

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE
UNION – DISCIPLINE – TRAVAIL



N°1979/18

Année : 2017 – 2018

THESE

Présentée en vue de l'obtention du

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

AKA AGNIMOU LEON

Evaluation de l'activité anti-bactérienne d'un extrait aqueux de
l'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea*
(L.) Wight et Arn. (Fabaceae)

Soutenue publiquement le 11Decembre 2019

COMPOSITION DU JURY :

Président	: Monsieur YAVO William, Professeur titulaire
Directeur de thèse	: Madame IRIE-N'GUESSAN Amenan G., Maître de Conférences Agrégé
Assesseurs	: Monsieur ZINZENDORF Nanga Yessé, Maître de Conférences Agrégé
	: Monsieur EFFO Kouakou Etienne, Maître-assistant.

**ADMINISTRATION ET PERSONNEL
ENSEIGNANT DE L'UFR
SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET
BIOLOGIQUES**

I. HONORARIAT

Directeurs/Doyens Honoraires :

Professeur RAMBAUD André
Professeur FOURASTE Isabelle
Professeur BAMBA Moriféré
Professeur YAPO Abbé †
Professeur MALAN Kla Anglade
Professeur KONE Moussa †
Professeur ATINDEHOU Eugène

II. ADMINISTRATION

Directeur	Professeur KONE-BAMBA Diénéba
Sous-Directeur Chargé de la Pédagogie	Professeur Ag. IRIE-N'GUESSAN A.G.
Sous-Directeur Chargé de la Recherche	Professeur Ag. DEMBELE Bamory
Secrétaire Principal	Madame NADO-AKPRO Marie Josette
Documentaliste	Monsieur N'GNIMMIEN Koffi Lambert
Intendant	Monsieur GAHE Alphonse
Responsable de la Scolarité	Madame DJEDJE Yolande

III. PERSONNEL ENSEIGNANT PERMANENT

1- PROFESSEURS TITULAIRES

M. ABROGOUA Danho Pascal	Pharmacie Clinique
Mmes AKE Michèle	Chimie Analytique, Bromatologie
ATTOUNGBRE HAUHOUOT M.L.	Biochimie et Biologie Moléculaire
MM. DANO Djédjé Sébastien	Toxicologie
GBASSI K. Gildas	Chimie Physique Générale
INWOLEY Kokou André	Immunologie
Mme KONE BAMBA Diéneba	Pharmacognosie
M. KOUADIO Kouakou Luc	Hydrologie, Santé Publique
Mme KOUAKOU-SIRANSY Gisèle	Pharmacologie

MM. MALAN Kla Anglade	Chimie Ana., contrôle de qualité
MENAN Eby Ignace	Parasitologie - Mycologie
MONNET Dagui	Biochimie et Biologie Moléculaire
Mme SAWADOGO Duni	Hématologie
M. YAVO William	Parasitologie - Mycologie

2- MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

M. AHIBOH Hugues	Biochimie et Biologie moléculaire
Mme AKE-EDJEME N'guessan Angèle	Biochimie et Biologie moléculaire
MM. AMARI Antoine Serge G.	Législation
AMIN N'Cho Christophe	Chimie analytique
BONY François Nicaise	Chimie Analytique
DALLY Laba Ismael	Pharmacie Galénique
DEMBELE Bamory	Immunologie
DJOHAN Vincent	Parasitologie -Mycologie
Mme IRIE-N'GUESSAN Geneviève	Pharmacologie
M. KOFFI Angely Armand	Pharmacie Galénique
Mme KOUAKOU-SACKOU Julie	Santé Publique
MM. KOUASSI Dinard	Hématologie
LOUKOU Yao Guillaume	Bactériologie-Virologie
OGA Agbaya Stéphane	Santé publique et Economie de la santé
OUASSA Timothée	Bactériologie-Virologie
OUATTARA Mahama	Chimie organique, Chimie thérapeutique
SANGARE TIGORI Béatrice	Toxicologie
MM. YAPI Ange Désiré	Chimie organique, chimie thérapeutique
ZINZENDORF Nanga Yessé	Bactériologie-Virologie

3- MAITRES-ASSISTANTS

MM. ADJAMBRI Adia Eusebé	Hématologie
ADJOUNGOUA Attoli Léopold	Pharmacognosie
Mmes ABOLI-AFFI Mihessé Roseline	Immunologie

	AKA ANY-GRAH Armelle Adjoua S.	Pharmacie Galénique
	ALLA-HOUNSA Annita Emeline	Santé Publique
M.	ANGORA Kpongbo Etienne	Parasitologie - Mycologie
Mmes	AYE-YAYO Mireille	Hématologie
	BAMBA-SANGARE Mahawa	Biologie Générale
	BARRO-KIKI Pulchérie	Parasitologie - Mycologie
MM.	CABLAN Mian N'Dedey Asher	Bactériologie-Virologie
	CLAON Jean Stéphane	Santé Publique
Mmes	BLAO-N'GUESSAN Amoin Rebecca J.	Hématologie
	DIAKITE Aïssata	Toxicologie
	DONOU-N'DRAMAN Aha Emma	Hématologie
M.	EFFO Kouakou Etienne	Pharmacologie
Mme	FOFIE N'Guessan Bra Yvette	Pharmacognosie
MM.	KABRAN Tano Kouadio Mathieu	Immunologie
	KASSI Kondo Fulgence	Parasitologie-Mycologie
Mme	KONAN-ATTIA Akissi Régine	Santé publique
M.	KONAN Konan Jean Louis	Biochimie et Biologie moléculaire
Mme	KONATE Abibatou	Parasitologie-Mycologie
M.	KOUAME Denis Rodrigue	Immunologie
Mme	KOUASSI-AGBESSI Thérèse	Bactériologie-Virologie
MM.	KPAIBE Sawa André Philippe	Chimie Analytique
	MANDA Pierre	Toxicologie
	N'GUESSAN Alain	Pharmacie Galénique
Mme	VANGA-BOSSON Henriette	Parasitologie-Mycologie
M.	YAYO Sagou Eric	Biochimie et Biologie moléculaire

4- ASSISTANTS

MM.	ADIKO Aimé Cézaire	Immunologie
	AMICHIA Attoumou Magloire	Pharmacologie
Mmes	AKOUBET-OUAYOGODE Aminata	Pharmacognosie

	ALLOUKOU-BOKA Paule-Mireille	Législation
	TAHOU-APETE Sandrine	Bactériologie-Virologie
	BEDIAKON-GOKPEYA Mariette	Santé publique
MM.	BROU Amani Germain	Chimie Analytique
	BROU N'Guessan Aimé	Pharmacie clinique et thérapeutique
	COULIBALY Songuigama	Chimie organique, chimie thérapeutique
	DJADJI Ayoman Thierry Lenoir	Pharmacologie
	DJATCHI Richmond Anderson	Bactériologie-Virologie
Mmes	DOTIA Tiepordan Agathe	Bactériologie-Virologie
	KABLAN-KASSI Hermance	Hématologie
MM.	KACOU Alain	Chimie organique, chimie thérapeutique
	KAMENAN Boua Alexis Thierry	Pharmacie clinique et thérapeutique
	KOFFI Kouamé	Santé publique
	KONAN Jean Fréjus	Biophysique
Mme	KONE Fatoumata	Biochimie et Biologie moléculaire
MM.	KOUAHO Avi Kadio Tanguy	Chimie organique, chimie thérapeutique
	KOUAKOU Sylvain Landry	Pharmacologie
	KOUAME Jérôme	Santé publique
Mme	KRIZO Gouhonon Anne-Aymonde	Bactériologie-Virologie
MM.	LATHRO Joseph Serge	Bactériologie-Virologie
	MIEZAN Jean Sébastien	Parasitologie-Mycologie
	N'GBE Jean Verdier	Toxicologie
	N'GUESSAN Déto Ursul Jean-Paul	Chimie organique, chimie thérapeutique
Mmes	N'GUESSAN Kakwokpo Clémence	Pharmacie Galénique
	N'GUESSAN-AMONKOU Anne Cynthia	Législation
	ODOH Alida Edwige	Pharmacognosie
	SIBLI-KOFFI Akissi Joëlle	Biochimie et Biologie moléculaire
	SICA-DIAKITE Amelanh	Chimie organique, chimie thérapeutique
	TANOH-BEDIA Valérie	Parasitologie-Mycologie
M.	TRE Eric Serge	Chimie Analytique

Mme KOUASSI-TUO Awa	Pharmacie Galénique
M. YAPO Assi Vincent De Paul	Biologie Générale
Mme YAPO-YAO Carine Mireille	Biochimie

5- CHARGES DE RECHERCHE

Mmes ADIKO N'dri Marcelline	Pharmacognosie
OUATTARA N'gnôh Djénéb	Santé publique

6- ATTACHE DE RECHERCHE

M. LIA Gnahoré José Arthur	Pharmacie Galénique
----------------------------	---------------------

7- IN MEMORIUM

Feu KONE Moussa	Professeur Titulaire
Feu YAPO Abbé Etienne	Professeur Titulaire
Feu COMOIE Léopold	Maître de Conférences Agrégé
Feu POLNEAU-VALLEE Sandrine	Maître de Conférences Agrégé
Feu GUEU Kaman	Maître Assistant
Feu ALLADOUM Nambelbaye	Assistant
Feu COULIBALY Sabali	Assistant
Feu TRAORE Moussa	Assistant
Feu YAPO Achou Pascal	Assistant

IV. ENSEIGNANTS VACATAIRES

1- PROFESSEURS

M.	DIAINE Charles	Biophysique
	OYETOLA Samuel	Chimie Minérale

2- MAITRES DE CONFERENCES

M.	KOUAKOU Tanoh Hilaire	Botanique et Cryptogamie
	YAO N'Dri Athanase	Pathologie Médicale

3- MAITRE-ASSISTANT

M.	KONKON N'Dri Gilles	Botanique, Cryptogamie
----	---------------------	------------------------

4- NON UNIVERSITAIRES

MM.	AHOUSSE Daniel Ferdinand	Secourisme
	COULIBALY Gon	Activité sportive
	DEMPAH Anoh Joseph	Zoologie
	GOUEPO Evariste	Techniques officinales
Mme	KEI-BOGUINARD Isabelle	Gestion-Comptabilité
MM	KOFFI Alexis	Anglais
	KOUA Amian	Hygiène
	KOUASSI Ambroise	Management
	AHOUSSE Ferdinand	Secourisme
	KONAN Kouacou	Diététique
Mme	PAYNE Marie	Santé Publique

**COMPOSITION DES DEPARTEMENTS DE
L'UFR DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES
ET BIOLOGIQUES**

I. BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE

Professeurs	LOUKOU Yao Guillaume	Maître de Conférences Agrégé Chef de département
	OUASSA Timothée	Maître de Conférences Agrégé
	ZINZENDORF Nanga Yessé	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	CABLAN Mian N'Dédey Asher	Maître-Assistant
	KOUASSI-AGBESSI Thérèse	Maître-Assistante
	TAHOU-APETE Sandrine	Assistante
	DJATCHI Richmond Anderson	Assistant
	DOTIA Tiepordan Agathe	Assistante
	KRIZO Gouhonon Anne-Aymonde	Assistante
	LATHRO Joseph Serge	Assistant

**II. BIOCHIMIE, BIOLOGIE MOLECULAIRE, BIOLOGIE DE LA REPRODUCTION
ET PATHOLOGIE MEDICALE**

Professeurs	MONNET Dagui	Professeur Titulaire Chef de Département
	HAUHOUOT-ATTOUNGBRE M.L.	Professeur Titulaire
	AHIBOH Hugues	Maître de Conférences Agrégé
	AKE-EDJEME N'Guessan Angèle	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	KONAN Konan Jean Louis	Maître-Assistant
	YAYO Sagou Eric	Maître-Assistant
	KONE Fatoumata	Assistante
	SIBLI-KOFFI Akissi Joëlle	Assistante
	YAPO-YAO Carine Mireille	Assistante

III. BIOLOGIE GENERALE, HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Professeurs	SAWADOGO Duni	Professeur Titulaire Chef du Département
	INWOLEY Kokou André	Professeur Titulaire
	DEMBELE Bamory	Maître de Conférences Agrégé
	KOUASSI Dinard	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	ABOLI-AFFI Mihessé Roseline	Maître-Assistante
	ADJAMBRI Adia Eusebé	Maître-Assistant
	AYE-YAYO Mireille	Maître-Assistante
	BAMBA-SANGARE Mahawa	Maître-Assistante
	DONOU-N'DRAMAN Aha Emma	Maître-Assistante
	KABRAN Tano K. Mathieu	Maître-Assistant
	KOUAME Denis Rodrigue	Maître-Assistant
	BLAO-N'GUESSAN A. Rebecca S.	Maître-Assistante
	ADIKO Aimé Cézaire	Assistant
	KABLAN-KASSI Hermance	Assistante
	YAPO Assi Vincent De Paul	Assistant

IV. CHIMIE ANALYTIQUE, CHIMIE MINERALE ET GENERALE, TECHNOLOGIE ALIMENTAIRE

Professeurs	MALAN Kla Anglade	Professeur Titulaire Chef de Département
	AKE Michèle	Professeur Titulaire
	GBASSI Komenan Gildas	Professeur Titulaire
	AMIN N'Cho Christophe	Maître de Conférences Agrégé
	BONY Nicaise François	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	KPAIBE Sawa André Philippe	Maître-Assistant
	BROU Amani Germain	Assistant
	TRE Eric Serge	Assistant

V. CHIMIE ORGANIQUE ET CHIMIE THERAPEUTIQUE

Professeurs	OUATTARA Mahama	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département
	YAPI Ange Désiré	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	COULIBALY Songuigama	Assistant
	KACOU Alain	Assistant
	KOUAHO Avi Kadio Tanguy	Assistant
	N'GUESSAN Déto Ursul Jean-Paul	Assistant
	SICA-DIAKITE Amelanh	Assistante

VI. PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE, BIOLOGIE ANIMALE ET ZOOLOGIE

Professeurs	MENAN Eby Ignace H.	Professeur Titulaire Chef de Département
	YAVO William	Professeur Titulaire
	DJOHAN Vincent	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	ANGORA Kpongbo Etienne	Maître-Assistant
	BARRO-KIKI Pulchérie	Maître-Assistante
	KASSI Kondo Fulgence	Maître-Assistant
	KONATE Abibatou	Maître-Assistant
	VANGA-BOSSON Henriette	Maître-Assistante
	MIEZAN Jean Sébastien	Assistant
	TANOAH-BEDIA Valérie	Assistante

