



Activité antibactérienne de l'extrait éthanolique et des fractions de *Anogeissus leiocarpa* (DC) Guill. Et Perr. (Combretaceae)

Habib GANFON^{1,2*}, Jean-Parphunus HOUVOHESSOU^{1,2,3}, Assogba Gabin ASSANHOU¹, Honoré Sourou BANKOLE³ et Joachim GBENOU¹

¹ Laboratoire de Pharmacognosie et des huiles essentielles (LAPHE), Institut des Sciences Biomédicales Appliquées, Cotonou, Bénin.

² Laboratoire de pharmacognosie et phytochimie (PHYTO-GNOS) de l'UFR Pharmacie-Faculté des Sciences de la Santé-Cotonou 01 BP 188 Cotonou, Bénin.

³ Service du Laboratoire d'analyses Biomédicales (SLAB) du Laboratoire National du Ministère de la Santé, Bénin.

* Corresponding author; E-mail: hganfon@yahoo.fr; Tel: + 229 66 19 69 95; 06 BP 494 Cotonou Bénin.

RESUME

Les maladies infectieuses sont à l'origine d'un taux élevé de mortalité de par le monde, en particulier dans les pays en voie de développement. Cette situation est aggravée par les phénomènes d'antibiorésistance consécutives à une utilisation non rationnelle des antibiotiques. Les plantes médicinales peuvent permettre de combattre cette antibiorésistance car pourvoyeuses de nouvelles molécules actives. La présente étude vise à évaluer l'activité antibactérienne de *Anogeissus leiocarpa* (DC) Guill. Et Perr. (Combretaceae), plante très utilisée en médecine traditionnelle au Bénin dans les maladies infectieuses, Cette activité antibactérienne *in vitro* a été évaluée sur 7 souches bactériennes différentes (4 cliniques et 3 de référence) au moyen de tests de sensibilisation par diffusion en plaque de 96 puits. L'extrait éthanolique ainsi que les 3 fractions dérivées ont tous montré une activité antibactérienne avec une sensibilité accrue de *Staphylococcus aureus* à l'extrait éthanolique et à la fraction acétate d'éthyle (diamètre d'inhibition > 9 mm). Cependant la plupart des fractions n'ont pas montré une activité antibactérienne supérieure à l'extrait. Ces résultats confortent donc l'utilisation de l'extrait éthanolique de *Anogeissus leiocarpa* en milieu traditionnel pour la prise en charge de maladies infectieuses d'origine bactériennes.

© 2019 International Formulae Group. All rights reserved

Mots clés: *Anogeissus leiocarpa*, extrait éthanolique, fractionnement, antibactérien, médecine traditionnelle.

Antibacterial activity of ethanolic extract and fractions of *Anogeissus leiocarpa* (DC) Guill. Et Perr. (Combretaceae)

ABSTRACT

Infectious diseases are among the leading cause of death in the world, especially in the undeveloped countries. This situation is worsened by the appearance of antimicrobial resistance to the classic antibiotics due to their non-rational use. The medicinal plants could help us to fight against the antimicrobial resistance because they are known as a potential source of new actives substances. The aim of this study is to evaluate

antibacterial activity of *Anogeissus leiocarpa* (cd.) Guill. And Perr. (Combretaceae), which is often used in Benin folk medicines to treat many infectious diseases. This antibacterial activity was investigated against 7 bacterial strains, using test of sensitizing in 96 wells plates. Ethanolic extract of leaves of *Anogeissus leiocarpa* and the fractions derived, show large spectral antibacterial activity with an increased sensitivity of *Staphylococcus aureus* to the ethanolic extract and ethyl acetate fraction (diameter of inhibition > 9 mm). However none of the fractions seem to be more active than the ethanolic extract. These findings confirm the use of ethanolic extract of *Anogeissus leiocarpa* in traditional medicine against bacterial infectious diseases.

© 2019 International Formulae Group. All rights reserved

Keywords: *Anogeissus leiocarpa*, ethanolic extract, fractionation, antibacterial, folk medicine.

