures d'incubation à 37°C, ce qui nous permettait de déterminer la charge bactérienne dans les spécimens.

II.2.4.9. Variation de la charge bactérienne et détermination du taux d'élimination des bactéries.

La différence entre la charge bactérienne dans les urines de chaque animal au début et à la fin de l'expérience, nous a permis de déterminer la variation de la charge bactérienne (Δ charge Bactérienne) au cours de l'expérience. Ensuite, grâce à la variation de la charge bactérienne il nous a été possible de déterminer le taux d'élimination de l'infection suivant les formules :

Δ Charge Bactérienne = charge bactérienne (Début (J3)) – charge bactérienne (fin (J14))

$$\text{Taux d'élimination des bactéries} = \frac{\Delta \text{charge Bactérienne}}{\text{charge bactérienne (max)}} \times 100$$

II.2.4.10. La morbidité/mortalité de l'infection.

En ce qui concerne l'évaluation de la morbidité et de la mortalité de l'infection urinaire chez les souris, tout changement expérimental a été enregistré après induction de l'infection urinaire, de même qu'après administration des divers traitements notamment le poids, la quantité d'aliment ingéré, la quantité d'eau ingérée, la démarche, la pilosité, les signes de fatigue chez l'animal. Le pourcentage de gain de poids des animaux au cours de l'expérience des différents groupes expérimentaux (témoins normaux, témoins négatifs, témoins positifs et animaux test) a été déterminé suivant la formule :

$$\text{Pourcentage de gain de poids} = \frac{\Delta \text{poids}}{\text{poids (Jour1)}} \times 100$$

II.2.5. Analyses statistiques

Les résultats ont été entrés à l'aide du logiciel Microsoft Excel 2010, et exprimés sous forme de moyenne \pm Erreur Standard sur la Moyenne (ESM). Les comparaisons des données entre les différents groupes ont été réalisées à l'aide du test One-way ANOVA (Analysis Of Variance) suivi du post test de comparaison multiple de Tukey, grâce au logiciel logiciel GraphPad Prism version 7.00 (GraphPad Software, San Diego, California, USA). La différence a été considérée significative pour $p < 0,05$.

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Résultats

III.1.1. Screening les germes multirésistants à infections urogénitales

III.1.1.1. Obtention des isolats cliniques multirésistants responsable des IUG.

III.1.1.1.1. Recensement des antimicrobiens couramment prescrits contre les IUG.

La synthèse des informations entre les antibiotiques proposés par les médecins ainsi que les prix attribués par le pharmacien, nous a permis d'en déduire la liste des médicaments suivants : groupe 1 : antibactériens (norfloxacine, ciprofloxacine, ceftriaxone, céfotaxime, doxycycline, bactrim, amoxiciline, amoxiciline + acide clavunilique, erythromycine) ; groupe 2 : antiprotozoaire (métronidazol) ; groupe 3 : antifongiques (nystatine, fluconazole, griseofluline, kétoconazole, amphotéricine b).

III.1.1.1.2. Souches cliniques

Durant la phase clinique, nous avons collecté 16 échantillons pendant une période de 45 jours. Ces spécimens provenaient essentiellement, du laboratoire de 'Solidarity clinic Buea', du laboratoire de 'St Albert clinic Buea' et du laboratoire de l'hôpital Laquintinie de Douala. Parmi ces spécimens, 9 étaient d'urine et 7 étaient des prélèvements vaginaux. Les annexes III et IV présentent les résultats de la caractérisation biochimique des microorganismes, ainsi que de leur identification présomptive. L'annexe V présente le guide d'interprétation et de caractérisation des levures *integral yeast system plus*. Au terme de cette phase de l'étude, nous avons caractérisés 9 microorganismes dont 4 bactéries Gram négatif, une Bactérie Gram positif, et 4 levures, présentés dans le tableau XII suivant.

Tableau XII: Microorganismes caractérisés

Classe	code	Microorganisme correspondant
Bactéries gram -	Mc1	<i>Eschérichia coli</i>
	Mc2	<i>Proteus vulgaris</i>
	Mc9	<i>Providencia stuartii</i>
	Mc13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Bactérie gram +	Mc11	<i>Staphylococcus Saprophyticus</i>
Levures	Yeast 1	<i>Candida albicans</i>
	Yeast 2	<i>Candida krusei</i>
	Yeast 3	<i>Candida famata</i>
	Yeast 4	<i>Cryptococcus laurentii</i>

La présence de cette variété de microorganismes dans les échantillons analysés témoigne de la diversité des microorganismes qui colonisent l'appareil urogénital.

II.1.1.1.3. Résultats de l'antibiogramme

Les microorganismes caractérisés ont été soumis à un antibiogramme pour les bactéries et un antifongogramme pour les levures. Les tableaux XIII et XIV présentent les résultats obtenus pour les bactéries et les levures respectivement. Ces résultats démontrent que toutes les souches bactériennes testées étaient résistantes vis-à-vis d'au moins 6 des 11 antibiotiques testés montrant ainsi le caractère multirésistant des microorganismes isolés (EUCAST, 2014 ; CLSI, 2014). *Providencia stuartii* était la souche la plus résistante suivie de *Pseudomonas aeruginosa* avec une résistance vis-à-vis de dix et de neuf des onze antibiotiques testés respectivement. En ce qui concerne les levures, chacune d'elle a présenté des résistances vis-à-vis d'au moins un des quatre antifongiques testés. *Candida. famata* est l'espèce la plus résistante (NCCLS, 2008).

Tableau XIII: Résultats de l'antibiogramme des bactéries (Gram – et Gram +) prélevées chez les patients fréquentant les hopitaux de Buea et de Laquintinie (EUCAST, 2014 ; CLSI 2014)

Antibiotiques	<i>Eschérichia coli</i>		<i>Providencia stuartii</i>		<i>Proteus vulgaris</i>	
CIP 30 R<19 ; I :19-21 ; S≥22	0.0±0.0	R	20.0±0.7	I	25.5±2.8	S
AMC 30 R<16 ; S≥16	12.8±2.5	R	0.0±0.0	R	28.3±2.9	S
C : R<17 ; S≥17	23.0±0.0	S	0.0±0.0	R	0.0±0.0	R
CRO 30 : R<20 ; I :20-22 ; S≥23	20.0±0.0	I	0.0±0.0	R	26.0±0.0	S
CN 120 : R<14 ; I :14-16 ; S≥17	21.0±0.0	S	0.0±0.0	R	20.0±0.0	S
CTX 30 :R<17 ; I :17-19 ; S≥20	21.0±1.4	S	11.0±1.4	R	31.3±1.2	S
D0 30 : R≤14 ; I :15-18 ; S≥19	0.0±0.0	R	0.0±0.0	R	0.0±0.0	R
E 15 :R≤13 ; I :14-22 ; S≥23	10.8±1.9	R	0.0±0.0	R	0.0±0.0	R
NOR 10 : R<19 ; I :20-21 ; S≥22	0.0±0.0	R	9.5±0.7	R	13.3±1.1	R
TE 30 : R≤14 ; I :15-18 ; S≥19	0.0±0.0	R	0.0±0.0	R	0.0±0.0	R
TMP 5 : R≤10 ; I :11-15 ; S≥16	19.0±1.4	S	0.0±0.0	R	0.0±0.0	R
	6R		10R		7R	

Les valeurs sont les moyennes ±écartypes.(-) = non testé, CIP 30 : Ciprogloxacine, NOR 10 : Norfloxacin, CRO 30: Ceftriaxone, CTX 30 : Cefotaxime, DO 30 : Doxycycline, TE 30 :Tétracycline, TMP 5 : , E 15 : Erytromycine, AMC 30 : Amoxicilin + acide clavunilique, CN120 : Gentamicine, C : Chloramphénicole ; S : sensible, I : Intermédiaire, R : Résistant.

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

Tableau XIII (suite)

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			<i>Staphylococcus saprophiticus</i>		
Antibiotiques (Guide d'interprétation)			Antibiotiques (Guide d'interprétation)		
CIP 30 R<22 ; I :22-24 S≥25	30.0±0.0	S	CIP 30 R<20; S≥20	10.0±0.0	R
AMC 30 R<16 ; S≥16	0.0±0.0	R	AMC 30 R<16 ; S≥16	19.0±1.4	S
C : R<17 ; S≥17	10.0±0.0	R	C : R<13 ; I: 13-17; S≥18	10.0±0.0	R
CRO 30 : R<20 ; I :20-22 ; S≥23	0.0±0.0	R	CRO 30 : R<20 ; I :20-22 ; S≥23	0.0±0.0	R
CN 120 : : R<15 ; S≥15	23.0±0.0	S	CN 120 : R<22 ; S≥22	20.0±0.0	R
CTX 30 :R<13 ; I :14-22 ; S≥23	0.0±0.0	R	CTX 30 :R<17 ; I :17-19 ; S≥20	12.5±1.7	R
D0 30 : R<13 ; I :14-18 ; S≥19	0.0±0.0	R	D0 30 : R<13 ; I :13-15; S≥16	18.7±2.3	S
E 15 :R≤13 ; I :14-22 ; S≥23	0.0±0.0	R	E 15 :R<18 ; I :18-20; S≥21	21.0±1.4	I
NOR 10 : R<13 ; I :13-16 ; S≥17	12.7±0.6	R	NOR 10 : R<17 ; S≥17	0.0±0.0	R
TE 30 : R<13 ; I :14-18 ; S≥19	0.0±0.0	R	TE 30 : R<19 ; I :19-21; S≥22	17.3±3.1	R
TMP 5 : R<9 ; I :10-15 ; S≥16	0.0±0.0	R	TMP 5 : R<11 ; I :11-15 ; S≥16	0.0±0.0	R
	9R			8R	

Tableau XIV: Résultats de l'antifongigramme des levures prélevées chez les patients (NCCLS, 2008)

Antifongique	<i>Candida Krusei</i>	<i>Candida. Albicans</i>	<i>Candida. Famata</i>	<i>Cryptococcus laurentii</i>
FLU 100 R≤14 ; I :15-18 ; S≥19	23.5±2.1	S	15.6±0.4	I
GRS 10 R<10; S≥10	0.0±0.0	R	0.0±0.0	R
KTC 10 R≤20 ; I :21-27 ; S≥28	31.0±1.4	S	21.1±0.3	I
NY 100 R≤9 ; I :10-14 ; S≥15	15.5±0.7	I	0.0±0.0	R

Les valeurs sont les moyennes ±écartypes NY 100 : Nystatine, FLU 100 : Fluconazole, GRS10 : Griseofluvin, KTC 10 : Kétoconazole, S : sensible, I : Intermédiaire, R : Résistant.

III.1.2. Paramètres antimicrobiens des extraits aqueux, méthanolique et hydroéthanoliques des plantes sélectionnées (*Shirakiopsis elliptica*, *Rumex abyssinicus*, *Nauclea pobeguini*, et *Picralima nitida*), contre les germes caractérisés.

III.1.2.1. Potentiel antimicrobien

Les plantes sélectionnées (*Shirakiopsis elliptica*, *Rumex abyssinicus*, *Nauclea pobeguini* et *Picralima nitida*) ont été macérées dans divers solvants et systèmes solvants et le potentiel antimicrobien des différents extraits obtenus (essentiellement aqueux, hydroéthanolique, MeOH-CH₂Cl₂, et méthanolique) a été déterminé. La méthode de microdilution a permis de mener à bien cette évaluation. Le potentiel antimicrobien de différents extraits obtenus (essentiellement aqueux, hydroéthanolique, MeOH-CH₂Cl₂, et méthanolique) de quatre plantes de la pharmacopée camerounaise utilisées dans le traitement des infections urogénitales (*Shirakiopsis elliptica*, *Rumex abyssinicus*, *Nauclea pobeguini* et *Picralima nitida*) a été évalué contre 12 espèces microbiennes dont six espèces bactériennes Gram négatif dont deux de références, 2 espèces bactériennes Gram positif, dont une de référence, et 4 espèces de levures. Chacun des extraits suivants (Méthanolique (100%), méthanol-chlorure de méthylène (50-50), aqueux (100), hydroéthanolique (50-50 et 80-20) cinq extraits pour chacune des plantes sélectionnées ont été testés. Le tableau XV présente les résultats obtenus. Il ressort de ce tableau les informations suivantes. Concernant les extraits issus de *Shirakiopsis elliptica*, les cinq extraits testés (SEM, SEMC, SE 50-50, SE80-20, SEE) ont démontrés un fort potentiel antimicrobien vis-à-vis de 5 des 8 espèces bactériennes testées avec les CMI ≤ 1 mg/mL (Fabry et al, 1998). Il faut également noter que les CMB obtenues pour tous les extraits issus de cette plante étaient toutes égales à la CMI, signifiant que l'activité antimicrobienne déployée ici était bactéricide (CMM/CMI ≤ 4) (Demoré et al, 2018). L'activité a été modérée pour le reste de bactéries sauf pour *E. coli* KTE181 pour lequel l'activité était faible pour SEM et SEMC. Une activité modérée (CMI ≤ 4 mg/mL) a également été observée pour les extraits SEM et SEMC sur l'ensemble des espèces de levures testées. Par contre, aucune activité n'a été observée avec le reste des extraits sur les levures pour lesquels les CMI observées étaient toutes supérieures à 8 mg/mL concentration maximale expérimentale pour les levures. Il est aussi important de noter que

l'extrait SEE s'est révélé comme étant très intéressante puisqu'il a déployé une CMI $\leq 0,5$ mg/mL sur l'ensemble des souches bactériennes testées.

En ce qui concerne les extraits issus de *Rumex abyssinicus*, l'extrait à l'eau RAE est également l'unique extrait ayant démontré une activité modérée sur l'ensemble des 8 souches bactériennes testées soit sur 100% des ces souches (Fabry et al, 1998). Pour le reste, l'activité a été modérée sur au plus 6/8 souches bactérienne et faible sur les deux autres (CMI > 8mg/mL) (Fabry et al, 1998). Seuls les extraits RAM et RAMC ont été actifs sur au plus 2 des 4 souches de levures testées. L'activité observée était modérée. Mais aucune activité n'a été observée pour le reste des extraits. Notons également que le rapport CMM/CMI pour tous les extraits était inférieur ou égale à 4, signifiant une activité bactéricide (Demoré et al., 2018).

Pour ce qui est des extraits issus de *Picralima nitida*, en comparaison avec l'extrait à l'eau issu de *Rumex abyssinicus* (RAE) et *Shirakiopsis elliptica* (SEE), l'extrait à l'eau (PNE) a démontré une activité faible sur l'ensemble des bactéries Gram - (CMI=32mg/mL) et une activité modérée sur les bactéries Gram +. Aucune activité n'a été observée sur les levures. Il se révèle ainsi comme étant l'extrait le moins efficace. L'extrait au méthanol PNM par contre a présenté une activité modérée (CMI = 8 mg/mL) sur 4 des 6 bactéries Gram – et l'activité a été faible pour les deux autres. Une forte activité a cependant été observée sur les bactéries Gram+. Une activité modérée a également été observé sur l'ensemble des levures testées (CMI ≤ 4 mg/mL)

Pour les extraits issus de *Nauclea pobeguinii*, l'extrait aqueux s'est également distinguée des autres extraits en présentant un pouvoir antimicrobien modéré vis-à-vis de l'ensemble des espèces bactériennes testées bien qu'il n'y ait cependant pas d'activité sur l'ensemble des levures (Fabry et al, 1998).

De façon générale, seuls les extraits ayant présentés la meilleure activité c'est-à-dire la plus faible concentration minimale inhibitrice (CMI), contre le chaque microorganisme était recruté pour l'étude des interactions avec les antibiotiques conventionnels. Le tableau XVII résume pour chaque microorganisme, l'extrait ayant présenté la meilleure activité.

En ce qui concerne les CMI des antibiotiques que présentent le tableau XV, les valeurs obtenues pour la plupart correspondaient, selon les valeurs données par la CLSI (2014) pour les

entérobactéries, à des valeurs auxquelles les microorganismes étaient résistants. Ce tableau de CMI a servi pour la détermination de l'effet potentialisateur des extraits sur les antibiotiques conventionnels.

III.1.2.2. Analyses phytochimiques des extraits aqueux, méthanolique et hydroéthanoliques des plantes sélectionnées (*Shirakiopsis elliptica*, *Rumex abyssinicus*, *Nauclea pobeguini*, et *Picralima nitida*)

Le tableau XVI présente les résultats des tests qualitatifs phytochimiques des extraits aqueux, méthanolique et hydroéthanoliques des plantes sélectionnées.

Il ressort de ce tableau que chaque extrait testé contient au moins deux classes de métabolites secondaires bioactifs. Les alcaloïdes sont présents dans tous les extraits exceptés dans les extraits hydro-éthanoliques (80-20) et aqueux de *Nauclea pobeguini*. On note également la présence des tanins, des Terpénoïdes, des stéroïdes et des saponines dans la plupart des extraits. Par contre les flavonoïdes ne sont présents que dans tous les extraits issues de *Rumex abyssinicus* et dans trois autres extraits SEM, PNM et NPM tous extraits méthanoliques. Cette observation fait ressortir le fait que tous les extraits au méthanol de toutes les plantes contiennent des flavonoïdes. Par ailleurs, en dehors des extraits SEMC et PNMC, qui ne contiennent que deux composés bioactifs testés, tous les autres extraits contiennent au moins trois composés bioactifs avec plus de la moitié des extraits en contenant quatre. Pour le reste, *Picralima nitida* au méthanol (PNM) et *Picralima nitida* au méthanol-chlorure de méthylène (PNMC), *Rumex abyssinicus* au méthanol (RAM) et *Rumex abyssinicus* méthanol-chlorure de méthylène (RAMC), *Shirakiopsis elliptica* au méthanol (SEM) et *Shirakiopsis elliptica* méthanol-chlorure de méthylène (SEMC), les groupes chimiques absents dans les extraits méthanol-chlorure de méthylène (PNMC, RAMC, SEMC), sont tous présents dans les extraits méthanolique correspondant (PNM, RAM, SEM). Cette observation signifierait que pour ces plantes, ces groupes phytochimiques sont plus solubles dans le méthanol que dans le système solvant Méthanol-Chlorure de méthylène.

D'une façon générale, on peut noter que pour une même partie de plante, le type de solvant ou le système solvant utilisé influence grandement la composition phytochimique de l'extrait.

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

Tableau XV : CMI, CMM (mg/ml) et rapports CMM/CMI des extraits bruts contre les germes

		<i>P. V</i>	<i>P. S</i>	<i>P. A</i>	<i>E. C</i>	<i>E.C XL1B</i>	<i>E.C. KTE18 I</i>	<i>S. sa</i>	<i>S.aureus RN4220</i>	<i>C. albicans1</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C.famata</i>	<i>C.laurentii</i>
SEM	CMI	0,25	0,5	1	2	0,5	16	1	0,5	2	1	0,5	0,5
	CMM	0,25	0,5	1	2	0,5	32	1	0,5	2	2	1	0,5
	CMM/CMI	1	1	1	1	1	2	1	1	1	2	2	1
SEMC	CMI	0,25	0,5	2	2	0,5	32	1	0,5	4	2	1	1
	CMM	0,25	0,5	4	4	1	32	1	1	4	4	1	1
	CMM/CMI	1	1	2	2	2	1	1	2	1	2	1	1
SE 1:1	CMI	0,12	0,25	1	1	0,5	2	0,12	0,5	8	>8	>8	>8
	CMM	0,12	0,25	1	1	0,5	2	0,12	0,5	>8	>8	>8	>8
	CMM/CMI	1	1	1	1	1	1	1	1	ND	ND	ND	ND
SE 8:2	CMI	0,25	0,25	1	1	0,5	2	0,25	0,5	>8	>8	>8	>8
	CMM	0,25	0,5	1	1	0,5	2	0,25	0,5	>8	>8	>8	>8
	CMM/CMI	1	2	1	1	1	1	1	1	ND	ND	ND	ND
SEE	CMI	0,25	0,25	0,5	1	0,5	2	0,25	0,5	>8	8	>8	>8
	CMM	0,25	0,25	0,5	1	0,5	2	0,5	0,5	>8	>8	>8	>8
	CMM/CMI	1	1	1	1	1	1	2	1	ND	ND	ND	ND
RAM	CMI	1	2	8	32	0,5	32	0,25	0,25	8	>8	4	>8
	CMM	4	2	8	64	2	32	0,5	0,5	>8	>8	8	>8
	CMM/CMI	4	1	1	2	4	1	2	2	ND	ND	2	ND
RAMC	CMI	2	2	16	32	1	4	0,25	0,25	8	8	>8	>8
	CMM	4	2	16	64	2	32	0,25	0,5	>8	>8	>8	>8
	CMM/CMI	2	1	1	2	2	8	1	2	ND	ND	ND	ND
RA1:1	CMI	2	2	16	32	2	16	0,25	0,5	>8	>8	>8	>8
	CMM	4	2	16	32	4	32	0,5	0,5	>8	>8	>8	>8
	CMM/CMI	2	1	1	1	2	2	2	1	ND	ND	ND	ND
RA8:2	CMI	4	2	16	>32	1	16	0,5	1	>8	>8	>8	>8
	CMM	4	2	32	>32	2	32	0,5	1	>8	>8	>8	>8
	CMM/CMI	1	1	2	ND	2	2	1	1	ND	ND	ND	ND
RAE	CMI	2	1	4	2	1	16	0,5	1	>8	>8	>8	>8
	CMM	2	1	4	4	1	32	0,5	1	>8	>8	>8	>8
	CMM/CMI	1	1	1	2	1	2	1	1	ND	ND	ND	ND
PNM	CMI	16	8	8	8	8	16	0,25	0,5	4	4	2	2
	CMM	16	8	16	8	8	16	0,25	0,5	8	8	4	4
	CMM/CMI	1	1	2	1	1	1	1	1	2	2	2	2

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

PNMC	CMI	16	16	16	8	8	4	0,125	0,25	4	4	2	2
	CMM	32	16	16	8	8	8	0,125	0,25	4	4	4	4
	CMM/CMI	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	2	2
PN 1:1	CMI	32	16	32	8	8	8	0,125	0,25	8	4	4	4
	CMM	>32	16	32	32	32	ND	0,125	0,5	8	8	8	8
	CMM/CMI	ND	1	1	4	4	ND	1	2	1	2	2	2
PN 8:2	CMI	16	8	16	4	8	16	0,25	0,5	>8	8	4	>8
	CMM	32	16	32	16	16	32	0,25	0,5	>8	8	4	>8
	CMM/CMI	2	2	2	4	2	2	1	1	ND	1	1	ND
PNE	CMI	32	32	32	16	32	32	2	2	>8	>8	>8	>8
	CMM	>32	32	32	>32	32	ND	2	2	>8	>8	>8	>8
	CMM/CMI	ND	1	1	ND	1	ND	1	1	ND	ND	ND	ND
NP	CMI	16	8	16	32	16	8	0,25	2	8	>8	>8	>8
	CMM	32	8	16	32	16	32	0,25	2	8	>8	>8	>8
NPMC	CMM/CMI	2	1	1	1	1	4	1	1	1	ND	ND	ND
	CMI	16	16	32	32	8	32	4	4	>8	>8	>8	>8
	CMM	>32	16	32	>32	8	ND	4	8	>8	>8	>8	>8
NP1:1	CMM/CMI	ND	1	1	ND	1	ND	1	2	ND	ND	ND	ND
	CMI	32	8	16	32	8	32	4	4	>8	>8	>8	>8
	CMM	32	8	32	32	8	ND	4	8	>8	>8	>8	>8
NP8:2	CMM/CMI	1	1	2	1	1	ND	1	2	ND	ND	ND	ND
	CMI	8	4	16	8	8	32	2	4	>8	>8	>8	>8
	CMM	8	16	16	32	16	ND	4	>8	>8	>8	>8	>8
NPE	CMM/CMI	1	4	1	4	2	ND	2	ND	ND	ND	ND	ND
	CMI	2	2	4	4	2	16	4	2	>8	>8	>8	>8
	CMM	2	2	4	8	8	32	8	2	>8	>8	>8	>8
BAT	CMM/CMI	1	1	1	2	4	2	2	1	ND	ND	ND	ND
	CMI	>256	>256	64	4	2	>256	8	128	NT	NT	NT	NT
	CMM	>256	>256	256	4	8	ND	32	>256	NT	NT	NT	NT
CHLO	CMM/CMI	ND	ND	4	1	4	ND			NT	NT	NT	NT
	CMI	32	128	128	2	4	4	32	2	NT	NT	NT	NT
	CMM	128	256	128	2	4	8	32	4	NT	NT	NT	NT
	CMM/CMI	4	2	1	1	1	2	1	2	NT	NT	NT	NT

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

CIP	CMI	2	256	1	64	1	<0,25	16	<0,25	NT	NT	NT	NT
	CMM	4	>256	1	64	2	ND	16	<0,25	NT	NT	NT	NT
	CMM/CMI	2	ND	1	1	2	ND	1	ND	NT	NT	NT	NT
NOR	CMI	8	>256	16	>256	8	<0,12	128	2	NT	NT	NT	NT
	CMM	64	>256	64	>256	16	ND	>128	2	NT	NT	NT	NT
	CMM/CMI	8	ND	4	ND	2	ND	ND	1	NT	NT	NT	NT
DO	CMI	32	32	32	16	1	2	<0,125	<0,125	NT	NT	NT	NT
	CMM	32	32	32	32	4	4	<0,125	<0,125	NT	NT	NT	NT
	CMM/CMI	1	1	1	2	4	2	ND	ND	NT	NT	NT	NT
AMOXY	CMI	1	512	>512	256	512	256	<0,25	<0,25	NT	NT	NT	NT
	CMM	1	>512	>512	256	>512	256	<0,25	<0,25	NT	NT	NT	NT
	CMM/CMI	1	ND	ND	1	ND	1	ND	ND	NT	NT	NT	NT
CEFT	CMI	<0,12	1	64	<0,12	>128	<0,12	8	2	NT	NT	NT	NT
	CMM	0,12	1	64	<0,12	>128	ND	16	4	NT	NT	NT	NT
	CMM/CMI	ND	1	1	ND	ND	ND	2	2	NT	NT	NT	NT
AMP B	CMI	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	<0,11	<0,11	0,11	0,22
	CMM	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	<0,11	<0,11	0,22	0,44
	CMM/CMI	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	ND	ND	2	2
NYST	CMI	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	2	2	2	8
	CMM	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	2	4	8	16
	CMM/CMI	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	1	2	4	2
FLUCO	MIC	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	4	32	16	64
	MMC	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	8	64	32	>64
	MMC/MIC	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	2	2	2	ND

ND : Non Déterminé ; Nt=non testé ; SEM: *Skirakiopsis elliptica*, extrait méthanolique, SEMC: *Skirakiopsis elliptica* extrait au méthanol- chlorure de méthylène (50-50), SEE: *Skirakiopsis elliptica* extrait aqueux, SE1:1 *Skirakiopsis elliptica* extrait Hydroéthanolique (50-50) ; SE8:2: *Skirakiopsis elliptica* extrait Hydroéthanolique (80-20); (RAM) *Rumex abyssinicus* extrait méthanolique; (RAMC) *Rumex abyssinicus* extrait au méthanol-chlorure de méthylène (50-50) ; (RAE) *Rumex abyssinicus* extrait aqueux; (RA1:1) *Rumex abyssinicus* extrait Hydroéthanolique (50-50); (RA8:2) *Rumex abyssinicus* extrait Hydroéthanolique (80-20); PNM: *Picralima nitida* extrait méthanolique; (PNMC) : *Picralima nitida* extrait au méthanol- chlorure de méthylène (50-50) ; (PNE): *Picralima nitida* extrait aqueux; (PN1:1):*Picralima nitida* extrait Hydroéthanolique (50-50); (PN 8:2): *Picralima nitida* extrait Hydroéthanolique (80-20); (NPMC): *Nauclea pobeguunii* extrait au méthanol- chlorure de méthylène (50-50); (NPE): *Nauclea pobeguunii* extrait aqueux; (NP1:1): *Nauclea pobeguunii* extrait Hydroéthanolique (50-50); (NP8:2): extrait Hydroéthanolique (80-20); NP: *Nauclea pobeguunii* méthanol ; BAT: Bactrim; CHL : chloramphénicol; CIP : Ciprofloxacine; NOR: Norfloxacine; DO: Doxycycline; AX: Amoxicilline; CEFT: Ceftriaxone; ERY: Erythromycine;

Tableau XVI: Composition phytochimique des différents extraits

Extraits	Stéroïdes	Alcaloïdes	Saponines	Tanins	Terpénoïdes	Flavonoïdes
SEM	-	+	+	+	+	+
SEMC	-	+	-	+	-	-
SE1:1	+	+	-	+	+	-
SE8:2	+	+	-	+	+	-
SEE	+	+	-	+	+	-
RAM	-	+	+	+	+	+
RAMC	-	+	-	+	+	+
RA1:1	+	+	-	+	-	+
RA8:2	+	+	+	+	-	+
RAE	+	+	-	+	-	+
PNM	-	+	+	-	+	+
PNMC	-	+	+	-	-	-
PN1:1	-	+	+	-	+	-
PN8:2	-	+	+	+	+	-
PNE	-	+	+	-	+	-
NP	+	+	+	+	-	-
NPMC	-	+	+	+	+	+
NP1:1	+	+	+	+	+	-
NP8:2	+	-	+	-	+	-
NPE	+	-	+	+	+	-

(+) présent, (-) absent, SEMC: *Skirakiopsis elliptica* extrait méthanol- chlorure de méthylène (50-50), SEE: *Skirakiopsis elliptica* extrait aqueux, SE1:1: *Skirakiopsis elliptica* extrait Hydro-ethanolic (50-50) ; SE8:2: *Skirakiopsis elliptica* extrait Hydro-ethanolic (80-20); (RAMC) *Rumex abyssinicus* extrait méthanol- chlorure de méthylène (50-50); (RAE) *Rumex abyssinicus* extrait aqueux; (RA1:1) *Rumex abyssinicus* extrait Hydro-ethanolic (50-50); (RA8:2) *Rumex abyssinicus* extrait Hydro-ethanolic (80-20); (PNMC) : *Picralima nitida* extrait méthanol- chlorure de méthylène (50-50) ; (PNE): *Picralima nitida* extrait aqueux; (PN1:1): *Picralima nitida* extrait Hydro-ethanolic (50-50); (PN 8:2): *Picralima nitida* extrait Hydro-ethanolic (80-20); (NP) *Nauclea pobeguini* extrait méthanol ; (NPMC): *Nauclea pobeguini* extrait méthanol- chlorure de méthylène (50-50); (NPE): *Nauclea pobeguini* extrait aqueux; (NP1:1): *Nauclea pobeguini* extrait Hydro-ethanolic (50-50); (NP8:2): extrait Hydro-ethanolic (80-20);

III.1.3. Effet potentialisateur des extraits sur les antibiotiques

Dans ce travail, l'activité combinée des extraits issus de *Skirakiopsis elliptica*, *Rumex abyssinicus*, *Nauclea pobeguini* et *Picralima nitida* et de huit antibiotiques (Bactrim, chloramphénicol, ciprofloxacine, Norfloxacine, doxycycline, amoxicilline, ceftriaxone et érythromycine) a été évaluée. Cet objectif avait pour but de déterminer la capacité des différents extraits à potentialiser le pouvoir antimicrobien de ces antibiotiques. La méthode Checkerboard a été utilisée pour cette évaluation et le tableau XVIII révèle les résultats obtenus. Ce tableau présente les indices de concentrations inhibitrices fractionnelles ou *fractional inhibitory concentration index* (FICI). Il présente par ailleurs, les quotients de réduction des concentrations minimales inhibitrices des antibiotiques impliqués dans les

combinaisons. L'analyse dudit tableau fait ressortir 37 interactions additives pour un pourcentage de 51,38%, avec les indices CIF compris entre 0,56 et 0,95. 35 interactions ont été prouvées indifférentes soit 48,61% de l'ensemble des combinaisons étudiées avec les indices de CIF compris entre 1,03 et 1,98. Aucune interaction antagoniste ICIF >4 n'a été observée de même qu'aucune interaction synergique ICIF < 0,5. Toutefois, nous avons observé une réduction importante de la CMI de plusieurs antibiotiques qui allait jusqu'à 64 fois. En effet, il a été constaté que certains sub-concentrations minimales inhibitrices d'extraits (1/2CMI, 1/4CMI...) ont modulé l'activité de plusieurs antibiotiques en réduisant la CMI nécessaire à l'antibiotique pour l'inhibition de la croissance bactérienne. Ainsi, la CMI de la doxycycline a été réduite 64 fois par les extraits aqueux de *Nauclea pobeguini* (NPE) sur *S. saprophitiucus* ; celle de la norfloxacine et de la doxycycline a été réduite par SEE 32 et 16 fois respectivement sur *P. aeruginosa* ; celle du chloramphénicol a été réduite 16 et 8 fois par SEE sur *P. aeruginosa* et sur *E. coli* respectivement. Cette observation n'est pas négligeable car les interactions synergiques sont basées sur le même principe. En effet, les interactions additives qui se produisent lorsque deux ou trois produits combinés produisent un effet supérieur à l'effet de l'un des produits évalués à part, aussi bien que les interactions synergiques, sont des interactions positives.