**VII. PHARMACIE GALENIQUE, BIOPHARMACIE, COSMETOLOGIE,
GESTION ET LEGISLATION PHARMACEUTIQUE**

Professeurs	KOFFI Armand Angelly	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département
	AMARI Antoine Serge G.	Maître de Conférences Agrégé
	DALLY Laba Ismaël	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	AKA ANY-GRAH Armelle A.S.	Maître-Assistante
	N'GUESSAN Alain	Maître-Assistant
	ALLOUKOU-BOKA P. Mireille	Assistante

LIA Gnahoré José Arthur	Attaché de recherche
N'GUESSAN Kakwokpo Clémence	Assistante
N'GUESSAN-AMONKOU A. Cynthia	Assistante
KOUASSI-TUO Awa	Assistante

VIII. PHARMACOGNOSIE, BOTANIQUE, BIOLOGIE VEGETALE, CRYPTO GAMIE

Professeur	KONE-BAMBA Diénéba	Professeur Titulaire Chef de Département
Docteurs	ADJOUGOUA Attoli Léopold	Maître-Assistant
	FOFIE N'Guessan Bra Yvette	Maître-Assistante
	ADIKO N'dri Marcelline	Chargée de recherche
	AKOUBET-OUAYOGODE Aminata	Assistante
	ODOH Alida Edwige	Assistante

IX. PHARMACOLOGIE, PHARMACIE CLINIQUE ET THERAPEUTIQUE ET PHYSIOLOGIE HUMAINE

Professeurs	ABROGOUA Danho Pascal	Professeur Titulaire Chef de Département
	KOUAKOU-SIRANSY N'doua G.	Professeur Titulaire
	IRIE-N'GUESSAN Amenan G.	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	EFFO Kouakou Etienne	Maître-Assistant
	AMICHIA Attoumou M	Assistant
	BROU N'Guessan Aimé	Assistant
	DJADJI Ayoman Thierry Lenoir	Assistant
	KAMENAN Boua Alexis	Assistant
	KOUAKOU Sylvain Landry	Assistant

X. PHYSIQUE, BIOPHYSIQUE, MATHEMATIQUES, STATISTIQUES ET INFORMATIQUE

Professeur	GBASSI Komenan Gildas	Professeur titulaire Chef de Département
------------	-----------------------	---

Docteur KONAN Jean-Fréjus Assistant

XI. SANTE PUBLIQUE, HYDROLOGIE ET TOXICOLOGIE

Professeurs	KOUADIO Kouakou Luc	Professeur Titulaire Chef de département
	DANO Djédjé Sébastien	Professeur Titulaire
	OGA Agbaya Stéphane	Maître de Conférences Agrégé
	KOUAKOU-SACKOU Julie	Maître de Conférences Agrégé
	SANGARE-TIGORI Béatrice	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	CLAON Jean Stéphane	Maître-Assistant
	MANDA Pierre	Maître-Assistant
	DIAKITE Aissata	Maître-Assistante
	HOUNSA-ALLA Annita Emeline	Maître-Assistante
	KONAN-ATTIA Akissi Régine	Maître-Assistante
	OUATTARA N'gnôh Djénéba	Chargée de Recherche
	BEDIAKON-GOKPEYA Mariette	Assistante
	KOFFI Kouamé	Assistant
	KOUAME Jérôme	Assistant
	N'GBE Jean Verdier	Assistant

DEDICACES

A L'ETERNEL DIEU TOUT PUISSANT

Merci Seigneur de m'avoir permis de terminer mon cursus. Toi qui a été, qui es, et qui seras ma force et mon refuge. Que toute la gloire te soit rendue pour l'éternité. Amen !!!

A mon père AMIEN AKA

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours pour toi. Rien au monde ne vaut les efforts fournis pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit des nombreux sacrifices que tu a consenti pour mon éducation et ma formation.

Merci père !

A ma très chère mère AGNIMOU N'DA YAH FELICITE

Honorable et aimable, tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.

Puisse Dieu le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longévité et bonheur.

A mes frères et sœurs

BERNADETTE, JULIE, ANDERSON et son épouse **SALOME, VIVIANE, PELAGIE, EUGENE, MICHEL**. Vous m'avez soutenu dans les moments les plus délicats et durant tout ce parcours. Veuillez trouver dans ce travail un modeste témoignage de mon admiration, de mon affection et de toute ma gratitude.

Dieu vous comble de sa grâce !

A mes neveux, nièces, cousins et cousines

Je vous exprime ma profonde reconnaissance. Votre amour, votre considération et l'espoir que vous avez placé en moi m'ont aidé à mener à bien ce travail qui est aussi le vôtre.

Dieu vous bénisse et vous protège !

A mes amis

BROU THIERRY ; KOUADIO N'GUESSAN ARMAND, SINGNO KOUADIO ; DJOWAN FRANCK ; KATOUO DOMEHAN. Merci de votre soutien tout au long de ces études. Que le Seigneur oriente chacun de nous sur la voie qu'il nous a destinée.

A LA "P7E"

La promotion des "Pharmaciens 7 étoiles". Vous représentez une grande famille, merci pour cette ambiance chaleureuse qui continue toujours d'exister entre nous.

Que Dieu guide toujours nos pas !

A Monsieur DIOMANDE

Vous nous avez montré la voie à suivre depuis le Lycée Moderne BAD de Koun-Fao. Recevez à travers ce travail nos sincères remerciements et notre profond respect.

Dieu vous bénisse !

A Madame le Docteur TRAORE COULIBALY

Merci pour votre compréhension, si j'ai pu terminer ce travail aujourd'hui c'est en partie grâce à vous.

Puisse le Seigneur vous bénir davantage.

A TOUS CEUX QUI M'ONT SOUTENU DE PRES OU DE LOIN AU COURS DE TOUTES CES ANNEES D'ETUDES.

Merci à toutes et à tous, DIEU vous bénisse abondamment dans toutes vos entreprises.

REMERCIEMENTS

Nos remerciements vont à l'endroit de toutes les personnes, qui ont apporté un soutien à ce travail. Il s'agit, en particulier de :

- Professeur N'guessan-Irié pour l'encadrement et son soutien à la réalisation de ce travail;
- Docteur Kouakou Landry, du laboratoire de Pharmacologie, pour son aide, sa disponibilité et tous ses conseils.
- Docteur Djatchi Richmond, du laboratoire de Bactériologie-Virologie, pour son importante contribution à la réalisation de ce travail.
- Docteur Adepo, pour la récolte de l'espèce végétale et ses conseils.
- Le personnel des laboratoires de Pharmacologie et de Bactériologie-Virologie, en particulier Monsieur Clément et Monsieur Sacré pour leur disponibilité.

A NOS MAÎTRES ET JUGES

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY

Monsieur le Professeur YAVO WILLIAM

- *Professeur Titulaire de Parasitologie-Mycologie à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan au Département de Parasitologie-Mycologie*
- *Docteur en pharmacie diplômé de l'université de Cocody*
- *Titulaire d'une maîtrise en Santé Publique*
- *Titulaire d'un Doctorat unique de Biologie Humaine et Tropicale, option Parasitologie*
- *Biologiste des hôpitaux (CES de Parasitologie-Mycologie, de Biochimie clinique et Hématologie)*
- *Pharmacien-biologiste au laboratoire de Microbiologie de l'INSP d'Adjamé*
- *Chef du Centre de Recherche et de Lutte contre le Paludisme de l'INSP*
- *Sous-directeur de la formation et de la recherche à l'INSP*
- *Ancien interne des hôpitaux de Côte d'Ivoire (Lauréat du Concours d'Internat de 1997),*
- *Membre titulaire de la Société de Pathologie Exotique (France)*
- *Vice-Président de la Société Africaine de Recherche et de Contrôle de la résistance aux antimicrobiens*
- *Membre de la Société Africaine de Parasitologie*
- *Vice-Président de la Société Ivoirienne de Parasitologie et de Mycologie.*

Cher Maître,

Vous n'avez pas hésité à accepter de juger cette thèse malgré vos occupations. Votre simplicité et vos compétences suscitent la grande admiration et le profond respect que vous portent tous ceux qui vous approchent.

Veillez trouver ici l'expression de nos sincères remerciements pour votre contribution à la réussite de ce travail

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE

Madame le Professeur N'GUESSAN-IRIE Geneviève

- *Maître de Conférences Agrégé en Pharmacologie ;*
- *Enseignante-Chercheuse en Pharmacologie à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY*
- *Docteur de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY en Pharmacologie*
- *DES de Pharmaco-thérapeutique*
- *DEA de Physiologie Animale*
- *CES de Parasitologie*
- *CES d'Immunologie*
- *CES d'Hématologie-Biologie*
- *Pharmacien au Service de Pharmacie, Centre Hospitalier Universitaire de Cocody Abidjan ;*
- *Vice Doyenne chargée de la pédagogie de l'UFR SPB*
- *Ancien Interne des Hôpitaux d'Abidjan ;*
- *Membre de la SOPHACI (Société Pharmaceutique de Côte d'Ivoire) ;*
- *Membre de la SOPHATOX-Burkina (Société de Pharmacologie et de Toxicologie du Burkina) ;*
- *Membre de la SFE (Société Française d'Ethnopharmacologie).*

Cher Maître,

Votre humilité, votre intégrité, votre goût du travail bien fait et votre haute valeur intellectuelle nous ont toujours fascinés, faisant de vous un modèle.

Votre disponibilité et votre sympathie à notre égard nous honorent et nous rendent encore plus fier d'être l'un de vos disciples.

Recevez ici l'expression de notre éternelle reconnaissance et de nos sincères remerciements.

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Monsieur le Professeur NANGA YESSE ZINZENDORF

- *Professeur Agrégé à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan au Département de Microbiologie (Université Félix Houphouët-Boigny) ;*
- *Colonel major des Armées ;*
- *Docteur en Pharmacie (Université Félix Houphouët-Boigny) ;*
- *Diplômé de l'Institut Pasteur de Paris ;*
- *Docteur des Universités de Reims ;*
- *Pharmacien Biologiste au LNSP ;*
- *Pharmacien-Chef de la Gendarmerie Nationale ;*
- *Chef de service au laboratoire d'analyse de l'HMA ;*
- *Secrétaire permanent de la commission pour l'interdiction des armes chimiques en Côte d'Ivoire ;*
- *Coordonateur national du Warmpool ;*
- *Membre de l'ORMICI,*

Cher Maître,

Vos qualités pédagogiques et humaines forcent notre admiration. Nous avons voulu ce travail empreint de votre esprit critique.

Nous n'avons pas trouvé meilleure occasion pour vous exprimer notre grand respect et notre admiration profonde.

Que Dieu vous bénisse

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Monsieur le DOCTEUR EFFO ETIENNE

- *PHARMACIEN Enseignant chercheur*
- *Maitre-Assistant de Pharmacologie à L'UFR SPB/UFHB*
- *Ancien interne des hôpitaux*
- *DEA de Pharmacologie*
- *DES de Pharmacologie*
- *Docteur d'Université en Pharmacologie*
- *Membre de la SOPHACI*
- *Membre de la société ivoirienne de Pharmacologie*

Cher Maître,

C'est pour nous un grand honneur que vous acceptez de siéger parmi cet honorable jury. Nous avons toujours admiré vos qualités humaines et professionnelles ainsi que votre modestie qui reste exemplaire.

Qu'il nous soit permis de vous exprimer notre reconnaissance et notre grand estime.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE : GENERALITES	4
I. DICHROSTACHYS CINEREA (FABACEAE)	5
I.1 Description de la plante	6
I.2 Répartition géographique	7
I.3 Usages traditionnels	7
I.4 Composition chimique	7
I.5 Etudes pharmacologiques	8
II. BACTERIES ETUDIEES	8
II.1 <i>Bacillus sp</i>	8
II.2 <i>Escherichia coli</i>	8
II.3 <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	9
II.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	10
III. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE IN VITRO	12
III.1 Mécanismes d'action des antibiotiques	12
III.2 Croissance bactérienne en présence d'antibiotiques	17
III.3 Facteurs influençant l'activité <i>in vitro</i> des antibiotiques	19
III.4 Méthodes d'études	20
III.4.1 Méthode par diffusion en milieu gélosé	20
III.4.2 Méthode par dilution	22
III.4.3 E-test	23
DEUXIEME PARTIE : ETUDES EXPERIMENTALES	24
I. OBJECTIFS	25
I.1 Objectif général	26
I.2 Objectifs spécifiques	25

II. CADRE ET TYPE D'ETUDE	26
II.1 Cadre de l'étude	26
II.2 Type et durée de l'étude	26
III. MATERIEL ET METHODES	26
III.1 Matériel	26
III.1.1 Support biologique	26
III.1.2 Matériel végétal	27
III.1.3 Matériel d'extraction	27
III.1.4 Matériel des tests bactériologiques	27
III.2 Méthodes	29
III.2.1 Préparation de l'extrait végétal	29
III.2.1.1 Obtention de la drogue végétale.....	29
III.2.1.2 Extraction aqueuse	30
III.2.2 Tests d'activité antimicrobienne	32
III.2.2.1 Culture des souches bactériennes	32
III.2.2.2 Préparation de l'inoculum	32
III.2.2.3 Numération de l'inoculum	33
III.2.2.4 Préparation des solutions mères ..	34
III.2.2.5 Gamme de concentrations	34
III.2.2.6 Antibiogramme.....	37
III.2.2.7 Inoculation des microplaques.....	39
III.2.2.8 Détermination de la concentration minimale inhibitrice(CMI)	39
III.2.2.9 Détermination de la concentration minimale Bactéricide(CMB)	39
IV. RESULTATS	40
IV.1 Préparation de la drogue végétale	40
IV.2 Rendements	40
IV.3 Préparation des solutions tests	40

IV.4 Etude d'activité antibactérienne	41
IV.4.1 Resultat du test de stérilité de l'extrait.....	41
IV.4.2 Sensibilité des bactéries à l'extrait aqueux	42
IV.4.3 Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides.....	43
V.DISCUSSION.....	44
CONCLUSION.....	48
REFERENCES	51
ANNEXES	58