INTRODUCTION

Les maladies infectieuses sont causées par différents types de microorganismes pathogènes, tels que les bactéries, les virus, les parasites ou les champignons (OMS, 2015). Ces maladies infectieuses sont à l'origine de plus de 17 millions de décès par an dans le monde entier et représentent dans les pays en voie de développement la cause de 43% des décès (OMS, 2015). Les infections d'origine bactérienne sont responsables de 70% de ces décès (Gangoue, 2003). La découverte des antibiotiques a contribué à réduire considérablement la propagation de ces pathologies. L'efficacité remarquable de ces antibiotiques s'est accompagnée de leur utilisation massive et abusive conduisant à l'apparition de résistances bactériennes (Ben et al., 2005). Ces résistances concourent à faire des pathologies liées aux microbes la première cause de mortalité au monde, tuant plus de 50 000 personnes par jour (Ahmad et al., 2001) et participent à la nécessité de rechercher de nouvelles molécules. Les plantes médicinales demeurent des sources potentielles de nouvelles molécules actives. Par ailleurs plus de 80% de la population de ces pays en développement ont recours à ces plantes en première intention du fait de leur accès facile comparé aux médicaments modernes (OMS, 2014). Plusieurs recherches ont eu à investiguer différentes plantes en vue d'évaluer leur activité antimicrobienne, d'identifier et d'isoler les principes actifs contenus dans ces plantes pour confirmer l'usage traditionnel. Parmi la flore diversifiée du Bénin, nous avons choisi de travailler sur *Anogeissus leiocarpa* Guill. et Perr. (Combretaceae) très utilisée par les

populations pour soigner diverses affections telles que les diarrhées, les infections cutanées etc. (Mann et al., 2003). Des études antérieures ont montré que l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *Anogeissus leiocarpa* Guill. et Perr possédait une activité antioxydante *in vitro* au test du DPPH avec une IC₅₀ de 2,18 mg/ml. (Olutayo et al., 2011). Rotimi et al. (1988) ont mis en évidence à partir de l'extrait aqueux de l'écorce de la tige d'*Anogeissus leiocarpa* une activité antibactérienne sur *Bacteroides gingivalis* (CMI : 4 µg/mL ; CMB : 16 µg/mL;) et *Bacteroides melaninogenicus* (CMI : 8 µg/mL ; CMB : 16 µg/mL;) confirmant ainsi son rôle de brosse à dent traditionnelle. Dans l'optique de compléter ces travaux antérieurs sur l'activité antimicrobienne de *Anogeissus leiocarpa*, ce travail va consister à évaluer l'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique ainsi que de ces fractions dérivés afin d'identifier les principaux groupes phytochimiques impliqués dans cette activité.

MATERIEL ET METHODES

Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué par les feuilles de *Anogeissus leiocarpa*. L'échantillon des feuilles a été récolté dans la forêt classée de BASSILA, au Nord du Bénin. Elles ont été ensuite identifiées et certifiées à l'Herbier National du Bénin sous le numéro AA 6714/HNB. Après séchage à la température du laboratoire (16 °C), elles ont été broyées en poudre à l'aide d'un mixeur de marque SONIK-SB et conservées dans des bocaux au laboratoire.

Souches microbiennes

Sept souches bactériennes dont 4 isolées (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*) respectivement de Viande de porc, de viande de poulet, de selles diarrhéiques de patients hospitalisés en médecine interne au niveau du centre hospitalier universitaire de Cotonou, de yaourt en provenance du Bénin et 3 de références (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus mirabilis* ATCC 24974, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) ont été utilisées pour les tests antimicrobiens. Ils ont été conservés dans des milieux nutritifs à base de gélose à 4 °C avant d'être utilisés.

Criblage phytochimique de l'extrait éthanolique de *Anogeissus leiocarpa*

L'extrait éthanolique a été soumis à un criblage phytochimique suivant les méthodes de Houghton et Amala (1998).