En dehors des produits combinés avec PNMC qui étaient additives, toutes les autres combinaisons avec les autres extraits sur les staphylocoques ont été prouvées indifférentes. Les résultats montrent une interaction positive entre l'extrait aqueux de *Shirakiopsis elliptica* et le chloramphénicol vis-à-vis de toutes les bactéries gram- en effet, on constate une réduction de la CMI d'un facteur variant de 8 pour *E. coli* et *P. aeruginosa*, à 16 pour *P. stuartii*.

Tableau XVII : Différents extraits sélectionnés pour chaque pathogène pour l'étude de l'effet potentialisateur (meilleure activité de l'extrait)

Micro-organisme	<i>P. stuartii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. Saprothiticus</i>	<i>S.aureus RN4220</i>
Meilleur extrait de plante	SEE, RAE, NPE,	SEE, RAE, NPE,	SEE, RAE, NPE,	SE1:1, RAMC, NP, PNMC	SEE, NPE, RAM, PNMC
<small>SEE: <i>Skirakiopsis elliptica</i> extrait aqueux, SE1:1 <i>Skirakiopsis elliptica</i> extrait Hydroéthanolique (50-50) ; (RAM) <i>Rumex abyssinicus</i> extrait méthanolique; (RAMC) <i>Rumex abyssinicus</i> extrait au méthanol-chlorure de méthylène (50-50) ; (RAE) <i>Rumex abyssinicus</i> extrait aqueux; (PNMC) : <i>Picralima nitida</i> extrait au méthanol-chlorure de méthylène (50-50) ; (NPE): <i>Nauclea pobeguinii</i> extrait aqueux; NP: <i>Nauclea pobeguinii</i> extrait au méthanol.</small>					

III.1.4. Induction de l'infection urinaire et évaluation de l'effet thérapeutique des extraits.

III.1.4.1. Mortalité de l'IU

Au terme de l'expérience, nous n'avons enregistré aucun décès parmi les animaux expérimentaux.

III.1.4.2. Morbidité de l'IU : Paramètres de la morbidité

III.1.4.2.1 La Charge bactérienne dans les urines

L'activité antimicrobienne a été évaluée *in vivo* sur 48 souris albinos de souche Balb/c chez qui la cystite (infection de la vessie) a été induite transurétralement. L'infection se manifestait par une culture positive des urines issues de l'animal chez lequel l'infection était induite. Seuls les animaux chez lesquels l'infection persistait pendant 3 jours consécutifs étaient considérés comme étant effectivement infectés tel que le précise le tableau XIX.

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

Tableau XVIII: Indice de Concentration Inhibitrice fractionnelle (ICIF) des différentes combinaisons/ facteur de réduction minimal (FRM) de la CMI des antibiotiques(ATB)

Combinaison	E. coli		P. stuartii,		P. aeruginosa		S. aureus RN4220		S. saprophyticus,	
	ICIF	FRM de la CMI de l'ATB	ICIF	FRM de la CMI de l'ATB	ICIF	FRM de la CMI de l'ATB	ICIF	FRM de la CMI de l'ATB	ICIF	FRM de la CMI de l'ATB
BAT-SEE	1.09 / ind	2	0.95/add	4	1.22/ind	1	Nt	/	nt	nt
CHL-SEE	0.91 :add	8	0.62/add	16	0.68/add	8	0.93/add	4	1.03/ind	2
CIP-SEE	1.09/ind	2	1.8/ind	1	ND	/	ND	/	ND	/
NOR-SEE	0.89 /add	32	0.70/add	4	1.78/ind	1	1.18/ind	1	ND	/
DO-SEE	0.70/add	16	1.07/ind	2	0.61/add	8	ND	/	nt	/
AX-SEE	ND	/	0.70/add	4	ND	/	1.08/ind	2	0.71/add	4
CEFT-SEE	1.18/ind	1	0.70/add	4	ND	/	1.38/ind	2	NT	/
ERY-SEE	Nt	/	nt	/	nt	/	1.05/ind	4	ND	/
BAT-RAE	1.09/ind	2	ND	/	1.18/ind	1	nt	/	1.19/ind	1
CHL-RAE	0.78/add	2	ND	/	0.99/add	2	0.83/add	4	1.08/ind	2
CIP-RAE	1.18/ ind	1	ND	/	ND	/	ND	/	ND	/
NOR-RAE	ND	/	0.64/add	16	1.98/ind	1	1.18/ind	1	ND	/
DO-RAE	1.03/ind	4	0.80/add	8	0.66/add	8	ND	/	ND	/
AX-RAE	ND	/	0.63/add	16	ND	/	1.10/ind	2	ND	/
CEFT-RAE	ND	/	0.66/add	4	ND	/	1.39/ind	2	ND	/
ERY-RAE	Nt	/	nt	/	nt	/	1.05/ind	4	ND	/
BAT-NPE	1.04/ind	4	ND	/	ND	/	nt	/	1.04	4
CHL-NPE	0.78/add	2	ND	/	0.94/add	8	nt	/	1.03/ind	4
CIP-NPE	1.18/ind	1	1.16/ind	1	ND	/	nt	/	ND	/
NOR-NPE	ND	/	0.93/add	8	1.98/ind	1	nt	/	0.64/add	64
DO-NPE	0.78/add	2	1.07/ind	2	0.56/add	8	nt	/	0.93/add	4
AX-NPE	ND	/	1.16/ind	1	ND	/	nt	/	0.71/add	8
CEFT-NPE	0.78/add	8	0.78/add	2	ND	/	nt	/	ND	/
ERY-NP									ND	/
BAT-PNMC	Nt	Nt	nt	Nt	nt	nt	nt	/	0.79/add	4
CHL-PNMC	Nt	Nt	nt	Nt	nt	nt	1.08/ind	2	1.08/ind	2
CIP-PNMC	Nt	Nt	nt	Nt	nt	nt	0.56/add	2	ND	/
NOR-PNMC	Nt	Nt	nt	Nt	nt	nt	0.68/add	4	0.78/add	2
DO-PNMC	Nt	Nt	nt	Nt	nt	nt	0.93/add	4	1.18/ind	1
AX-PNMC	Nt	Nt	nt	nt	nt	nt	0.78/add	2	ND	/
CEFT-PNMC	Nt	Nt	nt	nt	nt	nt	0.73/add	4	1.08/ind	2
ERY-PNMC	Nt	Nt	nt	nt	nt	nt	1.19/ind	1	ND	/

FICI ≤ 0.5 = synergie; 0.5 > *FICI* ≤ 1 = additivité; 1 > *FICI* ≤ 4 = indifférence; *FICI* > 4 = antagonisme. Pour *S.aureus*, RAE a été remplacé par RAM et pour *S. saprophyticus*; RAE a été remplacé par RAMC, NPE by NP, and SEE by SE1:1. nt = non testé; ND = non déterminé. SEM: *Skirakiopsis elliptica*, extrait au méthanol, SEMC: *Skirakiopsis elliptica* extrait au méthanol+chlorure de méthylène (50-50), SEE: *Skirakiopsis elliptica* extrait aqueux, SE1:1 *Skirakiopsis elliptica* extrait Hydroéthanolique (50-50) ; SE8:2: *Skirakiopsis elliptica* extrait Hydroéthanolique (80-20); (RAM) *Rumex abyssinicus* extrait méthanolique; (RAMC) *Rumex abyssinicus* extrait au méthanol-chlorure de méthylène (50-50) ; (RAE) *Rumex abyssinicus* extrait aqueux; (RA1:1) *Rumex abyssinicus* extrait Hydroéthanolique (50-50); (RA8:2) *Rumex abyssinicus* extrait Hydroéthanolique (80-20); PNM: *Picalima nitida* extrait méthanolique; (PNMC) : *Picalima nitida* extrait au méthanol- chlorure de méthylène (50-50) ; (PNE): *Picalima nitida* extrait aqueux; (PN1:1): *Picalima nitida* extrait Hydroéthanolique (50-50); (PN 8:2): *Picalima nitida* extrait Hydroéthanolique (80-20); (NPMC): *Nauclea pobeguini* extrait au méthanol- chlorure de méthylène (50-50); (NPE): *Nauclea pobeguini* extrait aqueux; (NP1:1): *Nauclea pobeguini* extrait Hydroéthanolique (50-50); thanolique (80-20); NP: *Nauclea pobeguini* méthanol ; BAT: Bactrim; CHL : chloramphénicol; CIP : Ciprofloxacine; NOR: Norfloxacin; DO: Doxycycline; AX: Amoxicilline; CEFT: Ceftriaxone; ERY: Erythromycine;

Tableau XIX: Charge bactérienne (log₁₀) des différents groupes d'animaux infectés par *E. coli* KTE 181 uropathogénique

Jrs	Grp 1	Grp2	Grp3	Grp4	Grp5	Grp6
	RAE 400	RAE200	RAE100	NPE 400	NPE 200	NPE 100
1	4,84	5,55	5,49	4,54	5,32	4,93
2	4,31	4,30	4,70	4,99	4,92	4,23
3	5,19	4,74	5,03	5,13	4,76	4,37
7	6,07	5,16	5,64	5,45	4,52	4,89
14	4,04	5,03	4,65	4,01	3,76	2,59

Jrs	Grp7	Grp8	Grp9	Grp10	Grp11	Grp12
	SEE 400	SEE 200	SEE 100	TN	CN	CP
1	4,85	5,64	5,24	-	4,55	4,75
2	4,35	5,00	4,04	-	4,02	4,08
3	4,74	4,67	6,03	-	4,55	5,32
7	5,21	5,63	4,84	-	5,02	4,42
14	4,46	3,73	3,15	-	5,73	3,98

RAE 400/200/100 *Rumex abyssinicus* extrait aqueux aux doses 400/200/100mg/kg de poids de corporel ; SEE 400/200/100: *Skirakiopsis elliptica* extrait aqueux aux doses 400/200/100mg/kg de poids de corporel ; NPE 400/200/100: *Nauclea pobeguinii* extrait aqueux; aux doses 400/200/100mg/kg de poids de corporel ; TN : Témoins normal ; CN : control négatif (eau distillée) ; CP : control positif (ciprofloxacine).

III.1.4.2.2 La masse pondérale

La masse pondérale de chaque animal (infecté ou non) était relevée quotidiennement, et la variation du poids de chaque animal a été déterminée. La figure 11 (Fig 11a et 11b) présente l'évolution de la masse corporelle en fonction du temps entre animaux infectés et non infectés, qui avaient le même poids au début de l'expérience. Il ressort de ces figures que les poids d'animaux non infectés augmentent d'une façon progressive en fonction du temps, tandis que chez tous les animaux infectés, on constate que leur l'évolution pondérale est quasi constante d'une part et des irrégularités d'autre part. Ces observations nous ont permis de conclure que l'infection urinaire induite chez les souris affecte leur croissance pondérale.

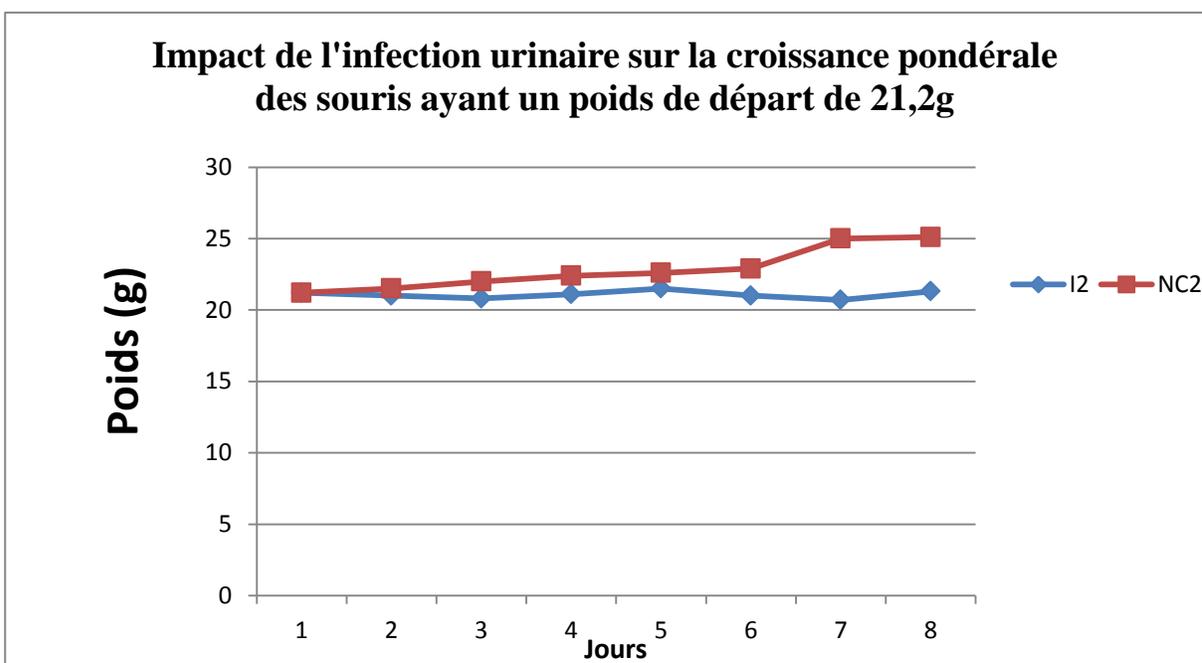
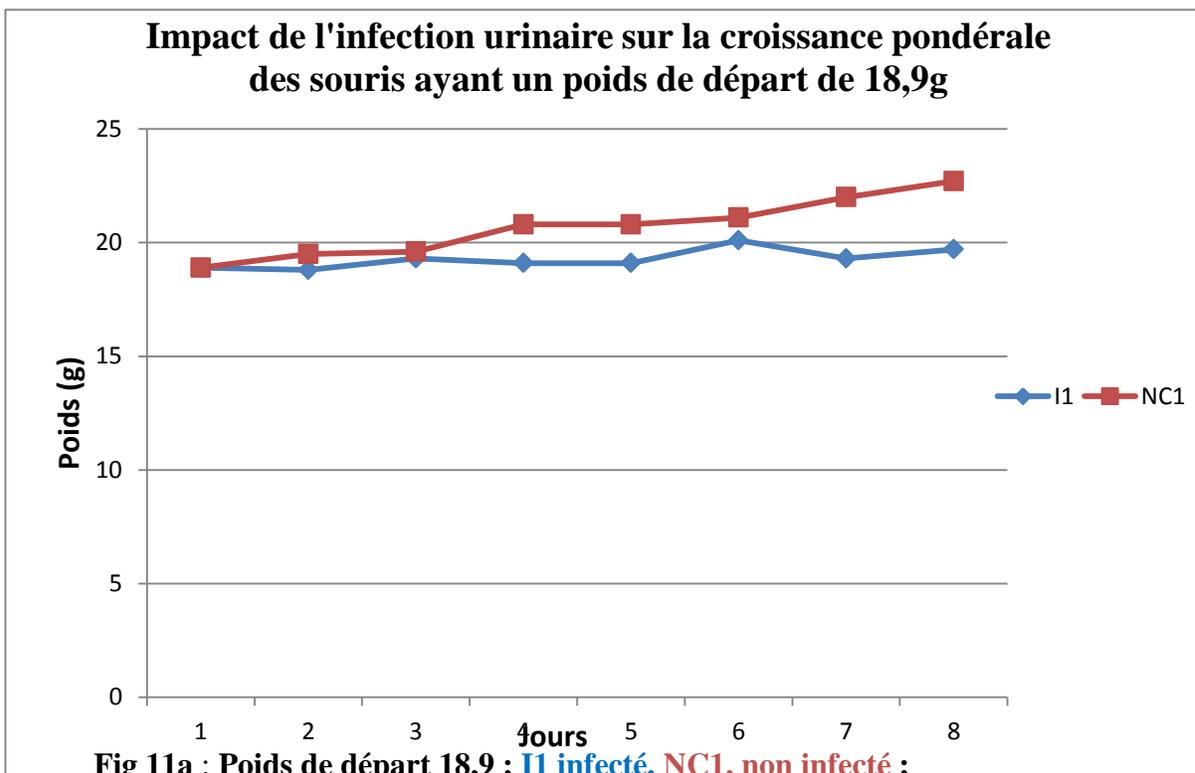


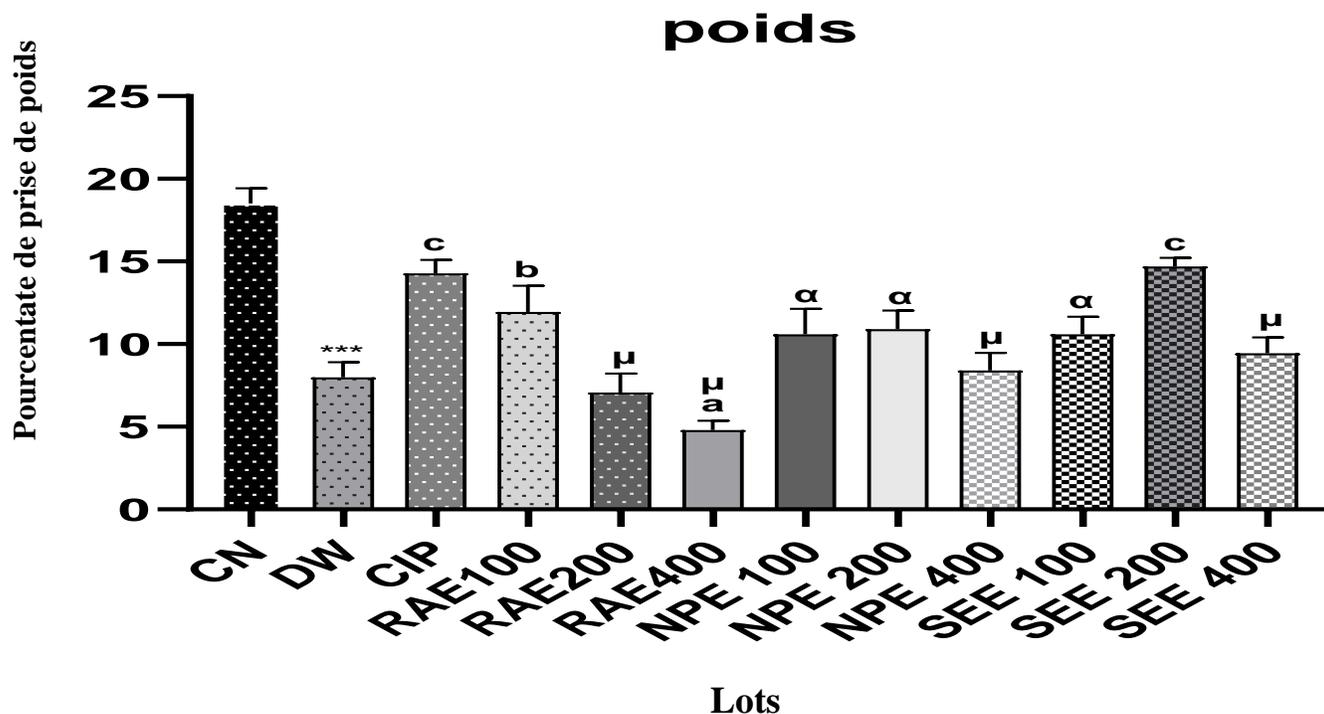
Fig 11b : Poids de départ 21,2, I2 infecté, NC2, non infecté ;

Figure 11: Influence de l'infection urinaire sur la croissance pondérale des souris.

III.1.4.3. Evaluation de l'effet des traitements sur les marqueurs de la morbidité.

III.1.4.3.1. Variation du poids au cours de l'expérience

Le tableau XX, et la figure 12 montrent les pourcentages de gain de poids de chaque lot étudié au cours de l'expérience. De cette figure, il ressort que, l'infection a entraîné une perte significative de masse corporelle chez le témoin négatif (DW) de 56,86% ($P < 0,001$), comparativement aux autres animaux, démontrant l'impact de l'infection sur la croissance pondérale des souris. Par ailleurs, le traitement des animaux à ciprofloxacine aux extraits RAE (100mg/kg,) et SEE (200mg/kg) a entraîné une augmentation significative de la masse corporelle, respectivement de 78,95% ($P < 0,001$), 49,65%, ($P < 0,01$), et de 84,21% ($P < 0,001$), en comparaison au témoin négatif. De même, le traitement aux extraits RAE (200mg/kg) NPE (100, 200 et 400 mg/kg) et SEE (100 et 400mg/kg) a également entraîné un gain de poids par rapport au contrôle négatif bien que celui-ci ne soit pas significatif ($P > 0,05$) ; ce gain de poids reste significativement inférieur à celui induit par la ciprofloxacine et les autres doses d'extraits.



RAE 400/200/100 Rumex abyssinicus extrait aqueux aux doses 400/200/100mg/kg de poids de corporel ; SEE 400/200/100: Skirakiopsis elliptica extrait aqueux aux doses 400/200/100mg/kg de poids de corporel ; NPE 400/200/100: Nauclea pobeguinii extrait aqueux; aux doses 400/200/100mg/kg de poids de corporel ; CN : Témoin normal (absence de l'infection); DW: Témoin négatif (infection +eau distillée) ; CIP : Témoin positif (infection +ciprofloxacine).

Figure 12 : Prise de poids au cours de l'expérience

*** = $p < 0,001$ différence significative par rapport au témoin normal ; a = $p < 0,05$ différence significative par rapport au témoin négatif, b = $p < 0,01$ différence significative par rapport au témoin négatif, c = $p < 0,001$ différence significative par rapport au témoin négatif ; α = $p < 0,05$ différence significative par rapport au témoin positif, μ = $p < 0,001$ différence significative par rapport au témoin positif.

Tableau XX : pourcentage de gain de poids de chaque lot étudié au cours de l'expérience

Δpoids						
	CN	DW	CIP	RAE100	RAE200	RAE400
MOY	18,5	7,98	14,28	11,94	7,1	4,8
ESM	0,53	0,54	0,47	0,91	0,66	0,32
	NPE 100	NPE 200	NPE 400	SEE 100	SEE 200	SEE 400
MOY	10,6	10,9	8,4	10,6	14,7	9,45
ESM	0,88	0,65	0,62	0,61	0,30	0,55

Moy : moyennes ; ESM : erreur standard sur la moyenne RAE 400/200/100 *Rumex abyssinicus* extrait aqueux aux doses 400/200/100mg/kg de poids de corporel ; SEE 400/200/100: *Skirakiopsis elliptica* extrait aqueux aux doses 400/200/100mg/kg de poids de corporel ; NPE 400/200/100: *Nauclea pobeguinii* extrait aqueux; aux doses 400/200/100mg/kg de poids de corporel ; CN : Témoins normal ; DW: Témoin négatif (eau distillée) ; CIP : Témoin positif (ciprofloxacine).

III.1.4.3. 2. Variation de la charge bactérienne au cours de l'expérience

Les figures 13 présentent l'évolution de charge bactérienne en fonction du temps chez les souris traitées et non traitées. Il en ressort que la charge bactérienne décroît le deuxième jour après induction de l'infection chez tous les animaux. On peut également noter qu'excepté les souris traitées avec la ciprofloxacine, après administration des traitements le troisième jour, les bactéries continuent de se multiplier chez toutes les autres souris infectées. On constate par ailleurs un pic de l'infection qui se situe entre le 3^e et le 7^e jour, et une quasi éradication de l'infection au 14^e jour. Ces observations sont en contraste avec ceux des résultats obtenus avec les animaux infectés n'ayant reçu que l'eau distillée DW (témoin négatif). Chez eux, on constate qu'après le 2^e jour, de l'infection, il y a une augmentation progressive de charge bactérienne jusqu'à la fin de l'expérience. Ce graphique donne des renseignements quant à la cinétique de croissance de la bactérie étudiée.

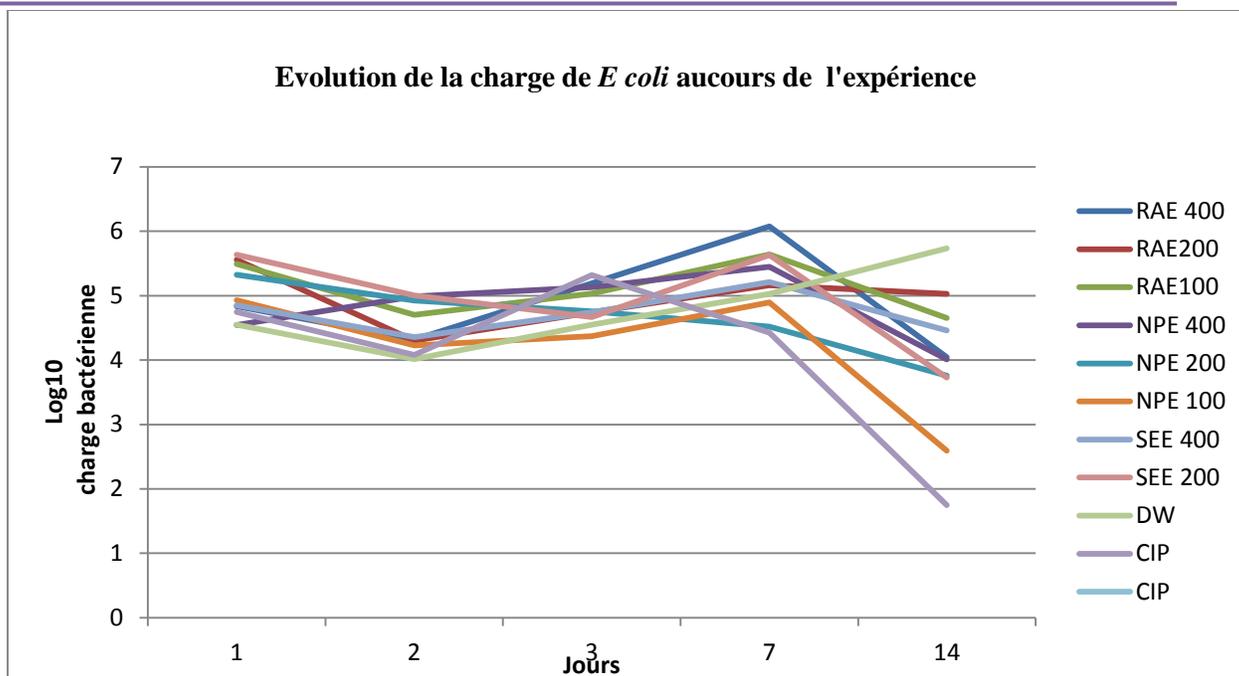


Figure 13 : Evolution de la charge bactérienne en fonction du temps chez les animaux de l'expérience

RAE 400/200/100 *Rumex abyssinicus* extrait aqueux aux doses 400/200/100mg/kg de poids de corporel ; SEE 400/200/100: *Skirakiopsis elliptica* extrait aqueux aux doses 400/200/100mg/kg de poids de corporel ; NPE 400/200/100: *Nauclea pobeguini* extrait aqueux; aux doses 400/200/100mg/kg de poids de corporel ; CN : Témoins normal ; DW: Témoin négatif (eau distillée) ; CIP : Témoin positif (ciprofloxacine).

