



Original Paper

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

<http://indexmedicus.afro.who.int>

Caractérisation phytochimique et étude de l'activité antimicrobienne d'extraits de feuilles de trois plantes de la flore sénégalaise : *Detarium senegalense*, *Detarium microcarpum* et *Piliostigma reticulatum*

Elhadji Ousmane FAYE¹, Rokhaya GUEYE^{1*}, Abdoulaye DIOP², Idrissa Wagane FAYE¹, Pape Issakha DIEYE¹, Harouna TIRERA¹, Thierno Mouhamed WANE¹, Kady DIATTA BADJI³, Mbaye DIENG³, Assane DIENG², Amadou DIOP², Khadidiatou THIAM¹, Serigne Omar SARR¹, Amadou DIOP¹, Bara NDIAYE¹, Cheikh Saad Bouh BOYE² et Yérim Mbagnick DIOP¹

¹ Laboratoire de Chimie Analytique et Bromatologie, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie, Université Cheikh Anta DIOP, B.P. 5005, Dakar-Fann, Sénégal.

² Unité de Recherche et de Biotechnologie Microbienne, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie, Université Cheikh Anta DIOP, Hôpital Aristide Le Dantec, B.P. 3001, Dakar, Sénégal.

³ Laboratoire de Pharmacognosie et Botanique, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie, Université Cheikh Anta DIOP, B.P. 5005, Dakar-Fann, Sénégal.

*Auteur correspondant; E-mail : rokhaya2.gueye@ucad.edu.sn

REMERCIEMENTS

Nous remercions le "Ministère de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche et de l'Innovation (MESRI)" pour la subvention accordée au second auteur, dans le cadre du "Projet d'Appui à la Promotion des Enseignantes-chercheuses du Sénégal (PAPES)".

Received: 17-09-2021

Accepted: 05-01-2022

Published: 28-02-2022

RESUME

Detarium senegalense, *Detarium microcarpum* et *Piliostigma reticulatum* sont trois plantes de la flore sénégalaise, utilisées en médecine traditionnelle pour la prise en charge de maladies infectieuses. Cette étude visait à déterminer *in vitro* l'activité antimicrobienne d'extraits et de fractions de feuilles de ces plantes sur différentes souches (*Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*). Les méthodes de diffusion en milieu solide et de dilution en milieu liquide ont été utilisées pour la détermination des Diamètres d'Inhibition (DI) et des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI). Le screening phytochimique a été réalisé par des tests de caractérisation reposant sur des réactions physico-chimiques et par chromatographie sur couche mince. Sur l'ensemble des échantillons testés, seule la fraction dichlorométhanique de *P. reticulatum* était inactive sur les souches bactériennes étudiées. Les DI variaient entre 10 et 23 mm pour les échantillons actifs. Les CMI étaient comprises entre 0,0293 et 2,50 mg/mL. Les fractions d'acétate d'éthyle étaient les plus actives. Les familles de molécules suivantes ont été identifiées : tanins, flavonoïdes et saponosides. Les teneurs en polyphénols totaux variaient de 0,66 à 19 mg équivalent acide tannique/g. Cette étude a montré que les extraits des trois plantes sont dotés d'un fort pouvoir antimicrobien et contiennent plusieurs familles de composés chimiques.

© 2022 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés : Activité antimicrobienne, caractérisation phytochimique, *Detarium microcarpum*, *Detarium senegalense*, *Piliostigma reticulatum*.

Phytochemical characterization and study of antimicrobial activity of three plants from Senegalese flora leaf extracts: *Detarium senegalense*, *Detarium microcarpum* and *Piliostigma reticulatum*

ABSTRACT

Detarium senegalense, *Detarium microcarpum* and *Piliostigma reticulatum* are three plants of Senegalese flora, used in traditional medicine for infectious diseases' treatment. This study aimed to determine the *in vitro* antimicrobial activity of leaf extracts and fractions of these plants on different strains (*Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*). Solid diffusion and liquid dilution methods were used for the determination of Inhibition Diameters (IDs) and Minimum Inhibitory Concentrations (MICs). Phytochemical screening was carried out through characterisation tests based on physicochemical reactions and thin-layer chromatography. Among all the samples tested, only the dichloromethane fraction of *P. reticulatum* was inactive on bacterial strains. The IDs ranged from 10 to 23 mm for active samples. MICs ranged from 0.0293 to 2.50 mg/mL. The ethyl acetate fractions were the most active. Following molecules families have been identified: tannins, flavonoids and saponosides. Total polyphenol contents ranged from 0.66 to 19 mg tannic acid equivalent/g. This study showed that leaf extracts of these three plants have significant antimicrobial power and contained several chemical compounds' families.