Milieux de culture et autres consommables

Les milieux de culture (gélose Mueller-Hinton II) ainsi que les disques d'antibiotiques à savoir le chloramphénicol, la ciprofloxacine, et le cotrimoxazole utilisés dans le diagnostic microbiologique proviennent respectivement des laboratoires Biomerieux®, Biorad®, Difco® et Oxoid®

Méthodes de préparation de l'extrait éthanolique et des fractions de *Anogeissus leiocarpa*

Cinquante grammes de feuilles ont été macérées dans 500 mL d'éthanol 96°, sous agitation constante pendant 24 h puis elles ont été filtrées. Le filtrat a été évaporé à 40 °C à l'aide de l'évaporateur rotatif de marque Stuart RE300B (Rotavapor) jusqu'à obtention d'un résidu sec ou extrait éthanolique. Ce résidu sec a été pesé puis conservé au frais à 4° C dans des flacons colorés et à l'abri de la lumière. Le fractionnement a été ensuite effectué par un épuisement successif de 50 g de l'extrait éthanolique brut des feuilles de *Anogeissus leiocarpa* avec des solvants de polarité croissante à savoir le cyclohexane,

l'acétate d'éthyle et le butanol durant 24 h. Pour chaque étape, après filtration, le filtrat obtenu a été séché à l'évaporateur rotatif puis pesé pour donner la fraction correspondante au solvant utilisé, tandis que le marc était repris par le solvant de polarité croissante suivant.

Méthode de préparations des extraits à tester

Des stocks de solution-mères de concentrations 20 mg/mL à partir de l'extrait éthanolique brut et des 03 fractions obtenues, ont été préparés dans un solvant DMSO/Eau distillé (50/50) pour en faciliter la solubilisation puis stérilisés à l'autoclave durant 15 mn à 121°C. La stérilité des solutions d'extraits a été vérifiée en ensemençant des aliquotes de chaque solution sur le milieu Mueller Hinton et incubée à 37 °C pendant 48 heures.

Méthode d'évaluation de la sensibilité des souches microbiennes à l'extrait et aux fractions

Deux méthodes ont été utilisées. La première est le test de diffusion en milieu solide décrit par Tsirinirindravo et al., (2009), qui a été utilisé pour évaluer la sensibilité des souches microbiennes à l'extrait et aux fractions. Chaque inoculum a été ensemenché par écouvillonnage sur des boîtes de Pétri contenant la gélose Mueller-Hinton II. Ensuite, 50 µL de chaque solution d'échantillon à tester ont été déposés dans les puits précédemment creusés. Les boîtes de Pétri ont été laissées pendant 1 heure à la température ambiante pour une pré-diffusion des substances, avant d'être incubées à 37 °C à l'étuve pendant 18 heures (Oke et al., 2013). Des disques d'antibiotiques standards (ciprofloxacine, cotrimoxazole, chloramphénicol) ont été également utilisés pour servir de témoins positifs. L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque puit (confère Tableau 1).

Tableau 1: Norme utilisée pour la lecture des résultats des tests d'antibiogramme sur des extraits de plante.

Détermination du halo d'inhibition (Δ)	Degré de sensibilité du germe
$\Delta < 7$ mm	Insensible
$7 \text{ mm} \leq \Delta < 8$ mm	Sensible
$8 \text{ mm} \leq \Delta < 9$ mm	Assez sensible
$\Delta \geq 9$ mm	Très sensible

Sources: OMS 2002 ; Tsirinirindravo et al. 2009.