SIGLES, ACRONYMES ET ABREVIATIONS

% : Pourcentage

°C : Degré Celsius

μl : Microlitre

μm : Micromètre

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

ARNm : Acide ribonucléique messenger

ARNr : Acide ribonucléique ribosomale

ATCC : American Type Culture Collection

BEA : Bile Esculine Azide

Ca⁺⁺ : Ion calcium

CeDReS : Centre de Diagnostic et de Recherche sur le Sida et les maladies opportunistes

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CI50 : Concentration inhibitrice 50

CI90 : Concentration inhibitrice 90

CMB : Concentration minimale bactéricide

CMI : Concentration minimale inhibitrice

DHF : Acide dihydrofolique

DO : Densité optique

EMB : Eosine bleu de méthylène

g : Gramme

h	: Heure
H₂O	: Eau
HAS	: Haute Autorité de Santé
IST	: Infection sexuellement transmissible
l	: Litre
Mg⁺⁺	: Ion magnésium
MH	: Mueller-Hinton
ml	: Millilitre
mm	: Millimètre
Nacl	: Chlorure de sodium
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
PAB	: Acide para-amino benzoïque
pH	: Potentiel hydrogène
PLP	: Protéines liant les pénicillines
PSM	: Poste de Sécurité Microbiologique
s	: Svedberg
THF	: Acide tétrahydrofolique
UV	: Ultraviolet

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : <i>Dichrostachys cinerea</i> (L.) Wight et Arn. (Fabaceae)	5
Figure 2 : schéma synoptique de l'extraction aqueuse à froid.....	31
Figure 3 : inoculum bactérien.....	33
Figure 4 : protocole de préparation de la suspension de céfixime.....	34
Figure 5 : solutions d'extrait de <i>D. cinerea</i> à différentes concentrations	35
Figure 6 : Disques de papier buvard imprégné de l'extrait.....	36
Figure 7 : Microplaque après inoculation.....	38
Figure 8 : Incubation dans une atmosphère humide.....	38
Figure 9 : écorce de racines pulvérisée de <i>D.cinerea</i>	40
Figure 10 : disques imprégnés d'extrait aqueux stérilisé et non stérilisé.....	41

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : perte à la dessiccation et rendement d'extraction	40
Tableau II : Activité de l'extrait aqueux de l'écorce de racines de <i>D.cinerea</i> sur les bactéries étudiées	42
Tableau III : effet de l'extrait aqueux sur la croissance bactérienne.....	43

INTRODUCTION

A travers le monde et particulièrement en Afrique, les populations manifestent un grand intérêt pour les plantes médicinales du fait de leur faible coût de traitement et de leur accessibilité géographique aisée (**Sahli *et al*, 2010**). La médecine traditionnelle soulage plus de 70% des populations du tiers-monde (**Malaisse, 1992**) et 80% des populations africaines (**OMS, 2010**).

En raison du coût très souvent élevé des médicaments conventionnels, associé à l'augmentation de bactéries multirésistantes, on note un regain d'intérêt pour les médicaments de la médecine traditionnelle africaine (**Kaboré *et al*, 1997 ; Akoua *et al*, 2004 ; Guillemot *et al*, 2004**).

Aussi, les difficultés de déplacement et l'insuffisance du personnel qualifié pourraient-elles expliquer le fait que la plupart des populations n'aient pas d'autres choix que celui de la médecine traditionnelle pour traiter les maladies courantes (**Bayes, 1997**).

Face à ces problèmes d'ordre financier et culturels, de ressources humaines et de résistance bactérienne aux antibiotiques conventionnels, il est indispensable de rechercher de nouvelles substances bioactives issues de la Pharmacopée Traditionnelle, à la fois efficaces, à large spectre d'action et à faible coût.

C'est ainsi que certaines espèces végétales telles que *Dichrostachys cinerea* (L.) Wight et Arn. (Fabaceae), communément appelée mimosa clochette, sont utilisées dans les régions du Sahel pour le traitement des furonculoses, des eczémas et des plaies (**Maydell, 1990**). Les extraits de feuilles de cette plante sont actifs sur des souches bactériennes dont *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* et *Pseudomonas aeruginosa* selon les travaux de **Sinon (2001)**.

Par ailleurs, plus récemment en Côte d'Ivoire, les travaux de **Irié-N'guessan *et al* (2011)**, ont montré l'effet relaxant des extraits bruts de polarité différentes d'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea* sur la trachée de souris isolée et

pré-contractée par le carbachol, ce qui justifierait l'usage de cette partie de la plante dans le traitement du bronchospasme au cours de l'asthme. Cependant, l'asthme est une maladie inflammatoire chronique des bronches et est souvent accompagné de surinfections bactériennes. C'est un facteur de risque des maladies invasives à *Streptococcus pneumoniae*, de ce fait plus courantes chez les personnes asthmatiques (Talbot *et al*, 2005). De plus des espèces bactériennes, notamment *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* et *Chlamydia pneumoniae*, ont été identifiées dans les sécrétions bronchiques lors d'exacerbations d'asthme (Johnston *et al*, 2005 ; Bezerra *et al*, 2011).

L'usage traditionnel de l'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea* préconise la trituration de cette drogue végétale dans de l'eau aux fins d'instillations nasales. En outre, l'eau est un solvant très usuel en médecine traditionnelle. Notre étude s'est donc proposée d'évaluer l'activité antibactérienne d'un extrait aqueux de l'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea* sur des germes responsables des surinfections au cours de l'asthme en vue d'une possible extension de son usage comme agent anti-infectieux.

Pour une meilleure compréhension de notre travail, la rédaction s'articulera autour du plan suivant :

- La première partie sera consacrée aux généralités sur *Dichrostachys cinerea*, les bactéries étudiées et les antibiotiques.
- La seconde partie, réservée à l'étude expérimentale, abordera le cadre et le type d'étude, puis le matériel et les méthodes utilisées. Après avoir présenté les résultats ainsi que la discussion qui en découle, nous conclurons l'étude non sans évoquer des perspectives.

PREMIERE PARTIE : GENERALITES

I. DICHROSTACHYS CINEREA (FABACEA)

L'image ci-dessous nous montre une branche de *D.cinérea*



Figure 1 : *Dichrostachys cinerea* (L.) Wight et Arn. (Fabaceae) (Source : Centre National de Floristique d'Abidjan)

I.1 Description de la plante

Précédemment appelée *Dichrostachys glomerata* Keay, la place de cette espèce dans la taxonomie est la suivante :

Règne :	Végétal
Embranchement :	Spermatophytes
Sous-embranchement :	Angiosperme
Classe :	Dicotylédones
Sous-classe :	Dialypétales
Ordre :	Leguminosea
Famille :	Fabaceae
Sous-famille :	Mimosoideae
Tribu :	Mimoseae
Genre :	<i>Dichrostachys</i>
Espèce :	<i>Cinerea</i>

Quelques noms vernaculaires de la plante, en Côte d'Ivoire, sont notamment : N'gbagbé Moto (Adioukrou) et gboro (Malinké).

C'est un arbuste épineux, dont les feuilles sont bipennées, avec 10 paires de pennes opposées, une glande entre chaque paire. Les feuilles comportent de nombreuses folioles linéaires, de taille variable (environ 8 mm de long, et 2,5 mm de large), et légèrement pubescentes. Le rachis est pubescent, et on note des épines axillaires. Les inflorescences sont spiciformes à 2 couleurs (jaune et violette) de fleurs odorantes.

I.2 Répartition géographique

Il s'agit d'une espèce de savane, formant parfois des fourrés broussailleux, et répandue du Sénégal au Nigeria. En Côte d'Ivoire, elle est présente dans toutes les savanes, depuis celles de la zone pré lagunaire jusqu'à celles du nord.

I.3 Usages traditionnels

En Côte d'Ivoire, les Adioukrous (peuple du sud) utilisent l'écorce des racines triturée avec un peu d'eau et administrée en instillations nasales pour traiter l'asthme (**Adjanohoun et Aké-Assi, 1979**).

Les Malinkés (peuple du nord) emploient la décoction des racines pour faire des bains de bouches dans les cas des caries dentaires. Pour cicatriser les plaies (en particulier les plaies de la circoncision), les Malinkés calcinent l'écorce de tige et les feuilles, pilent le charbon obtenu et ajoutent de l'huile de palme, ce mélange est utilisé pour des applications locales. Ce peuple soulage les douleurs intercostales en buvant et en se lavant avec la décoction de l'écorce des tiges (**Adjonohoun et Aké Assi, 1979**).

I.4 Composition chimique

La littérature indique que la plante contient des tanins (**Banso et al, 2007 ; Irié-N'guessan, 2013**), des composés triterpéniques (**Jain et al, 2003**), des dérivés flavonoïdes (**Jagadeeshwar et al, 2003 ; Irié-N'guessan, 2013**) et des dérivés méroterpéniques (**Long et al, 2009**). Il a été montré également la présence de saponosides et d'alcaloïdes dans l'écorce de racines (**Irié-N'guessan, 2013**), alcaloïdes dont la purification a révélé une structure de type pyrrolidine (**Dade et al, 2016**).

I.5 Etudes pharmacologiques

Des propriétés antibactériennes des extraits méthanoliques sur *Staphylococcus aureus*, *Shigella boydii*, *Shigella flexneri*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (**Banso et al, 2007**), anti-lithiasiques, et diurétiques (**Jayakumari et al, 2007**), ont été mises en évidence pour cette plante. Une étude a également montré une activité biphasique (contracturante, puis relaxante), d'un extrait méthanolique d'écorce de racines de *D. cinerea*, sur la trachée isolé de cobaye, dénotant ainsi des propriétés tantôt spasmogènes, tantôt antispasmodiques, de cette drogue végétale (**Aworset-Samseny et al, 2011**). **Irié-N'guessan et al, (2010)** ont quant à eux, montré des propriétés antispasmodiques sur la trachée de souris, favorables à un effet anti-asthmatique.

II. BACTERIES ETUDIEES

II.1 *Bacillus sp*

Le genre *Bacillus* appartient à la famille des Bacillaceae. Ce sont des bacilles à extrémités carrées ou arrondies, de taille variables (0,5 à 1,2 µm de diamètre et une longueur de 2,5 à 10 µm). La coloration de Gram est positive et ces bactéries sont capables de produire des endospores (forme de résistance et critère important sur le plan taxonomique du genre *Bacillus*). Ce sont des bactéries qui se cultivent en aérobiose (aéroanaérobie ou aérobie stricte), mobiles grâce à une ciliature péritriche sauf *Bacillus anthracis*. Elles possèdent une catalase très active et se cultivent facilement sur milieu ordinaire car ce ne sont pas des germes exigeants (**Garrity et al, 2004**).

II.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli a été isolé par Escherich en 1885. C'est l'espèce type du genre *Escherichia* qui appartient à la famille des Enterobacteriaceae. C'est un bacille à Gram négatif, assez grand (1-1,5 × 2-6 µm de diamètre), aéroanaéro facultatif, oxydase négatif, nitrate positif, et qui fermente le glucose (**Farmer et al, 2007**).

Les principaux caractères distincts d'*Escherichia coli* vis-à-vis des autres entérobactéries sont : la fermentation du lactose, la production d'une β -galactosidase, la production d'indole à partir du tryptophane, l'absence d'uréase et l'absence d'utilisation du citrate de Simmons comme source d'énergie et de carbone.

Concernant l'habitat, on trouve *Escherichia coli* en abondance dans la flore commensale, en particulier dans le tube digestif. Elle est très répandue dans l'environnement (eau, sols) et dans les aliments (**Baraduc et al, 2000**).

Chez l'Homme, la colonisation par *E. coli* est précoce et peut être responsable d'un nombre varié de pathologies. Trois types de syndromes majeurs résultent de l'infection par des souches de *E. coli* pathogènes, notamment les infections urinaires (*E. coli* est impliqué dans 80% des infections urinaires), les infections digestives (diarrhées, infection hépatobiliaires...), les méningites néonatales et septicémies (**Jaureguy, 2009**).

II.3 *Neisseria gonorrhoeae*

Neisseria gonorrhoeae ou gonocoque est un diplocoque encapsulé à Gram négatif, intracellulaire ou extracellulaire, aérobic strict, responsable d'infections sexuellement transmissibles. Cette bactérie, toujours pathogène, a pour hôte spécifique l'Homme, plus spécifiquement les muqueuses génitales, rectales et pharyngées. Elle survit moins d'une heure dans le milieu extérieur (**Céline, 2010**).

Son mode de transmission est strictement interhumain et s'effectue par contact direct lors des rapports sexuels (génital, buccal ou anal) à partir d'une personne infectée, symptomatique ou non. Le risque de transmission persiste en cas d'échec ou d'absence de traitement (**HAS, 2010**). Les infections oculaires sont rares, mais peuvent survenir après une infection génitale non traitée, par auto-inoculation chez l'adulte, ou par transmission au nouveau-né au moment de

l'accouchement par voie basse (conjonctivite néonatale). Sa durée d'incubation est courte : 2 à 5 jours. Le risque de contamination par transmission sexuelle après un contact infectant est plus important chez la femme (50 à 90%) que chez l'homme (environ 20%) (**Scrivener *et al*, 2001**).

II.4 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus appartient au genre *Staphylococcus* et à la famille des Micrococcaceae.

➤ Morphologie et habitat

Staphylococcus aureus est une cocci Gram positif de 0,8 à 1 µm de diamètre, le plus souvent en amas évoquant l'image de grappes de raisins. C'est un germe très répandu qui vit souvent à l'état commensal sur la peau et les muqueuses des organismes humain et animal.

➤ Caractères culturels

Staphylococcus aureus est un germe aérobie anaérobie facultatif, qui pousse facilement sur des milieux ordinaires à une température optimale de 37 °C et à un pH optimum de 7,5. Cependant, de grandes variations de pH sont tolérées.

En bouillon ordinaire, la culture est rapide. En quelques heures un trouble homogène, puis un dépôt, sont observés. Il n'y a pas de production de pigment en milieu liquide. Sur gélose ordinaire, les colonies sont lisses, rondes, bombées et leur diamètre est de 1 mm. La plupart des souches de *Staphylococcus aureus* produisent un pigment jaune doré ou jaune citron ; mais certaines donnent des colonies blanches (**Ferron, 1984 ; Potel G *et al*, 1990**).

➤ Caractères métaboliques et morphologiques

Staphylococcus aureus possède une catalase, mais pas d'oxydase. Il est actif sur les hydrates de carbones : le glucose est utilisé en anaérobie et aérobie, ainsi que le mannitol.