La figure 14 et le tableau XXI montrent les différents taux d'élimination de la charge bactérienne chez les souris à la fin de l'expérience après le traitement par rapport aux différents extraits. Il en ressort que l'infection des animaux par induction transurétrale a conduit à une augmentation significative de la charge bactérienne de 410% ($p < 0,001$) chez le témoin négatif. D'autre part, le traitement des animaux à la ciprofloxacine (témoin positif) a entraîné une diminution significative de la charge bactérienne de 75,71% ($P < 0,001$) comparé au témoin négatif. De même, le traitement des animaux par les extraits de plante a entraîné une diminution significative de la charge bactérienne par rapport au témoin négatif. Cette diminution significative ($P < 0,001$) pour tous les extraits de plantes testés et à toutes les doses variait entre 93,64 et 75,89. Par ailleurs, la comparaison de l'effet de neutralisation de la ciprofloxacine par rapport aux extraits permet de constater que le taux d'élimination des bactéries par tous les

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

extraits est comparable à celui de la ciprofloxacine control positif. L'ensemble des résultats démontrent que la croissance bactérienne a été inhibée *in vivo* par l'ensemble des extraits testés aux taux d'élimination comparable à celui de la ciprofloxacine.

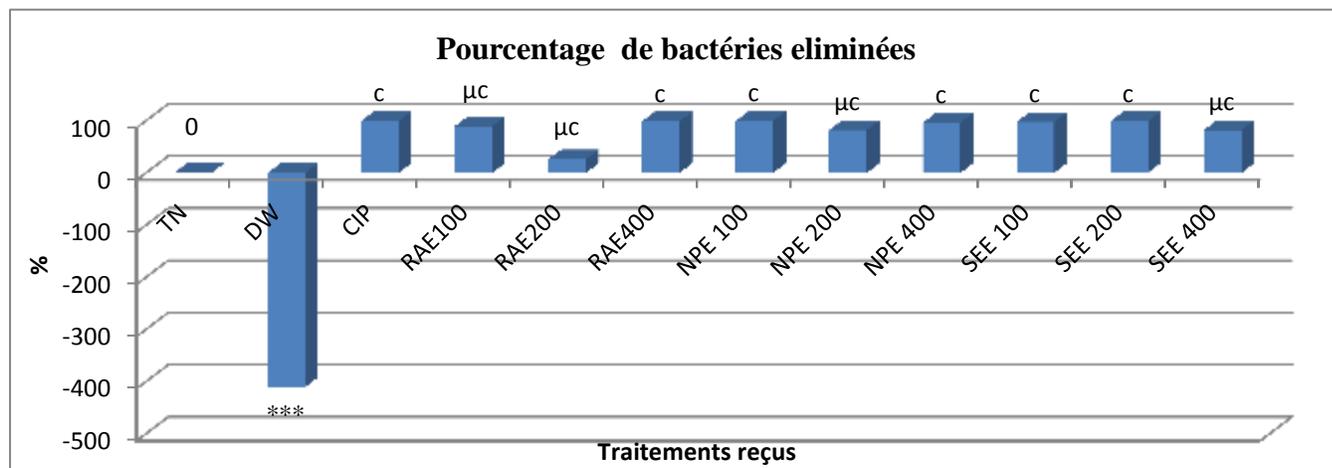


Figure 14 : Taux d'élimination de la charge bactérienne d'*E. coli* KTE 181 au terme de l'expérience

*** p<0,001 différence significative par rapport au témoin normal ; c p<0,001 différence significative par rapport au témoin négatif ; μ p<0,001 différence significative par rapport au témoin positif

RAE 400/200/100 Rumex abyssinicus extrait aqueux aux doses 400/200/100mg/kg de poids de corporel ; SEE 400/200/100: Skirakiopsis elliptica extrait aqueux aux doses 400/200/100mg/kg de poids de corporel ; NPE 400/200/100: *Nauclea pobeguinii* extrait aqueux; aux doses 400/200/100mg/kg de poids de corporel ; CN : Témoin normal (non infecté); DW: Témoin négatif (infecté +eau distillée) ; CIP : Témoin positif (infecté +ciprofloxacine).

Tableau XXI: Taux de d'élimination de la Charge bactérienne à la fin de l'expérience.

Taux d'élimination des bactéries (%)						
	CN	DW	CIP	RAE100	RAE200	RAE400
MOY	0	410,80	99,80	89,75	26,14	99,07
ESM	0	0,45	0,33	0,36	0,67	0,95
	NPE 100	NPE 200	NPE 400	SEE 100	SEE 200	SEE 400
MOY	99,50	82,54	96,34	97,95	98,74	82,30
ESM	0,99	1,16	1,44	0,18	0,61	1,50
<p>Moy : moyennes ; ESM : erreur standard sur la moyenne ; RAE 400/200/100 <i>Rumex abyssinicus</i> extrait aqueux aux doses 400/200/100mg/kg de poids de corporel ; SEE 400/200/100: <i>Skirakiopsis elliptica</i> extrait aqueux aux doses 400/200/100mg/kg de poids de corporel ; NPE 400/200/100: <i>Nauclea pobeguinii</i> extrait aqueux; aux doses 400/200/100mg/kg de poids de corporel ;</p> <p>CN : Témoin normal (non infecté); DW: Témoin négatif (infecté +eau distillée) : CIP : Témoin positif (infecté +ciprofloxacine).</p>						

III.2. Discussion

Le premier objectif spécifique de travail consistait à faire le screening des propriétés antimicrobiennes et des groupes phytochimiques des plantes sélectionnées, sur les germes multirésistants à infections urogénitales en circulation dans notre population. Dans cette phase du travail, nous avons caractérisé neuf microorganismes dont 4 bactéries Gram négatif, (*Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas aeruginosa*), une Bactérie Gram positif (*Staphylococcus Saprophiticus*) et, 4 levures (*Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida famata* et *Cryptococcus laurentii*). La présence de ces microorganismes dans les échantillons analysés témoigne de la diversité des microorganismes qui colonisent l'appareil urogénital. En effet, la proximité de l'appareil urogénital avec l'anus fait de ce dernier un environnement vulnérable à la colonisation des bactéries qui migrent du tube digestif (Population Council, 2002) ceci expliquerait la présence des entérobactéries telles que *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* et *Providencia stuartii* (Coudeyras et Forestier, 2010). De plus, l'anatomie de l'appareil urogénital surtout chez la femme fait de ce dernier une porte d'entrée de microbe vers l'organisme. Par ailleurs, bien que l'écosystème vaginal dans les conditions normales, soit constitué d'un microbiote protecteur constitué majoritairement des lactobacilles, l'équilibre de cet écosystème peut être rompu par de nombreux facteurs (douches vaginales, excès d'hygiène, carences œstrogéniques, antibiotique, etc.). Dès lors tout déséquilibre de la flore peut être à l'origine de la prolifération des microorganismes appartenant ou non à la flore vaginale. Il faut noter que les germes isolés correspondent à ceux retrouvés dans la littérature lors des investigations antérieures sur les screening des germes à IUG (Assob *et al*, 2009; Akoachere *et al* 2012).

Le caractère résistant des germes isolés renseigne sur le défi auquel doit faire face l'antibiothérapie de même que les limites qu'elle présente.

En ce qui concerne l'évaluation des propriétés antimicrobiennes, l'activité a été répartie comme suit : Pour une $CMI < 1\text{mg/mL}$ l'extrait de plante était très actif, $1 \leq CMI \leq 8\text{mg/mL}$, L'extrait de plante avait une activité modérée, $8 > CMI \leq 64\text{mg/mL}$ l'activité était considérée comme étant faible, la $CMI > 64\text{mg/mL}$, l'extrait de plante était considéré comme étant inactif suivant la catégorisation effectuée par (Fabry *et al*. 1998). Ainsi, la forte activité inhibitrice ($CMI > 1\text{mg/mL}$) de même que les activités modérées ($1 \leq CMI \leq 8\text{mg/mL}$) exercées par les extraits issus de *Shirakiopsis elliptica*, *Rumex abyssinicus*, *Picralima nitida*, et *Nauclea pobeguinii*, sur divers

microorganismes justifient leur usage en médecine traditionnelle dans le traitement des infections urogénitales et autres infections. De manière générale, l'extraction du matériel végétal dans divers solvants a révélé que pour une même plante, le potentiel antimicrobien de l'extrait était différent selon le solvant utilisé. La diversité du contenu phytochimique des différents extraits issus de la même plante pourrait expliquer la diversité dans les résultats des tests antimicrobiens obtenus. Les différents solvants et systèmes solvants auraient solubilisés les composés biologiquement actifs dans des proportions différentes selon leur polarité ; ceux-ci auraient de ce fait affecté différemment le métabolisme cellulaire des micro-organismes dans la mesure où ils sont de nature chimique différente (Tankeo, 2016). Le potentiel antimicrobien des extraits issus de *Shirakiopsis elliptica* demeure très fort pour la quasi-totalité des extraits issus de cette plante. Cette observation pourrait s'expliquer par le fait que tous les solvants et systèmes solvants alors utilisés étaient polaires bien que leurs degrés de polarité différaient les uns des autres. Ceci suggère le fait que les composés biologiquement actifs issus de cette plante seraient solubles dans les solvants dit polaires. De plus, les résultats du screening phytochimique des extraits issus de cette plante ont montré qu'elle contenait les alcaloïdes, les saponines, les tanins et les Terpénoïdes. La présence de ces métabolites secondaires pourrait expliquer les activités antimicrobiennes observées. En effet, les travaux de Reneela et al en 2013 portant sur la phytochimie de *Sapium ellypticum* (synonyme de *Shirakiopsis elliptica*), ont révélés que les écorces de la plante contenaient les triterpènes notamment la lupeol et la lupeol acétate ainsi que le stigmastérol (phytostérol), qui ont démontrés des propriétés antibactériennes et antifongiques selon les travaux menés par Richa et al., 2014 ; Edilu et al., 2015 ; Anas et al., 2017 ; Muktar et al., 2018 ; Yusuf et al., 2018. Par ailleurs, les effets bactéricides ($CMM/CMI \leq 4$) s'expliqueraient par le fait que les substances bioactives des extraits de plantes auraient provoqué la destruction de ces germes par une action au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à leur survie (Lavigne, 2007). Des études ont été menées sur l'isolement et la caractérisation de composés de cette espèce (Kisangau et al., 2009 ; Reneela, 2013), mais très peu d'études ont été rapportés sur les activités antimicrobienne de cette plante. L'activité antifongique des extraits diclorométhanolique et aqueux de l'écorce de *Skirakiopsis elliptica* a été menée en Tanzanie (Kisangau et al., 2009) mais à notre connaissance, l'activité bactérienne des extraits aqueux de cette plante

est reportée ici pour la première fois. Pour ce qui est de *Nauclea pobeguinii*, il a présenté une activité modérée vis-à-vis de 88% des souches microbiennes. L'activité a été bactéricide vis-à-vis de toutes les espèces testées. Les extraits aqueux issus de cette plante ont donné de meilleures activités antimicrobiennes par rapport aux autres extraits. Au regard des résultats des tests phytochimique, il serait difficile de dire que le contenu phytochimique des extraits aqueux pourrait justifier les résultats observés. En effet, des travaux effectués par Nascimento et al., (2000) ont montré que l'activité antimicrobienne des extraits de plantes ne dépend pas forcément du nombre de composés actifs présents dans ces extraits, mais de l'efficacité de chacun d'eux. A notre connaissance, aucune étude sur le potentiel antimicrobien de cette plante n'a encore été reportée et serait donc reportée ici pour la première fois. Cependant, des études précédentes ont porté sur les composés isolés des extraits hydroéthanolique (80%) de l'écorce de la tige de *N. pobeguinii* ont démontré une activité antiplasmodiale modérée (Mesia et al., 2010). En ce qui concerne les extraits issus de *Rumex abyssinicus*, l'extrait aqueux a présenté des résultats de loin meilleurs que l'extrait au méthanol vis-à-vis d'au moins trois souches testées ceci positionne l'eau comme meilleur solvant d'extraction en comparaison au méthanol et aux autres solvants et systèmes solvants utilisés. Son potentiel antimicrobien pourrait être attribué aux tanins et aux alcaloïdes contenus dans la plante ces métabolites secondaires exercent leur activité antimicrobienne selon divers mécanismes. Les tanins par exemples agissent en détournant les ions Fe^{2+} indispensable à de nombreux processus métaboliques vitaux à la cellule bactérienne. Ils peuvent également former des liaisons hydrogènes ou des interactions non spécifiques avec des protéines vitales telles que les enzymes (Scalbert, 1991). Le mécanisme de l'activité antimicrobienne des alcaloïdes quant à lui pourrait être par intercalage au sein de l'ADN et inhibition de la synthèse de l'ADN par inhibition de la topoisomérase (Doherty et al., 2010). Certaines études sur l'activité antimicrobienne de cette plante ont été reportées sur les espèces de *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogens*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus saprophiticus* (Tamokou et al., 2013) et sur les espèces *streptococcus pyogenes*, *S. aureus*, *Coxsackie virus B3* and *Influenza A virus* (Getie et al., 2003). Les résultats que nous avons obtenus diffèrent légèrement de ceux obtenus par Tamokou et collaborateurs. Cette différence peut être attribuée aux facteurs de résistance inhérent des microorganismes testés (Ekpo and Etim, 2009) en effet, il a été démontré que les germes utilisés dans ce travail étaient multirésistants (tableau XIII). Cette différence pourrait être par ailleurs attribuée à différence

dans les procédures utilisées (Tamokou et *al.*, 2013). Pour ce qui est des extraits issus de *Picralima nitida*, bien que tous les extraits issus de cette plante aient présenté des contenus phytochimique comparable, seuls les extraits PNM et PNMC ont inhibé la croissance de levures et des bactéries Gram positif. Cependant, aucun effet inhibiteur n'a été observé vis-à-vis des bactéries Gram négatif. Cette information suggère que l'activité de cette plante contre les infections causées par les bactéries Gram négatif serait limitée. En effet, il existe des différences structurales entre les bactéries Gram négatif et les bactéries Gram positif qui pourraient énormément contribuer à réduire le pouvoir antibactérien d'une substance antibactérienne. En effet, les bactéries Gram négatif possèdent une membrane externe absente chez les bactéries Gram positif et chez les levures (CEBVH, 2014). La présence de cette membrane empêcherait ainsi de nombreux antibiotiques à exercer leur potentiel antimicrobien. Cette observation pourrait également s'expliquer par l'existence possible d'interaction négative (antagonisme) entre les composés biologiques présents dans chacun de ces extraits. En effet, les composés actifs d'une plante médicinale peuvent exercer leur effet antimicrobien soit individuellement, en synergie ou plutôt de manière antagoniste. Ainsi, ce faible pouvoir antibactérien pourrait résulter de l'effet antagoniste de plusieurs classes de phytoconstitués présents dans les divers extraits de cette plante. Un bon nombre de travaux portant sur les activités antimicrobiennes de cette plante et de ses dérivés a été publié et les informations fournies par ces travaux sont très variables allant des microorganismes testés, au type de solvant utilisé, aux parties de la plante utilisées jusqu'à la méthodologie utilisée (Iwu et Klayman, 2002 ; Kouitchou et *al.*, 2005 ; Kouam et *al.*, 2011; Ubolum et *al.*, 2012 ; Nkere et Iroegbu, 2013 ; Erharuyi et *al.*, 2014) et les résultats que nous avons obtenus apportent des informations supplémentaires quant au potentiel antimicrobien des extraits de cette plante. Les fortes valeurs de CMI qu'ont présenté les antibiotiques seraient en effet dues à la mise sur pied par les microorganismes, des mécanismes de résistances. Ceci pourrait être soit par perméabilité réduite, par protection de la cible, par modification de la cible, par inactivation enzymatique ou par activation des pompes à efflux (Calcagno et La Croix, 2011). Pour ce qui est de l'activité des extraits en comparaison aux différents antibiotiques, nous avons constaté dans certains cas, que les CMI des extraits brutes étaient inférieures aux CMI de plusieurs antibiotiques de référence, constat intéressant du fait que ces extraits pourraient constituer de bons substituts à ces antibiotiques.

Une fois le potentiel antimicrobien des différents extraits déterminé, l'objectif suivant était d'évaluer le pouvoir potentialisateur des extraits les plus actifs sur les différents antibiotiques recensés dans le cadre de ce travail vis-à-vis des isolats cliniques. En effet, de nombreux travaux ont été publiés révélant des effets synergiques avec une réduction considérable de la CMI de nombreux antibiotiques lorsqu'ils sont en combinaison avec des extraits de plantes. Ce qui rendrait alors possible la réutilisation des antibiotiques qui avaient déjà perdu de leur efficacité (Sibanda et Okoh, 2007 ; Ghaleb et *al.*, 2010; Purushotham, et *al.*, 2010. Ngouana et *al.*, 2015, Tabouguia et *al.*, 2018). Une interaction est dite synergique si l'effet des produits combinés constituants l'interaction est significativement supérieur à celui de chaque produit administré individuellement. Elle est dite additive si l'effet des produits combinés est amélioré comparé à l'effet de chacun des produits seul (Van Vuuren et Viljoen, 2011). Ceci se matérialise par une diminution considérable de la CMI qui est la concentration minimale qui empêche la croissance du microbe. A mesure que ce paramètre est faible, la sensibilité du microorganisme pour le dit antibiotique augmente. Les résultats de l'effet potentialisateur des extraits sur les antibiotiques ont montré que 51.38% des interactions étaient additives. Ceci signifie que l'activité des antibiotiques impliqués dans chaque interaction additive a été améliorée en comparaison à son activité lorsqu'il était administré seul. Ces effets additifs ($>0,5IC_{50} \leq 1$) obtenus dans la plupart des cas seraient dus à l'action conjuguée des principes actifs issus des plantes et des antibiotiques qui auraient agi à des sites différents au niveau des bactéries (Adwan et Mhanna, 2008). Il a été démontré dans ce travail que les microorganismes utilisés étaient multirésistants et certains auteurs ont montré que l'activation de la pompe à efflux serait le mécanisme mis sur pieds par les bactéries (Gram + et Gram -) pour résister à presque tous les antibiotiques (Lin et *al.*, 2002 ; Mesaros et *al.*, 2005). En effet, la plupart des systèmes d'efflux qu'on retrouve chez les bactéries sont des protéines non spécifiques pouvant reconnaître et exporter, sans altération ni dégradation, une large gamme de composés n'ayant aucune liaison structurelle et chimique avec la dite bactérie (Shiota et *al.*, 2004). Il semblerait également que les molécules actives issues de l'extrait et de l'antibiotique, s'attacheraient directement ou indirectement sur le même site de la cellule bactérienne. D'autres auteurs suggèrent que les constituants phytochimiques des plantes perturberaient l'intégrité de la paroi bactérienne. Ce qui accroîtrait alors la perméabilité de la membrane cytoplasmique et faciliterait l'entrée des antibiotiques dans la cellule bactérienne grâce à la production des inhibiteurs de ces pompes à

efflux (Sibanda et Okoh, 2007). Par ailleurs, pour comprendre le mécanisme de résistance d'une bactérie ou d'un microorganisme vis-à-vis d'un antibiotique, il est indispensable de comprendre le mécanisme d'action du dit antimicrobien. Les phénicolés tel que le chloramphénicol par exemple, fixe la sous unité 50s du ribosome et empêche la formation des liaisons peptidiques par inhibition de la peptidyl transférase (Mims *et al.*, 1993 ; Bacq-Calberg *et al.*, 1999) et l'inactivation enzymatique de l'antibiotique représente le principal mécanisme de résistance contre les phénicolés (Guardabassi et Courvalin, 2006) de ce fait, pour améliorer le potentiel antimicrobien du chloramphénicol, les substances antimicrobiennes issues de l'extrait aqueux de *Skirakiopsis elliptica* pourrait contribuer à inhiber les réactions enzymatiques aboutissant à la résistance acquise de bactéries Gram négatif vis-à-vis de cet antibiotique. Nous avons par ailleurs constaté un effet additif avec réduction de la CMI entre les extraits aqueux de *Rumex abyssinicus* et la Norfloxacin, la doxycycline, l'amoxiciline, et la ceftriaxone vis-à-vis de *P. stuartii* ce qui n'était pas le cas pour les autres microorganismes testés. Ceci suggère que les mécanismes de résistance contre les antibiotiques varient non seulement d'un microorganisme à un autre, mais aussi d'un antibiotique à un autre (Seck, 2005).

L'évidence d'une activité antimicrobienne *in vitro* n'est pas toujours une garantie qu'on obtiendrait l'effet pharmacologique escompté *in vivo*, du fait de la complexité des organismes et des mécanismes de pharmacocinétique et dynamique. Ainsi, le dernier objectif de ce travail, était de déterminer l'effet thérapeutique des extraits les plus actifs sur les souris infectées. Pour atteindre cette objectif, des jeunes souris femelles ont été infectées transurétralement, et une culture positive consistante de leurs urines démontrait l'induction effective de l'infection urinaire. Plusieurs éléments ont en effet contribué au succès de cette infection que sont la souche de souris, la souche bactérienne (UPEC), la concentration de l'inoculum (10^{10} UFC/ ml) et l'âge des souris (8-10 semaines). En effet, tous ces éléments joueraient un rôle capital dans l'induction d'une infection transurétrale chez les souris (James *et al.*, 1996 ; Alison *et al.*, 2015). La perte de la masse pondérale de 56.86% chez le lot témoin négatif en comparaison avec le témoin normal, a permis d'affirmer que l'infection urinaire induite chez les souris a affecté leur croissance pondérale et que les souris étaient effectivement malade. En effet, parmi les symptômes de la cystite et de la polynéphrite, on retrouve les pertes d'appétits qui seraient probablement à l'origine de la perte de poids observée chez les souris infectées (AFSSAPS, 2008). Par contre, le regain de poids observé chez les lots d'animaux ayant reçu un traitement quelqu'il soit, montre

que la ciprofloxacine et les extraits de RAE, NPE et SEE aux différentes doses auraient neutralisé l'infection et stimulés l'appétit chez ces animaux. Le choix d'un antibiotique pour traiter une infection bactérienne ou fongique devrait tenir compte, non seulement de l'activité *in vitro* de cet antibiotique sur les souches infectantes, mais aussi de sa capacité à atteindre les germes aux sites d'infection. L'efficacité d'une antibiothérapie est directement liée au maintien dans les foyers infectieux de concentrations microstatiques ou au mieux microbicides d'antibiotique (Berche et al., 1984). Pour ce qui est de l'effet thérapeutique des extraits de plantes testés *in vivo*, tous les extraits de plante testés ont éradiqué l'infection urinaire induite chez les souris au bout de 10 jours. Ce qui suggère que les extraits étudiés atteindraient effectivement les foyers infectieux. Cette inhibition se ferait par inhibition de la synthèse de l'ADN bactérien (Mims et al, 1993), pour ce qui est de la ciprofloxacine une fluoroquinolone ; et par détournement d'ions Fe^{2+} indispensable à de nombreux processus métaboliques vitaux à la cellule bactérienne, ou encore par formation des liaisons hydrogènes ou des interactions non spécifiques avec des protéines vitales telles que les enzymes (Scalbert, 1991) induis par la présence des tanins contenu dans nos extraits actifs . Cependant, il est important de noter que d'autres facteurs qui n'ont pas été pris en compte dans cette étude pourraient également contribuer à l'éradication de l'infection. Nous pouvons citer entre autres les systèmes de défense humoraux et cellulaires de l'hôte (effet immunostimulateur) (NCCLS, 1990). Toutefois, l'obtention d'une inhibition de l'infection *in vivo* apporte une certaine garantie à l'usage des extraits SEE, RAE, et NPE en administration orale dans la prise en charge des cystites. Comparativement aux résultats des investigations *in vitro*, nous n'avons pas constaté de différence significative entre les extraits de plantes étudiés *in vivo*. Ces informations suggèrent que les molécules actives contenues dans les extraits aqueux de *Rumex abyssinicus*, et de *Nauclea pobeguini* dont le potentiel antimicrobien *in vitro* était modéré seraient sous des formes proactives et que leurs activités seraient améliorées lors de leur premier passage hépatique (effet du premier passage). En effet, un promédicament est une substance pharmacologique (un médicament) qui est administrée sous une forme inactive (ou beaucoup moins active que son métabolite). Une fois administré, il est métabolisé *in vivo* en un métabolite plus actif ce qui serait le cas dans notre étude pour les plantes suscitées. Ainsi, effet de l'organisme sur les l'extraits étudiés (pharmacocinétique) aurait contribué à l'amélioration de l'efficacité des extraits *in vivo*, et des travaux ultérieurs pourraient nous aider à élucider ces hypothèses. Pour ce qui des différentes doses ayant fait l'objet de notre étude (400, 200,

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

100mg/kg), Nous avons constaté qu'en dehors de l'extrait RAE à la dose de 200mg/kg, tous les autres extraits expérimentés aux différentes doses ont éradiqué l'infection à un pourcentage supérieur à 82%. De ce fait, la dose efficace pour les extraits de *Rumex abyssinicus*, et de *Nauclea pobeguinii* expérimentés serait de 100mg/kg. Et 200mg/kg pour *Shirakiopsis elliptica* du fait de regain de poids que cette dose a entraîné chez le lot qui la recevait. Les résultats de ce travail justifieraient alors l'usage traditionnel de *Shirakiopsis elliptica*, de *Rumex abyssinicus*, et de *Nauclea pobeguinii*, pour le traitement des infections urogénitales mais aussi des maladies infectieuses.

CHAPITRE IV: CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

IV.1. Conclusion

Le présent travail a consisté à étudier les propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de *Nauclea pobeguinii* (NP), *Picralima nitida* (PN), *Rumex abyssinicus* (RA) et de *Shirakiopsis elliptica* (SE), vis-à-vis des germes multirésistants à infections urogénitales. Il était question tour à tour d'identifier les germes multirésistants responsables des infections urogénitales; d'évaluer les paramètres antimicrobiens des extraits aqueux, méthanolique et hydroéthanoliques de *Shirakiopsis elliptica*, *Rumex abyssinicus*, *Nauclea pobeguini*, et *picralima nitida* ; contre les germes identifiés, d'évaluer le pouvoir potentialisateur des extraits à forte activité antimicrobienne vis-à-vis des antibiotiques conventionnels contre des germes étudiés, et enfin, d'évaluer l'effet thérapeutique *in vivo* des extraits actifs chez les souris induites. Au terme de l'étude, les résultats obtenus nous permettent de dégager les conclusions suivantes :

En ce qui concerne l'étude préliminaire, nous avons identifié et caractérisé au cours de cette étude neuf (09) microorganismes dont 4 bactéries Gram négatif, (*Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas aeruginosa*), une Bactérie Gram positif, *Staphylococcus Saprophyticus* et, 4 levures (*Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida famata* et *Cryptococcus laurentii*). Nous avons observé que toutes les souches bactériennes testées étaient multirésistantes vis-à-vis d'au moins 5 des 11 antibiotiques testés. *Providencia stuartii* était la souche la plus résistante suivie de *Pseudomonas aeruginosa* avec une résistance vis-à-vis de onze et de neuf des douze antibiotiques testés respectivement. En ce qui concerne les levures, chacune elle a présenté des résistances vis-à-vis d'au moins un des quatre antifongiques testés.

L'évaluation des paramètres antimicrobiens des extraits aqueux, méthanoliques et hydroéthanoliques des plantes sélectionnées (*Shirakiopsis elliptica*, *Rumex abyssinicus*, *Nauclea pobeguini*, et *picralima nitida*), contre les germes identifiés a permis de constater que les extraits aqueux de *Shirakiopsis elliptica*, *Rumex abyssinicus* et *Nauclea pobeguini*, posséderaient une activité antimicrobienne supérieure à celle des extraits au méthanol et des autres solvants. Il se dégage alors la conclusion selon laquelle, l'eau serait le solvant idéal d'extraction des principes actifs de ces plantes. Les tests phytochimiques ont montré que chaque extrait testé contenait au moins deux classes de métabolites secondaires bioactifs. Et il a été établi une relation entre l'activité antimicrobienne des plantes étudiées, et leur contenu phytochimique.