© 2022 International Formulae Group. All rights reserved.

Keywords: Antimicrobial activity, phytochemical characterization, *Detarium microcarpum*, *Detarium senegalense*, *Piliostigma reticulatum*.

INTRODUCTION

L'émergence et la diffusion de résistances aux antibiotiques représentent une réelle menace pour la santé publique mondiale (Ouedraogo et al., 2017). La situation est alarmante dans les pays à ressources limitées où les maladies infectieuses, la pauvreté et la malnutrition sont endémiques. De plus, les lacunes dans le domaine de la santé, notamment en termes de ressources humaines et/ou de capacité diagnostique, associées à un accès non réglementé aux antibiotiques, contribuent au développement de la résistance bactérienne (Alsan et al., 2015). L'émergence de cette dernière est un processus complexe impliquant souvent des facteurs environnementaux, de l'hôte et du pathogène (Aminov, 2010).

Face à ces nombreux obstacles que présente l'utilisation des antimicrobiens disponibles, il est indispensable de rechercher de nouvelles substances efficaces et à large spectre d'action. Par ailleurs, les plantes médicinales constituent une source importante de molécules bioactives qui pourraient être exploitées dans la thérapie des maladies infectieuses (Talbaoui et al., 2012) comme le

montrent plusieurs études ethnopharmacologiques ayant conduit à l'identification de substances antimicrobiennes (Raja et al., 2010 ; Tatsimo et al., 2017). Au Sénégal et dans la sous-région, plusieurs plantes sont utilisées dans la pharmacopée, telles que *Detarium senegalense*, *Detarium microcarpum* et *Piliostigma reticulatum*. En ethnomédecine africaine, l'écorce de *Detarium microcarpum* est employée pour traiter la rougeole, les démangeaisons, l'hypertension, la nycturie et la fatigue, tandis que la décoction de feuilles ou de racines est prescrite pour la paralysie, la méningite, la fatigue, les crampes et les accouchements difficiles (Kouyate, 2005). Les feuilles, les racines et l'écorce du tronc de *Detarium microcarpum* sont également utilisées au Burkina Faso par les Sanans dans le traitement des infections, des troubles musculo-squelettiques, cutanés, digestifs, nutritionnels et de grossesse (Zerbo et al., 2011). L'écorce de *Detarium senegalense* est efficace dans le traitement de l'anémie et pour éjecter le placenta retenu. Il est macéré dans du vin de palme au Sénégal pour la bronchite et la pneumonie (Sowemimo et al., 2011). L'usage de *Piliostigma reticulatum* est

retrouvé dans le traitement de nombreuses pathologies : syphilis, dysenterie, bronchite, lèpre, maux de gorge, pneumonie, diarrhée, paludisme et méningite (Yelemou et al., 2007). D'autres utilisations médicales sont contre la toux, la bronchite, le paludisme, les affections hépato-biliaires, l'hydropsie, la stérilité et la kwashiorkor (Tira-Picos et al., 2010). Cette étude portait sur l'identification de familles de composés chimiques ainsi que l'évaluation de l'activité antimicrobienne d'extraits et de fractions de feuilles de ces trois plantes.

MATERIEL ET METHODES

Matériel végétal

Une recherche bibliographique a orienté l'étude sur les feuilles de *Detarium microcarpum* et *Detarium senegalense*. Des extraits de différents organes de ces plantes ont montré une inhibition bactérienne, les feuilles ont cependant été très peu étudiées (Kubmarawa et al., 2007 ; Sowemimo et al., 2011 ; Abubakar et al., 2017). Par ailleurs, une enquête ethnobotanique a été effectuée auprès de tradipraticiens dans trois communes de la région de Kaolack (Kaolack, Nioro du Rip et Khelcom Birame) au Sénégal, entre Avril et Mai 2018. Cette étude a révélé que *Piliostigma reticulatum* était employé dans la prise en charge de diverses pathologies.

Le matériel végétal utilisé dans ce travail est constitué de feuilles de *Piliostigma reticulatum* (DC.) Hoschst récoltées dans le village de Touba Diaglé (commune de Khelcom Birame, département de Guinguinéo, région de Kaolack) en Mai 2018, de *Detarium microcarpum* Guill. & Perr (feuilles jeunes et adultes) collectées respectivement dans le village de Ndiao Bambaly (commune de Diamagadio, département de Kaffrine, région de Kaffrine) en Mai et Septembre 2016 et de *Detarium senegalense* JF Gmel (chimiotypes comestible et toxique) récoltées dans la commune de Thionck Essyl (département Bignona, région de Ziguinchor) en Avril 2016.