➤ Toxines et enzymes diffusibles

- Les toxines : on en distingue plusieurs types
 - ✓ Les hémolysines ;
 - ✓ Les leucocidines ;
 - ✓ L'exfoliantine ou épidermolysine : responsable du "syndrome de la peau ébouillantée" ;
 - ✓ Les entérotoxines staphylococciques : responsables des manifestations cliniques digestives ;
 - ✓ La toxine du syndrome du choc toxique : ce choc se manifeste par un début brutal avec une fièvre à 39 °C, une érythrodermie diffuse suivie d'une desquamation au niveau des paumes et des plantes, une hypotension artérielle avec un état de choc et des atteintes polyviscérales.
- Les enzymes

Elles diffusent dans l'organisme et participent au pouvoir pathogène. Ce sont :

- ✓ La coagulasse : de nature protéique, thermostable et faiblement antigénique. On distingue la coagulasse libre et la coagulasse liée ;
- ✓ La fibrinolyse ou staphylokinase : thermolabile et antigénique, elle est responsable de métastase septicopyohémique ;
- ✓ Les désoxyribonucléases : ce sont des enzymes capables d'hydrolyser l'ADN (Acide Désoxyribonucléique), rendant leur rôle essentiel dans la survenue des lésions tissulaires ;
- ✓ La hyaluronidase : elle hydrolyse l'acide hyaluronique ;

- ✓ Les bêta-lactamases : ce sont des enzymes qui confèrent à *Staphylococcus aureus* et à d'autres espèces bactériennes leurs résistances vis-à-vis des pénicillines et des céphalosporines. Elles hydrolysent le cycle bêta-lactame qui est le support d'activité des pénicillines et des céphalosporines.

➤ Pouvoir pathogène

Le pouvoir pathogène est élevé et est caractérisé essentiellement par des lésions suppuratives et nécrotiques : furonculose, anthrax, otite, rhinites, pharyngite, infection urinaire et septicémies.

III. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE IN VITRO

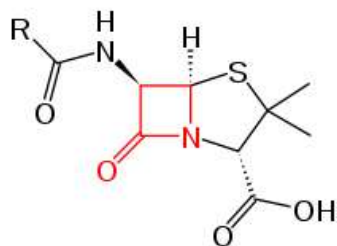
III.1 Mécanismes d'action des antibiotiques

➤ Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne

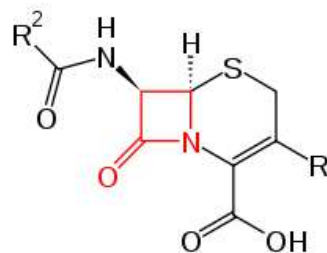
La paroi bactérienne est l'enveloppe externe qui confère à la bactérie sa forme. Elle protège la bactérie contre les agents extérieurs et la forte pression osmotique interne. La paroi bactérienne est constituée sur le plan chimique par un polymère particulier, le peptidoglycane. Les transpeptidases et les carboxypeptidases sont des enzymes nécessaires à la synthèse du peptidoglycane. Ces enzymes fixent les β lactamines, d'où leurs noms de Protéines Liant les Pénicillines (PLP) (Ducharme *et al*, 2001).

- β lactamines

Les β lactamines se fixent sur les PLP et inhibent la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane, substance glycopeptidique spécifique aux bactéries et qui constitue la paroi. Cette inhibition entraîne un arrêt de la croissance bactérienne (bactériostase). L'inhibition est poursuivie par une dégradation, de mécanisme mal connu et qui aboutit à une désorganisation et à la lyse de la bactérie (bactéricidie). (Ducharme *et al*, 2001).



Structure générale des pénicillines



Structure générale des céphalosporines

- Glycopeptides

Les glycopeptides inhibent la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane en contractant des liaisons hydrogène avec les précurseurs de ce dernier. Il en résulte un accès difficile pour les enzymes de transformation du précurseur et donc une inhibition de la synthèse du peptidoglycane. (**Ducharme *et al*, 2001**).

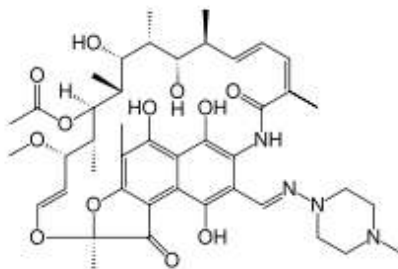
- Fosfomycine

La fosfomycine se lie de façon covalente et inhibe ainsi la pyruvyl-transférase, une enzyme impliquée dans la synthèse du précurseur du peptidoglycane. (**Ducharme *et al*, 2001**).

➤ Antibiotiques inhibant la synthèse ou le fonctionnement de l'ADN

- Rifampicine

L'effet bactériostatique de cet antibiotique s'explique par sa fixation covalente sur la sous-unité β de l'ARN polymérase ADN-dépendante, enzyme responsable de la transcription de l'ADN en ARN messager. L'effet bactéricide pourrait s'expliquer par la stabilité de cette liaison covalente et par la formation de radicaux libres (oxydation du noyau quinone de la rifampicine) toxiques pour l'ADN bactérien (**Ducharme *et al*, 2001**).



Structure de la rifampicine

- Quinolones

Les quinolones pénètrent dans le cytoplasme bactérien par diffusion passive et inhibent l'ADN gyrase en formant un complexe ternaire ADN-gyrase-quinolone. Il s'en suit une inhibition rapide de la synthèse de l'ADN et la mort de la bactérie (**Ducharme *et al*, 2001**).

- Sulfamides

Les sulfamides sont des analogues structuraux de l'acide para-amino-benzoïque (PAB) et, de ce fait, inhibent de façon compétitive la formation de l'acide dihydrofolique (DHF) qui est nécessaire à la synthèse de l'acide tétrahydrofolique (THF) indispensable aux bactéries (**Ducharme *et al*, 2001**). Les bactéries contrairement aux eucaryotes ne peuvent pas utiliser les folates exogènes et doivent par conséquent les synthétiser (à l'exception des entérocoques).

- Triméthoprine

Le triméthoprine est aussi un analogue structural de l'acide dihydrofolique. Il inhibe de façon compétitive la synthèse de l'acide tétrahydrofolique indispensable aux bactéries. (**Ducharme *et al*, 2001**).

- Nitro-imidazolés et nitrofuranes

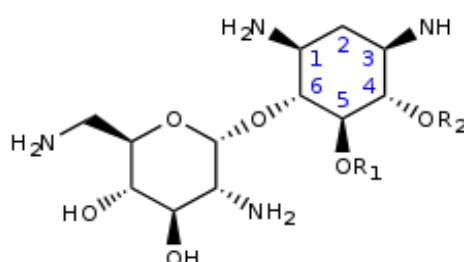
Les nitro-imidazolés et nitrofuranes ont leur groupement nitro (NO₂) réduit par les systèmes transporteurs intra-cytoplasmiques des bactéries sensibles. Les dérivés réduits diffusent vers l'ADN bactérien, puis par oxydation, provoquent des coupures des brins d'ADN, entraînant la mort de la bactérie. (**Ducharme *et al*, 2001**).

➤ Antibiotiques inhibant la synthèse protéique

La protéogenèse, traduction de l'ARN message (ARNm) en protéine, est réalisée par les ribosomes. Chaque ribosome est constitué de deux sous-unités représentant respectivement 2/3 et 1/3 de la masse globale. Les sous-unités sont constituées par des protéines et des ARN ribosomiaux (ARNr). Chaque sous-unité est caractérisée par son coefficient de sédimentation exprimé en Svedberg (s). Les bactéries possèdent des ribosomes dont les grandes sous-unités et les petites sous-unités ont des coefficients de sédimentation respectifs de 50s et 30s. (**Ducharme *et al*, 2001**).

- Aminosides

Les aminosides traversent la membrane des bactéries par transport actif, puis se fixent sur l'ARNr 16s, l'un des constituants de la sous-unité 30s. Cette fixation altère la traduction de l'ARNm en protéine aboutissant à des protéines anormales et réduites en nombre. Les protéines anormales sont intégrées dans la membrane cytoplasmique qui perd ainsi son intégrité. Ce phénomène confère aux aminosides un effet bactéricide puissant et rapide (**Ducharme *et al*, 2001**).



Structure générale des aminosides

- Cyclines

Les cyclines se fixent sur les sous-unités ribosomales 30s et inhibent ainsi la phase d'élongation de la traduction de l'ARNm en protéines (**Ducharme *et al*, 2001**).

- Macrolides et apparentés

Les macrolides et apparentés se fixent sur la sous-unité 50s au niveau de l'ARNr 23s entraînant ainsi une inhibition de la phase d'élongation de la synthèse protéique (**Ducharme *et al*, 2001**).

- Phénicolés

Les phénicolés et apparentés se fixent sur la sous-unité 50s au niveau de l'ARNr 23s entraînant ainsi une inhibition de la phase d'élongation de la synthèse protéique (**Ducharme *et al*, 2001**).

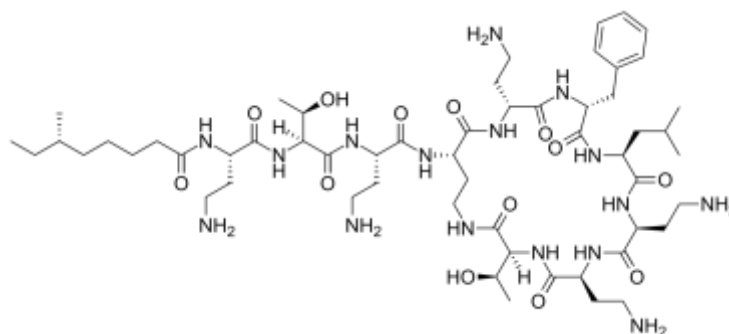
- Acide fusidique

Le mécanisme d'action de cet antibiotique est mal connu. Il serait le fait d'un blocage de la phase d'élongation de la synthèse protéique. (**Ducharme *et al*, 2001**).

- Antibiotiques actifs sur les membranes bactériennes

- Polypeptides

Les polypeptides se fixent sur la membrane externe de la bactérie, puis sur la membrane cytoplasmique, ce qui provoque une désorganisation de ses structures et entraîne la mort du micro-organisme (**Ducharme *et al*, 2001**).



Structure de la polymyxine B

III.2 Croissance bactérienne en présence d'antibiotiques

Les concentrations d'antibiotiques qui affectent la croissance bactérienne en milieu de culture sont dites bactériostatiques. A un temps donné et pour une concentration définie d'antibiotique, l'effet bactériostatique est caractérisé par un nombre de bactéries inférieur à celui d'une culture témoin sans antibiotique et, au mieux égal au nombre de bactéries inoculées. Ceci peut être le résultat soit d'une diminution du nombre des divisions des bactéries sans altération de leur vitalité, soit d'un équilibre entre la croissance et la mort des bactéries (**Le Minor et Veron, 1989**).

Lorsque les bactéries viables évoluent en deçà de l'inoculum initial, l'effet de l'antibiotique est dit bactéricide.

III.2.1 Bactériostase

L'étude de la croissance des bactéries en fonction des concentrations d'antibiotiques permet d'analyser les phénomènes d'inhibition et de définir les concentrations (points limites) représentatives de l'activité antibiotique. (**Le Minor et Veron, 1989**).

➤ Analyse du phénomène d'inhibition

L'inhibition de la croissance bactérienne serait le résultat de deux phénomènes contraires : certains micro-organismes peuvent être inhibés ou tués à une concentration donnée, tandis que les autres continuent de se multiplier et ne seront inhibés ou tués qu'à une concentration supérieure. L'effet global observé ne serait que la résultante d'un phénomène de naissance-mort. **(Le Minor et Veron, 1989).**

➤ Définition des points limites

- La concentration inhibitrice 50 (CI₅₀) est la concentration d'antibiotique qui inhibe 50% des individus de la population bactérienne étudiée ;
- La concentration inhibitrice 90 (CI₉₀) est la concentration qui inhibe 90% des individus par rapport au témoin sans antibiotique ;

La CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) est la plus faible concentration d'antibiotique qui inhibe toute croissance visible après un temps d'incubation de 18 à 24 h. C'est le point limite inversement utilisé pour caractériser l'activité d'un antibiotique. On emploie, pour sa détermination, des dilutions d'antibiotiques de raison 2. **(Le Minor et Veron, 1989).**

III.2.2 Bactéricidie

On parle d'effet bactéricide d'un antibiotique à un temps donné, lorsque le nombre de bactéries viables est inférieur à celui de l'inoculum. Le délai de l'effet bactéricide d'un antiseptique est plus court que celui d'un antibiotique : il se manifeste en quelques heures alors qu'il suffit de quelques minutes pour un antiseptique. Les cinétiques de bactéricidie présentent deux aspects principaux :

- Elles peuvent être identiques dans le temps pour des concentrations variables d'antibiotique, on parle alors d'effet bactéricide temps-dépendant ;
- Elles peuvent varier en fonction du temps avec la concentration étudiée d'antibiotique, il s'agit d'un effet bactéricide dose-dépendant.

Par analogie avec la CMI, on définit une concentration minimale bactéricide (CMB). La CMB est la concentration d'antibiotique permettant d'obtenir, après 18 heures de contact, un taux de micro-organismes survivants inférieur ou égal à 0,01% de l'inoculum (soit 1 bactérie pour 10 000 ensemencées). (Le Minor et Veron, 1989).

III.3 Facteurs influençant l'activité *in vitro* des antibiotiques

➤ La densité de l'inoculum

Lorsque l'inoculum est très dense, on accroît les chances d'augmenter la valeur de la CMI (Le Minor et Veron, 1989).

➤ La nature du milieu de culture

- Le pH du milieu peut influencer l'activité antibiotique. Les β -lactamines (sauf la pénicilline G) et les tétracyclines sont plus actives en milieu acide, alors que les aminosides et les macrolides sont plus actifs en milieu alcalin.
- La concentration en cations divalents, Ca^{++} et Mg^{++} en particulier, affecte l'activité des aminosides et des tétracyclines. Les concentrations élevées en cations divalents diminuent la fixation des aminosides sur des sites anioniques de la membrane externe et empêchent leur pénétration. Les faibles concentrations peuvent au contraire augmenter leur perméabilité et donner une fausse sensibilité.
- Une teneur élevée en chlorure de sodium (NaCl) diminue l'activité des aminosides. (Le Minor et Veron, 1989).