En ce qui concerne l'effet potentialisateur des extraits sur les antibiotiques, trente sept (37) interactions ont été prouvées additives pour un pourcentage de 51,38%, avec les indices de concentration inhibitrices fractionnelles compris entre 0,56 et 0,95. Trente cinq (35) interactions ont été prouvées indifférentes soit 48,61% de l'ensemble des combinaisons étudiées avec les indices de concentration inhibitrices fractionnelles compris entre 1,03 et 1,98. Aucune interaction antagoniste ICIF >4 n'a été observée ; toutefois, nous avons observé une réduction importante de la CMI de plusieurs antibiotiques qui allait jusqu'à 64 fois : la CMI de la doxycycline a été réduite 64 fois par les extraits aqueux de *Nauclea pobeguinii* (NPE) sur *S. saprophitiucus* ; celle de la norfloxacine et de la doxycycline a été réduite par SEE 32 et 16 fois respectivement sur *P. aeruginosa* ; celle du chloramphénicol a été réduite 16 et 8 fois par SEE sur *P. aeruginosa* et sur *E. coli* respectivement

Enfin, pour ce qui est de l'effet thérapeutique (potentiel anticystite) des extraits de plantes sur les souris infectées, en résumé, l'infection urinaire (la cystite) a été induite chez un total de 48 souris femelles. La morbidité de l'infection était marquée par une évolution consistante de la charge bactérienne dans les urines, ainsi qu'une diminution de la croissance pondérale des souris malades. L'étude a permis de démontrer l'effet thérapeutique des extraits de plantes évalués sur les souris infectées. En effet, il a été démontré dans cette étude que les bactéries responsables de la cystite (inflammation d'origine infectieuse de la vessie) induite ont été neutralisées par l'ensemble des extraits testés aux taux d'élimination variant de 26 à 99,5%, soit une éradication quasi-totale de l'infection. L'étude a par ailleurs révélée que les molécules actives des extraits aqueux de *Rumex abyssinicus* et de *Nauclea pobeguinii* seraient des promédicaments puisque qu'aucune différence significative n'a été constatée *in vivo* entre leurs activités et celle de *Shirakiopsis elliptica*, qui pourtant avaient démontrées les meilleures activités antimicrobiennes *in vitro*. Cette étude démontre qu'un médicament médiocre *in vitro* ne signifie par forcément l'absence absolue d'une activité thérapeutique car de nombreux médicaments existent sous forme de prodrogue et ne sont activées qu'une fois ingéré lors de la biotransformation. Par ailleurs, nous n'avons pu établir aucune différence ou relation entre les doses expérimentales utilisées dans ce travail car aucune différence significative n'a été observée dans l'effet inhibiteur des trois doses expérimentales de ce fait, la dose efficace pour les extraits de *Rumex abyssinicus*, et de *Nauclea pobeguinii* expérimentés pourrait être estimée à 100mg/kg, et à 200mg/kg pour *Shirakiopsis elliptica*. En somme, cette étude a permis de démontrer d'une part le potentiel anticystite des

extraits acqueux de *Shirakiopsis elliptica*, *Rumex abyssinicus*, *Nauclea pobeguinii* mais aussi leur potentiel antimicrobien contre les autres maladies causées par *Escherichia coli* (gastroenterites, prostatites, méningites, appendicites), *Pseudomonas aeruginosa* (la plupart des infections nosocomiales), *Proteus vulgaris* (infection des plaies, surinfections diverses), bref contre les infections causées par les germes étudiés dans ce travail. Ces plantes pourraient donc servir comme point de départ de développement des médicaments contre la cystite et les autres infections susmentionnées.

IV.2. Perspectives

Ce travail ayant en effet des limites, nous envisageons à l'avenir pour son amélioration,

- ✓ Evaluer la toxicité subaiguë et chronique des extraits actifs ;
- ✓ Déterminer l'effet potentialisateur des extraits sur les antifongiques;
- ✓ Étudier l'effet thérapeutique des meilleures combinaisons ;
- ✓ Étudier les mécanismes d'action des extraits étudiés.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Acar JF, 2000. Antibiotic synergy and antagonism. Antibiotic therapy. *Medical Clinics of North America.* ; 84: 1391–1406.

Adwan G. Mhanna M, 2008. Synergistic effects of plant extracts and antibiotics on staphylococcus aureus strains isolated from specimens. *Middle East journal of scientific research.* 3(3): 134-139.

AFSSAPS (Agence Française de sécurité sanitaire des produits de santé), 2008. Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires chez l'adulte - Recommandations de bonne pratique.

Akoachere JFTK, Suylika Y, Njom HA, Esemu NS, 2012. Etiologic profile and antimicrobial susceptibility of community-acquired urinary tract infection in two Cameroonian towns. *Biomedical Central Research Notes.* 2012, 5:219.

Akram H, 2009. *Trichomonas vaginalis* Cours. 11 Pages

Alan E, 2015. Les infections urinaires communautaires bactériennes : évaluation des connaissances de l'équipe officinale et des conseils apportés aux patients. Thèse de Doctorat d'Etat en Pharmacie. Université de Lorraine, France. 151 pages.

Alison JC, Chee KT, Deepak SI, Matthew JS, Allan WC, Mark AS, and Glen CU, 2015. Urinary tract infection of mice to model human disease: Practicalities, implications and limitations. *Critical Reviews in Microbiology.* Early Online: 1–20.

Amarti F, Satrani B, Ghanmi M, Farah A, Aafi A, Aarab L, Ajjouri ME and Chaouch A, 2010. "Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. du Maroc." *Biotechnology Agronomy Society and Environnement.* 14: 141-148.

Amber K, Aijaz A, Immaculata X, Luqman KA, Nikhat M, 2010. Anticandidal effect of *Ocimum sanctum* essential oil and its synergy with fluconazole and ketoconazole. *Phytomedicine.* 17: 921–925.

Anas A, Ahmed A, Umar S, Jajere UM, Mshelia EH. and Natasha O, 2017. Inhibitory effect of isolated lupeol from stem bark of *Diospyros mespiliformis* Horsch (Ebenaceae) against some microbial pathogens. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences,* 10(1): 293 – 299.

Ane-Anyangwe I; Meriki HD, Silum SP; Nsongomanyi FR and Zofou D. Antifungal susceptibility profiles and risk factors of vaginal candidiasis amongst female university students

in Southwest region, Cameroon. *African journal of clinical and experimental microbiology*. 6(1): 67-72.

Assob NJC, Weledji EP, Njunda AL, Bolimo F, Asongalem EA, Kamga FHL, Achidi EA, Penlap BV, Ndumbe PM, 2009. Bacteriological and mycological characterization of some pathogens of the urogenital tract in boua subdivision (South West region Cameroon). *Health Sciences and Disease*. 10(1): 1-6.

Assob JCN, Kamga HLF, Nsagha DS, Njunda AL, Nde FP, Asongalem AE, Njouendou AJ, Sandjon B, and Penlap BV, 2011. Antimicrobial and toxicological activities of five medicinal plant species from Cameroon Traditional Medicine. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2011; 11:70. doi: 10.1186/1472-6882-11-70.

Assob JCN, Anneh UA, Tabouguia OM, Tebit KE, Kamga HLF, Penlap BV, 2015. Urogenital tract infections among symptomatic women in Tiko-Cameroon: causes, risk factors and antimicrobial susceptibility pattern. 21th annual Conference of Biosciences, (Book of abstracts). P133.

Atanasov, AG, Waltenberger B, Pferschy-Wenzig EM, Linder T, Wawrosch C, Uhrin P, 2015. "Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review". *Biotechnology Advances*. 33 (8): 1582–1614. doi:10.1016/j.biotechadv.2015.08.001. PMC 4748402. PMID 26281720.

Bacq-Calberg, CM, Coyotte J, Hoet P. and Nguyem-Disteche M, 1999. *Microbiologie*. De Boeck & Larcier, Bruxelles, p338. In Kuete V, 2005.

Bahraminejad S, Asenstorfer RE, Riley IT and Schultz CJ, 2008. "Analysis of the antimicrobial activity of flavonoids and saponins isolated from the Shoots of oats (*Avena sativa* L.)." *Journal of Phytopathology*. 156: 1-7.

Basli A, Chibane M, Madani K and Oukil N, 2012. "Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: *Origanum glandulosum* Desf." *Phytothérapie*. 10: 2-9.

Bauer AW, Kirby WMM, Sherris, JC and Tuck M, 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized disc diffusion method. *American Journal of Clinical Pathology*. 45:493-496.

Beale AS, Sutherland R, 1983. Measurement of combined antibiotic action in antibiotics: Assessment of antimicrobial activity and resistance. London, UK: *Academic Press (Inc.)*.

Beani JC, 2005. Infections urogénitales à gonocoque et Chlamydia trachomatis (en dehors de la maladie de Nicolas Favre) (95b) Corpus Médical Faculté de Médecine de Grenoble. P. 4. <http://www-sante.ujf-grenoble.fr/SANTE/>.

Bébéar C, Sabine P et Roland Q, 2015. Mycoplasma spp. *Remic*. 69: 559 -566.

Bellet V, 2017. Mécanismes de résistance aux antifongiques, cours. 67 pages.

Berche P, Gaillard JL, Simonet M, 1984. Bactériologie des infections humaines. Collection de la biologie clinique *Médecine Sciences Flammarion*. Pp 500-650.

Berenbaum MC, 1978 . A method for testing for synergy with any number of agents. *Journal of Infectious Diseases*.137:122-130.

Berenbaum MC, 1980. Correlations between methods for measurements of synergy. *Journal of Infectious Diseases*. 142: 476–478

BioRad, 2005. Simmons Citrate : gélose / milieu de différenciation des entérobactéries, 2p.

Biorad, 2014. Gélose Chapman, milieu de différenciation des staphylocoques, 2p.

Bissong AEM, Mbah C, Foka TFE, Kanga HL, 2017. Spectrum of Uropathogens and Antimicrobial Susceptibility in Clinically Diagnosed Cases of Urinary Tract Infection in the Bamenda Regional Hospital, Cameroon, *American Journal of Health Research*. 5(2): 19-24.

Bohbot JM, 2007. Vaginose bactérienne. Extrait des Mises à jour en Gynécologie Médicale. P 141-147.

Bonapace CR, White RL, Friedrich LV, Basso JA, 2000. Evaluation of antibiotic synergy against *Acinetobacter baumannii*: a comparison with E-test, time-kill and checkerboard methods. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 38: 43–50.

Bourkhiss M, Hnach M., Bourkhiss B, Ouhsine M and Chaouch A (2007). "Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) du Maroc." *Afrique Sciences* 3: 232 - 242.

Bridson, D & Verdcourt B, 2003. Rubiaceae (Cinchonoideae). In: Pope, GV (Editor). *Flora Zambesiaca*. Volume 5, part 3. *Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, United Kingdom*. 720 pp.

Brooks GF, Butel JS, Morse SA, 2004. Jawetz Melnick et Adelberg's Medical Microbiology. 23rd Ed. *International Edition, Singapore*. P167-168.

Bruneton J, 2009. Pharmacognosie: Phytochimie, Plantes médicinales, *Tec & Doc Lavoisier*; 1269 pages. In Moroh Aboya JL. 2013

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

Bryskier A, 1999. Evolution de la chimiothérapie antibactérienne. In: Antibiotiques, Agents Antibactériens et Antifongiques Paris : Ellipse . In Gamra JA.2010.

Burkill, HM, 1985. The useful plants of West Tropical Africa. *Families A–D. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, United Kingdom* 2nd Edition. Volume 1, 960 pp.

Burkill, HM, 1997. The useful plants of West Tropical Africa. *Families M–R. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, United Kingdom.* 2nd Edition. Volume 4, 969 pp.

Burns A, Lovich R, Maxwell J, Shapiro K, 1997. « Where Women Have No Doctor », Sandy Niemann Editor , Berkeley, *The Hesperian Foundation.* pp 260-279.

Calgagno F, Lacroix R, 2011 . Pharma-memo Infectiologie. Paris, France : *Editions Vernazobres Greco.* 246 p.

Camps J, 2009. Notions de biocompatibilité. Support de cours. 13 pages.

Cano JH, Volpato G, 2004. Herbal mixtures in the traditional medicine of eastern Cuba. *Journal of Ethnopharmacology.* ; 90: 293–316.

Cavallo JD, Merens A, 2008. Antibacterial spectrum of an antibiotic and clinical categorization. *Pathologie Biologie.* 56, 300-304. In Muylaert A, Mainil JG. 2012

CEBVH (Collégiale des Enseignants de Bactériologie-Virologie-Hygiène), 2014. Structure et physiologie de la bactérie : Anatomie – Structure. Université Médicale virtuelle francophone. 11 pages.

Cheesbrough M, 2006. District Laboratory Practice in Tropical Countries Part 2.

Cimanga RK, Kambu K, Tonab L, Hermans N, Apers S, Totte J, Pieters L, 2006. Cytotoxicity and in vitro susceptibility of *Entamoeba histolytica* to *Morinda morindoides* leaf extracts and its isolated constituents. *Journal of Ethnopharmacology.* 107: 83–90.

CLSI, 2006. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that aerobically. Approved standards seventh edition. Vol 2 N° 2. 64 pages.

CLSI (Clinical and laboratory standard institute), 2012. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. *Eleventh edition. Approved Standard.*

CLSI (Clinical Laboratory Standard Institute). 2014. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty Fourth Informational supplement.230P

CNED: Collège National des Enseignants de Dermatologie, 2011. Item 95 Maladies sexuellement transmissibles : Infections uro-génitales à gonocoque et *Chlamydia trachomatis* (en

dehors de la maladie de Nicolas Favre). Support de cours, Université Virtuelle Francophone. Pp 1-12.

Coudeyras S et Forestier C, 2010. Microbiote et probiotiques : impact en santé humaine. *Revue canadienne de microbiologie*. 56(8): 611-650, <https://doi.org/10.1139/W10-052>.

Colgan, R; Williams, M, 2011. Diagnosis and treatment of acute uncomplicated cystitis. *American family physician*. 84 (7): 771–6.

Cos P, Vlietinck AJ, Berghe DV et Maes L, 2006. Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger in vitro proof-of-concept. *Journal of Ethnopharmacology*. 106: 290–302.

Delamare LG. Dictionnaire des termes de médecine 23ème édition in Gamra JA. 2010.

Demoré B, Grare M, Duval R, 2018. Partie VII Pathologies infectieuses. Chapitre 42 : Généralités sur les antibiotiques par voie systémique et principes d'utilisation. *Elsevier Masson*. P 753-790.

Dewick PM, 2011. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach, Wiley 550 pages. In Moroh A JL. 2013

Docherty JJ., Fu MM and Tsai M. "Resveratrol selectively inhibits *Neisseria gonorrhoeae* and *Neisseria meningitidis*." *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2001; 47: 243-244.

Doherty VF, Olaniran OO, Kanife UC, 2010. Antimicrobial Activities of *Aframomum Melegueta* (Alligator Pepper). *International journal of biology*. 2(2): 126-131.

Donlan RM, Costerton JW, 2002. Biofilms : survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Review*. 15: 167-193. In Tankeo 2016

Dufour M, Simmonds RS, Bremer PJ, 2003. Development of a method to quantify in vitro the synergistic activity of "natural" antimicrobials. *International Journal of Food Microbiology*. 85: 249–258.

Edilu A, Adane L and Woyessa D, 2015. In vitro antibacterial activities of compounds isolated from roots of *Caylusea abyssinica*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* (2015) 14:15.

Ekpo MA, Etim PC, 2009. Antimicrobial activity of ethanolic and aqueous extracts of *Sidaacuta* on microorganisms from skin infections. *Journal of Medicinal Plant Research*. 3(9), 621-624.

Elias C, 1992. Reproductive tract infections: Global impact and priorities for women's reproductive health. In *Reproductive Health Matters*. Volume 1. Edited by Adrienne G, King KH, Peter P, Judith W. *Plenum Press, New York* 1992. 111-112.

Endo EH, Cortez DAC, Ueda-Nakamura T, Nakamura CV, Filho BPD, 2010. Potent antifungal activity of extracts and pure compound isolated from pomegranate peels and synergism with fluconazole against *Candida albicans*. *Research in Microbiology Journal*, advance online publication 21 June 2010; doi: 10.1016/j.resmic.2010.05.002.

Erharuyi O, Falodun A and Langer P. Medicinal uses, phytochemistry and pharmacology of *Picralima nitida* (Apocynaceae) in tropical diseases: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. (2014)1-8.

EUCAST-CASFM, 2014 (European committee on antimicrobial susceptibility testing- Comité de l'antibiogramme de la Société Française de microbiologie) Recommandations 2014. 155P

Fabry W, Okemo PO, Ansorg R, 1998. Antibacterial activity of East African medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 60:79-84.

Fortin C, 2016. Syphilis infectieuse. *Le Médecin du Québec*. p 1-7.

Fourmaux S, Bebear C, 1997. Infections urogénitales liées aux *Chlamydia* et aux mycoplasmes *Progrès en Urologie*. 7, 132-136.

François A, Brandstätter H, Bréchet AC, Huttner A, 2013. Infections urinaires UG DMCPRU Service de médecine de premier recours. 12P.

Gamra JA, 2010. Protocole d'antibiothérapie à l'hôpital intérêt et limites Thèse de Doctorat en médecine. Université Cadi Ayyad Marrakech, Maroc. 121 pages.

Garber GE, Sibau L, Ma R, Proctor EM, Shaw CE, Bowie WR, 1987. Cell culture compared with broth for detection of *Trichomonas vaginalis*. *Journal of Clinical Microbiology*. 25:1275-9. In Gary E Garber, 2005. The laboratory diagnosis of *Trichomonas vaginalis*. *Canadian Journal of Infectious Disease Medical Microbiology* Vol 16 38: 1-4.

Getie M, Gebre-Mariam T, Rietz R, Höhne C, Huschka C, Schmidtke M, Abate A, Neubert RH, 2003. Evaluation of the anti-microbial and anti-inflammatory activities of the medicinal plants *Dodonaea viscosa*, *Rumex nervosus* and *Rumex abyssinicus*. *Fitoterapia*. 74 (1-2):139-43.

Ghaleb A, Bassam AS, Kamel A, 2010. Antibacterial activities of some plant extracts alone and in combination with different antimicrobials against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 266-26.

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

Guardabassi L, Courvalin P, 2006. Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance: chapter 1. In F. M. Aarestrup (Ed.) Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin (pp. 1-18). Washington, D.C. ASM Press.

HAS (Haute autorité de Santé) France, 2010. Dépistage et prise en charge de l'infection à *Neisseria gonorrhoeae* : état des lieux et propositions. P 38.

Hassan GS, Farag NA, Hegazy GH and Arafa RK, 2008. "Design and Synthesis of Novel Benzopyran-2-one Derivatives of Expected Antimicrobial Activity through DNA Gyrase-B Inhibition." *Archiv der Pharmazie*. 341: 725-733.

Hazra KM, Roy RN, Sen SK and Laskar S, 2007. "Isolation of antibacterial penta-hydroxy flavones from the seeds of *Mimusops elengi* L." *African Journal of Biotechnology*. 6: 1446-1449.

Hnich H, 2017. La résistance bactérienne : mécanismes et méthodes de détection au laboratoire. Thèse de Doctorat d'Etat en Médecine Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Maroc. 149 Pages.

Ho KY, Tsai CC, Huang JS, Chen CP, Lin TC and Lin CC, 2001. "Antimicrobial activity of tannin components from *Vaccinium vitis-idaea* L." *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 53: 187-191.

Hoehn K, Marieb E, 2010. Anatomie et physiologie humaines adaptation de la 8e édition américaine. Pearson, Paris, PP 1116-1148.

Hosein SR, 2016. La Syphilis. Catié feuillet d'information. pp 1-8.

Hufford C, Liu S and Clark A, 1987. "Anticandidal activity of eupolauridine and onychine, alkaloids from *Cleistopholis patens*." *Journal of Natural Products*. 50: 961-964.

Hung CS, Dodson WK, and Hultgren JS, 2009. A murine model of urinary tract infection. *Nature protocols*. 4(8): 1230–1243. doi:10.1038/nprot.2009.116. NIH-

Hutchings A, Scott AH, Lewis G, Cunningham AB, 1996. Zulu medicinal plants an inventory. Pietermaritzburg, South Africa: *University of Natal Press*.

Hvidberg H, Struve C, Krogh KA, Christensen N, Rasmussen SN, and Frimodt-Møller N, 2000. Development of a long-term ascending urinary tract infection mouse model for antibiotic treatment studies. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. vol 44 (1) p 156-163.

Inui T, Wang Y, Deng S, Smith DC, Franzblau SG, Pauli GF. Counter-current chromatography based analysis of synergy in an anti-tuberculosis ethnobotanical. *Journal of Chromatography A*. 2007; 1151: 211–215.

Itin P, 2015. Diagnostic et traitement de la syphilis: recommandations actualisées. *Bulletin*. 21: 244-249.

Iwu MM, Klayman DL, 2002. Evaluation of the in vitro antimalarial activity of *Picralima nitida* extracts. *Journal of Ethnopharmacology*. 36(2): 133-135.

Jainkittivong A, Butsarakamruha T and Langlais RP, 2009. "Antifungal activity of *Morindacitrifolia* fruit extract against *Candida albicans*." *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 108: 394-398

James RJ and Jennifer JB, 1996. Defining Inoculation Conditions for the Mouse Model of Ascending Urinary Tract Infection that Avoid Immediate Vesicoureteral Reflux yet Produce Renal and Bladder Infection. *The Journal of Infectious Diseases*. 173:746-9

Jaton K, Greu G, 2005. Chlamydia : signes d'appel, diagnostic et traitement. *Revue Medicale Suisse*. vol 1. 30280.

Jeyachandran R, Mahesh A, Cindrella L, Sudhakar S and Pazhanichamy K, 2009. "Antibacterial activity of Plumbagin and root extracts of *Plumbago zeylanica* L." *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*. 51: 17-22.

Jiofack T, Fokunang C, Guedje N, Kemeuze V, Fongnzossie E, Nkongmeneck BA, Mapongmetsem PM, Tsabang N, 2010. Ethnobotanical uses of medicinal plants of two ethnoecological regions of Cameroon. *International Journal of Medicine and Medical Sciences*. 2 (3): 60-79.

Kamga YM, Ngunde PJ and Akoachere KTJF, 2019. Prevalence of bacterial vaginosis and associated risk factors in pregnant women receiving antenatal care at the Kumba Health District (KHD), Cameroon. *BMC Pregnancy and Childbirth*. (2019)19:166

Kareem SO, Akpan I and Ojo OP, 2008. Antimicrobial activities of *Calotropis procera* on Selected Pathogenic Microorganisms. *African Journal of Biomedical Research*. 11:105-110.

Karmegam N, Karuppusamy S, Prakash M, Jayakumar M, Rajasekar K, 2008. Antibacterial potency and synergistic effect of certain plant extracts against food-borne diarrheagenic bacteria. *International journal of Biomedical and pharmaceutical sciences*. 2(2), 88-93.

Katerere DR, Gray AI, Nash RJ and Waigh RD, 2003. "Antimicrobial activity of pentacyclic triterpenes isolated from African Combretaceae." *Phytochemistry*. 63: 81-88.

Kisangau DP, Hosea KM, Lyaruu HVM, Joseph CC, Mbwambo ZH, 2009. Screening of traditionally used Tanzanian medicinal plants for antifungal activity. *Pharmaceutical Biology*. 47:708-716.

Kisielius PV, Schwan WR, Amundsen SK, Duncan JL, Schaeffer AJ, 1989. In vivo expression and variation of Escherichia coli type 1 and P pili in the urine of adults with acute urinary tract infections. *Infection and Immunity*. 57:1656–1662. [PubMed: 2566580]

Koeijers JJ, Verbon A, Kessels AGH, Bartelds A, Donkers G, Nys S, Stobberingh EE, 2010. Urinary tract infection in male general practice patients: uropathogens and antibiotic susceptibility. *Urology*. 76(2):336 – 40.

Kouam J, Mabeku LBK, Kuate JR, Tiabou AT, Fomum ZT, 2011. Antimicrobial glycosides and derivatives from roots of Picralima nitida. *International Journal of Chemistry*. 3: 23-31.

Kouitchou LBM, Tamesse JL, Kouam J, 2013. The anti-shigellosis activity of the methanol extract of Picralima nitida on Shigella dysenteriae type I induced diarrhoea in rats. *BioMedicine Central Journal*. 13: 211. doi: 10.1186/1472-6882-13-211.

Kouomo Motse FD, Ngaba1GP, Koum DCK, Foko LPK, Ebongue CO, Adio DD, 2019. Etiologic Profile and Sensitivity Pattern of Germs Responsible for Urinary Tract Infection among Under-five Children in Douala, Cameroon: A Hospital-Based Study. *Avicenna Journal of Clinical Microbiology and Infection*. 6(1):1-8.

Lachowicz KJ, Jones GP, Briggs DR, Bienvenu FE, Wan J, Wilcock A, Coventry MJ, 1998. The synergistic preservative effects of the essential oils of sweet basil (Ocimum basilicum L.) against acid-tolerant food microflora. *Letters in Applied Microbiology*. 26: 209–214.

Lavigne JP, 2007. Effets des antibiotiques et mécanismes de résistance bactériologique. P 1-3.

Le Garo C, 2014. Le Bon Usage Des Antibiotiques en Milieu Hospitalier : Evaluation de la Réévaluation des Antibiotiques au sein du Centre Régional Léon Bérard (Lyon) Université Claude Bernard - Lyon 1. Thèse Pour Le Diplôme D'état De Docteur En Pharmacie. 83 pages.

Lewis RE, Diekema DJ, Messer SA, Pfaller MA, Klepser ME, 2002. Comparison of Etest, checkerboard dilution and time-kill studies for the detection of synergy or antagonism between antifungal agents tested against Candida species. *Antimicrobials and Chemotherapy*. 49: 345–351.

Lin J, Michel LO, Zhang Q, 2002. Cme ABC functions as a multidrug efflux system in *Campylobacter jejuni*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 46: 2124-31. In Ghaleb A, Bassam A, Kamel A. 2010.

Lohombo-Ekomba, ML, Okusa PN, Penge O, Kabongo C, Choudhary MI and Kasende OE, 2004. "Antibacterial, antifungal, antiplasmodial, and cytotoxic activities of *Albertia villosa*." *Journal of Ethnopharmacology*. 93: 331-335.

Mahboubi IM, Bidgoli FG, 2010. In vitro synergistic efficacy of combination of amphotericin B with *Myrtus communis* essential oil against clinical isolates of *Candida albicans*. *Phytomedicine*. 17: 771-774.

Malhotra M, Seema S, Anjan M, Sumathi M and Manju B, 2013. Genital Chlamydia trachomatis : An update. *Indian Journal of Medical Research*. 138: 303-316.

Mammedi H, 2008. Mode d'action des antibiotiques. [En ligne]. Disponible sur <http://www.upicardie.fr/servlet/com.univ.utils.LectureFichierJoint?CODE=1253972874925&LANGUE=0> (Consulté le 30/04/2014)

Mamoudou B, 2003. Prise en charge des infections sexuellement transmissibles: contribution des officines pharmaceutiques privées d'Ouagadougou. Thèse de Doctorat d'Etat en Pharmacie, Université d'Ouagadougou. 149 pages.

Mandić BM, Gođevac DN, Beškoski VP, Simić MR, Trifunović SS, Tešević VV, Vajs VV and Milosavljević SM, 2009. "Pyrrolizidine alkaloids from seven wild-growing *Senecio* species in Serbia and Montenegro." *Journal of the Serbian Chemical Society*. 74: 27-34.

Mekonnen T, Urga K, Engidawork E, 2010. Evaluation of diuretic and analgesic activities of the rhizomes of *Rumex abyssinicus* J. in mice. *Journal of ethnopharmacology*. 127(2): 433-9.

Menza N, Wanjiru W and Mukuri WM, 2013. Prevalence of vagina candidiasis and Determination of the occurrence of *Candida* species in pregnant women attending the Antenatal Clinic of Thika District Hospital Kenya. *Open Journal of medical Microbiology*. 3:264-272.

Mesaros N., Van Bembeke E, Glupzynski Y, Vanhoof R, Tulkens PM, 2005. L'efflux des antibiotiques: un mécanisme ubiquitaire conduisant à la résistance. État de la question et implications microbiologiques et cliniques. *Louvain Medical*. 124(8):308-320.

Mesia K, Cimanga RK, Dhooghe L, Cos P, Apers S, Totté J, Tona GL, Pieters L, Vlietinck AJ, Maes L, 2010. Antimalarial activity and toxicity evaluation of a quantified *Nauclea pobeguinii* extract. *Journal of ethnopharmacology*. 131(1):10-6.

Mims CA, Playfair JHL, Roitt IM, Wakelin D. and Williams R, 1993. *Antimicrobials and Chemotherapy*; In: Mims et al. (Eds) *Medical Microbiology*., St Louis, 35.1-35.34 in Kuete V, 2005.

Monali PM, Sibnarayan R, Shasank SS, Goutam G, Debajyoti D, Rabindra NP, 2017. In vitro antibacterial activity of crude extracts of 9 selected medicinal plants against UTI causing MDR bacteria. *Journal of King Saud University Science*. 29(1): 84-95.

Moroh AJL. 2013 Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de *Morinda morindoides*. Sciences agricoles. Thèse de Doctorat en Biochimie Université de Bretagne occidentale - Brest. 214 pages

Morita Y, Matsumura E, Okabe T, Shibata M, Sugiura M, Ohe T, Tsujibo H, Ishida N and Inamori Y, 2003. "Biological Activity of Tropolone." *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 26: 1487-1490.

Muktar B; Bello IA; Sallau MS, 2018. Isolation, characterization and antimicrobial study of lupeol acetate from the root bark of Fig-Mulberry Sycamore (*Ficus sycomorus* LINN. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*. 22 (7) 1129 –1133.

Muylaert A, Mainil JG, 2012. Résistances bactériennes aux antibiotiques: les mécanismes et leur « contagiosité » *Annales de Médecine Vétérinaire*. 156, 109- 123

Nascimento GGF, Lacatelli J, Freitas PC, Silva GL, 2000. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*. 31(4): 886-891.

NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), 1990. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 4th Edition. M2 A4. Villanova. 20 (7): 1-28.

NCCLS 2008. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts. Approved Standard M44-A2 in susceptibility testing of yeast 2011.

Ngouana TK, Mbouna CDJ, Toghueo KRM, Tchuenta TMA, Zeuko'o ME, Ngouana V, Mallié M, Bertout S and Fekam BF, 2015. Catappa, Terminalia Mantaly and Monodora tenuifolia Against Pathogenic Yeasts. *Medicines*. 2: 220-235;

Njouendou A J; Nkeng-Efouet AP; Assob Nguedia JC; Chouna JR; Veerapur VP ; Thippeswamy BS; Badami S; Wanji S 2014. Protective effect of *autranella congolensis* and *sapium ellipticum* stem bark extracts against hepatotoxicity induced by thioacetamide. *Pharmacologyonline*. 2 : 38-47.