Détermination du pouvoir antibactérien

Le test de microdilution dans des microplaques à 96 puits, inspiré de la technique de l'OMS (2002) a été utilisé pour déterminer les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et les Concentrations Minimales bactéricides (CMB) afin de déduire le pouvoir antibiotique (PA) de l'extrait et des fractions. Cent microlitres de milieu Mueller-Hinton Broth (MHB) ont été déposés dans tous les puits de la microplaque. 100 μ L de la solution mère d'extrait ou des fractions, ont été déposés dans le 1er puits. Après mélange, 100 μ L du mélange ont été prélevés et dilués dans le puits suivant et ainsi de suite de sorte à obtenir une gamme de concentration de notre extrait allant de 10 mg/mL à 0,020 mg/mL. Ensuite 50 μ L de la suspension bactérienne ont été ajoutés dans chaque puits. Les microplaques couvertes avec du papier para film et placées à l'étuve à 37 °C pour être incubées pendant 18 heures. la CMI d'un extrait vis-à-vis d'une souche bactérienne donnée est la plus petite des concentrations qui ne montre aucune croissance visible de la bactérie à l'œil nu. La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) a été déterminée par ensemencement des contenus de tous les puits après la détermination de la CMI sur milieu gélosé Mueller Hinton et incubés à 37 °C pendant 18 à 24 heures. La plus faible concentration de l'extrait qui n'a laissé survivre aucune bactérie, a correspondu à la CMB. Le pouvoir antibiotique (PA) des extraits a été déterminé en effectuant le rapport de la CMB sur la CMI. S'il est supérieur ou égal à 4 l'extrait est bactériostatique, s'il est inférieur à 4, l'extrait est bactéricide.

RESULTATS

Les groupes phytochimiques identifiés dans l'extrait brut des feuilles de *Anogeissus leiocarpa* sont les alcaloïdes, les tanins (catéchiques et galliques), les flavonoïdes, les

leucoanthocyanes, les dérivés quinoniques, les saponosides et les composés réducteurs. Les résultats de l'analyse phytochimique sont présentés dans le Tableau 2.

Les résultats obtenus après le test d'inhibition sur les différents microorganismes pour l'extrait éthanolique et les 03 fractions dérivées des feuilles de *Anogeissus leiocarpa* sont donnés dans le Tableau 3. Les extraits et fractions testés ont tous montré une efficacité à divers degrés sur la majorité des germes utilisés. En effet on a observé une très grande sensibilité de tous les germes vis-à-vis de l'extrait éthanolique et de la fraction d'acétate d'éthyle avec des diamètres d'inhibition obtenus tous supérieurs à 9 mm. Pour la fraction butanolique, 6 germes sur les 7 étudiés ont été très sensibles et enfin pour la fraction cyclohexanique 3 germes sur 7 étudiés, ont été très sensibles. Toutefois cette dernière fraction, est la seule à n'avoir montré aucune efficacité vis-à-vis de *Klebsiella Pneumoniae*.

Les résultats des paramètres antibactériens (CMI et CMB) et la détermination du pouvoir antibactérien (PA) de l'extrait éthanolique des feuilles de *Anogeissus leiocarpa* et des 03 fractions dérivées, sont consignés dans le Tableau 4. Les CMI obtenues pour l'extrait et les fractions testés sur les différents germes sont comprises entre 1,25mg/mL et 5 mg/mL tandis que les CMB sont comprises entre 1,25mg/mL et 10 mg/mL. D'une manière générale on note que l'extrait éthanolique ainsi que les 3 fractions dérivées ont toutes montré une action bactéricide contre *E coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 avec un PA < 4. Par contre l'activité de cet extrait ainsi que ces fractions est de type bactériostatique sur *Pseudomonas aeruginosa* (c) et *Proteus mirabilis* ATCC 24974 avec un PA \geq 4.

Tableau 2 : Criblage phytochimique de l'extrait éthanolique brut.

Groupes phytochimiques	Extrait éthanolique brut
Alcaloïdes	+
Tanins catéchiques	+
Tanins galliques	+
Flavonoïdes	+
Anthocyanes	-
Leucoanthocyanes	+
Dérivés quinoniques	+
Saponosides	+
Triterpénoïdes	-
Stéroïdes	-
Cardénolides	-
Dérivés Cyanogénés	-
Mucilages	-
Coumarines	-
Composés réducteurs	+
Anthracéniques libres	-
O-Hétérosides	-
C-Hétérosides	-

Le signe + traduit la présence du groupe de composés chimiques en quantité supérieure au seuil de détection, et le signe - traduit une réaction négative.