L'identification de ces plantes a été réalisée par des spécialistes du Laboratoire de Pharmacognosie et Botanique de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie de

l'Université Cheikh Anta DIOP de Dakar, où un herbier a été déposé.

Microorganismes testés

La capacité antimicrobienne des extraits et fractions a été évaluée sur six souches microbiennes de référence : trois bactéries à Gram (-), deux à Gram (+) et une levure. Il s'agit de *Klebsiella oxytoca* ATCC 43648, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 et *Candida albicans* ATCC 6258. Ces souches étaient disponibles au sein de l'Unité de Recherche et de Biotechnologie Microbienne de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie de l'Université Cheikh Anta DIOP, située dans l'enceinte de l'Hôpital Aristide Le Dantec de Dakar.

Antimicrobiens de référence

L'ofloxacine (disque de 5 µg, Bio-Rad), la ceftazidime (disque de 30 µg, Bio-Rad) et la Povidone iodée 10% dermique (Valdafrique) ont été utilisés comme contrôles négatifs.

Milieux de culture

Les milieux de culture Mueller-Hinton (MH) et Sabouraud ont été utilisés pour évaluer l'activité antimicrobienne.

Extraction

Les feuilles ont été séchées au laboratoire dans un endroit sec, aéré, à l'abri de la lumière puis pulvérisées à l'aide d'un broyeur (Brabenderg OHG Dursburg).

Une quantité de 150 g de poudre de feuilles de chaque plante a été délipidée par macération dans 500 mL de cyclohexane ou éther de pétrole durant 24h. Après filtration sur coton hydrophile, le marc a été macéré avec 200 mL du même solvant pendant 48h à deux reprises. Les filtrats rassemblés ont été évaporés sous pression réduite (Nassirou et al., 2015). Les marcs séchés ont ensuite été macérés dans 500 mL d'éthanol pendant 24h puis avec 300 mL du même solvant pendant 48h à deux reprises. Les filtrats rassemblés ont été évaporés sous pression réduite afin d'obtenir les extraits éthanoliques.

Fractionnement

Une quantité de 15 ou 20 g des extraits éthanoliques secs a été dissoute dans 120 mL d'eau distillée. La suspension obtenue a été extraite trois fois en utilisant un volume total de 240 mL de dichlorométhane. La phase aqueuse a par la suite été extraite de manière identique par l'acétate d'éthyle. Les phases organiques et la phase aqueuse ont été évaporées sous pression réduite pour donner les trois fractions (dichlorométhane, acétate d'éthyle et aqueuse).

Screening phytochimique

Les tanins, alcaloïdes, saponosides et flavonoïdes ont été recherchés par les méthodes de caractérisation décrites par Bekro et al. (2007) et Brou et al. (2010). Les tanins ont été identifiés à l'aide d'une solution aqueuse de chlorure ferrique à 2%, les saponosides par le test de mousse, les alcaloïdes avec les réactifs de Dragendorff et de Mayer et les flavonoïdes par chromatographie sur couche mince (éluant : acétate d'éthyle/butanol/eau 10/40/50) avec le réactif de Neu et le chlorure d'aluminium à 2% comme révélateurs.

Dosage des polyphénols totaux

La méthode colorimétrique de Folin-Denis, décrite par Bassène (2012), a été mise en œuvre. Une quantité de 2,5 mg de chaque échantillon sec a été dissoute dans 12,5 ml de diméthylsulfoxyde (DMSO) avant de compléter à 100 mL avec de l'eau distillée. Après agitation, les solutions non limpides ont été filtrées sur papier Whatman. Chaque solution à analyser a été composée comme suit : 2,5 ml de solution d'extrait ou de fraction, 0,5 ml du réactif de Folin-Denis et 0,5 ml d'une solution aqueuse saturée de carbonate de sodium (n=2). Un échantillon témoin a été préparé dans les mêmes conditions, en substituant l'extrait par le mélange de solvant eau / DMSO : 87,5 / 12,5. Après centrifugation des tubes à essais pendant 5 minutes à 4000 tours/min, l'absorbance a été lue au spectrophotomètre au 670 nm. Une gamme d'étalon externe d'acide tannique a été

préparée dans les mêmes conditions avec des concentrations allant de 0 à 20 mg/L.

Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des différents extraits et fractions a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu solide pour déterminer les Diamètres d'Inhibition (DI). Le milieu Sabouraud a été utilisé pour la levure *Candida albicans* et le milieu Mueller-Hinton pour les souches bactériennes. La quantification des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu liquide, pour les échantillons auxquels un DI était associé.

Détermination des diamètres d'inhibition

➤ Préparation des milieux

Les milieux de Mueller-Hinton et de Sabouraud ont été respectivement préparés selon les instructions des fabricants : 38 g de gélose Mueller-Hinton et 32,525 g de gélose Sabouraud ont été dissoutes respectivement dans 1 L et 500 mL d'eau distillée. Les deux solutions ont été portées à ébullition avant stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. Les milieux ont ensuite été placés dans des boîtes de Pétri (diamètre 9 cm) de manière homogène pour solidification à température ambiante puis conservés au réfrigérateur avant usage.

➤ Préparation des inocula microbiens

Les différentes souches microbiennes ont été repiquées puis incubées à 37°C pendant 18 à 24 h afin d'obtenir des cultures jeunes et des colonies bien isolées. Ces dernières ont été utilisées pour la préparation des inocula de densité cellulaire ajustée à 0,5 McFarland.

➤ Ensemencement

Un écouvillon a été trempé dans les tubes contenant les inocula puis son contenu étalé à la surface entière de chaque boîte contenant les milieux Mueller-Hinton ou Sabouraud, en veillant à avoir une distribution homogène de l'inoculum. Dans chaque boîte ensemencée, 5 échantillons d'extraits et fractions, à 20 mg/mL dans du DMSO, ont été déposés en raison de 100 µL dans des puits. Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 h. L'absence de croissance microbienne se traduit

par la présence d'une zone d'inhibition autour des puits dont le diamètre était mesuré à l'aide d'un pied à coulisse.

Détermination des concentrations minimales inhibitrices

La méthode de diffusion en milieu liquide a été utilisée pour déterminer les CMI des extraits et fractions à l'aide de plaques 96 puits (Oke et al., 2009). Une solution mère de 20 mg/mL dans le DMSO de chaque échantillon a été préparée. Chaque puits a été inoculé avec 100 µL de Bouillon Mueller-Hinton (BMH) ou Sabouraud puis 100 µL de la solution mère ont été ajoutés dans la première colonne. Une série de dilution de raison géométrique 1/2, de la solution mère, a été réalisée jusqu'aux puits de la colonne 10, dans le Bouillon Mueller-Hinton ou Sabouraud, afin d'avoir une gamme de concentrations allant de 10 mg/mL à 19 µg/mL. Un volume de 20 µL de l'inoculum microbien à 0,5 McFarland, dilué au centième, a été ensuite introduit dans chaque puits de la plaque sauf ceux de la colonne 12. La colonne 11 était le contrôle positif (inoculum et BMH ou Sabouraud) et la colonne 12 correspondait au contrôle négatif (BMH ou Sabouraud sans inoculum). Les plaques ont été incubées à l'étuve à 37°C pendant 24h (Konan et al., 2014). La CMI est la concentration minimale d'extrait ou de fraction n'ayant démontré aucune croissance microbienne visible après incubation (Oke et al., 2009).

Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide de Microsoft Excel version 2013. La comparaison des moyennes des variables entre les groupes expérimentaux a été effectuée par le test t de Student et $p < 0,05$ a été considéré comme statistiquement significatif.

RESULTATS

Screening phytochimique

La présence de tanins, flavonoïdes et saponosides a été mise en évidence (Tableaux 1 à 3) en fonction des extraits et fractions. Les flavonoïdes étaient les métabolites les plus présents tandis que les alcaloïdes n'ont pas été détectés. Les tanins ont été décelés dans les

extraits éthanoliques et les fractions acétate d'éthyle mais étaient absents dans les fractions dichlorométhane ainsi que les fractions aqueuses de *P. reticulatum* et *D. senegalense* à chimiotype toxique. Les saponosides ont été détectées dans les fractions acétate d'éthyle excepté celle de *P. reticulatum*, aqueuses et extraits éthanoliques ; mais étaient absentes dans les fractions dichlorométhane.