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

Nkere CK, Iroegbu CU, 2005. Antibacterial screening of the root, seed and stem bark extract of *Picralima nitida*. *African Journal of Biotechnology*. 4(6): 522-526.

Odeh IC and Anyiin TA, 2014. Phytochemical and Antimicrobial Evaluation of leaf-extracts of *Pterocarpussantalinoides*. *European Journal of Medicinal Plants*. 4(1): 105-115.

Oh KB, Mar W, Kim S, Kim JY, Lee TH, Kim JG, Shin D, Sim CJ and Shin J, 2006. "Antimicrobial Activity and Cytotoxicity of Bis (indole) Alkaloids from the Sponge *spongosorites* sp." *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 29, 570-573.

O'Hagan D, 2000. "Pyrrole, pyrrolidine, pyridine, piperidine and tropane alkaloids." *Natural Product Reports*. 17, 435-446.

OMS, 1961. Standardisation de la méthodologie des tests de sensibilité bactérienne. Organisation mondiale de la Santé *Séries de Rapports Techniques*. N° 210.

OMS, 2002. Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005. 65 pages.

OMS, 2013: Infections sexuellement transmissibles, aide-mémoire N° 110 Mai 2013. consulté en 2013.

OMS, 2013a : Statistique sanitaire mondiale 2013 : *Une masse d'information sur la santé publique mondiale*. 167pages.

OMS, 2013b Stratégie dsouse l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023. 2013b ; 72pages.

Oussou KR, Kanko C, Guessend N, Yolou S, Dosso M, N'Guessan YT, Figueredo G, Chalchat JC and Koukoua G, 2004 . "Activités antibactériennes des huiles essentielles de trois plantes aromatiques de Côte-d'Ivoire." *Comptes Rendus Chimie*. 7:1081-1086.

Palaniappan K, Holley RA, 2010. Use of natural antimicrobials to increase antibiotic susceptibility of drug resistant bacteria. *International Journal of Food Microbiology*. 140: 164–168.

Pamp SJ, Tolker-Nielsen T, 2007. Multiple roles of biosurfactants in structural biofilm development by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of bacteriology*. 189: 2531-2539.

Pauli A, 2006. "Anticandidal low molecular compounds from higher plants with special reference to compounds from essential oils." *Medicinal Research Reviews*. 26: 223-268.

Ploy MC, 2012. Résistance aux antibiotiques. [Présentation PowerPoint]. Cours de DFGSM3. Faculté de médecine de Limoges.

Population Council, 2002. Infections du tractus génital. Une note d'information. 33pages.

PROSAD (Programme Santé Sexuelle, Droits Humains), 2006. Anatomie et fonctionnement des appareils génitaux 3^e Edition. 39 Pages.

Purushotham KG, Arun P, Jayarani JJ, Vasanthakumari R, Sankar L, Reddy BR, 2010. Synergistic in vitro antibacterial activity of Tectona grandis leaves with tetracycline *International Journal of PharmTech Research*. 2(1) :519-523.

Raghu F, 2016. Épidémiologie de la résistance chez les entérobactéries isolées sur les ECBU réalisés dans un service d'urgence. Thèse de doctorat d'Etat en Médecine. Université Paris Diderot – Paris. 781 Pages.

Rath G, Ndonzao M and Hostettmann K, 1995. "Antifungal anthraquinones from Morinda lucida." *International journal of pharmacognosy*. 33: 107-114.

Reid G, 2006. Prevention and treatment of urogenital infections and complications: lactobacilli's multi-pronged effects. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 18:3-4, 181-186.

Reid G, Bruce AW, 2003. Urogenital infections in women: can probiotic help? *Review Postgraduate Medical Journal*. 79: 428-432.

Reneela P, Edimealem A , Tsegaye D , 2013. Phytochemical investigation of Sapium ellipticum. *Journal of Natural Products and Plant Resources*. 3 (5):1-6.

Richa Bhardwaj, Ankita Yadav, Pallavi Sharma and Ram Avatar Sharma, 2014. *In vitro* and *in vivo* GC-MS Profile and Antimicrobial Activity of Phytosterols of *Datura stramonium*. *Research Journal of Medicinal Plants*, 8: 112-120.

Rivera A, Giono S, Gonzalez M, Rodríguez N and Cedillo L, 2011. "Antibacterial effect of Morinda citrifolia fruit juice against mycoplasmas." *Annals of Biological Research*. 2: 491-497.

Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC, 2006. The world wide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infectious Diseases*. 6: 629-640.

Rodrigues FF, Costa JG, Coutinho HD, 2009. Synergy effects of the antibiotics gentamicin and the essential oil of *Croton zehntneri*. *Phytomedicine*. 16: 1052–105.

Rodriguez-Martinez JM, Velasco C, Briales A, Garcia I, Conejo MC, Pascual A, 2008. Qnr-like pentapeptide repeat proteins in gram-positive bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 61: 1240-1243.

Romano C, Abadi K, Repetto V, Vojnov AA, Moreno S, 2009. Synergistic antioxidant and antibacterial activity of rosemary plus butylated derivatives. *Food Chemistry Journal*. 115: 456–461.

Salvatore S, Cattoni E, Siesto G, Serati, M, Sorice, P, Torella, M, 2011. Urinary tract infections in women. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 156 (2): 131–6.

Santesteban-López A, Palou E, López-Malo A, 2007. Susceptibility of foodborne bacteria to binary combinations of antimicrobials at selected a(w) and pH. *Journal of Applied Microbiology*. 102: 486–497.

Sato M, Fujiwara S, Tsuchiya H, Fujii T, Inuma M, Tosa H and Ohkawa Y, 1996 . "Flavones with antibacterial activity against cariogenic bacteria." *Journal of Ethnopharmacology*. 54: 171-176.

Scalbert A, 1991. "Antimicrobial properties of tannins". *Phytochemistry*. 30: 3875-3883.

Seck R, 2005 . Résistance des souches d'Eschérichia coli et de Klebsiella pneumoniae isolées d'infections urinaires. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Cheikh Anta Diop, Dakar. 67 Pages.

Shiota S, Shimizu M, Sugiyama J, Morita Y, Mizushima T, Tsuchiya T, 2004. Mechanisms of action of corilagin and tellimagrandin I that remarkably potentiate the activity of β -lactams against methicillin resistant Staphylococcus aureus. *Microbiology and Immunology*. 48: 67-73.

Sibanda T, Okoh AI, 2007. The challenges of overcoming antibiotic resistance: Plant extracts as potential sources of antimicrobial and resistance modifying agents. *African Journal of Biotechnology*. 6: 2886-2896.

Sibylle R, 2009 . Détection par PCR en temps réel multiplexe de Gardnerella vaginalis et Trichomonas vaginalis. *E. Santé 48ème volée*. P 8.

Sohail M, Sarwar S, Rasool K , Iqba MS, 2014. Antimicrobial activity of various plant extracts against Bacterial pathogens isolated from urinary tract infection patients. *The Pharmaceutical and Chemical Journal*, 2014, 1(2):26-3.

Soussi S, 2015. Les interactions entre les plantes médicinales et les médicaments des pathologies cardiovasculaires. *Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie. Université de Toulouse*. 178 pages.

SPILF (Société de pathologie infectieuse de langue française), 2015. Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires de l'adulte Mise au point Texte court Actualisation au 11 décembre 2015 des recommandations initialement mises en ligne en mai 2014. 122 Pages.

Tabouguia OM, Zofou D, Njouendou JA, Anneh AU, Moumbock A, Babiaka BS, Nganyewo AZ, Yong NJ, Nde Fon P, Penlap BV, Assob NJC, 2017. Antimicrobial activities of some medicinal plants against multiresistant microorganisms causing urogenital tract infections in Cameroon. *Journal of Diseases and Medicinal Plants*. 3: 33-41.

Tabouguia MO, Zofou D, Njouendou JA, Kouipou MRT, Fon PN, Beng VP, Assob Nguedia JCA, 2018. Plants- Drug interactions against some multi-drug resistant microorganisms causing urogenital tract infections in Cameroon. *Investigational Medicinal Chemistry and Pharmacology*. 1(1):4.

Tam VH, Schilling AN, Nikolaou M, 2005. Modelling time-kill studies to discern the pharmacodynamics of meropenem. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 55: 699–706.

Tamokou JD, Chouna JR, Fischer-Fodor E, Chereches G, Barbos O, Grigore D, Benedec D, Duma M, Nkeng EAP, Wabo KH, Kuate JR, Mot A, Radu SD, 2013. Anticancer and Antimicrobial Activities of Some Antioxidant-Rich Cameroonian Medicinal Plants. *Plos one*. 8(2):1-14.

Tankeo SB, 2016. Etude du potentiel antibactérien des constituants de six plantes médicinales Camerounaises sur des bactéries Gram négatives multi-résistantes. Thèse de Doctorat PhD en Biochimie. Université de Dschang, Cameroun. 167 Pages.

Thai KH, Thathireddy A, Hsieh MH, 2010. Transurethral Induction of Mouse Urinary Tract Infection. *Journal of visualized experiments*. 42. <http://www.jove.com/details.php?id=2070>, doi: 10.3791/2070

Trease GE, Evans WC, 1983. *Pharmacognosy, 12 edn. London: BailliereTindall.*

Tsuji M, Takema M, Miwa H, Shimada J, and Kuwahara S. In vivo antibacterial activity of S-3578, 2003, a new broad spectrum cephalosporin: Methicillin –resistant *S. aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* experimental infection models. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 47 (8) : 2507-2512.

Ubulom P, Imandeh NG, Udobi CE, and Ilya I, 2012. Larvicidal and Antifungal Properties of *Picralima nitida* (Apocynaceae) Leaf Extracts. *European Journal of Medicinal Plants*. 2(2): 132-139.

Van Vuuren S, Viljoen A, 2011. Plant-Based Antimicrobial Studies – methods and approaches to study the interaction between natural products *Planta Medica*. 77: 1168–1182.

Van Vuuren SF, 2007. The antimicrobial activity and essential oil composition of medicinal aromatic plants used in African traditional healing [PhD thesis]. South Africa: University of the Witwatersrand.

Venereol D A, 2005. Item no 95 : Maladies sexuellement transmissibles: infections urogénitales à gonocoque et Chlamydia trachomatis (en dehors de la maladie de Nicolas-Favre).132:7S59-7S63.

Vorkaufers S, 2011. Les infections urinaires communautaires bactériennes de l'adulte : Prise en charge diagnostique et thérapeutique. Thèse de doctorat en médecine. Université Henri Poincaré, Nancy1. 104 pages.

Vroumsia T, Moussa D, Bouba G, Menye ED, Ebot AC, Eneke T, Vikumitsi VA, Njiné T, 2013. Prevalence of Vulvovaginal Candidiasis amongst pregnant women in Maroua (Cameroon) and the sensitivity of Candida albicans to extracts of six locally used antifungal plants. *International Research Journal of Microbiology*. 4(3) : 89-97.

Weber P, 2002. Epidémiologie bactérienne des infections urinaires basses communautaires : état de sensibilité des bactéries des infections urinaires en ville. In : «les infections urinaires : question d'actualité », Phase 5, Editions médicales. p65 – 78. in RAGHU F, 2016

White RL, Burgess DS, Manduru M, Bosso JA, 1996. Comparison of three different in vitro methods of detecting synergy: time-kill, checkerboard and Etest. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 40: 1914–1918.

WHO, 2002. "Stratégie de l'OMS pour la Médecine Traditionnelle pour 2002–2005." 74 pages.

WHO, 2016. WHO guidelines for the treatment of Chlamydia trachomatis. P11-12.

Williamson EM, 2001. Synergy and other interactions in phytomedicines. *Phytomedicine*. 8: 401–409.

Wu M, Woolson RF, 1998. A comparison of several tests for drug synergy. *Commun Statist Simula*. 27: 303–327.

Xiang W, Song QS, Zhang HJ and Guo SP, 2008. "Antimicrobial anthraquinones from Morinda angustifolia." *Fitoterapia*.; 79: 501-504.

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.

Yala D, Merad AS, Mohamedi D, Ouar Korich MN, 2001. Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*. n°91. 12 pages.

Yusuf, AJ, Abdullahi, MI, Aleku, GA, Ibrahim, IAA., Alebiosu, IO, Yahaya, M et al, 2018. Antimicrobial activity of stigmasterol from the stem bark of *Neocarya macrophylla*. *Journal of Medicinal Plants For Economic Development*. 2(1), a38.

Zalmanovici Trestioreanu A, Green H, Paul M, Yaphe J, Leibovici L, 2010. Antimicrobial agents for treating uncomplicated urinary tract infection in women. In Zalmanovici Trestioreanu, Anca. "Cochrane Database of Systematic Reviews". *Cochrane Database of Systematic Review*. 10 (10): CD007182.

Ziai S, 2014. La résistance bactérienne aux antibiotiques : apparition et stratégies de lutte. Thèse de Doctorat d'Etat en Pharmacie, Université de Limoges. 151 pages

REFERENCES WEBOGRAPHIQUES

Archambaud M, 2009. Les antibiotiques [Présentation PowerPoint]. disponible sur <http://www.medecine.upslse.fr/pcm2/bacteriologie/atb%20action%202009.pdf>;

Aubert G, 2009. Mécanismes de résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa*. [Présentation PowerPoint]. Disponible sur https://www.google.fr/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&cad=rja&uact=8&ved=0CDUQFjAC&url=http%3A%2F%2Freamed.ujfgrenoble.fr%2Fseminaires%2Farchives%2F2009%2Fjuin09%2F2mardi%2FAubert_Mecanismes_resistance_Pseudomonas_Aerug.ppt&ei=vCSOU7a4HaiW0QWR7YDoBA&usg=AFQjCNHYA96i2wDQg3Y7R5dzet3thUjsig&sig2=lqu7S6sSAozWpthVQ6zBYg&bvm=bv.68191837,bs.1,d.bGQ;

Biokar, 2010. Gélose Kliger www.biokar-diagnostics.fr consulté le 12/03/2016 ;

EUZÉBY JP, 2005 : Dictionnaire de bactériologie vétérinaire ; <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/> ou <http://www.bacdico.net>;

Decoster A. Résistance aux antibiotiques. [En ligne]. Disponible sur <http://anne.decoster.free.fr/atb/resab.htm> (Consulté le 30/04/2014) ;

Lumen learning, 2018 urogenital system Infections. <https://courses.lumenlearning.com/microbiology/chapter/introduction-to-urogenital-system-infections/>. Consulté le 09 Avril 2018 ;

Medqual, 2012. Les mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques. [En ligne]. Disponible sur <http://www.medqual.fr/pro/Marie/RESSOURCES%20ET%20INFORMATIONS/2-THERA/Antibiotique%20Resistance/824-MECANISME-R-ATB-2012.pdf> (Consulté le 06/05/2014);

MSS, 2016. Glossaire, <https://solidarites-sante.gouv.fr/soins-et-maladies/medicaments/glossaire/article/effet-therapeutique> . Consulté le 07/07/2020;

OMS, 2019. Infections sexuellement transmissibles, [https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-\(stis\)](https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-(stis)) consulté le 12 Juin 2020 ;

Therapeutics_letter, 1998. . "Herbal Medicines An Evidence Based Look." issue 25 /Juin - Aug. Retrieved 13 avril, 2013; from <http://ti.ubc.ca/newsletter/herbal-medicines%E2%80%93evidence-based-look>;

Thomsen C, 2017. Vocabulaire medicale.fr. <https://www.vocabulaire-medical.fr/encyclopedie/140-effet-indesirable-effet-secondaire-effet-therapeutique>. consulté le 07/07/2020.

ANNEXES

Annexe I : Questionnaire administré aux médecins

Infection urogénitales	Médicaments prescrit
<p>Bactéries <i>Neisseria gonorrhoeae</i> blennorragie</p>	
<p><i>Chlamydia trachomatis</i> (Urétrites et cervicites à <i>Chlamydia</i>, Lymphogranulomatose vénérienne)</p>	
<p><i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Streptococcus faecalis</i> Autres Urétrites non spécifiques</p>	
<p><i>K. pneumoniae</i>, <i>P. aeruginosa</i> et <i>Proteus spp</i> <i>E. coli</i>, <i>Shigella spp.</i>, <i>Salmonella spp.</i> (Cystites, endométrites, inflammation pelvienne)</p>	
<p><i>Gardnerella vaginalis</i> (Infections génitales féminines à <i>Gardnerella vaginalis</i>)</p>	
<p align="center">Protozoaires</p> <p><i>Trichomonas vaginalis</i> (trichomonases vaginales)</p>	
<p align="center">Champignons</p> <p><i>Candida albicans</i> Infections à candida</p>	

Annexe II : Fiche d'attribution des prix d'antibiotiques

Médicaments prescrits	Prix du médicament
Bactrim 480	
Ceftriaxone	
Cefotaxime	
Cefixime	
Extencillin	
Doxycycline	
Tétracycline	
Norfloxacin	
Ciprozole	
Ciprofloxacine	
Ofloxacine	
Metronidazole	
Amoxicilline + clavulanic acid	
Erythromycine	
Azythromycine	
Nystatine	
Griseofulvine	
Ketoconazole	
Fluconazole	
Myconazole	
Amphotericine B	

Annexe III : Identification présomptive des Bactéries

Tableau XXII : Résultats de la Caractérisation biochimique des bactéries

Tests Souches	Fermentation du glucose	Fermentation du lactose	Production SH ₂	Production du gaz	Uréase	Indol	citrate
MCK 1	+	+	-	+	-	+	-
MCK 2	+	-	+	-	+	+	+
MCK 9	+	-	-	-	-	+	+
MCK13	-	-	-	-	-	-	+

Tableau XXIII : Identification présomptive des microorganismes

Codes	Caractéristiques Biochimiques et morphologiques	Diagnostic présomptif
MCK 1	Glu +, Lac +, Indol+, Uréase -, Citrate - Production de SH ₂ -, Gaz +, Mobilité +	<i>Echerichia. coli</i>
MCK2	Glu +, Lac -, Indol+, Uréase +, Citrate + Production de SH ₂ +, Gaz- Mobilité + présence de halo sur gélose odeur caractéristique de l'ammoniac	<i>Proteus spp</i>
MCK 9	Glu + Lac - Indol+ Uréase -Citrate + Production de SH ₂ -, Gaz-	<i>Providencia spp</i>
MCK11	Coagulase-, catalase + MSA + colonies beige	<i>Staphylococcus saprophiticus</i>
MCK13	Glu - Lac - Indol- Uréase -Citrate + Production de SH ₂ -, Gaz- Production de la pyoverdine	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

MCK 1, MCK2, MCK9, MCK13, Codes microorganismes en cours d'identification

Annexe IV : Identification présomptive des levures

Tableau XXIV : Tableau d'assimilation des sucres chez les levures (extraits de la fiche de procédure du kit d'identification Integral System Yeasts Plus (Liofichem))

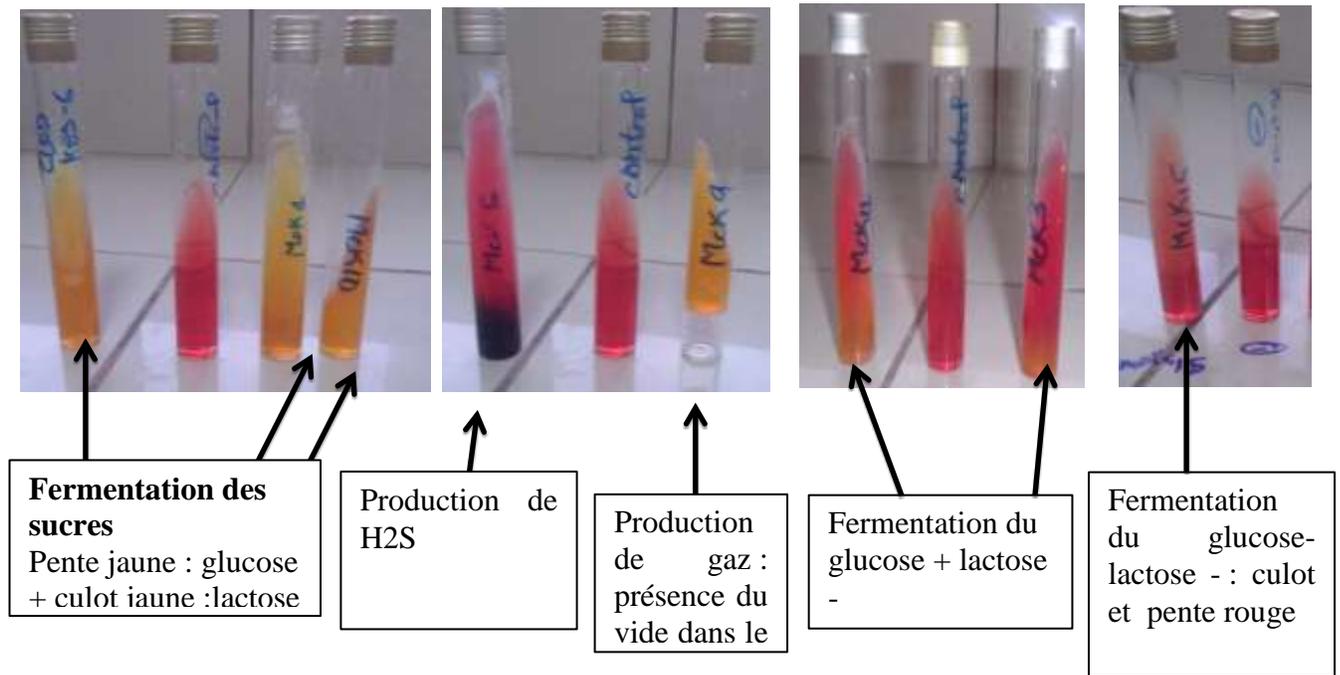
	glc	mal	suc	lact	galac	melib	cellob	ino	xyl	raf	treha	duci
C.a	+	+	+		+	-	-	-	+		+	-
C.f	+	+	+	v	+	+	+	-	+	+	+	v
C.k	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C.l	+	+	+	+	+	v	+	+	+	v	+	+

C.a : *Candida albicans* ; C.f : *Candida famata* ; C.l : *Cryptococcus laurentii*

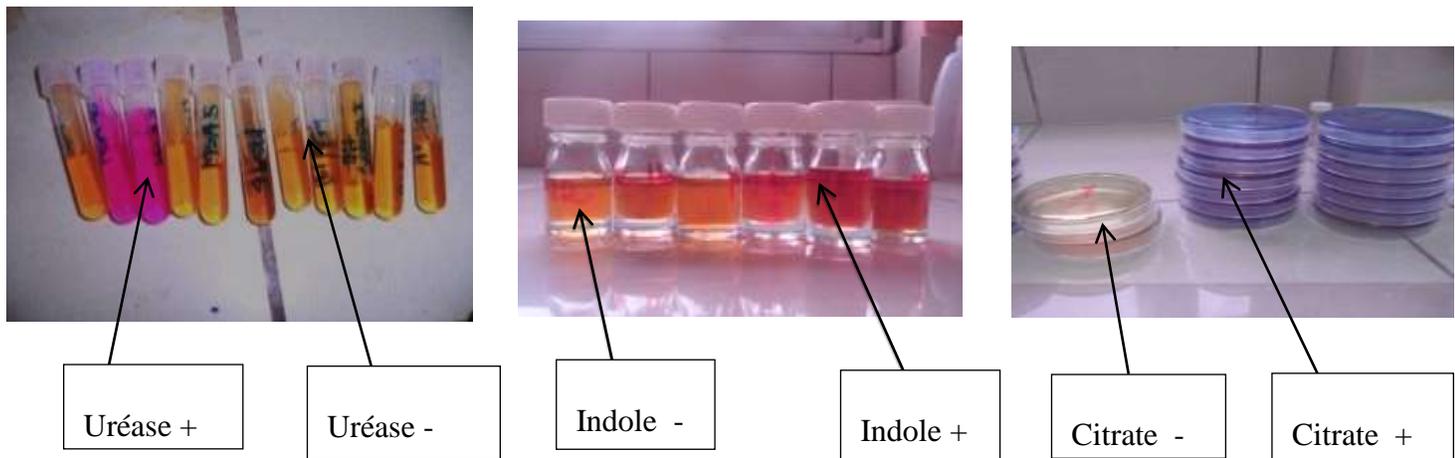
Glc : glucose ; mal : maltose ; suc : sucrose, galac : galactose, lact : lactose, melib : melibiose, cellob : cellobiose, ino : inositol, xyl : xylose, raf : raffinose, treha : trehalose, duci: ducitol.

+ Sucre présent ; - sucre absent; v : résultat variable selon les espèces

Annexe V: Photographie de la caractérisation biochimique des germes cliniques et de leur identification présomptive



Fermentation du glucose et du lactose, production de SH₂, production de gaz (Tabouguia, 2015)



Production de l'uréase

Production de l'indole

Métabolisation du citrate

Photographie 3: Résultats des tests de caractérisation biochimique des microorganismes (Tabouguia)

Propriétés antimicrobiennes et thérapeutiques de quelques plantes médicinales sur les germes multi-résistants causant les infections urogénitales.



Identification présomptive de *Pseudomonas spp*



Identification présomptive de *Proteus spp*



Identification de *Candida famata*



Identification de *Candida krusei*

+ test positif ; - test négatif; R : résistant ; S : sensible, I : intermédiaire

Photographie 4: identification présomptive de microorganismes (Tabouguia,)

Annexe VII: Fiche de collecte des données quotidienne pour l'étude in vivo.

Laboratory animal daily record sheet.