Tableau 3 : Diamètres des zones d'inhibition des substances testées.

Souches Bactériennes	Nature de la souche	Diamètres de zones d'inhibition (mm)				Antibiotiques de référence		
		EE	EFC	EAC	EFB	Cipro (30µg)	Cotrim (25µg)	Chloram (30µg)
Bacille GRAM -								
<i>P. aeruginosa</i> (c)	Souche isolée	11±1 ^c	8±1 ^b	13±1 ^c	8±1 ^b	28±1	21±1	25±1
<i>E. coli</i> (c)	Souche isolée	18±1 ^c	11±1 ^c	15±1 ^c	20±1 ^c	32±2	23±2	28±0
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Souche de référence	19±1 ^c	8±1 ^b	20±2 ^c	17±2 ^c	32±1	22±1	27±1
<i>P. mirabilis</i> ATCC 24974	Souche de référence	15±1 ^c	7±1 ^a	16±2 ^c	15±1 ^c	30±1	22±2	26±2
<i>K. pneumoniae</i> (c)	Souche isolée	14±1 ^c	5±1 ⁱ	14±1 ^c	14±2 ^c	30±1	24±1	27±2
Cocci GRAM +								
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	Souche de référence	22±1 ^c	10±1 ^c	19±2 ^c	21±1 ^c	30±1	24±1	23±1
<i>S. aureus</i> (c)	Souche isolée	17±2 ^c	9±2 ^c	22±2 ^c	20±1 ^c	30±2	24±1	22±2

a = Sensible ; b = Assez sensible ; c = Très sensible ; i = Insensible ; EE = Extrait éthanolique ; EFC = Fraction cyclohexanique ; EAC = Fraction d'acétate d'éthyle ; EFB = Fraction butanolique.

Tableau 4 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) et concentration minimale bactéricide (CMB) de l'extrait éthanolique et 03 fractions dérivées.

Souches bactériennes	Extrait Éthanolique			Fraction Cyclohexanique			Fraction Acétate d'éthyle			Fraction Butanolique		
	CMI	CMB	PA	CMI	CMB	PA	CMI	CMB	PA	CMI	CMB	PA
B. Gram -												
<i>P. aeruginosa (c)</i>	2,5	10	4	2,5	10	4	2,5	10	4	2,5	10	4
<i>E. coli ATCC 25922</i>	2,5	2,5	1*	2,5	2,5	1*	5	5	1*	5	5	1*
<i>E. coli (c)</i>	2,5	10	4	2,5	10	4	2,5	2,5	1*	2,5	2,5	1*
<i>P. mirabilis ATCC 24974</i>	1,25	10	8	2,5	10	4	1,25	10	8	1,25	10	8
<i>K. pneumoniae (c)</i>	1,25	2,5	2*	5	> 10	-	2,5	5	2*	5	10	2*
C. Gram +												
<i>S. aureus ATCC 25923</i>	2,5	2,5	1*	2,5	2,5	1*	1,25	1,25	1*	5	10	2*
<i>S. aureus (c)</i>	2,5	2,5	1*	2,5	10	4	1,25	5	4	5	10	2*

PA = CMB/CMI ; PA avec * = Pouvoir bactéricide ; PA sans * = Pouvoir bactériostatique ; CMB et CMI en mg/mL.

DISCUSSION

L'étude phytochimique de l'extrait éthanolique des feuilles de *Anogeissus leiocarpa* a permis de mettre en évidence la présence d'alcaloïdes, de tanins catéchiques, de tanins galliques, de flavonoïdes, de leucoanthocyanes, de dérivés quinoniques, de saponosides et des composés réducteurs. Ces résultats sont similaires à ceux de Salau et al. (2013) réalisés sur l'écorce du tronc de *Anogeissus leiocarpa* mais différents de ceux obtenus par Yemoa et al. (2008) et ceux de Ademola et al. (2011) qui ont révélé l'absence d'alcaloïdes, de dérivés quinoniques et de flavonoïdes. La différence de nature des extraits testés, peut expliquer ces différences.