➤ L'atmosphère d'incubation

Une atmosphère d'incubation enrichie en CO₂ diminue le pH du milieu et peut modifier l'activité de certains antibiotiques. (**Le Minor et Veron, 1989**).

➤ La durée d'incubation

La durée d'incubation est également un facteur de variabilité des CMI. Une lecture après 16 à 18 h d'incubation à 37 °C donne les résultats les plus reproductibles.

Le milieu de culture Mueller Hinton constitue le milieu universellement utilisé pour déterminer l'activité *in vitro* des antibiotiques. (**Le Minor et Veron, 1989**).

III.4 Méthodes d'études

III.4.1 Méthode par diffusion en milieu gélosé

➤ Méthode par diffusion en milieu gélosé

A partir d'une source quelconque (dépôt en surface ou dans un puits d'un disque de papier buvard pré-imprégné), un antibiotique diffusera dans un milieu de culture gélosé en réalisant un gradient de concentration (**Vandepitte *et al*, 1994 ; Ducharme et Martineau, 2001**). Après une phase de latence durant laquelle la diffusion de l'antibiotique progresse, la multiplication des bactéries va se produire. Une compétition s'installe alors entre la diffusion de l'antibiotique à partir de la source et la croissance des bactéries. La dimension de la zone d'inhibition sera déterminée par la distance que la concentration inhibitrice d'antibiotique pourra parcourir avant que soit atteinte une certaine densité microbienne. L'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé est un procédé largement répandu du fait de sa simplicité. Cependant la qualité des résultats peut varier en fonction de plusieurs paramètres qu'il importe de maîtriser par une standardisation des méthodes.

➤ Facteurs influençant la dimension de la zone d'inhibition

- Densité de l'inoculum

Si l'inoculum est trop petit, les zones d'inhibition seront plus étendues, bien que la sensibilité du germe ne soit pas modifiée. Des souches relativement résistantes peuvent alors être considérées comme sensibles. A l'inverse si l'inoculum est trop important, la zone d'inhibition sera réduite et des souches sensibles peuvent alors être considérées comme résistantes.

- Minutage de l'application des disques

Si les boîtes de Pétri, après avoir étéensemencées avec la souche à tester, sont laissées à température ambiante pendant longtemps qu'il n'est recommandé, la multiplication de l'inoculum peut avoir lieu avant l'application des disques. Cela entraîne une diminution du diamètre de la zone d'inhibition et peut induire une fausse résistance (une souche sensible sera considérée résistante).

- Température d'incubation

Les tests de sensibilité sont normalement réalisés à 35 °C pour obtenir une croissance maximale. Si l'on baisse la température, la durée nécessaire pour obtenir la croissance s'allonge et il en résulte des zones plus grandes.

- Durée d'incubation

La plupart des techniques requièrent une durée d'incubation située entre 16 et 18 heures. Cependant en cas d'urgence un rapport provisoire peut être établi au bout de 6 heures.

- Profondeur de la gélose et espacement des disques imprégnés d'antibiotique

Des zones d'inhibition excessivement importantes peuvent se former sur des milieux trop fins et inversement. Des variations mineures de la profondeur de la

gélose ont un effet négligeable. La profondeur doit être d'environ 4 mm soit environ 25 ml de milieu pour une boîte Pétri d'environ 90 mm. Un espacement correct des disques est indispensable pour éviter un chevauchement des zones d'inhibition ou leur déformation près du bord de la boîte. Sur une boîte de Pétri de 90 à 100 mm, peuvent être disposés au maximum sept disques. L'on dispose six disques à intervalles réguliers tout autour de la boîte à environ 15 mm du bord et le dernier au centre.

- Activité des disques imprégnés d'antibiotique

Le diamètre de la zone d'inhibition est lié à la quantité de substance active présente dans le disque.

- Composition du milieu de culture

Le milieu de culture influe sur la taille de la zone d'inhibition par son effet sur la vitesse de croissance du germe, la vitesse de diffusion de l'antibiotique et l'activité de l'agent utilisé.

III.4.2 Méthodes par dilution

Selon plusieurs auteurs (**Le Minor et Veron, 1989 ; Vandepitte *et al*, 1994 ; Alzoreky et Nakahara, 2003 ; Zampini *et al*, 2005 ; Berahou *et al*, 2007**), les méthodes par dilution permettent une meilleure estimation quantitative de l'activité antibiotique.

➤ Dilution en milieu gélosé

La méthode de dilution en milieu gélosé Mueller Hinton nécessite l'incorporation de chaque concentration d'antibiotique dans le milieu liquéfié de manière à avoir une dilution au dixième de l'antibiotique dans la gélose. La CMI est définie par la concentration minimale d'antibiotique ne laissant subsister aucune, ou au plus, une à trois colonies après 18 heures d'incubation à 37 °C.

➤ Dilution en milieu liquide (bouillon)

Les méthodes de dilution en milieu liquide (bouillon Mueller Hinton) sont réalisées dans des tubes (macrométhode) ou sur des plaques de microtitration (microméthode). Les microméthodes sont plus adaptées à la pratique de l'antibiogramme grâce à une automatisation de la préparation des dilutions d'antibiotiques et de la lecture des CMI.

III.4.3 E-test

Le E-test tire profit des avantages du test par diffusion (rapidité et simplicité) et du test par dilution (obtention d'une valeur quantitative de la sensibilité). Des languettes, contenant chacune un antibiotique, sont disposées sur le milieu de culture. La graduation des languettes permet d'indiquer la CMI de l'antibiotique pour la bactérie étudiée (**Ducharme et Martineau, 2001**).

DEUXIEME PARTIE : ETUDES EXPERIMENTALES

I. OBJECTIFS

I.1 Objectif général

L'objectif général de ce travail était de déterminer l'activité de l'extrait aqueux de l'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea* sur cinq(5) souches bactériennes (*Bacillus sp* ; *Escherichia coli* ; *Staphylococcus aureus* ; *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterococcus faecalis*).

I.2 Objectifs spécifiques

Pour atteindre l'objectif général, nous nous sommes fixé les objectifs spécifiques suivants :

- Préparer un extrait aqueux de l'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea* ;
- Déterminer les concentrations minimales inhibitrices et bactéricides de l'extrait sur les germes sélectionnés ;
- Comparer l'activité de l'extrait aqueux à celle du céfixime, une céphalosporine de 3^{ème} génération de référence.

II. CADRE ET TYPE D'ETUDE

II.1 Cadre de l'étude

Notre étude s'est déroulée à Abidjan (Côte d'Ivoire) au sein de 2 laboratoires de l'Unité de Formation et de Recherche en Sciences Pharmaceutiques et Biologiques (UFR SPB) de l'Université Félix Houphouët-Boigny, à savoir :

- Le laboratoire de Pharmacologie.
- Le laboratoire de Bactériologie -Virologie.

II.2 Type et durée de l'étude

L'étude, de type expérimental, d'une durée de 12 mois s'est déroulée d'août 2017 à juillet 2018.

III. MATERIEL ET METHODES

III.1 Matériel

III.1.1 Support biologique

Nous avons utilisé des souches hospitalières isolées de produits pathologiques et d'autres souches non hospitalières du Centre de Diagnostic et de Recherche sur le Sida et les maladies opportunistes. Ainsi, cinq (5) espèces bactériennes ont été testées, à savoir :

- *Bacillus sp*
- *Escherichia coli*
- *Staphylococcus aureus*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Enterococcus faecalis*.

III.1.2 Matériel végétal

La drogue végétale était constituée par l'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea*. Les racines de la plante ont été récoltées le 15 avril 2017 dans des buissons du sud-est de la Côte d'Ivoire, près de Grand-Bassam. Les plantes ont été identifiées par un taxonomiste au Centre National de Floristique d'Abidjan (Côte d'Ivoire), en comparaison avec les spécimens des herbiers du Centre (*Dichrostachys cinerea* (L.) Wight & Arn., Adjanohoun E. et Aké Assi L. 29, forêt du Banco, Côte d'Ivoire 20 mars 1972).

III.1.3 Matériel d'extraction

Ce matériel était constitué de :

- Broyeuse (RETSCH type GM300, Allemagne)
- Balance de précision (OHAUS AX523/E, Suisse)
- Balance de précision (DENVER INSTRUMENT SI-602, USA)
- Filtre à usage unique diamètre 400 mm (DUMAS, France)
- Agitateur magnétique (IBX INSTRUMENT S03, France)
- Barreaux aimantés (ESTUCHE N°170-7, Espagne)
- Verrerie (LAB-BOX, France)
- Réfrigérateur-congélateur (LIEBHERR, Allemagne)
- Lyophilisateur (CHRIST ALPHA 1-2 LD PLUS, Allemagne)
- Papier aluminium, film de paraffine

III.1.4 Matériel des tests bactériologiques

➤ Milieux de culture :

Différents milieux de culture ont été utilisés pour les souches à tester, à savoir :

- Gélose Chapman (BIO-RAD, France) pour *Staphylococcus aureus*
- Gélose Eosine Bleu de Méthylène (BIOKAR DIAGNOSTICS, France) pour *Escherichia coli*

- Gélose nutritive (BIO-RAD, France) pour *Bacillus sp*
- Gélose cétrimide (BIO-RAD, France) pour *Pseudomonas aeruginosa*
- Gélose Bile Esculine Azide (BIO-RAD, France) pour *Enterococcus faecalis*
- Gélose Mueller Hinton (BIO-RAD, France)
- Bouillon Mueller Hinton (LABORATOIRES HIMEDIA, Inde).

Les milieux gélose et bouillon Mueller Hinton ont été utilisés pour la détermination de l'activité antimicrobienne et la CMI en microplaque.

La composition de la Gélose Mueller Hinton se présentait comme suit :

- Infusion de viande de bœuf : 2 g/l
- Hydrolysat acide de caséine : 17,5 g/l
- Amidon soluble : 1,5 g/l
- Agar-agar bactériologique

Le pH du milieu prêt à l'emploi à 25 °C était $7,4 \pm 0,2$.

Préparation du milieu

Nous avons mis en suspension 38 g de milieu hydraté dans un litre d'eau distillée, puis porté l'ensemble à ébullition lentement en agitant jusqu'à dissolution complète. Enfin, le milieu a été stérilisé à l'autoclave à 120 °C pendant 20 minutes (**Duvart et Soussy, 1980**).

➤ Matériel de laboratoire

Nous avons utilisé le matériel suivant :

- Disques de papier buvard stériles (PRATDUMAS, France)
- Disques d'antibiotiques du commerce (BIO-RAD, France)
- Boîtes de Pétri (MONOLAB S.N.C, Italie)
- Tubes à essai stériles (LAB-BOX, France)
- Tubes à hémolyse stériles (LAB-BOX, France)
- Microplaques (DELTALAB, Espagne)

- Ecouvillons (LAB-BOX, France)
- Pipettes Pasteur stériles (LAB-BOX, France)
- Ensemenceur plastique stérile calibré de 10µl (LAB-BOX, France)
- Ensemenceur plastique stérile calibré de 1µl (LAB-BOX, France)
- Pincés (LAB-BOX, France)
- Micropipettes (P20, P200, P1000) (GILSON, France)
- Embouts (jaune et bleu) pour micropipette (SSIBIO, USA)
- Film de paraffine (BEMIS, USA)
- Erlenmeyer et bécher (LAB-BOX LBG 3.3, France)
- Densimètre (Densimat[®], BioMérieux, France)
- Agitateur Vortex (ZX3, France)
- Balance (OHAUS CORPORATION, USA)
- Hotte à flux laminaire (PSM type 2, BIOBAN 48, Italie).

Il est indispensable de travailler dans des conditions d'asepsie pour éviter toutes contaminations ou interactions avec des bactéries autres que celles à l'étude. Ainsi, une hotte à flux laminaire ou poste de sécurité microbiologique (PSM) a garanti l'asepsie des manipulations.

III.2 Méthodes

III.2.1 Préparation de l'extrait végétal

III.2.1.1 Obtention de la drogue végétale

Les écorces ont été prélevées des racines, puis lavées à l'eau distillée, et séchées sous air conditionné (18 °C) sur les paillasses du laboratoire de Pharmacologie de l'UFR SPB de l'Université Félix Houphouët-Boigny, pendant deux semaines.

La différence entre les poids frais et sec de l'écorce de racines rapportée au poids frais a fourni la perte à la dessiccation.

$$\text{Perte à la dessiccation} = \frac{\text{Poids frais} - \text{Poids sec}}{\text{Poids frais}} \times 100$$

Les écorces sèches obtenues ont été broyées (Broyeuse Retsch type GM 300) pour obtenir une poudre qui a été conservée dans des bocaux en plastique.

III.2.1.2 Extraction aqueuse

Il s'est agi d'une extraction douce, à froid, avec de l'eau distillée.

➤ Protocole d'extraction

Nous avons pesé 150 g de poudre de la drogue végétale dans un erlenmeyer d'une capacité de 2,5 l. A l'aide d'un entonnoir en verre nous avons mis la poudre dans un ballon en verre, puis ajouté 1,5 l d'eau distillée. Après avoir introduit les barres aimantées et couvert le ballon avec du papier aluminium pour éviter la perte d'éventuels composés photolabiles, la suspension a été portée sur un agitateur magnétique à froid pendant 24 heures. Le filtrat, obtenu après décantation passive et filtration sur coton puis sur papier filtre, a été lyophilisé. L'extrait lyophilisé ainsi obtenu a été mis dans un récipient en verre recouvert de film de paraffine et conservé au réfrigérateur à 7-8.