Date

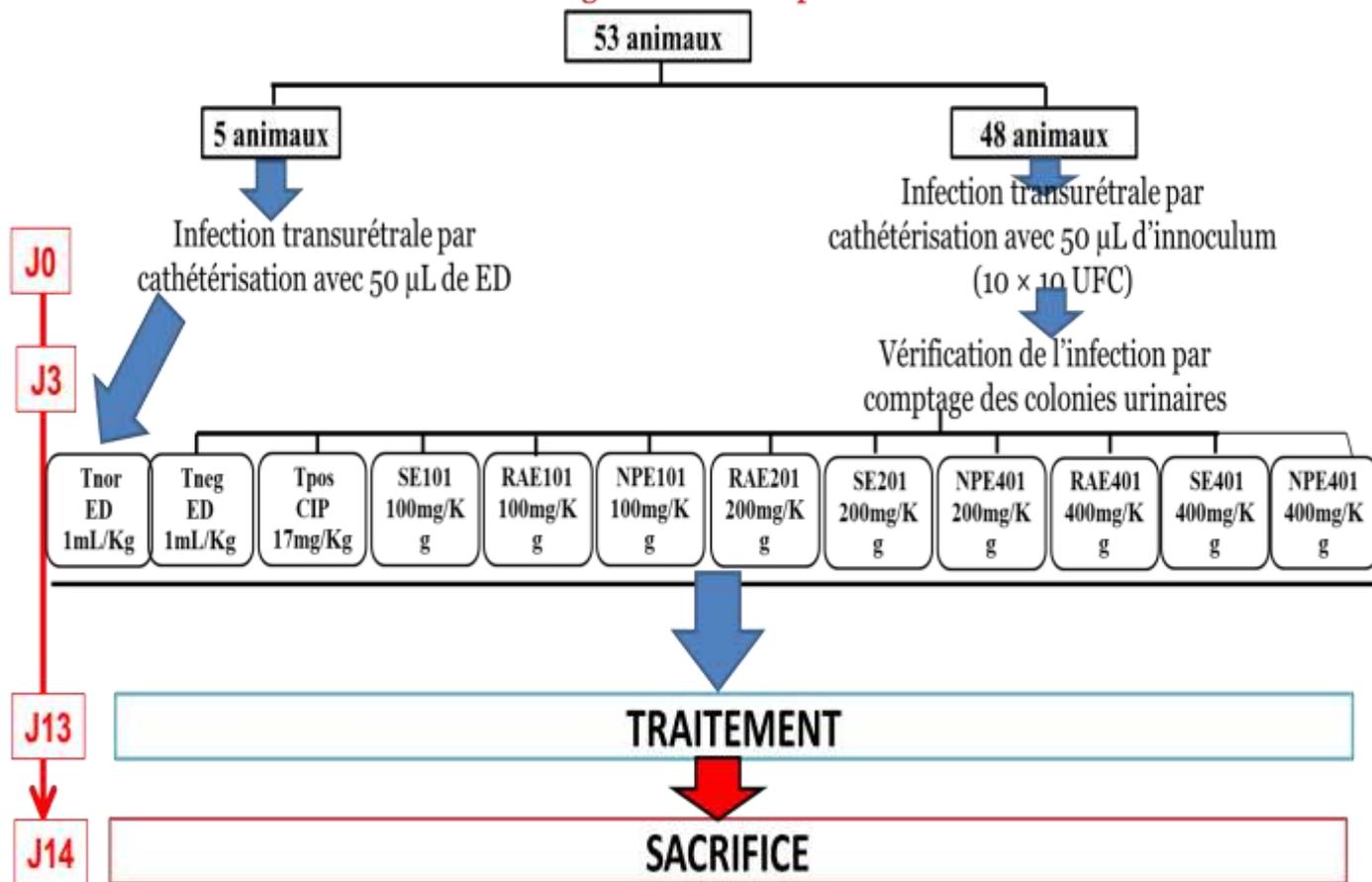
Experimental group/ Treat.	Day										
	WS	WR	FS	FR	AI	BL	BW	CFU	D	ND	OSERVATIONS
A					A1						
					2						
					3						
					4						
					5						
B					1						
					2						
					3						
					4						
					5						
C					1						
					2						
					3						
					4						
					5						

WS: water supplied; **WR:** water remnant **FS:** food supplie; **FR:** food remnant; **AI:** animal identity ;**BW:** body weight; **CFU:** colonies forming unit **ND:** number of death; **Treat.:** Treatment; **BL:** Bacteria load, **D:** dose"

Annexe VIII: schéma expérimental de l'étude l'effet thérapeutique

Etude de l'effet thérapeutique des extraits actifs *in vivo*

Schéma général de l'expérience



ED : eau distillée; Tnor : Témoin normal ; Tpos : Témoin positif ;

Annexe IX: photographies des plantes utilisées dans ce travail



Photographie 6 : *Naulea pobeguinii* (adinding, Ewondo)



Photographie 5 *Rumex abyssinicus* (Kintongtong, OKU, Nord Ouest)



Photographie 7 : *Picralima nitida* (Ebam, Ewondo)



Photographie 8 : *Shirakiopsis elliptica* (Osemvot, Ewondo)

Annexe X: Photographies Performances expérimentales



a:boite de prétri
b : bec de bunsen
c : vortex
d: incubateur

Photographie 9 : Performance méthode de diffusion (Tabougua)



- a : pissette
- b : micropipette multichannel
- c : microplaque
- d: bouillon stérile
- e : bec de bunsen
- f : box à embouts jaune
- g : incubateur

Photographie 10 : Performance de la méthode de microdilution (Tabouguia)



**Photographie 11 : Cathétérisation de la souris
(Tabouguia)**

- a: biberon pour rongeur
- b : cage à souris
- c : souris albinos
- d: erlenmeyer
- e : balance
- f : flamme
- g : papier hygiénique



Photographie 12 : Cathétérisation de la souris (Tabougua)

- a : tube 50mL
- b : souris anesthésiée
- c : cathéter jaune
- d : polystyrène
- e : seringue de 1mL

PUBLICATIONS ISSUES DE LA THESE

ARTICLE N°1

Antimicrobial Activities of Some Medicinal Plants Against Multiresistant Microorganisms Causing Urogenital Tract Infections in Cameroon

Tabouguia Octavie Merveille^{1,6}, Zofou Denis², Njouendou Jelil Abdel^{3,7}, Anneh Abegewi Ursula³, Aurelien Fleury A. Moumbock Adie⁴, Babiaka Borakoraeye Smith⁴, Nganyewo Allen Zipoh⁴, Yong Ngwain Joseph⁴, Nde Fon Peter⁵, Penlap Beng Veronique⁶, Assob Nguedia Jules Clement^{1,*}

¹Department of Medical Laboratory Sciences, Faculty of Health Sciences, University of Buea, SW Region, Cameroon

²Department of Biochemistry, Faculty of Science, University of Buea, SW Region, Cameroon

³Department of Microbiology and Parasitology, Faculty of Science, University of Buea, SW Region, Cameroon

⁴Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Buea, SW, Cameroon

⁵Department of Public Health and Hygiene, Faculty of Health Sciences, University of Buea, SW Region, Cameroon

⁶Department of Biochemistry, Faculty of Science, University of Yaounde I, Yaounde, Cameroon

⁷Research Foundation for Tropical Diseases and Environment (REFOTDE), SW Region, Cameroon

Email address:

juleclement@yahoo.fr (A. N. J. Clement)

*Corresponding author

To cite this article:

Tabouguia Octavie Merveille, Zofou Denis, Njouendou Jelil Abdel, Anneh Abegewi Ursula, Aurelien Fleury A. Moumbock Adie, Babiaka Borakoraeye Smith, Nganyewo Allen Zipoh, Yong Ngwain Joseph, Nde Fon Peter, Penlap Beng Veronique, Assob Nguedia Jules Clement. Antimicrobial Activities of Some Medicinal Plants Against Multiresistant Microorganisms Causing Urogenital Tract Infections in Cameroon. *Journal of Diseases and Medicinal Plants*. Vol. 3, No. 2, 2017, pp. 33-41. doi: 10.11648/j.jdmp.20170302.12

Received: January 2, 2017; **Accepted:** January 7, 2017; **Published:** March 30, 2017

Abstract: Urogenital tract infections remain a serious global treat especially in women. The control of these infections is increasingly complicated due to development of resistance against available drugs. Therefore a perpetual search of new antimicrobial molecules is needed to face the challenge of microbial resistance. This study was initiated to screen the antimicrobial activities of methanol extracts of nine Cameroonian medicinal plants, used for the treatment of infectious diseases, against multiresistant pathogens isolated from urogenital infected patients. The plants included: *Cussonia arborea*, *Dissotis longipetala*, *Lonchocarpus sepium*, *Nauclea pobeguini*, *Picralima nitida*, *Rumex abyssinicus*, *Rumex berqueatii*, *Sapium ellypticum*, *Psorospermum febrifigum*. They were tested on seven strains including six clinical isolates (*Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus saprophiticus*, *Candida krusei*) and one reference strain (*E. coli JM109*). Clinical strains were checked for their multiresistance using disc diffusion method. The antimicrobial activities were determined by agar well diffusion method. MICs were determined using microdilution assay. The phytochemical screening of plants was also done. All the bacteria strains were found to be multidrug-resistant (MDR) against at least 7 of the 12 antibiotics tested. Antimicrobial activities demonstrated that 6/9 (SE, DL, RA, RB, PN, LS) plants were active on at least six microorganisms. MICs ranged from 0.125 to 128mg/ml for crude extracts, from 0.5 to 0.16µg/ml for gentamicin and was 0,002mg/ml for fluconazole. One extract (NP) which showed limited results on agar, inhibited the growth of all the strains with MICs ranging from 1 to 16mg/ml showing a limited activity of this extract on agar. We found that four extracts (SE, NP, RA, DL) have significant activities since they presented MICs ≤ 8mg/ml on at least 5 tested microorganism individually. Findings from phytochemical screening showed that most active extracts contain tannins, alkaloids and saponins which could be responsible of these activities.

Keywords: Urogenital Infections, *Sapium*, *Nauclea*, *Dissotis*, *Rumex*, *Picralima*, Antimicrobial Activities

1. Introduction

Urogenital tract infections (UGI) remain a serious global health threat. Despite the continuous efforts, World Health Organization (WHO) estimated the incidence in 2013 at about 500 million new cases each day worldwide [1]. These infections can have serious consequences including damages of reproductive organs leading to infertility, social rejection and death. They are also the first infections involved in neonatal deaths and complications related to pregnancy and childbirth [2]. Furthermore, the resistance of pathogens against antimicrobial therapeutics is increasing all over the world and remains a great challenge in the eradication of pathogens. Hence, the fight against infectious diseases in general and urogenital tract infections in particular has been seriously compromised by the ineffectiveness of most available and cheaper treatments due to microbial resistance, and by the unavailability and non-affordability of many treatments [3]. This has recently led to the screening of hundreds of plants derived products, in order to discover novel antimicrobial agents which could be the potential solution to pathogens resistance, considering the wide range of secondary metabolites they usually contains [4]. *Cussonia arborea* (CA), *Dissotis longipetala* (DL), *Lonchocarpus sepium* (LS), *Nauclea pobeguinii* (NP), *Picralima nitida* (PN), *Rumex abyssinicus* (RA), *Rumex berqueatii* (RB), *Sapium ellipticum* (SE), *Psorospermum febrifigum* (PF) are nine (09) medicinal plants of the Cameroonian pharmacopeia used traditionally for the treatment of a wide range of infectious diseases including urogenital tract infections; they may therefore possess antimicrobial activities. It is in this view that this work was initiated aiming to assess the antimicrobial activities of these nine Cameroonian pharmacopeia plants commonly used against infectious diseases.

2. Material and Methods

2.1. Plant Material

The different plant parts were harvested in West and North West regions of Cameroon. The various plants were identified at the National Herbarium of Cameroon (NHC), where voucher specimens were deposited with voucher number. Detailed information on each medicinal plant is given in table 1.

2.2. Preparation of Extracts

Fresh plant materials were collected and dried at room temperature in an aerated laboratory and pulverized. Five (05) kg of the powder of each plant were then macerated in 13.5 L of methanol for 48 hours to give about 7.5 L of extract after filtration. The filtrate was evaporated on a Buchi rotary evaporator and the extraction yields of different crude extracts were determined (table 1). An aliquot of each extract was used for antimicrobial studies while the remaining

portion was kept for further studies.

2.3. Phytochemical Screening

Qualitative phytochemical tests were performed for methanolic extracts of all the plants to identify the various classes of phyto-constituents, according to the protocols described by [5].

2.4. Antimicrobial Activities

2.4.1. Microbial Strains

The plants were tested on seven microbial strains including six clinical strains (*Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus saprophiticus*, and *Candida krusei*) and one reference strain (*E. coli* JM109). While clinical strains were obtained from two laboratories, the Laquintinie Hospital – Douala (Littoral region – Cameroon) and Solidarity Clinic, Buea, South-West region Cameroon. They were all from urinary or genital tracts specimens (urine, vaginal smear, and sperm) from symptomatic patients presenting urogenital infections (for which the consulting physician requested for an antibiogram). Reference strain was obtained from BEI resources, NIAID, NIH, Manassas USA.

2.4.2. Characterization of Microbial Strains

Clinical isolates were characterized and identified with microscopic, cultural and biochemical methods [6].

After the gram stain, bacteria isolates were grown on various media. Gram negative bacteria were cultured on MacConkey and Cled agar, while Gram positive were cultured on Mannitol Salt Agar.

Gram negative bacteria alongside with the reference strain *E. coli* JM109 were characterized biochemically using the following test:

- The Kligler iron agar test, was carried out to detect the ability of the microorganism to ferment glucose and /or lactose with/without gas production, it also showed the ability of the organism to produce SH₂ gas. After incubation, red/yellow slant indicated negative/positive lactose, while a red/yellow bottom indicated a negative/positive glucose. Gas production was manifested by the presence of bubbles in the tube, while the sulfide production was manifested by a black deposit at to bottom of the tube.
- Citrate test, which permitted us to determine the ability of the microorganism to metabolize only citrate as it sole carbon source. The change in color media from green to blue showed a citrate positive.
- Urea test: it was used to determine the capacity of the bacteria to hydrolyze urea using the enzyme urease. The change in color of the broth from orange to pink indicated a urease positive.
- Indole test: it detects the capacity of the bacteria to produce the enzyme tryptophanase, which convert the amino acid, tryptophane to indole. Indole reacts with added Kovac's reagent to form rosindole dye which is

red in color (indole +)

- Gram positive bacteria alongside with the reference strain *S. aureus* RN4220 was characterized biochemically using the following tests:
- Catalase test: This test was used to identify organisms that produce the enzyme, catalase. This enzyme detoxifies hydrogen peroxide by breaking it down into water and oxygen gas. The bubbles resulting from production of oxygen gas clearly indicated a catalase positive result.
- Coagulase test: Coagulase is an enzyme that clots blood plasma. The test was performed on Gram-positive,

catalase positive species to identify the coagulase positive *Staphylococcus aureus*. This test differentiates *Staphylococcus aureus* from other coagulase negative *Staphylococcus* species (coagulase negative *Staphylococcus*).

- For Candida: The sample was culture on Saboureaud chloramphenicol agar, and the isolate was tested for the evidence of production of germ tube in human serum, the test kit Integral System YEASTS (Liofilchem) permitted the identification of *Candida krusei*. Tables 2 and 3 summarized the results obtained.

Table 1. Detailed information of medicinal plants used in this work.

Scientific name of the plant	Family of the plant	Part used	Extraction yield (%)	Voucher number
<i>Cussonia arborea</i> (CA)	Araliaceae	Bark	13.43	39978/HNC
<i>Dissotis longipetala</i> (DL)	Melastomataceae	Bark	9.00	40925/HNC
<i>Lonchocarpus sepium</i> (LS)	Fabaceae	Bark	8.00	76230/HNC
<i>Nauclea pobeguinii</i> (NP)	Rubiaceae	Bark	10.98	504710/HNC
<i>Picralima nitida</i> (PN)	Apocynaceae	Bark	14.08	565411/HNC
<i>Rumex abyssinicus</i> (RA)	Polygonaceae	Bulbs	17	27239/SRF Cam
<i>Rumex berqueatii</i> De Wild (RB)	Polygonaceae	Bulbs	14	7665/SRF Cam.
<i>Sapium ellipticum</i> (SE)	Euphorbiaceae	Stem bark	16	47266/HNC
<i>Psorospermum febrifigum</i> (PF)	Guttiferae	Stem bark	10.40	36617/ HNC

Table 2. Biochemical characterization results of Gram negative bacteria.

Tested strains	Fermentation Glucose	Fermentation Lactose	Production SH2	Production gaz	Urease	Indol	citrate	Presumptive bacteria species
<i>E coli JM109</i>	+	+	-	+	-	+	-	
<i>MCK1</i>	+	+	-	+	+	+	-	<i>E. coli</i>
<i>MCK2</i>	+	-	+	-	+	+	-	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>MCK9</i>	+	-	-	+	-	+	+	<i>Providencia stuartii</i>
<i>CLED2</i>	-	-	-	-	-	+	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Table 3. Results of biochemical characterization of gram Positive bacteria.

Tested strains	Catalase	Coagulase	Yellow colonies on MSA	Presumptive bacteria specie
<i>S. aureus</i> RN4220	+	+	+	
MSA1	+	-	+	Coagulase negative <i>Staphylococcus</i> (CNS) <i>S. saprophiticus</i>

2.4.3. Antibiogram

The antibiogram of clinical isolates was carried out in order to select resistant strains. The antibiotics were selected from a list provided by two medical doctors. They were those currently prescribed to patients suffering from urogenital tract infections. The prices were attributed to the antibiotics and only the cheaper once were selected for this study. The following antibiotics were selected: Ciprofloxacin, Norfloxacin, Erythromycin, Cefotaxime, Doxycycline, Bactrim, Metronidazole, Amoxicillin + clavunilic acid and Chloramphenicol for bacteria species; Nystatin, Fluconazole, Griseofluvin and Ketoconazole for candida specie.

The antibiogram of clinical isolates was then performed using disc diffusion method describe by [7]. Briefly, an inoculum of approximately 10^8 CFU/ml was swabbed on dried poured plate. The commercial antibiotics discs from the above list were delicately dropped on the surface of plates and allowed at room temperature for pre-diffusion for 15 minutes, and then the plates were incubated at 37°C for 24 hours for bacteria and for 48 hours for *Candida*. After incubation, the diameters of inhibition zone were measured

and interpreted using Bauer chart on antibiogram result [7] and the strains were classified as resistant (R) intermediate (I) or sensitive (S) against each antibiotics (see table 5 below).

2.4.4. Antimicrobial Tests

(a) Inhibition zone diameters

The susceptibility tests were performed using the agar well diffusion method described by [4] with slight modifications. Stock solutions of test samples were prepared in 10% v/v dimethylsulfoxide (DMSO) solution at concentrations of 50 mg/ml (for crude extract) and 40µg/ml for gentamicin and fluconazole used as positive control. The inocula were prepared by dissolving 3 to 5 colonies in sterile saline (0.9% NaCl) from a 24 hours culture plates for bacteria and 48 hours for *Candida*, and the turbidity was then adjusted to match 0,5 Mc Farland standard turbidity. 20 ml of Muller Hinton Agar was poured into each of the 90 mm petri dishes and inoculated using a swap tip. The medium was punched with six millimeters diameter wells and filled with 80µl of the test sample. Aqueous DMSO 10% v/v was tested as negative control. After a pre-diffusion of 1 hour, the plates

were incubated at $37\pm 1^\circ\text{C}$ for 24 hours for bacteria species and for 48 hours for *Candida* and inhibition zones were measured. All tests were done in triplicate and the results were recorded as the mean of diameter of zones of inhibition.

(b) Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

MICs were determined by broth microdilution technique using 96-well plates as previously described by [8]. Culture media (nutrient broth) were supplemented with 0.2% of glucose and 0.005% phenol red end point indicator. The wells were filled with 100 μL of broth, and 100 μL of extract was added in triplicate to the first column previously prepared in DMSO to make a final concentration of 512 mg/ml. Successive dilutions were done by transferring 100 μL of the mixture from the first well to the eleventh well. An aliquot (100 μL) was discarded from the eleventh well. The twelfth well served as control since no sample (extract, or reference antibiotics) was added in it. Finally, 100 μL of a standardized inoculum at 10^6 CFU/ml was added in each test well for Gram negative bacteria and 10^5 CFU/ml for Gram positive and yeasts. The final concentration of the extracts used to evaluate the antimicrobial activity ranged from 128 to 0.125 mg/ml and from 128 to 0.125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ for the reference drugs. Tests were incubated aerobically at $37\pm 1^\circ\text{C}$ for 24 and 48 hours for bacteria and *Candida* species respectively. The end point was revealed by a color change of the indicator from red to pink or to yellow by comparing the test wells to control wells (media, diluted extract and distilled water). The MIC was considered as the lowest concentration of sample that could prevent visible growth of microorganism (no change of the indicator). The results were recorded as mean of MICs.

(c) Minimum Microbicidal concentration [9]

A loopful of the test mixture was removed from each MIC well that showed no growth, inoculated onto free Mueller-Hinton agar plate, incubated (37°C , 24-48h), and inspected for presence of colonies indicating growth. The minimal microbicidal concentration was the lowest concentration of extract that showed no microbial (bacterial or fungi) growth.

(d) MMC/MIC ratio

The MMC/MIC ratio was calculated to find out if the microbial inhibition of plant extract was microbicidal or micro-static. Therefore, when $\text{MMC}/\text{MIC} \leq 4$, the inhibition was considered microbicidal, and when $\text{MMC}/\text{MIC} \geq 4$, the inhibition was considered micro-static [10].

2.5. Statistical Analysis

Excel was used to process data and statistical analysis were done using SPSS version 20 for window. Univariate Analysis of Variance test was used to compare means of diameter of inhibition.

3. Results and Discussion

3.1. Extraction Yield

The table 3 below shows the yields of extraction of the various plants. They vary between 8% and 17%. The methanol was used to extract all the plants. The differences observed in the results show that the yield of extraction is proportional to the solubility of the plant's components in the extracting solvent. Therefore, the yield of extraction increases alongside with the solubility of plant components in the solvent.

3.2. Phytochemical Screening Results

The phytochemical screening results (table 4) showed that except PN, PF and CA, the rest of the studied plants were found to be very rich in tannins. This could explain the antimicrobial activities observed. The results also showed that these previous tree plants (PN, PF and CA) are found not to have most of the screened phytochemicals; this observation could also explain the poor antimicrobial activity displayed by these extracts. Indeed, the antimicrobial activity of extracts depends on the concentration the active components (secondary metabolites) it may contain [11].

Table 4. Phytochemical test screening results of methanolic extracts of plants.

	Steroids	Alkaloids	Saponins	Tannins	Terpenoids	Flavonoids
CA	-	-	-	-	+	-
DL	-	+	+	++++	-	+
LS	-	+	+	+++++	-	-
NP	++++	+	++	+	-	-
PF	-	-	-	-	+	+
PN	-	-	-	-	-	-
RA	-	++	++	++++	+	-
RB	-	++	+	++	+	-
SE	-	+	+++	+++++	+	-

(+) present and the number of (+) increases with the intensity of the coloration (-) absent

3.3. Antibiogram

Table 5 presents the antibiogram (ATB) results. It shows that all the five clinical bacteria strains were resistant to at list five of the twelve antibiotics tested, showing the multiresistant character of those strains. *P. stuartii* was the most resistant strain followed by *P. aeruginosa* being

resistant to eleven and to nine of the twelve tested antibiotics respectively. Concerning *C. krusei*, it was resistant to two of the 4 antifungal tested. This resistant character of clinical isolates could be related to the inappropriate use of antibiotics by patients, by non-respecting either dose or the duration of the treatment, the too frequent prescription of "broad-spectrum antibiotics", in place of a better targeted

antibiotic this through more precise diagnosis or the unnecessary prescription of antibiotics for viral infection against which they have no effect [12].

Table 5. Antibiogram results: inhibition zone diameter (mm) of antibiotic discs on tested microorganism.

Antibiotic/Antifungi	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. stuartii</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>S. saprofiticus</i>	<i>C. krusei</i>
AMC 30	12.8±2.5 R	0.0±0.0 R	0.0±0.0 R	28.3±2.9 S	19.0±1.4 S	-
C: R≤12; I:13-17; S≥18	23.0±0.0 S	10.0±0.0 R	0.0±0.0 R	0.0±0.0 R	10.0±0.0 R	-
CIP 30: R≤15; I:16-20; S≥21	0.0±0.0 R	30.0±0.0 S	20.0±0.7 I	25.5±2.8 S	10.0±0.0 R	-
CN 120: R≤12; I:13-14; S≥15	21.0±0.0 S	23.0±0.0 S	18.0±0.0 S	20.0±0.0 S	20.0±0.0 S	-
CRO 30 R≤14; I:15-22; S≥23	20.0±0.0 I	0.0±0.0 R	0.0±0.0 R	26.0±0.0 S	0.0±0.0 R	-
CTX 30: R≤14; I:15-22; S≥23	21.0±1.4 I	0.0±0.0 R	11.0±1.4 R	31.3±1.2 S	12.5±1.7 R	-
DO 30: R≤14; I:15-18; S≥19	0.0±0.0 R	0.0±0.0 R	0.0±0.0 R	0.0±0.0 R	18.7±2.3 I	-
E 15: R≤13; I:14-22; S≥23	10.8±1.9 R	0.0±0.0 R	0.0±0.0 R	0.0±0.0 R	21.0±1.4 I	-
MET 50	0.0±0.0 R	0.0±0.0 R	0.0±0.0 R	0.0±0.0 R	0.0±0.0 R	-
NOR 10: R≤15; I:16-20; S≥21	0.0±0.0 R	12.7±0.6 R	9.5±0.7 R	13.3±1.1 R	0.0±0.0 R	-
TE 30: R≤14; I:15-18; S≥19	0.0±0.0 R	0.0±0.0 R	0.0±0.0 R	0.0±0.0 R	17.3±3.1 I	-
TMP 5: R≤10; I:11-15; S≥16	19.0±1.4 S	0.0±0.0 R	0.0±0.0 R	0.0±0.0 R	0.0±0.0 R	-
FLU 100	-	-	-	-	-	23.5±2.1 S
GRS 10	-	-	-	-	-	0.0±0.0 R
KTC 10	-	-	-	-	-	31.0±1.4 S
NY 100	-	-	-	-	-	15.5±0.7 R
12/4	7R	10R	10R	7R	7R	

Values are mean ±SD. (-) = not tested, CIP 30: Ciprofloxacin, NOR 10: Norfloxacin, CRO 30: Ceftriaxone, CTX 30: Cefotaxime, DO 30: Doxycycline, TE 30: Tétracycline, TMP 5: E 15: Erythromycin, MET 50: Metronidazole, AMC 30: Amoxicilin + acide clavunilique, CN120: Gentamicine, C: Chloramphénicole NY 100: Nystatine, FLU 100: Fluconazole, GRS 10: Griseoflavin, KTC 10: Kétoconazole.

3.4. Antimicrobial Activities

3.4.1. Inhibition Zone Diameters

Table 6, below present inhibition zones diameters (mm), a bacterium or a yeast strain was considered susceptible to an extract when the tested extract exhibited on it an inhibition zone diameter equal to 7 mm and to 10 mm respectively [13]. The results show that at a concentration of 50mg/ml, only two extracts of the tested plants PF, CA showed no activity on all the pathogens. While the rest of the plant extracts SE, NP, DL, PN, RB, and RA were active on at least 50% of tested strains with inhibition zone diameters ranging from 7.67±0.58 to 24.33±1.15 mm. only *P. nitida*, could inhibit the growth of *E. coli* on agar media. *P. stuartii* was resistant to

gentamicin, the reference drug, confirming its natural resistance against gentamicin [14]. Comparing the activity of extracts with reference antimicrobial agents at the tested concentrations using diffusion method, *PN* has an activity comparable to that of fluconazole ($p < 0.05$). The same observation was made between gentamicin and the following extracts *RA*, *RB*, *DL* on *S. saprofiticus* ($p < 0.05$) as well as between gentamicin and *DL* on *P. vulgaris*. However, the activity of most extracts was higher than that of gentamicin on the reference strain *E. Coli JM109* and that of *SE* was higher than that of gentamicin on *E. Coli JM109*, *P. stuartii*, and *S. saprofiticus*.

Table 6. Inhibition zone diameters (mm) of methanolic plant extracts on tested microorganisms.

Substance tested	<i>C. krusei</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. Coli JM109</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. stuartii</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>S. saprofiticus</i>
CA	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.00±0.00a
DL	15.00±0.00b	0.00±0.00a	24.33±1.15e	15.00±0.00d	14.67±0.58c	17.33±1.15d,e	16.33±0.58d
LS	10.00±0.00b	0.00±0.00a	22.00±2.00d,e	10.00±0.00c	0.00±0.00a	13.33±1.15b,c	11.00±1.00b
NP	14.67±1.53b	0.00±0.00a	7.67±0.58b	10.00±0.00c	0.00±0.00a	0.00±0.00a	13.33±1.15b,c
PF	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.00±0.00a
PN	20.33±1.53c	12.00±0.00b	19.00±1.73c,d	9.00±0.00b	0.00±0.00a	0.00±0.00a	20.00±0.00e
RA	15.00±1.00b	0.00±0.00a	21.67±1.53d,e	15.33±0.58d	10.67±0.58b	13.67±1.53b,c	16.00±0.00c,d
RB	14.00±0.00b	0.00±0.00a	16.33±1.53c	10.00±0.00c	13.00±1.00c	12.33±1.15b	14.33±0.58c,d
SE	16.33±1.53b	0.00±0.00a	24.00±1.00e	15.00±0.00d	14.00±1.00c	15.33±0.58c,d	19.33±1.15e
GENTA*	NT	23.00±1.00c	11.33±1.15b	20.00±0.00e	0.00±0.00a	20.00±0.00e	16.00±1.00c,d
FLUCO*	21.67±1.53c	NT	NT	NT	NT	NT	NT
DMSO	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.00±0.00a

Values are mean ± SD; DMSO: diluting solvent, NT (not tested) *Cussonia arborea* (CA), *Dissotis longipetala* (DL) *Lonchocarpus sepium* (LS), *Nauclea pobequinii* (NP), *Picralima nitida* (PN), *Rumex albissinicus* (RA), *Rumex berqueatii* (RB), *Sapium ellipticum* (SE), *Psorospermum febrifigum* (PF), *: reference drugs. Plant extract not carrying the same letter in a column are statistically different ($p > 0.05$), and plant extract carrying the same letter in a column are statistically identical ($p < 0.05$). Activities of extracts carrying letter a<b<c<d<e

3.4.2. Microdilution Tests: Inhibition Parameters (MIC, MMC, and MMC/MIC Ratio)

Table 7 resumes minimum inhibitory concentrations

(MIC), minimum microbicidal concentrations (MMC) and MMC/MIC ratios of tested extracts on pathogens. MICs results showed that MICs ranged from 0.125 to 128mg/ml for

plant extracts, from 0.0005 to 0.016mg/ml for gentamicin and that of fluconazole on *C. krusei* was 0.002mg/ml. Authors are not unanimous about standard cut-off points describing antimicrobial activities of crude extracts. Nevertheless, according to [15], an activity is considered to be significant if MIC values are below 0.1mg/ml for crude extract and moderate when $0.1 < \text{MIC} < 0.625$ mg/ml, considering this stringent classification, the activity of *S. ellipticum*, *R. abyssinicus*, and *D. longipetala* can be considered moderate since they show a $\text{MIC} \leq 0.25$ mg/ml on two resistant strains *S. aureus* and *C. krusei*. An alternative criterion has been described by [16], which considers extracts

having MIC values below 8 mg/ml to have noteworthy antimicrobial activity. Based on these previous reports, and considering the differences in methods used, as well as the level of resistance of microorganisms involved in the studies, the antimicrobial potential of the various extracts in this study has been categorized, as follow: $\text{MIC} < 1$ mg/ml the plant extract was very active, $1 \leq \text{MIC} \leq 8$ mg/ml, the plant extract was moderately active, $8 > \text{MIC} \leq 64$ mg/ml were considered less active or with activity negligible, $\text{MIC} > 64$ mg/ml was not active. The table 7 below summarizes the categorization of the crude extracts of plants.

Table 7I. Categorization of the activity of plant extracts.

Substance tested	Inactive $\text{MIC} > 64$ mg/ml	Less active $8 > \text{MIC} \leq 64$ mg/ml	Moderately Active $1 \geq \text{MIC} \leq 8$ mg/ml	Very active $\text{MIC} < 1$ mg/ml	total
CA	4	3	0	0	7
DL	0	2	4	1	7
LS	0	2	4	1	7
NP	0	0	7	0	7
PF	3	4	0	0	7
PN	0	5	2	0	7
RA	0	2	3	2	7
RB	0	5	1	1	7
SE	0	0	5	2	7
Total of plant	7	23	26	7	63

Cussonia arborea (CA), *Dissotis longipetala* (DL) *Lonchocarpus sepium* (LS), *Nauclea pobeguini* (NP), *Picalima nitida* (PN), *Rumex albissinicus* (RA), *Rumex berqueatii* (RB), *Sapium ellipticum* (SE), *Psorospermum febrifugum* (PF)

Sapium ellipticum showed the highest inhibitory activity. It was very active on two strains *S. saprophiticus* and *C. krusei* ($\text{MIC} < 1$ mg/ml), and moderately active on the rest of the strains with (MICs ranging from 1mg/ml to 8mg/ml). The growth inhibition was bactericidal $\text{MMC}/\text{MIC} \leq 4$ on all the pathogens [10] (see Table 8) making it a good candidate for drug preparation. The phytochemical screening results showed that it contents alkaloids, saponins, tannins, and terpenoids which could explain the observed antimicrobial activities. These secondary metabolites exert their antimicrobial activity through different mechanisms; tannins for example act by iron deprivation, hydrogen bounding or non-specific interactions with vital proteins such as enzymes [17]. Some of characteristics of saponins include formation of foam in aqueous solutions, hemolytic activity, cholesterol binding properties and bitterness [18]. The antimicrobial mechanism of action of the alkaloids may be through DNA intercalation and inhibition of DNA synthesis through topoisomerase inhibition [18]. Some studies have been done on the isolation and characterization of biological active components of this specie [19] but very few studies have reported the antimicrobial activities of this plant. The methanolic extract has been found to be hepato-protective [20]. Anti-fungal activities of dichloromethane and aqueous bark extracts of *Sapium ellipticum* have been carried out in Tanzania [19]. But, to the best of our knowledge, antibacterial activities of methanolic extracts of this plant are reported here for the first time.