En ce qui concerne l'activité bactérienne, ces résultats sont conformes à ceux de Ikram et al. (2015). Par contre ils divergent de ceux de Mann et al. (2003) qui malgré une concentration de 50 mg/mL d'extrait, n'ont obtenu qu'une faible activité (zone d'inhibition de 9 mm) sur *Staphylococcus aureus* et pas d'activité sur *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia Coli*. Ces différences peuvent s'expliquer par une différence de composition ou de concentration en substances actives dans la plante, pouvant

être liée à des différences de moment de récolte où de lieu de collecte.

Si l'on peut considérer au regard des résultats obtenus que l'extrait éthanolique et les fractions dérivées ont un large spectre bactérien autant sur des bactéries Gram + que Gram -, aucune des fractions n'a cependant présenté une activité antibactérienne supérieure à l'extrait. Ce qui laisse penser que le fractionnement de l'extrait censé concentrer dans les fractions certains groupes phytochimiques spécifiques, n'a pas amélioré l'activité antibactérienne. L'activité antibactérienne dans l'extrait serait donc liée à un effet synergique entre les différents groupes phytochimiques présents que sont les alcaloïdes, les tannins, les flavonoïdes et les saponosides possédant tous selon la littérature une activité antibactérienne. (Moroh et al. 2008, Sourabie et al. (2010), Bagre et al. (2014), Mamadou et al. (2014), Sanogo et al. (2016), Kouadio et al. (2017))

Par ailleurs les antibiotiques de références ont montré des activités antibactériennes plus importantes que celles des substances végétales testées, avec des diamètres de zone d'inhibition significativement supérieurs ($p < 0,05$). Ceci

s'explique par le fait que les antibiotiques de références sont des molécules isolées, pures et de concentrations connues Sourabie et al. (2010), tandis que tout aussi bien l'extrait éthanolique que les fractions sont des mélanges non purifiés de substances actives que sont les composés du métabolisme secondaire.

Au regard du rapport d'activité CMB/CMI, l'ensemble des substances testées peut selon la souche en présence, prétendre à une activité soit de type bactéricide ou bactériostatique. Cependant toutes ont montré une activité bactéricide contre les souches *E. coli* (ATCC 25922) et *S. aureus* (ATCC 25923) et *Klebsiella Pneumoniae*. Ce pouvoir bactéricide de l'extrait éthanolique de *Anogeissus leiocarpa* contre *E. Coli* et *S. aureus* pourrait justifier en partie l'utilisation de cette plante en médecine traditionnelle contre certaines pathologies. C'est le cas notamment des diarrhées et les infections cutanées (Mann et al., 2008) dans lesquelles ces deux germes seraient habituellement impliqués.

Conclusion

Cette étude a permis de mettre en évidence l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique des feuilles de *Anogeissus leiocarpa* sur la totalité des souches isolées et de références testées, qu'elles soient Gram+ ou Gram -. Cette activité est de nature majoritairement bactéricide. Elle reste cependant moins importante comparativement à celles des antibiotiques de référence utilisées. Le fractionnement de cet extrait éthanolique, en différentes fractions n'a pas amélioré l'activité antibactérienne, confortant ainsi l'utilisation de l'extrait éthanolique de *Anogeissus leiocarpa* en milieu traditionnel pour la prise en charge de maladies infectieuses d'origine bactériennes. Des études complémentaires visant à confirmer *in vivo* cette activité antibactérienne ainsi que des essais de toxicité aiguë à partir de l'extrait éthanolique de *Anogeissus leiocarpa* permettraient le développement d'un médicament à base plante efficace et sûr pour nos populations.

CONFLIT D'INTERETS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts.

CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

HG a coordonné l'ensemble des tests, analysé les données et rédigé le premier draft du manuscrit. J-PH a collecté l'échantillon et réalisé les études phytochimiques et les tests antimicrobiens. AGA a participé à la relecture du manuscrit. HSB a fourni les souches bactériennes et supervisé les tests antimicrobiens. GJ a validé le protocole d'étude et le manuscrit final.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les équipes du laboratoire de pharmacognosie et des huiles essentielles de l'ISBA et du Laboratoire National du Ministère de la Santé, pour leur assistance technique et la mise à disposition de souches bactériennes pour la réalisation de ce travail.