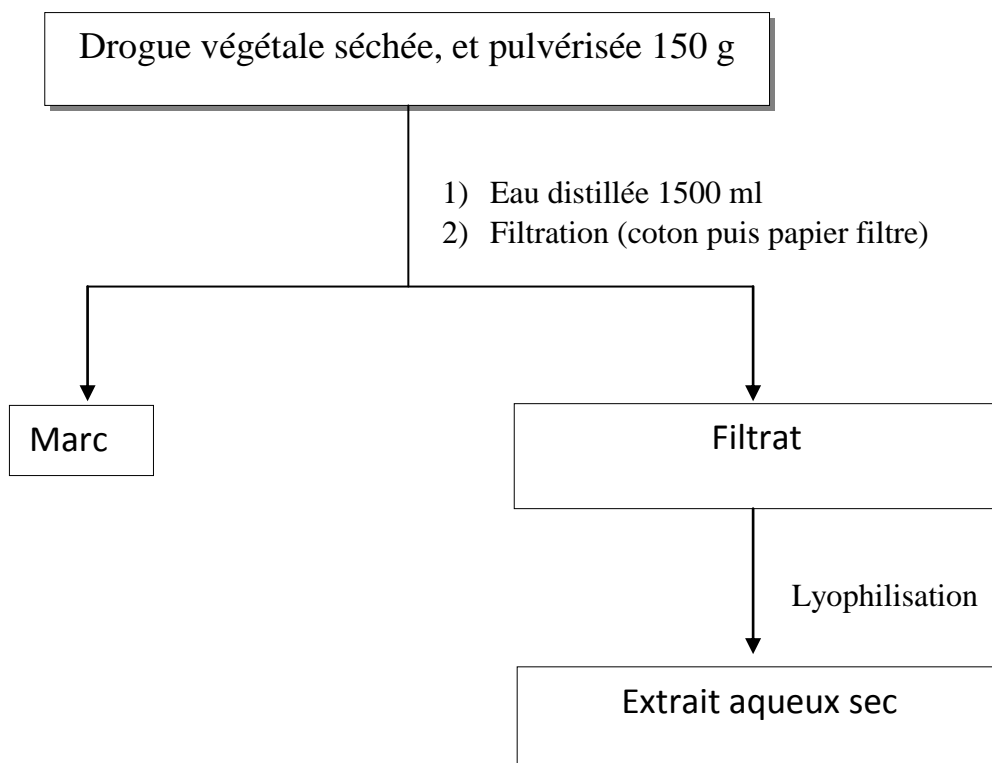


Figure 2 : schéma synoptique de l'extraction aqueuse à froid

Le rapport entre les quantités d'extrait lyophilisé et de poudre d'écorce de racines a constitué le rendement d'extraction.

$$\text{Rendement} = \frac{\text{Poids final du lyophilisat}}{\text{Poids initial de la poudre}} \times 100$$

➤ Stérilisation de l'extrait

Une partie de l'extrait lyophilisé a été stérilisée pour s'assurer de la pureté de l'extrait correspondant à une absence de contamination par les bactéries à l'étude.

L'essai de stérilité a consisté à porter l'extrait sec aux rayons UV pendant 24 heures sous un PSM.

La poudre stérilisée a servi, à l'instar de l'extrait brut (non stérilisé), aux tests d'activité antimicrobienne.

III.2.2 Tests d'activité antimicrobienne

III.2.2.1 Culture des souches bactériennes

Pour la présente étude, les souches bactériennes d'origine hospitalière ont été isolées à l'unité de Bactériologie du Centre de Diagnostic et de Recherche sur le Sida et les maladies opportunistes (CeDReS) du CHU de Treichville. Des souches non hospitalières des mêmes bactéries, utilisées pour les travaux pratiques des étudiants à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, ont également servi de spécimen bactérien.

Avant toute manipulation, les souches bactériennes, préalablement isolées sur milieux spécifiques correspondants (définis plus haut dans le chapitre milieu de culture) ont été repiquées, la veille, sur gélose Mueller Hinton, afin d'obtenir des colonies jeunes de moins de 24 heures sur lesquelles se sont effectués les tests.

III.2.2.2 Préparation de l'inoculum

L'inoculum bactérien des différentes souches a été préparé en bouillon Mueller Hinton à partir de colonies de moins de 24 heures obtenues sur gélose Mueller Hinton.

A l'aide d'un ensemenceur stérile en plastique, une à trois colonies, isolées de chaque culture bactérienne, ont été prélevées pour réaliser une suspension dans 10 ml de bouillon Mueller Hinton stérile.

Après homogénéisation de cette suspension à l'aide du vortex, la densité optique (DO) de la suspension a été déterminée à l'aide du DENSIMAT[®]. Cette DO devant être égale à 0,5 McFarland, Lorsqu'elle était inférieure à cette valeur, l'on prélevait à nouveau quelques colonies à ajouter à la suspension jusqu'à

obtenir les 0,5 McFarland. Dans le cas contraire, il fallait diluer la suspension bactérienne avec du bouillon Mueller Hinton pour l'ajuster à 0,5 McFarland.

Cette suspension bactérienne réalisée était évaluée à environ $1,5 \cdot 10^8$ cellules/ml et constituait la dilution 10^0 ou l'inoculum pur de chaque souche bactérienne comme nous montre l'image ci-dessous.



Figure 3 : Inoculum bactérien (Source : Laboratoire de Bactériologie-Virologie de l'UFR-SPB d'Abidjan-Cocody)

III.2.2.3 Numération de l'inoculum

Pour chaque souche bactérienne, nous avons utilisé quatre (4) tubes à essai pour réaliser une dilution au $10^{\text{ème}}$ à partir de l'inoculum pur de concentration 10^0 . Nous avons alors obtenu 4 dilutions à 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4} cellules/ml.

Ces différentes dilutions, ainsi que l'inoculum pur, ont étéensemencés à l'aide d'une anse calibrée en plastique de 1 μ l, par stries de 5 cm de long, sur une gélose Mueller Hinton, puis incubés à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

Cette préparation a constitué la boîte A, et pour chaque souche, trois (3) géloses Mueller-Hinton ont étéensemencées.

Un témoin négatif a été prévu (gélose Mueller Hinton nonensemencée).

III.2.2.4 Préparation des solutions mères

Une quantité de 1000 mg de poudre de l'extrait aqueux d'écorce de racines de *D.cinerea* a été pesée et dissoute dans 5 ml d'eau distillée stérile. Ce qui a permis d'obtenir une concentration de 200mg/ml.

Pour la préparation de la suspension de Céfixime, nous avons acheté dans le commerce la poudre pour suspension buvable de concentration 100 mg/5 ml. Ensuite nous avons ajouté de l'eau physiologique stérile jusqu'au trait de jauge indiqué sur le flacon.

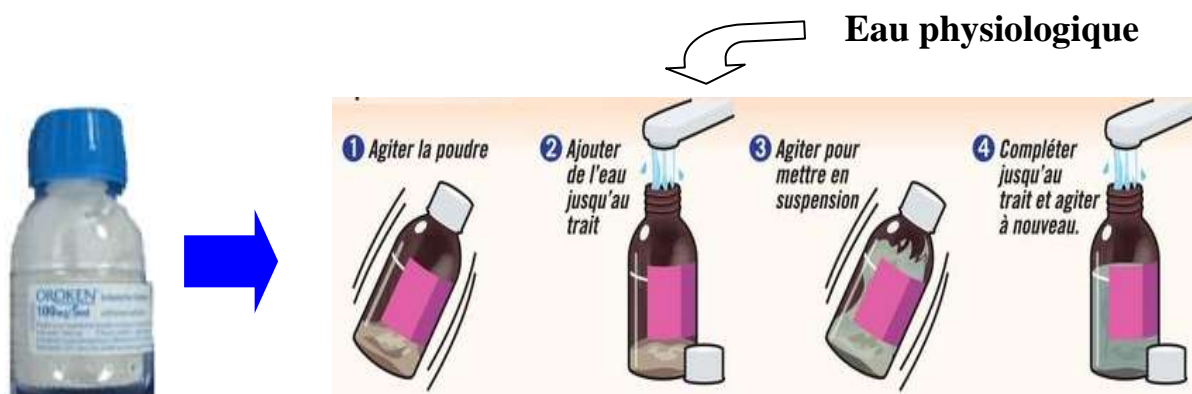


Figure 4 : protocole de préparation de la suspension de céfixime

III.2.2.5 Gamme de concentrations

Des dilutions volume/volume, par la méthode de la double dilution en progression géométrique à raison de demi ($\frac{1}{2}$), ont été réalisées de sorte à réduire la concentration de moitié comme nous témoigne cette image.

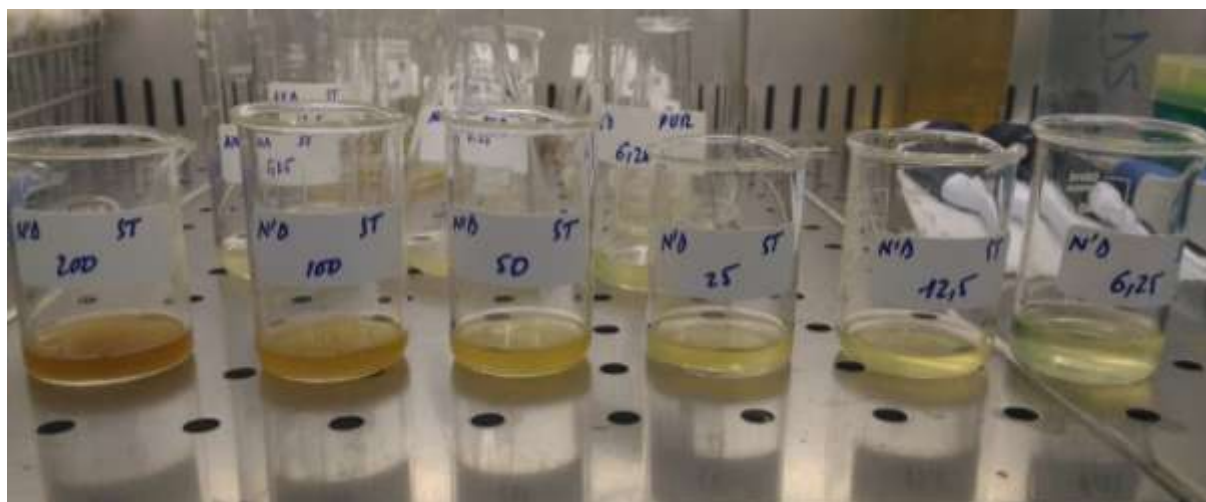


Figure 5 : solutions d'extrait de *D. cinerea* à différentes concentrations (Source : Laboratoire de Bactériologie-Virologie de l'UFR-SPB d'Abidjan-Cocody)

La préparation finale de l'antibiotique de référence correspondait à 20 mg/ml de céfixime.

III.2.2.6 Antibiogramme

➤ Préparation des disques de papier buvard imprégnés de l'extrait

Des disques de papier buvard stériles ont été imprégnés des différentes concentrations (200 ; 100 ; 25 et 6,25 mg/l) de l'extrait végétal, puis séchés à température ambiante. Pour servir de contrôle positif, des disques de papier buvard ont également été imprégnés d'une suspension de Céfixime à 20 mg/ml (antibiotique de référence) dans les mêmes conditions que précédemment.



Figure 6 : disques de papier buvard imprégnés de l'extrait (Source : Laboratoire de Bactériologie-Virologie de l'UFR-SPB d'Abidjan-Cocody)

➤ Méthode de diffusion en milieu gélosé

La gélose Mueller Hinton a été coulée dans deux boîtes de Pétri sur une hauteur de 4 mm. Un écouvillon en coton stérile, préalablement plongé dans la suspension bactérienne, a été écouvillonné sur la totalité de la surface de la gélose dans 3 directions. Mais avant, l'excès de la suspension de liquide a été éliminé en tournant l'écouvillon sur les parois du tube. Après avoir laissé sécher les boîtes au bout de 5 minutes, les disques de papier buvard imprégnés des différentes concentrations de l'extrait (200 ; 100 ; 25 et 6,25 mg/l) ont été déposés successivement à l'aide d'une pince fine, ainsi que le disque imprégné de Céfixime. La lecture des diamètres d'inhibition obtenus s'est faite après incubation à l'étuve à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

III.2.2.7 Inoculation des microplaques

Pour la détermination de la CMI de l'extrait, la méthode de dilution en microplaque de 96 puits repartis en 8 rangées (A à H) de 12 colonnes (1 à 12) en vue de la détection de la croissance des bactéries en présence des différentes concentrations de l'extrait a été utilisée.

Une microplaque a été utilisée pour deux souches.

Pour chaque souche, une série de trois (3) rangées a été utilisée, soit de A à C pour la première et de F à H pour la seconde.

Dans la première colonne, 200 µl de bouillon Mueller Hinton ont été repartis pour servir de contrôle d'une éventuelle contamination du milieu de culture.

Dans la deuxième colonne, 200 µl de bouillon Mueller Hinton ont étéensemencés avec 10 µl de l'inoculum bactérien de la souche correspondante. Ce test a servi de témoin de croissance de la souche bactérienne, c'est-à-dire le contrôle positif.

La troisième colonne, contenant 100 µl de bouillon Mueller Hinton ajoutés à 100 µl de l'extrait, a servi de test de stérilité de l'extrait en solution, puis de contrôle négatif.

De la colonne 7 à la colonne 12, 100 µl de bouillon Mueller Hinton ont été distribués dans chaque cupule. Ensuite les différentes concentrations de l'extrait ont été ajoutées en commençant par la solution à 6,25 mg/ml (colonne 7) jusqu'à celle de 200 mg/ml (colonne 12). Cela a permis d'obtenir une concentration finale allant de 3,125 mg/ml dans la colonne 7 à 100 mg/ml dans la colonne 12.

Enfin, chaque cupule (colonne 7 à colonne 12) a étéensemencée avec 10 µl d'inoculum bactérien correspondant.

Les microplaques ainsi inoculées ont été recouvertes d'un fin film de paraffine puis disposées dans un bac humidifié pour réduire les risques de dessiccation des cupules. L'ensemble a été incubé à 37 °C pendant 18 heures.

La lecture, faite le lendemain, a consisté à rechercher un trouble au niveau de chaque cupule, témoin d'une croissance microbienne.