Nauclea pobeguini was moderately active on all the seven tested pathogens with MICs comprised between 1mg/ml and

8mg/ml, and the inhibition was bactericidal on all these strains. The plant was found to contain steroids, saponins and tannins which could explain the activities observed [18, 21]. Antimicrobial activity of the bark extract of this plant, using the microdilution method, presented better results than well diffusion method. This could be explained by a limited diffusion of the extract in the agar. To the best of our knowledge, antibacterial and antifungal activities of this plant are reported here for the first time. However, previous studies demonstrated a moderate antiplasmodial activity [22]; Moreover antioxidant activities of methanol bark extract of *N. pobeguini* has been reported [23].

Dissotis longipetala was very active on *S. saprophiticus*, ($\text{MIC} = 0.25$ mg/ml) and the inhibition was bactericidal. It was moderately active on *C. krusei*, *P. stuartii*, *P. vulgaris* and *E. coli*, ($\text{MIC} \leq 8$ mg/ml); and less active on *P. aeruginosa*, and *E. coli JM109*. The phytochemical screening of this plant showed that it contains tannins, alkaloids and saponins, hence the antimicrobial properties demonstrated by this plant could be attributed to some of these biological active components [17-18]. This plant was reported to have very important antioxidant and reducing power [23] but the antimicrobial properties of the plants are reported here for the first time.

R. abyssinicus was very active on *S. saprophiticus* and *C. krusei*, $\text{MIC} = 0.25$ mg/ml, and the inhibition was bactericidal on *S. aureus* ($\text{MBC}/\text{MIC} = 1$) and bacteriostatic on *C. krusei* ($\text{MMC}/\text{MIB} = 8$) [10]. The extract was moderately active ($\text{MIC} \leq 8$ mg/ml) on *P. stuartii*, *P. vulgaris* and *E. coli JM109*, while less active on *E. coli*, *P. aeruginosa*, this activities could be attributed to tannins and alkaloids contained by the

plant [17-18]. Some studies have been reported on biological properties of this plant. Antimicrobial activities of this plant has previously been demonstrated on *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogens*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus saprophiticus* [24] an against *streptococcus pyogenes*, *S. aureus*, *Coxsackie virus B3* and *Influenza A virus* [25]. Our results are slightly different from those of [24], but this difference in susceptibility could be attributed to the inherent resistance factors of the test organisms [26], the strains we used were by demonstrated to be multidrug resistant (see table V above). Moreover, the difference could also be explained by the test procedure which was different [24]. Except these properties, this plant has been shown to have antioxidant properties [24], anticancer activities [24, 27] antihelmentic activities [28], diuretic and analgesic effects [29], antiplasmodial properties [30].

Picralima nitida was moderately active on two strains (*S. saprophiticus* and *C. krusei*) and less active on the rest of five strains. A good number of reports on antimicrobial activities of this plant and its derivatives have been published [31-34] and our results corroborate those of the literature [35-36].

Antimicrobial activities of the crude extracts of *R. berquaetii*, *P. febrifugum* and *Cussonia arborea* corroborate those of literature [24], however, on the best of our knowledge, the antimicrobial activities of the crude extracts of *Lonchocarpus sepium* are reported here for the first time and have shown moderate activities on four strains ($MIC \leq 8 \text{mg/ml}$).

Regarding the phytochemical screening results, all the extracts (*CA*, *PF*, *PN*) which show poor activity on the tested microorganisms were found to contain none or very few classes (in traces) of secondary metabolites tested during

this work (see table 4). This remark sustains the hypothesis where by the antimicrobial activity of an extract is attributed to the secondary metabolites it contains [10, 17-18, 21]. On the same note, most extract which show good activities in this study were found to abundantly contain tannins. Therefore the antimicrobial activities of the extracts demonstrated here could be attributed to tannins.

The overall results of the MICs showed that apart from the strain which the MIC could not be determined, the MICs of gentamicin and fluconazole are lower compare to that of the various extracts, this could be explained by the fact the extract till contain some impurities which can hinder its activity in comparison with reference antimicrobial agent which are pure: biological active compounds.

4. Conclusion

The results of the present study provided evidence for the antibacterial and antifungal activities of the studied plant extracts and brought supportive data for future investigations that will lead to their use in urinary and genital tracts infections therapy, and other infections cause by these pathogens. The categorization of extract activities permitted us to select four of the plants as having important activities (*Sapium ellipticum*, *Nauclea pobeguunii*, *Dissotis longipetala* and *Rumex abyssinicus*) having demonstrated a $MIC \leq 8 \text{mg/ml}$ on at least five of the eight tested pathogens. They were therefore kept for further investigations. This study also revealed the presence of various phytochemical groups in various plants, but tannins have been shown as responsible of the observed activities.

Table 8. Minimal Inhibitory Concentrations (MIC), (mg/ml) Minimal Microbicidal Concentrations (MMC) and the ratios MMC/MIC of plant extracts and reference drugs on tested pathogens.

EXTRACTS	<i>C. Krusei</i>			<i>E. coli</i>			<i>E. Coli JM109</i>			<i>P. aeruginosa</i>		
	MIC	MMC	MMC/MIC	MIC	MMC	MMC/MIC	MIC	MMC	MMC/MIC	MIC	MMC	MMC/MIC
CA	64	128	2	64	ND	ND	128	ND	ND	128	ND	ND
DL	1	1	1	8	128	16	16	32	2	16	32	2
LS	4	4	1	16	64	4	32	64	2	64	64	1
NP	1	8	8	1	8	8	8	8	1	8	16	2
PF	16	128	8	64	ND	ND	128	128	1	128	128	1
PN	8	16	2	16	32	2	32	64	2	64	64	1
RA	0.25	2	8	32	64	2	8	4	2	64	64	1
RB	0.25	2	8	32	128	4	32	64	2	64	64	1
SE	0.25	0.25	1	8	32	4	8	16	2	4	8	2
GENTA	NT	NT	NT	0.0005	0.0005	1	ND	ND	ND	0.002	0.002	1
FLUCO	0.002	4.00	2.00	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
DMSO	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Table 8. Continue.

EXTRACTS	<i>P. stuartii</i>			<i>P. vulgaris</i>			<i>S. saprophiticus</i>		
	MIC	MMC	MMC/MIC	MIC	MMC	MMC/MIC	MIC	MMC	MMC/MIC
CA	128	ND	ND	64	ND	ND	128	ND	1
DL	4	32	8	8	32	8	0.25	0.5	2
LS	16	32	2	8	32	4	8	16	2
NP	4	8	2	4	16	4	1	4	4
PF	64	ND	ND	64	ND	ND	128	128	1
PN	32	64	2	32	64	2	2	4	2
RA	8	32	4	8	128	16	0.25	0.25	1

EXTRACTS	<i>P. stuartii</i>			<i>P. vulgaris</i>			<i>S. saprophiticus</i>		
	MIC	MMC	MMC/MIC	MIC	MMC	MMC/MIC	MIC	MMC	MMC/MIC
RB	32	64	2	16	64	4	2	4	2
SE	1	2	2	2	2	1	0.12	0.25	2
GENTA	0.016	0.032	2	0.005	0.0005	1	0.0025	0.0025	1
FLUCO	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
DMSO	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Values are mean; ND: not determined NT (not tested) (the value is higher than the highest concentration tested) -: Untested *Cussonia arborea* (CA), *Dissotis longipetala* (DL), *Lonchocarpus sepium* (LS), *Nauclea pobeguinii* (NP), *Picralima nitida* (PN), *Rumex albissinicus* (RA), *Rumex berqueatii* (RB), *Sapium ellipticum* (SE), *Psorospermum febrifugum* (PF), *: reference drugs, DMSO: diluting solvent

References

- [1] WHO, 2013. Sexually transmitted Infections, help memory N° 110 May 2013.
- [2] WHO, 2013. 2013 Worldwide health statistics.
- [3] Fokunang CN, Ndikum V, Tabi OY, Jiofack, R. B, Ngameni B, Guedje N. M, Tembe Fokunang, E. A1, Tomkins, Barkwan S, Kechia, F, Asongalem E, Ngoupayou J, Torimiro NJGonsu KH1, Sielinou V, Ngadjui BT, Angwafor III F, Nkongmeneck A, Abena OM, Ngogang J, Asonganyi T, Colizzi V, Lohoue J, Kamsu-Kom, (2011). "Traditional medicine: past, present and future research and development prospects and integration in the national health system of Cameroon". *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicine*. 2011. 8 (3): 284-295.
- [4] Assob JCN, Kamga HLF, Nsagha DS, Njunda AL, Nde FP, Asongalem AE, Njouendou AJ, Sandjon B, and Penlap BV. "Antimicrobial and toxicological activities of five medicinal plant species from Cameroon Traditional Medicine". *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2011.11: 70.
- [5] Trease GE., Evans WC. Pharmacognosy, 12 edn. London: BailliereTindall. 1983.
- [6] Cheesbrough M. District Laboratory Practice in Tropical Countries Part 2. Second Edition 2006.
- [7] Bauer, A. W., Kirby W. M. M., Sherris, J. C. and Tuck, M. "Antibiotic susceptibility testing by a standardized disc diffusion method". *American Journal of Clinical Pathology*, 1966. 45: 493-496.
- [8] Cos PM, Sindambiwe LW, Vlietinck AJ, Berghe DV: In Bioassays for Antibacterial and Antifungal Activities. Edited by: Mahabir P, Gupta S, Swami H, and Karan V. "Biological Screening of plant constituents". *Training manual, International centre for science and high technology*. Trieste; 2006: 19-28.
- [9] Odeh IC and Anyiin TA. "Phytochemical and antimicrobial evaluation of leaf-extracts of *Pterocarpus santalinoides*". *European Journal of Medicinal Plants*. 2014. 4 (1): 105-115.
- [10] Marmonier AA. «Introduction aux techniques d'étude des antibiotiques». *Bactériologie Médicale, technique usuelles*. 1990. 227-236.
- [11] Cowan M. M., "Plant Products as antimicrobial Agents". *Clinical Microbiology reviews*. 1999. 12 (4), 564-582.
- [12] WHO. "Antimicrobial resistance: global report on surveillance" 2014.
- [13] Nascimento GGF, Lacatelli J, Freitas PC, Silva GL. "Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria". *Braz. Journal of Microbiology*. 2000. 31 (4): 886-891.
- [14] Afssps (Agence Française de sécurité sanitaire des produits de santé). «Spectre d'activité antimicrobienne». 2005. 251P.
- [15] Kuete V. "Potential of Cameroonian Plants and Derived Products against Microbial Infections": A Review. *Planta Medica*. 2010. 76: 1479-1491.
- [16] Fabry W, Okemo PO, Ansorg R. "Antibacterial activity of East African medicinal plants". *Journal of Ethnopharmacology*, 1998. 60: 79-84.
- [17] Scalbert A. "Antimicrobial properties of tannins". *Phytochemistry*. 1991. 30: 3875-3883.
- [18] Doherty, V. F. Olaniran, O. O, Kanife U. C. "Antimicrobial Activities of Aframomum Melegueta (Alligator Pepper)". *International journal of biology*. 2010. 2 (2): 126-131.
- [19] Kisangau DP, Hosea KM, Lyaruu HVM, Joseph CC, Mbwambo ZH. "Screening of traditionally used Tanzanian medicinal plants for antifungal activity". *Pharmaceutical Biology*. 2009. 47: 708-716.
- [20] Njouendou AJ, Nkeng-Efouet AP, Assob NJC, Choua JR, Veerapur V P, Thippeswamy BS, Badami S, Wanji S. "Protective effect of *Austranella congolensis* and *Sapium ellipticum* stem bark extracts against hepatotoxicity induced by thioacetamide". *Pharmacologyonline*. 2014. 2 (39) 38-47.
- [21] Compean KL and Ynavez RA. "Antimicrobial activities of plant secondary metabolites: A review". *Research Journal of Medicinal Plants*. 2014: 1-10.
- [22] Mesia K, Cimanga RK, Dhooghe L, Cos P, Apers S, Totté J, Tona GL, Pieters L, Vlietinck AJ, Maes L. "Antimalarial activity and toxicity evaluation of a quantified *Nauclea pobeguinii* extract". *Journal of ethnopharmacology*, 2010. 131 (1): 10-6.
- [23] Assob JCN, Njouendou AJ, Nkeng P E, Choua JR, Badami S. M., Veeresh P V, Typpeswamy BD and Wanji S. In vitro screening of antioxidant properties of ten Cameroonian medicinal plants. *Journal of Advances in Biotechnology*. 2014. 3 (2): 171-182.
- [24] Tamokou JD, Choua JR, Fischer-Fodor E, Chereches G, Barbos O, Grigore D, Benedec D, Duma M, Nkeng EAP, Wabo KH, Kuate JR, Mot A, Radu SD. "Anticancer and Antimicrobial Activities of Some Antioxidant-Rich Cameroonian Medicinal Plants". *Plos one*. 2013. 8 (2): 1-14.
- [25] Getie M, Gebre-Mariam T, Rietz R, Höhne C, Huschka C, Schmidtke M, Abate A, Neubert RH. „Evaluation of the antimicrobial and anti-inflammatory activities of the medicinal plants *Dodonaea viscosa*, *Rumex nervosus* and *Rumex abyssinicus*". *Fitoterapia*. 2003. 74 (1-2): 139-43.

- [26] Ekpo, M. A., Etim, P. C. "Antimicrobial activity of ethanolic and aqueous extracts of *Sida acuta* on microorganisms from skin infections". *Journal of Medicinal Plant Research*. 2009. 3 (9), 621-624.
- [27] Worku N, Andualem M, Stich A, Dauschies A, Trettner S, Nasr YAH, and Gerd. Evaluation of the In Vitro Efficacy of *Artemisia annua*, *Rumex abyssinicus*, and *Catha edulis* Forsk Extracts in Cancer and *Trypanosoma brucei* Cells. *ISRN Biochemistry*, 2013: 1-11.
- [28] Raju NJ, Yesuf EA). Evaluation of antihelminthic activities of *Rumex abyssinicus* jacq and *Rumex nervosus* vahl. (polygonaceae). *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 2010. 5 (2): 55-57.
- [29] Mekonnen T, Urga K, Engidawork E. Evaluation of the diuretic and analgesic activities of the rhizomes of *Rumex abyssinicus* Jacq in mice. *Journal of ethnopharmacology*. 2010. 127 (2): 433-9.
- [30] Muganga R, Angenot L, Tits M, Frédéric M Antiplasmodial and cytotoxic activities of Rwandan medicinal plants used in the treatment of malaria. *Journal of ethnopharmacology*. 2010. 128 (1): 52-57.
- [31] Iwu MM, Klayman DL. "Evaluation of the in vitro antimalarial activity of *Picralima nitida* extracts". *Journal of Ethnopharmacology*. 2002. 36 (2): 133-135.
- [32] Ubulom P., Akpabio, E., Udobi C. E., Mbon, R. "Antifungal Activity of aqueous and ethanolic extracts of *Picralima nitida* seeds on *Aspergillus flavus*, *Candida albicans* and *Microsporum canis*". *Research in Pharmaceutical Biotechnology*. 2011. 3 (5), 57-60.
- [33] Kouam J, Mabeku LBK, Kuate JR, Tiabou AT, Fomum ZT. "Antimicrobial glycosides and derivatives from roots of *Picralima nitida*". *International Journal of Chemistry*. 2011. 3: 23-31.
- [34] Erharuyi O, Falodun A and Langer P. "Medicinal uses, phytochemistry and pharmacology of *Picralima nitida* (Apocynaceae) in tropical diseases: A review". *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 2014. 1-8.
- [35] Fakeye TO, Itiola OA, Odelola HA. "Evaluation of the antimicrobial property of the stem bark of *Picralima nitida* (Apocynaceae)". *Phytotherapy research*. 2000. 14 (5): 368-70.
- [36] Nkere CK, Iroegbu CU. "Antibacterial screening of the root, seed and stem bark extract of *Picralima nitida*". *African Journal of Biotechnology*. 2005. 4 (6): 522-526.

ARTICLE N°2

Research Article

Open Access

Plants- Drug Interactions Against Some Multi-drug Resistant Microorganisms Causing Urogenital Tract Infections in Cameroon

Merveille O. Tabouguia^{1,2,4}, Denis Zofou², Jelil A. Njouendou^{3,4}, Marie R.T. Kouipou¹, Peter N. Fon⁵, Veronique P. Beng¹, Jules C. Assob Nguedia^{1,2,4*}

Abstract

Background: Multi drug resistance is an increasing phenomenon plaguing the use of antibiotics nowadays. This favors the spread of pathogenic microorganisms causing a major public health problem. Antimicrobial compounds from medicinal plants can be used synergistically to enhance the activity of standard drugs when used concurrently. The aim of this work was to evaluate the ability of extracts from *Skirakiopsis elliptica* (SE), *Rumex abyssinicus* (RA), *Nauclea pobeguini* (NP) and *Picralima nitida* (PN) to potentiate the activity of 7 antibiotics against resistant bacteria from urogenital tract infections.

Methods: Using the micro-dilution and the checkerboard methods, the MIC of various agents and the combination effect of extracts and antibiotics were obtained respectively.

Results: A total of 37 additive interactions with Fractional Inhibitory Concentration index (FICI) comprise between 0.56-0.95 and 35 indifferent interactions FICI comprise between 1.03-1.98. No antagonism (FICI >4) was revealed as well as no synergistic effect (FICI <0.5). However, we could notice a decrease at up to 64 fold in MIC of most antibiotics when combined with these extracts. The concentration of Doxycycline was decreased by *Nauclea pobeguini* aqueous extracts (NPE) at up to 64-fold on *S. saprophiticus*.; that of Norfloxacin and Doxycycline was reduced by aqueous extract of *Skirakiopsis elliptica* (SEE) on *E.coli* at up to 32 and 16-fold respectively.

Conclusion: The results of this study can be exploited to potentiate the antimicrobial activity of antibiotics involved in this study in the bacterial growth inhibition of resistant germs incriminated here.

Keywords: Antimicrobial chemotherapy; medicinal plants; infectious diseases; microbial resistance; synergism.

*Correspondence: juleclement@yahoo.fr (Prof. Dr. Assob Nguedia Jules Clement)

¹ Department of Biochemistry, Faculty of Sciences, University of Yaoundé I, P.O. Box 812, Yaoundé, Cameroon; ² Department of Medical Laboratory Sciences, Faculty of Health Science, University of Buea, P.O. Box 63, Buea Cameroon; ³ Department of Biochemistry, Faculty of Sciences, University of Buea, P.O. Box 63, Buea Cameroon; ⁴ Department of Biomedical Science, Faculty of Health Sciences, University of Buea, P.O. Box 63, Buea Cameroon; ⁵ Department of Public Health, Faculty of Health Sciences, University of Buea, P.O. Box 63, Buea Cameroon.

Citation on this article: Tabouguia MO, Zofou D, Njouendou JA, Kouipou MRT, Fon PN, Beng VP, Assob Nguedia JCA. Investigational Medicinal Chemistry and Pharmacology (2018) 1(1):4.



Background

There is a global increase in the rate of therapeutic failure as result of the emergence of multi-drug resistant (MDR) micro-organisms. These infectious agents are found in various organs especially the urogenital tract (UG). The World Health Organization (WHO) reported continuous increase in the incidence of UGI from 1999 to 2013 [1], and this constant growth of infectious diseases has been greatly attributed to the rapid emergence of MDR microorganisms to a variety of conventional antibiotics. Therefore, there was a need of an alternative strategy to fight against such organisms. One of the solutions to this strategy was the search of new active principles from medicinal plants [2-4]. During the last decades, systematic screening of natural products as a source of potential bioactive compounds with antimicrobial activity has been a common language with hope to solve the MDR issue in Cameroon. However, with fear of MDR against natural products, the development of new approaches in order to overcome the problem of antimicrobial resistance remains indispensable. These include, the exploration of antimicrobial plant extracts that could be used in combination with some antibiotics facing resistance in order to obtain an increased susceptibility [5-6]. This approach known as synergistic interaction can be exploited to potentiate the antibiotic effect, and therefore reduce the pharmaceutical and the toxicity as well as side effects [7]. There is hope that this new approach could contribute in solving the problem of bacterial resistance and less susceptible bacteria. A selected number of medicinal used in Cameroon and in other African countries based on their previous antimicrobial (against urogenital tract agents) and anti-oxidative activities including *Skirakiopsis elliptica* (*Euphorbiaceae*) (previously known as *Sapium ellypticum*), *Rumex abyssinicus* (*Polygonaceae*), *Nauclea pobeguinii* (*Rubiaceae*), *Picralima nitida* (*Apocynaceae*) were used. Besides, we have investigated the antimicrobial properties of these plants in a previous work against five microorganisms isolated from patients suffering from urogenital infections in Cameroon [2]. It was in order to bring back to shelves those antibiotics that are costly affordable, but abandoned because of this phenomenon of resistance that this work was therefore initiated to evaluate the synergistic potentials of these 4 medicinal plants against 7 antibiotics commonly used in the treatment of urogenital tract infections.

Methods

Plant Material

The different plant parts used in this study were harvested in the West and Centre regions of Cameroon. The various plants were identified at the Cameroon National Herbarium (CNH), where voucher specimens were deposited with voucher identification number. Detailed information on each medicinal plant are given in Table 1.

Preparation of Extracts

Fresh plant materials were collected and dried at room temperature in a ventilated laboratory and pulverized. The powders were macerated in various solvent for 72 hours as described by the Table 1 below and the mixtures were agitated daily. Methanol and Methanol-methylene chloride filtrates were evaporated on a Buchi Germany rotary evaporator while aqueous and hydro-ethanolic extracts were evaporated at 40°C in an oven.

Phytochemical Screenings

All plant extracts were subjected to qualitative phytochemical tests to identify the various classes of phytochemical components, according to the protocols previously described [8].

Tests for steroids: In a 10 mL glass tube, a mixture of 1 ml of extract, 1 mL of chloroform and 1 mL of acetic anhydride was prepared. Then 2 drops of concentrated H₂SO₄ was added from the side of test tube. The development of red, then blue and finally green color was indicative of the presence of steroids.

Test for alkaloids: In a 10 mL glass tube, 5 mg of the extracts were dissolved in 2 mL of methanol and developed on thin layer chromatography (silica gel coated plaque) in hexane-ethyl acetate 20:80 as mobile phase. The plaque was pulverized in a hoot with Dragendorf reagent newly prepared and the presence of orange spot on the plaque showed the presence of alkaloids.

Test for saponins: In a 10 mL glass tube, 2 mg of extract was dissolved into 1.5 mL heated distilled water; the mixture was shaken vigorously for 1 min. The formation persistent foam was indicative of the presence of saponins.

Table 1. Plant extracts information

Plant names family Voucher number	Part used	Solvent/ solvent extraction	system for Code	Mass of material	Volume of solvent (mL)
<i>Skirakiopsis elliptica</i> Euphorbiaceae (SE) 47266/HNC	Bark	MeOH 100%	(SEM)	200g	800
		MeOH-CH ₂ Cl ₂ (1:1)	(SEMC)	200g	400:400
		H ₂ O	(SEE)	200g	800
		H ₂ O - EtOH (1:1)	(SE1:1)	200g	400:400
		H ₂ O -EtOH (8:2)	(SE8:2)	200g	600:200
<i>Rumex abyssinicus</i> Polygonaceae (RA) 27239/SRF Cam	Bark	MeOH100%	(RAM)	1000g	4000
		MeOH-CH ₂ Cl ₂ (1:1)	(RAMC)	100g	500
		H ₂ O	(RAE)	200g	800
		H ₂ O - EtOH (1:1)	(RA1:1)	200g	400:400
		H ₂ O -EtOH (8:2)	(RA8:2)	200g	600:200
<i>Picalima nitida</i> Apocynaceae (PN) 565411/HNC	Bark	MeOH100%	PNM	1000g	4000
		MeOH-CH ₂ Cl ₂ (1:1)	(PNMC)	100g	400
		H ₂ O	(PNE)	200g	800
		H ₂ O - EtOH (1:1)	(PN1:1)	200g	400:400
		H ₂ O -EtOH (8:2)	(PN 8:2)	200g	600:200
<i>Nauclea pobeguunii</i> Rubiaceae (NP) 504710/HNC	Bark	MeOH 100%	NPM	1000g	4000
		MeOH-CH ₂ Cl ₂ (1:1)	(NPMC)	100g	250:250
		H ₂ O	(NPE)	100g	500
		H ₂ O - EtOH (1:1)	(NP1:1)	200g	400:400
		H ₂ O - EtOH (8:2)	(NP8:2)	100g	400:100

SEM: *Skirakiopsis elliptica*, methanolic extract, **SEMC:** *Skirakiopsis elliptica* methanol-methylene chloride (50-50) extract, **SEE:** *Skirakiopsis elliptica* aqueous extract, **SE1:1** *Skirakiopsis elliptica* Hydro-ethanolic extract (50-50) ; **SE8:2:** *Skirakiopsis elliptica* Hydro-ethanolic extract (80-20); **(RAM)** *Rumex abyssinicus* methanolic extract; **(RAMC)** *Rumex abyssinicus* methanol-methylene chloride (50-50) extract; **(RAE)** *Rumex abyssinicus* aqueous extract; **(RA1:1)** *Rumex abyssinicus* Hydro-ethanolic extract (50-50); **(RA8:2)** *Rumex abyssinicus* Hydro-ethanolic extract (80-20); **PNM:** *Picalima nitida* methanolic extract; **(PNMC)** : *Picalima nitida* methanol-methylene chloride extract (50-50) ; **(PNE):** *Picalima nitida* aqueous extract; **(PN1:1):** *Picalima nitida* Hydro-ethanolic extract (50-50); **(PN 8:2):** *Picalima nitida* Hydro-ethanolic extract (80-20); **NPM:** *Nauclea pobeguunii* methanolic extract; **(NPMC):** *Nauclea pobeguunii* methanol-methylene chloride (50-50) extract; **(NPE):** *Nauclea pobeguunii* aqueous extract; **(NP1:1):** *Nauclea pobeguunii* Hydro-ethanolic extract (50-50); **(NP8:2):** *Nauclea pobeguunii* Hydro-ethanolic extract (80-20); **NP:** *Nauclea pobeguunii* methanol;

Test for tannins: In a 10 mL glass tube, 2 mg of plant material was dissolved in 1mL of distilled water, and 2 mL of FeCl₃ was added to the filtrate. A Blue-black precipitate indicated the presence of tannins.

Test for terpenoids: In a 10 mL glass tube, 5 mL of each extract was mixed in 2 ml of chloroform, and concentrated H₂SO₄ (3 mL) was added carefully to form a layer. A reddish brown coloration at the inter face was indicative of the presence of terpenoids.

Test for flavonoids: A little amount of magnesium powder and a few drops of concentrated HCL were added to 3 mL of methanolic extract. A red or intense red coloration indicated the presence of flavonoids.

Interaction studies

Antibiotics

Antibiotics were selected based on their antimicrobial susceptibility patterns from hospital records. The detailed are found in our previous work [2]. The selection of antibiotics was oriented by their susceptibility patterns on urogenital microbial agents. The selected antibiotics were those that displayed the highest resistance profile and these included chloramphenicol, ciprofloxacin, Norfloxacin, doxycycline, amoxicillin, ceftriaxone and erythromycin [2].

Microbial strains

The investigation was carry out on the following microorganism: *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus saprophiticus*, all isolated from urinary or genital tract of infected patients (positive sample from patients who showed up to the hospital complaining about a vagina discharge coupled or not with dysuria, itching, lower abdominal pains, fever,

sterility and other symptoms related with urinary and/or genital infection, and whose the physician asked for an antibiogram) excepts the reference strain (*Staphylococcus aureus* RN4220 which was from BEI resources, NIAID, NIH, Manassas USA.

Determination of minimal inhibitory concentration (MIC) of samples to be tested

MICs were determined for extracts and antibiotics by broth micro-dilution technique using 96-well plates described by the clinical laboratory standard institute standard (CLSI) operational procedures [9]. The wells were filled with 100 μ L culture media (Muller Hinton broth) supplemented with 0.005% phenol red and 1% glucose. Subsequently, 100 μ L of extract previously prepared in DMSO was added in triplicate into the first column to make a final concentration of 70.8 mg/mL. Successive 2 fold-dilutions were done by transferring 100 μ L of the mixture from the first well to the next up to the eleventh well. An aliquot (100 μ L) was discarded from the eleventh well. The twelfth well

served as control since no sample (extract, or reference antibiotics) was added in it. Finally, 10 μ L of standardized inoculums at 10^6 CFU/mL was added in each test well for Gram negative bacteria and 10^5 CFU/mL for Gram positive [9]. The final concentration of the extracts used to determine their MICs ranged from 32 to 0.031 mg/mL, meanwhile each tested antibiotic has its own concentration range; base on information provided by the CLSI on the Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement [9]. Table 2 below summarizes all the concentration ranges tested. Tests were incubated aerobically at $37\pm 1^\circ\text{C}$ for 24 hours. The end point was revealed by a color change of the indicator from red to pink or to yellow by comparing test wells to control wells (media, diluted extract and distilled water). The MIC was considered as the lowest concentration of sample that could prevent visible growth of microorganism (no change of the indicator) [2]. Only the extract with the lowest MIC of the plant was selected for combination study with antibiotics.