REFERENCES

- Ahmad I, Beg AZ. 2001. Antimicrobial and Phytochemical Studies on forty five Indian medicinal plants against multidrug resistance Human pathogen. *Journal of Ethnopharmacology*, **74**: 103-123. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(00\)00335-4](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00335-4).
- Bagre I, Ouattara K, Yoro B, Meite S, Coulibaly A. 2014. Mise en évidence des propriétés antistaphylococciques des flavonoïdes totaux de *Thonningia sanguinea* (Vahl), une plante de la pharmacopée ivoirienne. *Phytothérapie*, **12**(6): 360-363. DOI: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10298-014-0835-9>
- Bammou M, Daoudi A, Slimani I, Najem M, Bouiamrine EH, Ibjibien J, Nassiri L. 2015. Valorisation du lentisque «*Pistacia lentiscus* L.» : Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *J. Appl. Biosci*, **86**: 7966-7975. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/jab.v86i1.4>

- Ben F, Romdan CH, Bougerra O, Sahnoun CH, Loussaies V, Kacem M, Mastouri R, Tavka-Stanbouli M, Chakroun V, Bouzouaïa N. 2005. Les bactéries multi résistantes isolées chez les malades hospitalisés dans un service de maladies infectieuses. *Tin Infectiol*, **1**(4): 12-15.
- Gangoue PJ. 2007. Caractérisation des bêta-lactamases et leur inhibition par les extraits de plantes médicinales. Thèse de Doctorat en biochimie. Liège : Université de Liège-Belgique; 104 p.
- Hoekou YP, Batawila K, Gbogbo KA, Karou DS, Ameyapoh Y, SOUZA C. 2012. Evaluation des propriétés antimicrobiennes de quatre plantes de la flore togolaise utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement des diarrhées infantiles. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **6**(6): 3089-3097. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v6i6.10>
- Houghton PJ, Raman A. 1998. *Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts*. Springer US: New-York; 208 p.
- Ikram MEE, Abdel KM, Hiba ARA, Saad MHA. 2015. A comparative study of antimicrobial activity of the extracts from root, leaf and stem of *Anogeissus leiocarpus* growing in Sudan. *J Pharmacogn Phytochem.*, **4**(4): 107-113. DOI: <http://dx.doi.org/10.22271/phyto>
- Kouadio N'guessan J, Kone MW, Guessenn NK, Konan KF, Moussa B, Yao K, Allagba-Atsain MR, Tra-Bi FH, Bakayoko A, Dosso M. 2017. Evaluation de l'activité antibactérienne des feuilles de *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae) sur la croissance in-vitro de souches d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (EBLSE) et tri phytochimique. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, **20**(2): 431-440.
- Mann A, Gbate M, Umar NA. 2003. *Medicinal and Economic Plants from Nupeland*. Jube Evans Books and Publications: Nigeria; 67 p.
- Mamadou RS, Moussa I, Sessou P, Yehouenou B, Agbangnan PDC, Illagouma AT, Abdoulaye A, Sohounhloùé DCK, Ikhiri K. 2014. Etude phytochimique, activités antiradicalaire, antibactérienne et antifongique d'extraits de *Sebastiania chamaelea* (L.) Müll, Arg. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim*, **37**: 10-17.
- Mann A, Yahaya Y, Bansa A, Ajayi GO. 2008. Phytochemical and antibacterial screening of *Anogeissus leiocarpus* against some microorganisms associated with infectious wounds. *Afr. J. Microbiol. Res.*, **2**: 060-062. DOI: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.1019.1427&rep=rep1&type=pf>
- Moroh J-L A, Bahi C, Dje K, Loukou YG, Guede-Guina F. 2008. Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker) milne-redheat (rubiaceae) sur la croissance in-vitro des souches d'*Escherichia coli*. *Bull Soc R. Sci. Liège*, **77**: 44-61.
- Oke MA, Bello AB, Odebisi MB, Ahmed AM, Kazeem MO. 2013. Evaluation of antibacterial efficacy of some alcohol-based hand sanitizers sold in Ilorin (north-central Nigeria). *Ife J. Sci.*, **15**(1): 111-117.
- Olakunle OK, Mark L, Biaffra E, Andrew G, Henrietta A, Victor RG. 2005. Effects of Root Extracts of *Fagara zanthoxyloides* on the In Vitro Growth and Stage Distribution of *Plasmodium falciparum*. *Antimicrob Agents Chemother*, **49**(1): 264-268. DOI: <https://dx.doi.org/10.1128%2FAAC.49.1.264-268.2005>
- Olutayo O, Doyinsola I, Simon O, Abayomi O, Thomas S. 2011. Phytochemical and antioxidant properties of some Nigerian medicinal plants. *Am. J. Sci. Ind. Res.*, **4**: 328-332. DOI: [10.5251/ajsir.2013.4.3.328.332](https://doi.org/10.5251/ajsir.2013.4.3.328.332)
- OMS. 2002. L'utilisation des antimicrobiens en dehors de la médecine humaine et les résistances qui en résultent chez l'homme. Aide-Mémoire N°268 Genève.