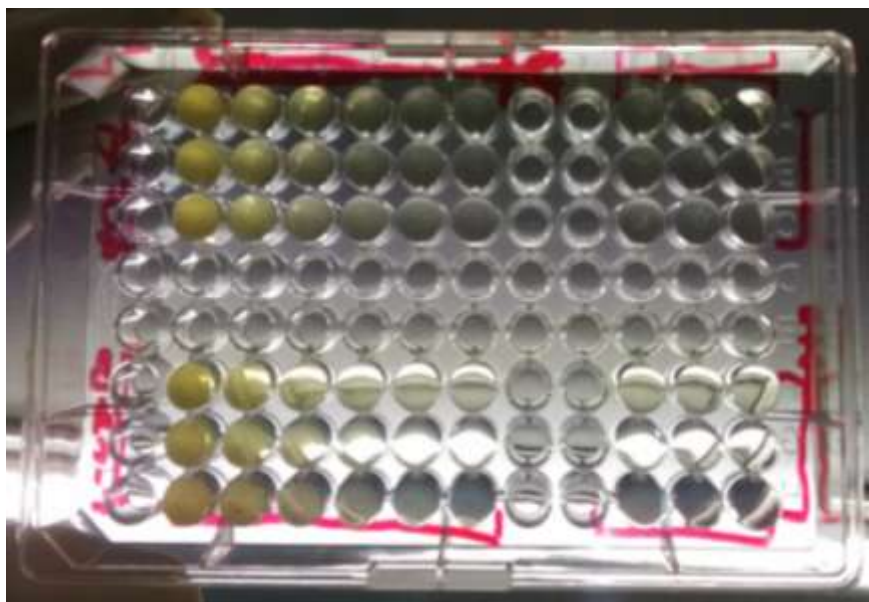


Figure 7 : microplaque après inoculation (Source : Laboratoire de Bactériologie-Virologie de l'UFR-SPB d'Abidjan-Cocody)

Les microplaques ont été incubées à l'étuve comme nous présente l'image suivante :



Figure 8 : incubation dans une atmosphère humide (Source : Laboratoire de Bactériologie-Virologie de l'UFR-SPB d'Abidjan-Cocody)

III.2.2.8 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est la plus faible concentration de la substance pour laquelle il n'y a pas de croissance visible à l'œil nu après un temps d'incubation de 18 à 24 h.

La détermination a été réalisée par observation du trouble induit par la croissance des germes étudiés dans chaque cupule de la microplaque.

III.2.2.9 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La concentration minimale bactéricide (CMB) est la plus faible concentration de substance qui laisse au plus 0,01% de germes survivants.

A l'aide d'une anse calibrée à 2 μ l, les contenus des cupules dans lesquelles aucun trouble n'a été observé ont été prélevés etensemencés sur une gélose Mueller-Hinton en commençant par le tube de la CMI. Nous avonsensemencé, pour chaque tube, une série de 3 géloses Mueller-Hinton.

L'ensemencement se fait par stries parallèles de 5 cm de long à la surface de la gélose (Boîte B).

Après 24 heures d'incubation à l'étuve à 37 °C, le nombre de colonies sur les stries a été comparé à celui de la boîte de numération des différentes dilutions (10^0 à 10^{-4}) de l'inoculum (Boîte A). Ainsi, la première cupule de la microplaque dont le nombre de germes présents sur sa strie était inférieur ou égal à celui de la dilution 10^{-4} correspondait à la CMB.

IV : RESULTATS

IV.1 Préparation de la drogue végétale

Le broyage de l'écorce de racines sèche a donné une poudre fine jaune ocre.



Figure 9 : écorce de racines pulvérisée de *D.cinerea* (Source : Laboratoire de Pharmacologie de l'UFR-SPB d'Abidjan-Cocody)

IV.2 Rendements

La perte à la dessiccation de la drogue végétale fraîche et le rendement d'extraction de la drogue végétale pulvérisée sont consignés dans le tableau ci-dessous.

Tableau I : perte à la dessiccation et rendement d'extraction

	Poids initial (g)	Poids final (g)	Perte à la dessiccation/Rendement d'extraction (%)
Ecorce	6178	2853	53,82
Poudre	150	12,24	8,16

IV.3 Préparation des solutions tests

La solution mère de l'extrait aqueux de l'écorce de racines à tester était concentrée à 200 mg/ml.

A partir de cette solution mère, nous avons obtenu, y compris la solution mère, une gamme de sept (7) concentrations : 200 ; 100 ; 50 ; 25 ; 12,5 ; 6,25 et 3,125 mg/ml.

IV.4 ETUDE D'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE

IV.4.1 Résultats du test de stérilité de l'extrait

Les résultats obtenus aussi bien avec l'extrait brut qu'avec l'extrait passé aux rayons UV étaient les mêmes. En effet les souches bactériennes étudiées ont poussé en présence des disques imprégnés de différentes concentrations des deux types d'extraits.



Figure 10 : disques imprégnés d'extrait aqueux stérilisé et non stérilisé (Source : Laboratoire de Bactériologie-Virologie de l'UFR-SPB d'Abidjan-Cocody)

H₂O stérile : Extrait aqueux stérile

H₂O pur : extrait aqueux brut

S. a : *Staphylococcus aureus*

Disques imprégnés de Céfixime au centre.

IV.4.2 Sensibilité des bactéries à l'extrait aqueux

Le tableau ci-dessous résume le comportement des différents germes vis-à-vis de l'extrait testé, comparativement au Céfixime.

Tableau II : Activité de l'extrait aqueux de l'écorce de racines de *D.cinerea* sur les bactéries étudiées

Germes	Concentrations de l'extrait (mg/ml)				Céfixime (mg/ml)
	200	100	25	6.25	20
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	+
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	+
<i>Bacillus sp</i>	-	-	-	-	+
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	+
<i>E. faecalis</i>	-	-	-	-	+

(-) : Absence d'activité

(+) : Présence d'activité

Toutes les concentrations de l'extrait de la drogue végétale n'avaient pas d'activité sur les souches bactériennes à l'étude. Le céfixime à 20mg/ml était cependant actif sur les mêmes souches.

IV.4.3 Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB)

Le tableau ci-dessous montre le comportement des germes vis-à-vis de l'extrait

Tableau III : effet de l'extrait aqueux sur la croissance bactérienne

Germes	Concentrations de l'extrait en mg/ml (facteur de dilution)					
	100 (1/1)	50 (1/2)	25 (1/4)	12.5 (1/8)	6.25 (1/16)	3.125 (1/32)
<i>E. coli</i>	+	+	+	+	+	+
<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Bacillus sp</i>	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i>	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecalis</i>	+	+	+	+	+	+

(+) : croissance visible à l'œil nu

Aucune concentration de l'extrait de la drogue végétale n'a inhibé la croissance des souches bactériennes étudiées. Ainsi la CMI n'a pu être déterminée pour aucune concentration.

Par conséquent, l'on n'a pu déterminer de CMB.

V : DISCUSSION

L'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea* est une drogue végétale utilisée traditionnellement par le peuple Adioukrou en Côte d'Ivoire pour traiter l'asthme. Dans une étude réalisée par **Irié-N'guessan *et al*, (2011)**, il a été démontré un effet antispasmodique de l'extrait brut hydro-éthanolique de cette drogue végétale sur la trachée isolée de souris, pouvant expliquer les mécanismes pharmacologiques de levée du bronchospasme. Cependant l'asthme comporte un volet inflammatoire pouvant être associé à des surinfections bactériennes. En outre, l'eau étant un solvant très utilisé en médecine traditionnelle, l'objectif de notre travail était d'évaluer l'activité antibactérienne d'un extrait aqueux des écorces de racines de *D.cinerea* dans le but d'en proposer une extension d'usage comme agent anti-infectieux.

Notre étude s'est déroulée non sans difficultés qui en ont constitué des limites. En effet, les essais d'activité antibactérienne ont été réalisés sur des souches hospitalières ou non hospitalières. L'usage de souches de référence ATCC (American Type Culture Collection) aurait permis une meilleure comparaison avec les résultats des souches cliniques pathogènes. Par ailleurs, les difficultés de conservation du bouillon Mueller Hinton après sa préparation, du fait de sa rapide contamination par les micro-organismes, ont allongé le temps et la durée de l'expérimentation. Il nous a fallu toujours préparer un nouveau milieu de culture stérile afin de mener à bien nos expérimentations.

Toutefois, les résultats issus de nos travaux suscitent des commentaires et interprétations. Ainsi, le rendement de l'extraction aqueuse, d'une valeur de 8,16%, s'avère faible. Cela suppose qu'un usage à grande échelle de cette drogue végétale nécessiterait une importante récolte des racines pour obtenir une quantité suffisante d'extrait. Sachant que l'utilisation des racines conduit à la destruction de la plante et constitue une entorse à la préservation de l'espèce, du

climat et de la biodiversité, la proposition des parties aériennes de la plante comme remède traditionnel pourrait être envisagée. A ce sujet, une étude comparative des effets antispasmodiques de l'écorce de racines et des feuilles de la plante n'a pas conclu une similarité d'activité entre les extraits hydro-éthanoliques des parties souterraines et aériennes, l'écorce de racines ayant été plus active que les feuilles (**Irié-N'guessan et al, 2014**). Par ailleurs le rendement varie avec le solvant d'extraction. Cette variabilité serait probablement liée à la composition chimique et à l'affinité du solvant à l'égard des métabolites secondaires contenus dans les racines de la plante que sont les tanins, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les saponosides (**Irié-N'guessan, 2013**).

A travers les essais bactériologiques, l'extrait aqueux de l'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea* n'a exercé aucune activité antibactérienne sur les souches bactériennes souvent impliquées dans les surinfections de l'asthme, à savoir *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus sp*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterococcus faecalis*. Toutes les concentrations testées (200;100;50;25 et 12,5 mg/ml) de l'extrait n'ont pas eu d'activité sur les souches , tandis que le céfixime acheté dans le commerce et préparé dans les mêmes conditions s'est révélé actif sur tous les germes étudiés. Cependant, la plante est utilisée dans les régions sahéliennes pour le traitement des furonculoses, des eczémas et des plaies (**Maydell, 1990**). De plus, le peuple Malinké en Côte d'Ivoire également utilise la décoction des racines de *Dichrostachys cinerea* en bains de bouche pour soigner les caries dentaires (**Adjonohoun et Aké Assi, 1979**), affections susceptibles d'être d'origine infectieuse. Aussi, selon **Kambizi et Afolayan (2001)**, l'espèce *Dichrostachys cinerea* est-elle largement prescrite en médecine traditionnelle du Zimbabwe dans l'indication d'infections sexuellement transmissibles, les racines demeurant la partie de la plante la plus utilisée. L'absence d'activité antibactérienne, au cours de nos expérimentations, pourrait être due à l'origine géographique de la plante ou à la nature du sol. En effet, il

est montré que les saisons climatiques ont une influence sur la composition en nutriments des sols, partant sur la composition des végétaux en métabolites secondaires (**Diaz-Ravina et al, 1993**).

L'absence d'activité antibactérienne au cours de notre étude pourrait également être liée à la partie de la plante utilisée. Manifestement il a été prouvé que la composition et l'activité de l'extrait varie selon que l'on travaille avec les feuilles, la tige ou les racines d'une plante. Une étude a montré que pendant que l'extrait de l'écorce des racines de *Craterispermum laurium* avait une action antibactérienne modérée sur *Staphylococcus aureus*, l'extrait de l'écorce de tige de *Craterispermum laurium* inhibait fortement la croissance de la même espèce bactérienne (**Koroma et Ita, 2009**). Aussi, des études menées au Soudan ont-elles mis en évidence des propriétés antibactériennes des extraits chloroformique, méthanolique et aqueux des feuilles de *Dichrostachys cinerea* (**Eisa et al, 2000**). Par ailleurs, pour soigner les plaies de la circoncision, le peuple Malinké en Côte d'Ivoire utilise les parties aériennes de la plante calcinées en application locale (**Adjonohoun et Aké Assi, 1979**). En outre, selon les travaux de **Sinon (2001)**, les extraits de feuilles de cette plante seraient actifs sur des souches bactériennes dont *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les composés responsables de l'activité antibactérienne seraient-ils plus abondants dans les feuilles que dans les racines ? en tout état de cause, les propriétés antibactériennes pourraient être dues à certains métabolites secondaires de la plante entière, notamment les tanins (**Banso et Adeyemo, 2007**) qui ont par ailleurs été identifiés dans l'écorce de racine (**Irié-N'guessan, 2013**).

Il est également possible que le solvant utilisé lors de l'extraction soit à l'origine de l'absence d'activité de l'extrait de l'écorce des racines de la plante. En fait, l'effectivité de l'activité d'un extrait dépend du pouvoir polarisant du solvant utilisé. A ce sujet, les extraits aqueux de *Solanum incanum*, *Vernonia*

amygdalina et *Dichrostachys cinerea* ne présentaient aucun effet antibactérien bien qu'il y ait eu une activité de ces plantes avec leurs extraits acétonique et méthanolique (**Kambizi et Afolayan, 2001**). Indubitablement, le solvant aqueux utilisé n'a peut-être pas pu retenir les molécules recherchées à cause de sa polarité. Les travaux de **Traoré et al (2012)**, sur les activités antifongique et antibactérienne des feuilles d'*Annona senegalensis*, ont suggéré que l'éthanol était un solvant meilleur que l'eau, et plusieurs travaux ont souligné que les extraits d'acétate d'éthyle présentaient de meilleures activités pharmacologiques que les extraits éthanoliques et aqueux (**Bagre et al, 2006 ; Traoré et al, 2012 ; Akinsulire et al, 2007**). De plus il a été prouvé que le solvant utilisé lors de l'extraction affecte considérablement l'activité antimicrobienne (**Adejare et al, 2013**).

Enfin, de nombreux travaux suggèrent que l'activité antimicrobienne des extraits de plantes nécessite, dans la plupart des cas, de fortes concentrations (**Adejare et al, 2013 ; Bagre et al, 2006 ; Biyiti et al, 2004**). Cela suppose que les concentrations de 200 ; 100 ; 50 ; 25 et 12,5 mg/ml étaient probablement trop faibles pour que l'extrait à l'étude exerce une activité antibactérienne.

CONCLUSION

Dichrostachys cinerea (L.) Wight et Arn. (Fabaceae) est une plante dont les écorces de racines sont utilisées en médecine traditionnelle ivoirienne comme antiasthmatique. L'objectif de notre travail était d'évaluer les propriétés antibactériennes de l'extrait aqueux des écorces de racines en vue de prendre en charge les co-infections observées au cours de l'asthme. Les résultats de cette étude ont montré que les extraits testés aux différentes concentrations n'ont pas d'activité sur les souches étudiées. Le céfixime acheté dans le commerce et préparé dans les mêmes conditions d'expérimentation s'est montré actif sur toutes souches bactériennes étudiées.