Table 2. Concentration ranges of various agents

Samples	Ranges of concentration of all the product tested (Wells) [9]											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Extraits (mg/mL)	32	16	8	4	2	1	0,5	0.25	0.125	0.062	0.031	-
Bactrim(μ g/mL)	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	-
Chloramphenicol (μ g/mL)	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	-
Ciprofloxacin (μ g/mL)	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0.25	-
Norfloxacin (μ g/mL)	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0,25	0.125	-
Doxycyclin (μ g/mL)	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0,25	0.125	-
Amoxicillin (μ g/mL)	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	-
Ceftriaxone (μ g/mL)	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	-
Erythromycin (μ g/mL)	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	-

Determination of Fractional Inhibitory Concentration (FIC) and Fractional Inhibitory Concentration Index (FICI)

The checkerboard method was used to determine the combination effect of extract with antibiotics [7]. Briefly, 50 μ L of culture media were introduced in each well of the main micro-plate (test plate). Then, 50 μ L of product A (antibiotic) of the combination was introduced in the first column of the plate except in well A1. Successive dilutions were done by transferring 50 μ L of the mixture from the first to the tenth column, except raw A. An aliquot (50 μ L) was discarded from the tenth column. Subsequently, a second plate aimed for the preparation of product B (extract) dilutions was prepared. The plate was filled with 200 μ L of the broth culture media, then 200 μ L of product B was introduced in the first raw (raw A) of

the plate except in well A1, and successive dilutions were done by transferring 200 μ L of the mixture from the first line (raw A) to the sixth line (raw F) except column 1. At the end of the preparation of the second plate, 50 μ L of product B was therefore transfer from 2 to the corresponding well on the main plate. 10 μ L of bacterial suspension at concentration of 10^6 CFU/mL for gram negative and 10^5 CFU/mL for Gram positive was introduced in each test line except line H which served as negative control for product A and column 12 which served as negative control of product B. plates were shaken and incubated aerobically at 37°C for 24 hours. After incubation, raw G gave the MIC of product A alone, column 11 gave the MIC of product B alone, well A1 was the blank and the rest gave the MICs if products A and B in combination. The MIC was the smallest concentration that could prevent visible growth of the

microorganism characterized by the presence of the turbidity as compared with the control wells containing only the culture media and the product to be tested. In vitro interactions between antimicrobial agents were determined and quantified by calculating the fractional inhibitory concentration (FIC) index using the following formula: FIC index = (MIC of plant extract in combination/MIC of plant extract alone) + (MIC of antibiotic in combination/MIC of antibiotic alone). Interpretation of the FIC index (FICI) was as follows: FICI ≤ 0.5 = synergy; 0.5 > FICI ≤ 1 = additive; 1 > FICI ≤ 4 = indifference; FICI > 4 = antagonism [7]. The action of antimicrobial agents was considered to be: - *Synergistic* if their joint effect is far stronger than the sum of effects of the individual agents. - *Additive* if their joint effect produces an effect greater than effect of either drug taken alone. - *Indifferent* if their joint effect is equal to the effect of either individual agent. - *Antagonistic* if their joint effect is weaker than the sum

of effects of the individual agents or weaker than the effect of either individual agent.

$$\text{FIC A} = \frac{\text{MIC A in combination with B}}{\text{MIC A independently}} \quad \text{FIC B} = \frac{\text{MIC B in combination with A}}{\text{MIC B independently}} \quad \text{and FICI} = \Sigma \text{FIC}$$

If the MIC of any agent alone occurred at the highest concentration tested, the FIC index was considered not determinable and the type of interaction could not be assessed. And when the MIC of the agent in combination could not be determined, the FICI index was also not determinable. Where more than one combination resulted in a change in the MIC value of the extract or antibiotic, the FIC was expressed as the average of the FIC values.

Table 3. Phytochemical screening results

Samples	Extrait	Steroids	Alkaloids	Saponins	Tannins	Terpernoids	Flavonoids
SE	SEM	-	+	++	+++++	++	+
	SEMC	-	+	-	+++++	-	-
	SE1:1	++	+	-	+++++	+	-
	SE8:2	++	+	-	+++	+	-
	SEE	+	+	-	+++	+	-
RA	RAM	-	++	++	++++	+	+++
	RAMC	-	++	-	+++	+	++
	RA1:1	++++	+	-	+++	-	+
	RA8:2	+++++	+	++	+++	-	+
	RAE	+++++	+	-	+++	-	+
PN	PNM	-	++	+++++	-	++	+
	PNMC	-	+	+	-	-	-
	PN1:1	-	+++	++	-	++	-
	PN8:2	-	+++	++	+	++	-
	PNE	-	+++	++	-	++	-
NP	NP	++++	+	++	+	-	-
	NPM	-	+	+++	+	++	++
	NP1:1	+	++	+	+	+	-
	NP8:2	+	-	+	-	+	-
	NPE	+	-	+	+	+	-

(+): present and the number of (+) increases with the intensity of the coloration (-) absent

SEM: *Skirakiopsis elliptica*, methanolic extract, **SEMC:** *Skirakiopsis elliptica* methanol-methylene chloride (50-50) extract, **SEE:** *Skirakiopsis elliptica* aqueous extract, **SE1:1** *Skirakiopsis elliptica* Hydro-ethanolic extract (50-50); **SE8:2:** *Skirakiopsis elliptica* Hydro-ethanolic extract (80-20); **(RAM)** *Rumex abyssinicus* methanolic extract; **(RAMC)** *Rumex abyssinicus* methanol-methylene chloride (50-50) extract; **(RAE)** *Rumex abyssinicus* aqueous extract; **(RA1:1)** *Rumex abyssinicus* Hydro-ethanolic extract (50-50); **(RA8:2)** *Rumex abyssinicus* Hydro-ethanolic extract (80-20); **PNM:** *Picalima nitida* methanolic extract; **(PNMC)** : *Picalima nitida* methanol-methylene chloride extract (50-50); **(PNE):** *Picalima nitida* aqueous extract; **(PN1:1):** *Picalima nitida* Hydro-ethanolic extract (50-50); **(PN 8:2):** *Picalima nitida* Hydro-ethanolic extract (80-20); **NPM:** *Nauclea pobeguini* methanolic extract; **(NPMC):** *Nauclea pobeguini* methanol-methylene chloride (50-50) extract; **(NPE):** *Nauclea pobeguini* aqueous extract; **(NP1:1):** *Nauclea pobeguini* Hydro-ethanolic extract (50-50); **(NP8:2):** Hydro-ethanolic extract (80-20); **NP:** *Nauclea pobeguini* methanol

Table 4. Minimal inhibitory concentration of extracts and antibiotics on various tested microorganisms (mg/mL)

Samples	<i>P. vulgaris</i>	<i>P. stuartii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. saprophiticus</i>	<i>S.aureus</i> <i>RN4220</i>
SEM	0.25	0.5	1	2	1	0.5
SEMC	0.25	0.5	2	2	1	0.5
SE1:1	0.125	0.25	1	1	0.125	0.5
SE 8:2	0.25	0.25	1	1	0.25	0.5
SEE	0.25	0.25	0.5	1	0.25	0.5
RAM	1	2	8	32	0.25	0.25
RAMC	2	2	16	32	0.25	0.25
RA1:1	2	2	16	32	0.25	0.5
RA8:2	4	2	16	>32	0.5	1
RAE	2	1	4	2	0.5	1
PNM	16	8	8	8	0.25	0.5
PNMC	16	16	16	8	0.125	0.25
PN 1:1	32	16	32	8	0.125	0.25
PN 8:2	16	8	16	4	0.25	0.5
PNE	32	32	32	16	2	2
NP	16	8	16	32	0.25	2
NPM	16	16	32	32	4	4
NP1:1	32	8	16	32	4	4
NP8:2	8	4	16	8	2	4
NPE	2	2	4	4	4	2
BAT	>0.25	>0.25	64	4	8	128
CHLO	0.032	0.12	0.12	0.002	0.032	0.002
CIP	0.002	0.25	0.001	0.064	0.016	<0.25
NOR	8	>256	16	>256	128	2
DO	0.032	0.032	0.032	0.016	<0.125	<0.125
AX	0.001	0.51	>0.51	0.25	<0.25	<0.25
CEFT	<0.12	0.001	0.064	<0.12	0.008	0.002
ERY	nt	nt	nt	nt	0.0005	0.00025

Nt=not tested ; **SEM**: *Skirakiopsis elliptica*, methanolic extract, **SEMC**: *Skirakiopsis elliptica* methanol-methylene chloride (50-50) extract, **SEE**: *Skirakiopsis elliptica* aqueous extract, **SE1:1** *Skirakiopsis elliptica* Hydro-ethanolic extract (50-50) ; **SE8:2**: *Skirakiopsis elliptica* Hydro-ethanolic extract (80-20); (**RAM**) *Rumex abyssinicus* methanolic extract; (**RAMC**) *Rumex abyssinicus* methanol-methylene chloride (50-50) extract; (**RAE**) *Rumex abyssinicus* aqueous extract; (**RA1:1**) *Rumex abyssinicus* Hydro-ethanolic extract (50-50); (**RA8:2**) *Rumex abyssinicus* Hydro-ethanolic extract (80-20); **PNM**: *Picralima nitida* methanolic extract; (**PNMC**) : *Picralima nitida* methanol-methylene chloride extract (50-50) ; (**PNE**): *Picralima nitida* aqueous extract; (**PN1:1**): *Picralima nitida* Hydro-ethanolic extract (50-50); (**PN 8:2**): *Picralima nitida* Hydro-ethanolic extract (80-20); **NPM**: *Nauclea pobeguini* methanolic extract; (**PNMC**): *Nauclea pobeguini* methanol-methylene chloride (50-50) extract; (**NPE**): *Nauclea pobeguini* aqueous extract; (**NP1:1**): *Nauclea pobeguini* Hydro-ethanolic extract (50-50); (**NP8:2**): *Nauclea pobeguini* Hydro-ethanolic extract (80-20); **NP**: *Nauclea pobeguini* methanol ; **BAT**: Bactrim; **CHL** : chloramphenicol; **CIP** : Ciprofloxacin; **NOR**: Norfloxacin; **DO**: Doxycycline; **AX**: Amoxicillin; **CEFT**: Ceftriaxone; **ERY**: Erythromycin

Results and Discussion

Phytochemical screening results (Table 3) show that each plant extract possesses at least two of the screened secondary metabolite. These are known for their ability to fight against microbial invasion in plant and it is the same role involved in the in vitro antimicrobial activity of plant extracts. Results show that all the extracts from *Skirakiopsis elliptica* and *Rumex abyssinicus* were proven to be very rich in tannins while *Nauclea pobeguini* and *Picralima nitida* contain alkaloids and saponins. All the extracts were found to contain alkaloids except the aqueous and hydro-ethanolic (8:2) extract from *Nauclea pobeguini*. These secondary metabolites exert their antimicrobial

activity through different mechanisms; tannins for example act by iron deprivation, hydrogen bonding or non-specific interactions with vital proteins such as enzymes [10]. Some of characteristics of saponins include formation of foam in aqueous solutions, hemolytic activity, cholesterol binding properties and bitterness [11]. The antimicrobial mechanism of action of the alkaloids may be through DNA intercalation and inhibition of DNA synthesis through topoisomerase inhibition [11]. However, there is a difference in term of quantity and quality of secondary metabolites from one extract of the same plant to the other. This may be explained by the difference in polarity of various solvent used for the extraction.

Table 5. Fractional inhibitory concentration index (FICI) of each studied combination / minimum fold reduction (MFR) of Minimal inhibitory concentration (MIC) of antibiotics (ATB).

Combination	<i>E. coli</i>		<i>P. stuartii</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>S. aureus</i>		<i>S. saprophyticus</i>	
	FICI	MIC MFR of the ATB	FICI	MIC MFR of the ATB	FICI	MIC MFR of the ATB	FICI	MIC MFR of the ATB	FICI	MIC MFR of the ATB
BAT-SEE	1.09 / ind	2	0.95/add	4	1.22/ind	1	nt	/	nt	nt
CHL-SEE	0.91 :add	8	0.62/add	16	0.68/add	8	0.93/add	4	1.03/ind	2
CIP-SEE	1.09/ind	2	1.8/ind	1	ND	/	ND	/	ND	/
NOR-SEE	0.89 /add	32	0.70/add	4	1.78/ind	1	1.18/ind	1	ND	/
DO-SEE	0.70/add	16	1.07/ind	2	0.61/add	8	ND	/	nt	/
AX-SEE	ND	/	0.70/add	4	ND	/	1.08/ind	2	0.71/add	4
CEFT-SEE	1.18/ind	1	0.70/add	4	ND	/	1.38/ind	2	NT	/
ERY-SEE	nt	/	nt	/	nt	/	1.05/ind	4	ND	/
BAT-RAE	1.09/ind	2	ND	/	1.18/ind	1	nt	/	1.19/ind	1
CHL-RAE	0.78/add	2	ND	/	0.99/add	2	0.83/add	4	1.08/ind	2
CIP-RAE	1.18/ ind	1	ND	/	ND	/	ND	/	ND	/
NOR-RAE	ND	/	0.64/add	16	1.98/ind	-1	1.18/ind	1	ND	/
DO-RAE	1.03/ind	4	0.80/add	8	0.66/add	8	ND	/	ND	/
AX-RAE	ND	/	0.63/add	16	ND	/	1.10/ind	2	ND	/
CEFT-RAE	ND	/	0.66/add	4	ND	/	1.39/ind	2	ND	/
ERY-RAE	nt	/	nt	/	nt	/	1.05/ind	4	ND	/
BAT-NPE	1.04/ind	4	ND	/	ND	/	nt	/	1.04	4
CHL-NPE	0.78/add	2	ND	/	0.94/add	8	nt	/	1.03/ind	4
CIP-NPE	1.18/ind	1	1.16/ind	1	ND	/	nt	/	ND	/
NOR-NPE	ND	/	0.93/add	8	1.98/ind	-1	nt	/	0.64/add	64
DO-NPE	0.78/add	2	1.07/ind	2	0.56/add	8	nt	/	0.93/add	4
AX-NPE	ND	/	1.16/ind	1	ND	/	nt	/	0.71/add	8
CEFT-NPE	0.78/add	8	0.78/add	2	ND	/	nt	/	ND	/
ERY-NP							nt	/	ND	/
BAT-PNMC	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	/	0.79/add	4
CHL-PNMC	nt	nt	nt	nt	nt	nt	1.08/ind	2	1.08/ind	2
CIP-PNMC	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0.56/add	2	ND	/
NOR-PNMC	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0.68/add	4	0.78/add	2
DO-PNMC	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0.93/add	4	1.18/ind	1
AX-PNMC	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0.78/add	2	ND	/
CEFT-PNMC	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0.73/add	4	1.08/ind	2
ERY-PNMC	nt	nt	nt	nt	nt	nt	1.19/ind	1	ND	/

FICI ≤ 0.5 = synergy; 0.5 > **FICI** ≤ 1 = additive; 1 > **FICI** ≤ 4 = indifference; **FICI** > 4 = antagonism. For *S. aureus*, RAE has been replaced by RAM and for *S. saprophyticus*; RAE has been replaced by RAMC, NPE by NP, and SEE by SE1:1. **Nt** = not tested; **ND** = not determined. **SEM**: *Skirakiopsis elliptica*, methanolic extract, **SEMC**: *Skirakiopsis elliptica* methanol-methylene chloride (50-50) extract, **SEE**: *Skirakiopsis elliptica* aqueous extract, **SE1:1** *Skirakiopsis elliptica* Hydro-ethanolic extract (50-50) ; **SE8:2**: *Skirakiopsis elliptica* Hydro-ethanolic extract (80-20); (**RAM**) *Rumex abyssinicus* methanolic extract; (**RAMC**) *Rumex abyssinicus* methanol-methylene chloride (50-50) extract; (**RAE**) *Rumex abyssinicus* aqueous extract; (**RA1:1**) *Rumex abyssinicus* Hydro-ethanolic extract (50-50); (**RA8:2**) *Rumex abyssinicus* Hydro-ethanolic extract (80-20); **PNM**: *Picralima nitida* methanolic extract; (**PNMC**) : *Picralima nitida* methanol-methylene chloride extract (50-50) ; (**PNE**): *Picralima nitida* aqueous extract; (**PN1:1**): *Picralima nitida* Hydro-ethanolic extract (50-50); (**PN 8:2**): *Picralima nitida* Hydro-ethanolic extract (80-20); **NPM**: *Nauclea pobeguini* methanolic extract; (**PNMC**): *Nauclea pobeguini* methanol-methylene chloride (50-50) extract; (**NPE**): *Nauclea pobeguini* aqueous extract; (**NP1:1**): *Nauclea pobeguini* Hydro-ethanolic extract (50-50); (**NP8:2**): *Nauclea pobeguini* Hydro-ethanolic extract (80-20); **NP**: *Nauclea pobeguini* methanolic extract; **BAT**: Bactrim; **CHL** : chloramphenicol; **CIP** : Ciprofloxacin; **NOR**: Norfloxacin; **DO**: Doxycycline; **AX**: Amoxicillin; **CEFT**: Ceftriaxone; **ERY**: Erythromycin;

Table 6. Various extracts selected for the combination study (best extract activity, lowest MIC)

Micro-organism	<i>P. vulgaris</i>	<i>P. stuartii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. saprophiticus</i>	<i>S.aureus RN4220</i>
Best plant extract activity	SEE, RAE, NPE,	SEE, RAE, NPE,	SEE, RAE, NPE,	SEE, RAE, NPE,	SE1:1, RAMC, NP, PNMC	SEE, NPE, RAM, PNMC

(**PNMC**) : *Picralima nitida* methanol-methylene chloride extract (50-50) ; (**RAMC**) *Rumex abyssinicus* methanol-methylene chloride (50-50) extract; (**RAM**) *Rumex abyssinicus* methanolic extract; (RAE) *Rumex abyssinicus* aqueous extract; (**SEE**): *Skirakiopsis elliptica* aqueous extract; (**SE1:1**) *Skirakiopsis elliptica* Hydro-ethanolic extract (50-50) ; (**NPE**): *Nauclea pobeguini* aqueous extract; (**NP**): *Nauclea pobeguini* methanol.

Interactions studies results

Minimal inhibitory concentration results

The MICs of the various plant extracts and antibiotics against tested microorganisms are presented in Table 4 below. Based on the antimicrobial activity cut off values of crude extracts as earlier categorized [2], extracts with a MIC value on pathogen less than 1 mg/mL is classified as very active; whereas MIC values between 1 and 8 mg/mL are known as moderately active, and those displaying MIC comprise between 8-64 mg/mL, are considered to be less active or with negligible activity. By referring to this scale, all the extracts from *Skirakiopsis elliptica* (SEM, SEMC, SE1:1, SEE) can be considered to be very active on all the tested microbial agents except on *E.coli* and this justify why these extracts were selected for the combination studies. Moreover, most extracts, displayed a MIC higher than 8 mg/mL, especially on Gram negative microorganisms. But only the extract displaying the best activity (the lowest MIC) on each microorganism was recruited for the combination effect with antibiotics. Table 6 shows the best extract activity recorded on each microorganism. Concerning MICs values obtained with antibiotics, they were all within the values classified as resistant by the CLSI for the enterobacteria [9]. The phytochemical screening results revealed the presence of steroids, flavonoids, tannins, terpenoids, alkaloids and saponins. These secondary metabolites from extracts are known to have an impact on growth and metabolism of microorganisms [12]. They probably played the major role in the antimicrobial activity of the various extracts observed in this study.

Combining effects of some extracts with antibiotics

In this work, possible joint activity of extracts from *Skirakiopsis elliptica*, *Rumex abyssinicus*, *Nauclea pobeguini* and *Picralima nitida* extracts and eight antibiotics (Bactrim, chloramphenicol, ciprofloxacin, Norfloxacin, doxycycline, amoxicillin, ceftriaxone and

erythromycin), was evaluated. The experiment was done against pathogenic bacteria (*Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus saprophiticus* and *Staphylococcus aureus* RN4220) isolated in urogenital tracts which were found to be often involved in other human infections. These bacteria were proven to be clinically resistant to the various antibiotics (*chloramphenicol*, *ciprofloxacin*, *Norfloxacin*, *doxycycline*, *amoxicillin*, *ceftriaxone* and *erythromycin*) involved in this study. The checkerboard method used in the evaluation of combination effect, permitted us to establish 37 additive interactions with FIC index comprise between 0.56-0.95 and 35 interactions indifferent FICI comprise between 1.03-1.98 (Table 5). No antagonism (FICI >4) was revealed as well as no synergism FICI <0.5. However, we could notice a decrease in the minimum inhibitory concentration of some antibiotics at up to 64 fold. Indeed, it was found that the presence of sub-inhibitory concentrations (1/2 MIC, 1/4MIC) of the extracts modulated the activity of various antibiotics by reducing the concentration of antibiotics needed to inhibit the growth of bacteria. The concentration of Doxycycline was decreased by *Nauclea pobeguini* aqueous extracts (NPE) at up to 64-fold on *S.saprophiticus*.; that of Norfloxacin and Doxycycline was reduced by SEE on *E.coli* at up to 32 and 16-fold respectively. ; That of chloramphenicol was reduced at 16 and 8-fold by SEE on *P. stuartii* and *E. coli* respectively. This observation is not to be neglected for synergistic interactions stand on the same principle. Additive interaction, occurring when two or more drugs are combined to produce an effect greater than effect of either drug taken alone, as well as synergistic interaction is a positive interaction. Apart from combination with PNMC (*Picralima nitida* methanol-methylene chloride), most combinations with others extracts on staphylococcus species tested in this study were found to be indifferent. The explanation to this observation may be found in their phytochemical contents which appear to be different compare to other plants. Many studies have shown

that active efflux pump can be the mechanism of resistance put in place by bacteria against almost all antibiotics [13]. The majority of the efflux systems in bacteria are non-drug specific proteins that can recognize and export a broad range of chemically and structurally unrelated compounds from bacteria without drug alteration or degradation [14]. It seems that both active compounds, from extracts and antibiotics, directly or indirectly attach the same site on bacterial cell. Some authors suggest that phytochemical components disturb cell wall or increase permeability of the cytoplasmic membrane and thereby facilitate the influx of antibiotics, produce efflux pump inhibitors or inhibit penicillin-binding proteins [15].

Conclusions

In this study, we could established 37 additive interactions with FIC index comprise between 0.56-0.95 and 35 interactions indifferent FICI comprise between 1.03-1.98. No antagonism (FICI >4) was revealed as well as no synergism FICI <0.5. However, we could notify a decrease in the minimum inhibitory concentration of some antibiotics at up to 64 fold. In conclusion, the results of this study are encouraging for the findings support the possible use of phyto-compounds together with antibiotics to increase their potency and avoid undesirable side effects. The results could be exploited to solve the problem of bacterial resistance and less susceptible bacteria

Abbreviations

AX: Amoxicillin;
 BAT: Bactrim;
 CEFT: Ceftriaxone;
 CFU: Colonies Forming Unit
 CHL : chloramphenicol;
 CIP : Ciprofloxacin;
 CLSI: Clinical Laboratory Standard Institute
 CNH: Cameroon National Herbarium
 DMSO: Dimethylsulphoxide
 DNA: Deoxyribonucleic acid
 DO: Doxycycline;
 ERY: Erythromycin;
 FIC : Fractional Inhibitory Concentration
 FICI : Fractional Inhibitory Concentration Index
 MDR: Multi-drug resistant
 MIC: Minimal Inhibitory Concentration
 ND: Not Determined
 NOR: Norfloxacin;
 NP: *Nauclea pobeguini* methanol ;
 NP1:1: *Nauclea pobeguini* Hydro-ethanolic extract (50-50);
 NP8:2: Hydro-ethanolic extract (80-20);
 NPE: *Nauclea pobeguini* aqueous extract;
 NPM: *Nauclea pobeguini* methanolic extract;
 PNMC: *Nauclea pobeguini* methanol-methylene chloride (50-50) extract;
 NT=Not Tested;
 PN 8:2: *Picralima nitida* Hydro-ethanolic extract (80-20);
 PN1:1: *Picralima nitida* Hydro-ethanolic extract (50-50);
 PNE: *Picralima nitida* aqueous extract;
 PNM: *Picralima nitida* methanolic extract;

PNMC : *Picralima nitida* methanol-methylene chloride extract (50-50) ;
 RA1:1 *Rumex abyssinicus* Hydro-ethanolic extract (50-50);
 RA8:2 *Rumex abyssinicus* Hydro-ethanolic extract (80-20);
 RAE *Rumex abyssinicus* aqueous extract;
 RAM *Rumex abyssinicus* methanolic extract;
 RAMC *Rumex abyssinicus* methanol-methylene chloride (50-50) extract;
 SE1:1 *Skirakiopsis elliptica* Hydro-ethanolic extract (50-50) ;
 SE8:2: *Skirakiopsis elliptica* Hydro-ethanolic extract (80-20);
 SEE: *Skirakiopsis elliptica* aqueous extract,
 SEM: *Skirakiopsis elliptica*, methanolic extract,
 SEMC: *Skirakiopsis elliptica* methanol-methylene chloride (50-50) extract,
 UG: Urogenital tract
 WHO: World Health Organization

Authors' Contribution

TMO designed the protocol, executed the laboratory work and drafted the manuscript. NJA contributed to ethnobotanical survey, provided the plant and contributed to draft the manuscript. KMRT contributed to design the protocol, read and substantially revised the manuscript. FPN helped in the acquisition of clinical microbial strains. DZ, JCAN and VPB contributed to monitor the laboratory work and provided required chemicals and laboratory consumables for different analysis. All authors read and approved the manuscript.

Acknowledgments

The authors are also grateful to BEI resources, NIAID, NIH, Manassas USA, for the provision of referenced strain. Also they are grateful to all the Buea Solidarity Clinic laboratory staff, as well as to all the Laboratory staff of Deido Hospital (Douala), to Dr Awah, and to Mr Ebane for their contribution in different aspects of the realization of this work.

Conflict of interest

The author(s) declare that they have no competing interests.

Article history:

Received: 22 April 2018
 Received in revised form: 28 April 2018
 Accepted: 06 May 2018
 Available online: 06 May 2018

References

1. WHO. Sexually transmitted Infections, help memory N°110 May 2013.
2. Tabouguia OM, Zofou D, Njouendou JA, Anneh AU, Moumbock A, Babiaka BS, Nganyewo AZ, Yong NJ, Nde Fon P, Penlap BV, Assob NJC. Antimicrobial Activities of Some Medicinal Plants Against Multiresistants Microorganisms Causing Urogenital Tract Infections in Cameroon. *Journal of Diseases and Medicinal Plants*. 2017.3: 33-41.
3. Fokunang CN, Ndikum V, Tabi OY, Jiofack ,R.B, Ngameni B, Guedje N.M, embe Fokunang, E.A1, Tomkins, Barkwan S, Kechia,F, Asongalem E, Ngoupayou J, Torimiro NJ Gonsu KH1, Sielinou V, Ngadjui BT, Angwafor IIIF, Nkongmeneck A, Abena OM, Ngogang J, Asonganyi T, Colizzi V., Lohoue J, Kamsu K. "Traditional medicine: past, present and future research and development prospects and integration in the

- national health system of Cameroon". *African J Trad, Complement Alter Med*. 2011.8(3):284-295.
4. Assob JCN, Kamga HLF, Nsagha DS, Njunda AL, Nde FP, Asongalem AE, Njouendou AJ, Sandjon B, and Penlap BV. 2011. "Antimicrobial and toxicological activities of five medicinal plant species from Cameroon Traditional Medicine". *BMC Complement Alter Med*.11:70.
 5. Ngouana TK, Jiatsa MDC, Toghueo KRM, Tchuente TMA, Menkem ZM, Ngouana V, Mallié M, Bertout S and Boyom FF. Catappa, Terminalia Mantaly and Monodora tenuifolia Against Pathogenic Yeasts. *Medicines* 2, 2015. 220-235.
 6. Adwan G, Bassam AS, Kamel A. Antibacterial activities of some plant extracts alone and in combination with different antimicrobials against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 2010. 6; 266-26.
 7. Sandy van Vuuren, Alvaro Viljoen. Plant-Based Antimicrobial Studies –Methods and Approaches to Study the Interaction between Natural Products *Planta Medica*; 2011. 77: 1168–1182
 8. Trease GE., Evans WC. *Pharmacognosy*, 12e dn. London: Bailliere Tindall.1983.
 9. Clinical Laboratory Standard Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement. 2014.
 10. Scalbert A."Antimicrobial properties of tannins".*Phytochemistry*.1991.30:3875-3883.
 11. Doherty, V.F. Olaniran, O.O, Kanife U.C. "Antimicrobial Activities of *Aframomum melegueta* (AlligatorPepper)". *International journal of biology*. 2010. 2:126-131.
 12. Cowan MM. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Review*. 12: 564-582.
 13. Lin J, Michel LO, Zhang Q. Cme ABC functions as a multidrug efflux system in *Campylobacter jejuni*. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 2124-31. In Ghaleb Adwan, Bassam Abu-Shanab, Kamel Adwan. 2010. Antibacterial activities of some plant extracts alone and in combination with different antimicrobials against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. (266-26.
 14. Shiota S, Shimizu M, Sugiyama J, Morita Y, Mizushima T, Tsuchiya T (2004). Mechanisms of action of corilagin and tellimagrandin I that remarkably potentiate the activity of β -lactams against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Microbiol. Immunol*. 48: 67-73.
 15. Sibanda T, Okoh AI (2007). The challenges of overcoming antibiotic resistance: Plant extracts as potential sources of antimicrobial and resistance modifying agents. *Afr. J. Biotech*, 6: 2886-2896.