- OMS. 2014. Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle 2014-2023. Genève: Presse OMS ; [consulté le 11 Décembre 2017]. 164 p.
- OMS. 2015. Statistiques sanitaires mondiales. Genève: Presse OMS; 164 p.
- Rotimi VO, LaughonBE, Bartlett JG, Mosadomi HA. 1988. Activities of Nigerian Chewing stick extracts against *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides melanino-genicus*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **32**: 598–600. DOI: 10.1128/AAC.32.4.598
- Salau AK, Yakubu MT, Oladiji AT. 2013. Cytotoxic activity of aqueous extracts of *Anogeissus leiocarpa* and *Terminalia avicennioides* root barks against Ehrlich ascites carcinoma cells. *Indian J Pharmacol.*, **45**(4): 381-385. DOI: 10.4103/0253-7613.115023.
- Sanogo Y, Guessenn NK, Tra-Bi HF, Kouadio NJ, Konan FK, Bamba M Danho N, Bakayoko A, Yao K, Dosso M. 2016. Evaluation in vitro de l'activité des écorces de tige de *Anogeissus leiocarpa* (DC) Guill. et Perr. (Combretaceae) sur des bactéries responsables de maladies courantes en Afrique et criblage phytochimique. *Int J Biol Chem Sci.*, **10**(3): 1139-1152. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v10i3.19>
- Sourabie TS, Nikiema J-B, Lega I, Nacoulma OG, Guissou IP. 2010. Etude in vitro de l'activité antibactérienne d'extraits d'une plante de la pharmacopée burkinabé: cas de *Argemone mexicana* L. (Papaveraceae). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **4**(6): 2009-2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v4i6.64954>
- Treki S, Merghem AR, Dehimat L. 2009. Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée : *Thymus hirtus*. *Sciences Technologie-C*, **29** : 25-29.
- Tsirinirindravo LH, Andrianarisoa B. 2009. Activités antibactériennes de l'extrait des feuilles de *Dalechampia clematidifolia* (Euphorbiaceae). *Int J Biol Chem Sci.*, **3**(5): 1198-1202. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v3i5.51098>
- Yemoa AL, Gbenou JD, Johnson RC, Djego JG, Zinsou C, Moudachirou M, Quetin-Leclercq J, Bigot A, Portaels F. 2008. Identification et étude phytochimique de plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'ulcère de Buruli au Bénin. *Ethnopharmacologia*, **42**: 48-55.
- Zihiri G, Kra A. 2003. Evaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pirifolia* (LARMARCK) O. KUNTZE (Asteraceae) « PYMI » sur la croissance in vitro de *Candida albicans*. *Méd Pharm Afr.*, **17**: 11-19.