Des résultats obtenus, nous pouvons retenir les hypothèses suivantes :

- La plante récoltée en Côte d'Ivoire serait dénuée d'activité antibactérienne ;
- L'écorce de racines renfermerait peu ou pas de composés chimiques responsables d'activité antibactérienne ;
- Le solvant aqueux utilisé n'aurait pas pu extraire la plupart des composés chimiques à potentiel antibactérien ;
- Les concentrations d'extrait utilisées au cours de l'expérimentation, similaires à celles qui ont montré l'activité antispasmodique, seraient trop faibles pour induire une activité bactéricide ou bactériostatique.

Pour la poursuite de ce travail de thèse, quelques perspectives se dégagent :

- Tester des plantes de la même espèce provenant d'autres régions géographiques pour élucider la première hypothèse ;
- Evaluer l'écorce de racine de *Dichrostachys cinerea* sur *Plasmodium falciparum*, étant donné la possibilité de protonation in vivo de l'ammonium contenu dans la structure pyrrolidine des alcaloïdes présents dans cette drogue végétale à l'instar de molécules antipaludiques.

- Identifier les composés chimiques présents dans notre extrait.

REFERENCES

1. **Adejare O.Y., Oduyebo O.O., Oladele R.O., Nwaokorie F.O., Ogunsola F.T. (2013).** *In vitro* antifungal effect of *Garcinia lola* and Garlic (*Allium sativum*) on vaginal isolates of *Candida*. *African journal of clinical and experimental microbiology*, 14(3) :140-145.
2. **Adjanohoun E.J., Ahji A.M.R., Aké-Assi L. (1986).** Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Togo. *ACTT*, Paris : 121- 33.
3. **Adjanohoun E.J., Aké-Assi L. (1979) :** Contribution au recensement des plantes médicinales de côte d'Ivoire. Centre national de floristique Abidjan : *Editions CRESS*, 238p.
4. **Akinsulire O.R., Aibinu I.E., Adenipekun T., Adelowotan T., Odugbemi T. (2007).** *In vitro* antimicrobial activity of crude extracts from plants *Bryophyllum pinnatum* and *Kalanchoe crenata*. *African Journal of Traditional Medicines*, 4(3) : 338-344.
5. **Alzoreky N.S., Nakahara K. (2003).** Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *International Journal of Food and Microbiology*, 80 : 223-230.
6. **Association Nationale des Enseignants de Pharmacie clinique et thérapeutique.** Pharmacie clinique et thérapeutique. 2^{ème} édition. Paris : *Masson*, 848-873.
7. **Aworet-Samseny R.R., Souza A., Kpahé F., Konaté K., Datté J.Y. (2011).** *Dichrostachys cinerea* (L.) Wight et Arn (Mimosaceae) hydro-alcoholic extract action on the contractility of tracheal smooth muscle isolated from guinea-pig. *BMC Complementary and Alternative Medecine*, 11, 23.

8. **Bagré I., Bahi C., Méité S., Djaman A.J., Guédé G.F. (2006).** Evaluation et amélioration de l'activité antifongique de *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redh (Rubiaceae) sur *Cryptococcus neoformans*, un champignon responsable de mycose humaine. *Journal des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques*, 7(1) : 37-46.
9. **Banso A., Adeyemo S.O. (2007).** Evaluation of antibacterial properties of tannins isolated from *Dichrostachys cinerea*. *African Journal of Biotechnology*, 6(15) : 1785-1787.
10. **Baraduc R., Darfeuille-Michaud A., Forestier C., Jallat C., Joly B., Livrelly D. (2000).** *Escherichia coli* et autres *Escherichia*, *Shigella*. Précis de bactériologie clinique. *Editions ESKA* : 1115-1126.
11. **Bayes M. (1997).** Contribution à l'activité anti-inflammatoire de la pulpe de *Balanites aegyptica* L. (Zygophyllaceae). *Thèse, pharmacie, Bamako, Mali*, 67p.
12. **Berahou A., Auhmani A., Fdil N., Benharref A., Jana M., Gadhi C.A. (2007).** Antibacterial activity of *Quercus ilex* bark's extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 112 : 426-429.
13. **Biyiti L.F., Meko'o D.L., Tamze V., Amvam-Zollo P.H. (2004).** Recherche de l'Activité Antibactérienne de Quatre Plantes Médicinales Camerounaises. *Pharmacopée et Médecine Traditionnelles Africaines*, 13 : 11-20.
14. **Dade J.M.E, Irié-N'Guessan G., Komlaga G., Saya M., Okpékon T.A., Boti J.B., Kablan B.J., Bamba E.H. S. (2016).** Pyrrolidine alkaloids and their glycosylated derivatives from the root bark of *Dichrostachys cinerea* (L) Wight & Arn. (Fabaceae). *Phytochemistry Letters*, 16 : 268-276.

15. **Diaz-Ravina M., Acea M.J., Carballas T. (1993).** Seasonal fluctuations in microbial populations and available nutrients in forest soils. *Biology and Fertility of Soils*, 16 : 205-210.
16. **Ducharme M.P., Martineau P.** Principes d'utilisation des antibiotiques, Dans Association Nationale des Enseignants de Pharmacie clinique et thérapeutique, eds. *Pharmacie clinique et thérapeutique*. 2^{ème} édition. Paris : Masson, 876-94.
17. **Duvar J., Soussy C.J. (1977 et 1980).** Abrégés d'antibiothérapie. 2^{ème} Edition, Masson, Paris.
18. **Ducharme M.P., Gimenez F., Decroix M.O., Ferreira E., Martineau P., Massias L. (1989).** Généralités sur les antibiotiques par voie systémique : classification, mécanismes d'action, spectre d'activité, prévention de l'iatropathologie. Dans : Le Minor L., Veron M. Bactériologie médicale. 2^{ème} édition. Paris : Flammarion, 298-306.
19. **Eisa S., Hussin S., Geissler N., Koyro H.W. (2012).** Effect of NaCl salinity on water relations, photosynthesis and chemical composition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) as a potential cash crop halophyte. *Australian Journal of Crop Science*, 6 : 357-368.
20. **Farmer J.J., Boatwright K.D., Janda J.M. (2007).** Enterobacteriaceae: Introduction and identification. *Manual of Clinical microbiology*, Washington, DC, USA: ASM press. 9th ed: 649-669.
21. **Ferron A. (1984).** Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. 12^{ème} édition. *La Madelaine* : édition C et R. : 15-146
22. **Garrity G., Staley J., Boone D., Brenner D., De Vos P., Goodfellow**

- M. (2004).** Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2ème édition East Lansing, MI, USA, Springer: 119-169.
- 23. Irié-N'guessan A.G. (2013) :** Rôle des ions potassium et de l'épithélium dans la relaxation du muscle lisse trachéal : application à la propriété antispasmodique de cinq plantes antiasthmatiques issues de la pharmacopée ivoirienne. *Thèse de Doctorat en Sciences pharmaceutiques*, Côte d'Ivoire p.107
- 24. Irié-N'guessan A.G., Kouakou-Siransy N.G., Kouakou S.L., Kamenan B.A., Djadji A.T.L., Abrogoua D.P., Champy P., Kablan B.J., Leblais V. (2014).** Comparaison des effets antispasmodiques de l'écorce de racines et des feuilles de *Dichrostachys cinerea* (L.) Wight et Arn. (Fabaceae). *Revue CAMES-Série Pharmacopée et Médecine Traditionnelles Africaines*, 17(1) : 28-32
- 25. Irié-N'guessan G., Champy P., Kouakou-Siransy G., Koffi A., Kablan B.J., Leblais V. (2011).** Tracheal relaxation of five Ivorian anti-asthmatic plants: Role of epithelium and K⁺ channels in the effect of the aqueous-alcoholic extract of *Dichrostachys cinerea* root bark. *Journal of Ethnopharmacology*, 138(2) : 432-438.
- 26. Jagadeeshwar-Rao R., Tiwari A.K., Kumar U.S., Reddy S.V., Ali A.Z., Rao J.M. (2003).** Novel 3-O-acyl mesquitol analogues as free-radical scavengers and enzyme inhibitors: Synthesis, biological evaluation and structure-activity relationship. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*, 13(16) : 2777-2780.
- 27. Jain R., Saxena U. (2003).** Aliphatics and triterpenoids from the heartwood of *Dichrostachys cinerea*. *Journal of the Indian Chemical Society*, 80(6) : 656-658.

28. **Jaureguy F. (2009).** Host and bacterial determinants of *Escherichia coli* extra intestinal infections. *Medical Sciences*, Paris, 25(3) : 221-223.
29. **Jayakumari S., Srinivassa R.G. (2007).** Effect of *Dichrostachys cinerea* (Linn.) root extract on ethylene glycol induced urolithiasis in rats. *Natural Product Sciences*, 13(3) : 180-185.
30. **Jiofack T., Fokunang C., Guedje N., Kemeuze V., Fongnzossie E., Nkongmeneck B.A., Mapongmetsem P.M., 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.
31. **Kambizi L., Afolayan A.J. (2001).** An ethnobotanical study of plants for the treatment of sexually transmitted diseases (njovhera) in Guruve District, Zimbabwe. *Journal of Ethnopharmacology*, 77 : 5-9.
32. **Koroma L., Ita B.N. (2009).** Phytochemical compounds and antimicrobial activity of three medicinal plants (*Alchornea hirtella*, *Morinda geminata* and *Craterispermum laurinum*) from Sierra Leone. *African Journal of Biotechnology*, 8(22) : 6397-6401.
33. **Long C., Marcourt L., Raux R., David B., Gau C., Menendez C., Gao M., Laroche M.F., Schambel P., Delaude C., Ausseil F., Lavaud C., Massiot G. (2009).** Meroterpenes from *Dichrostachys cinerea* inhibit protein farnesyl transferase activity. *Journal of Natural Products*, 72(10) : 1804-1815.
34. **Malaisse F., Sclavo JP., Crosiers C. (1992) :** Recherches sur les *Encephalartos* Lehm. (Zamiaceae) d'Afrique centrale : un nouvel *Encephalartos* de Tanzanie. *Annales de Gembloux*, 98(2) : 153-157.

35. **Najada S. (2000).** Etude de l'activité antibactérienne d'*Acacia nilotica* var *adansonii*. *Thèse de Doctorat d'Etat en pharmacie* Université de Ouagadougou, 55p.
36. **Potel G., Barou D. (1990).** Les infections à Staphylocoques. Dans *Encyclopédie Médicale de Chirurgie et Maladies Infectieuses*, Elsevier, Paris : 70-88.
37. **Salhi S., Fadli M., Zidane L. (2010).** Floristic and ethnobotanical study of medicinal plants of Kénitra (Maroc). *Lazaroa*, 31 : 133-146.
38. **Sinon L. (2001).** Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles de *Dichrostachys cinerea* (L.) Wight & Arn. (Mimosaceae), *Thèse de pharmacie*, Université de Ouagadougou, 79 p.
39. **Traoré Y., Ouattara K., Yéo D., Doumbia I., (2012).** Recherche des activités antifongique et antibactérienne des feuilles d'*Annona senegalensis* Pers. (Annonaceae). *Journal of Applied Biosciences*, 58 : 4234-4242.
40. **Vandepitte J., Engbaek K., Piot P. (1994).** Bactériologie clinique : Techniques de base pour le laboratoire. *Genève : Organisation Mondiale de la Santé* ; 117p.
41. **Zampini I.C., Vattuone M.A., Isla M.I. (2005).** Antibacterial activity of *Zuccagnia punctata* Cav. ethanolic extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 102 : 450-456.

ANNEXES

ANNEXE I : ORGANISATION DE LA MICROPLAQUE DE TRAVAIL

	1 Témoin de contamina tion du BMH	2 Témoin de croissance de notre souche	3 Témoin de stérilité de notre poudre	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	200µl BMH	200µl BMH + 10µl inoculum	100µl BMH + 100µl extrait				100µl BMH + 100µl extrait 3,125mg + 10µl inoculum	100µl BMH + 100µl extrait 6,25mg + 10µl inoculum	100µl BMH + 100µl extrait 12,5mg + 10µl inoculum	100µl BMH + 100µl extrait 25mg + 10µl inoculum	100µl BMH + 100µl extrait 50mg + 10µl inoculum	100µl BMH + 100µl extrait 100mg + 10µl inoculum
B	Idem	Idem	Idem				Idem	Idem	Idem	Idem	Idem	Idem
C	Idem	Idem	Idem				Idem	Idem	Idem	Idem	Idem	Idem

ANNEXE II : COMPOSITION DES MILIEUX DE CULTURE

Gélose Chapman : composition pour la préparation d'un litre de milieu

- Peptone..... 10,0 g
- Extrait de viande de bœuf..... 1,0 g
- Chlorure de sodium..... 75,0 g
- Mannitol..... 10,0 g
- Rouge de phénol.....0,025 g
- Agar-agar..... 15,0 g
- Eau distillée..... qsp 1 litre

pH final : 7,4

Gélose Eosine Bleu de Méthylène (EMB) : composition pour la préparation d'un litre de milieu

- Peptone pancréatique de gélatine..... 10,0 g
- Lactose..... 10,0 g
- Phosphate dipotassique..... 2,0 g
- Eosine Y..... 0,4 g
- Bleu de méthylène.....65,0 g
- Agar-agar bactériologique.....15,0 g

pH final à 25°C : $7,0 \pm 0,2$

Gélose nutritive : composition pour la préparation d'un litre de milieu

- Peptone..... 6,0 g
- Extrait de bœuf..... 1,0 g
- Extrait de levure..... 2,0 g
- Chlorure de sodium..... 5,0 g
- Agar..... 14,0 g

pH final : $7,3 \pm 0,2$

Gélose au cétrimide : composition pour la préparation d'un litre de milieu (avec Glycérol)

- Peptone pancréatique de gélatine..... 20,0 g
- Cétrimide..... 0,3 g
- Chlorure de magnésium..... 1,4 g
- Sulfate de potassium..... 10,0 g
- Agar-agar bactériologique..... 13,6 g
- Glycérol..... 10,0 ml

pH final à 25°C : $7,2 \pm 0,2$

Gélose Bile Esculine Azide (BEA) : composition pour la préparation d'un litre
d'eau distillée

- Extrait de viande..... 3 g
- Peptones..... 17 g
- Extrait de levure..... 5 g
- Citrate de sodium..... 1 g
- Citrate de fer..... 0,5 g
- Chlorure de sodium..... 5 g
- Esculine..... 1 g
- Bile de bœuf (désoxycholate)..... 10 g
- Azide de sodium..... 0,25 g
- Agar.....13 g

pH final : 7,1