Teneur en polyphénols totaux des extraits et fractions

Les teneurs en composés phénoliques ont été déterminées à partir de la droite d'étalonnage ($y = 0,0463x$, $R^2 = 0,9932$). Les résultats obtenus sont présentés dans les Tableaux 4 à 6. Les Fractions d'Acétate d'Ethyle (FAE) des feuilles de *D. senegalense* à chimiotypes comestible et toxique ont présenté les plus grandes teneurs. Pour toutes les plantes, les Fractions aqueuses (Faq) et Fractions Dichlorométhaniques (FD) étaient moins riches en polyphénols, sauf *D. senegalense* (chimiotype toxique) et les jeunes feuilles de *D. microcarpum* dont les Extraits Ethanoliques (EE) renfermaient moins de ces composés.

Tests d'activité antimicrobienne

Les Diamètres d'Inhibition (DI) et les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) sont présentés dans les Tableaux 7 à 10. Les DI obtenus étaient comprises entre 10 et 23 mm pour des CMI variant de $2,93.10^{-2}$ à 7,5 mg/mL. L'EE de *P. reticulatum* et ses fractions avaient fortement inhibé certaines souches. Un DI de 20 mm a été obtenu avec la FAE sur *S. aureus* ainsi qu'avec la Faq sur *C. albicans*. Les souches bactériennes n'ont eu aucune sensibilité pour la FD. La FAE était active contre les cinq bactéries et la souche fongique. L'EE et la FAE ont eu une activité intéressante sur *E. faecalis* (CMI de 0,0293 mg/mL). Concernant les jeunes feuilles de *D. microcarpum*, *P. aeruginosa* a montré une sensibilité très importante vis-à-vis de la Faq (18 mm), la FAE (19 mm) et de l'EE (20 mm) ; de même pour *C. albicans* vis-à-vis de la FD (18 mm) et la FAE (23 mm). La FD était active contre les 6 souches. La meilleure inhibition a

été associée à cette fraction vis-à-vis de *S. aureus* (0,0586 mg/mL).

Pour les feuilles adultes de *D. microcarpum*, *P. aeruginosa* a montré une sensibilité intéressante vis-à-vis de la Faq (19 mm). Aucune activité n'a été relevé pour : l'EE sur *E. coli*, la Faq sur *E. faecalis* et *S. aureus* ainsi que la FD sur *E. coli* et *K. oxytoca*. La FAE des feuilles adultes de *D. microcarpum* a été active sur l'ensemble des six souches. L'activité la plus importante a été notée pour la FD (0,0293 mg/mL). Des CMI intéressantes (0,0586 mg/mL) avaient également été obtenues pour l'EE sur *K. oxytoca* et les FAE et FD sur *S. aureus*. *P. aeruginosa* a montré une sensibilité importante vis-à-vis de la FAE (20 mm) de *D. senegalense* à chimiotype comestible, de même que *C. albicans* vis-à-vis

de la Faq et la FD (19 mm). La FD n'a eu aucune activité sur *P. aeruginosa*, *E. coli*, *E. faecalis* et *K. oxytoca*. L'EE, la Faq et la FAE étaient également inactifs sur *E. coli*. L'EE et la FAE ont présenté une activité intéressante (0,0293 mg/mL) sur *E. faecalis*. *P. aeruginosa* a montré une sensibilité intéressante vis-à-vis de l'EE (18 mm) et des Faq et FAE (20 mm) de *D. senegalense* à chimiotype toxique. De même, *S. aureus* et *C. albicans* avaient également une forte sensibilité vis-à-vis de la FAE (18 mm). L'EE et la FAE de *D. senegalense* à chimiotype toxique étaient très actifs sur *E. faecalis* et *S. aureus* respectivement (0,0293 mg/mL). Une inhibition non négligeable (0,0878 mg/mL) a également été obtenue pour la FD sur *P. aeruginosa*.

Tableau 1 : Composition phytochimique des extraits et fractions de *P. reticulatum*.

Composés phytochimiques	EE	Faq	FAE	FD
Tanins	+	-	+	-
Alcaloïdes	-	-	-	-
Flavonoïdes	+	+	+	+
Saponosides	+	+	-	-

+ : présence, - : absence, EE : Extrait Ethanolique, Faq : Fraction aqueuse, FD : Fraction Dichlorométhane, FAE : Fraction Acétate d'Ethyle

Tableau 2 : Composition phytochimique des extraits et fractions de *D. microcarpum*.

Composés phytochimiques	Jeunes feuilles				Feuilles adultes			
	EE	Faq	FAE	FD	EE	Faq	FAE	FD
Tanins	+	+	+	-	+	+	+	-
Alcaloïdes	-	-	-	-	-	-	-	-
Flavonoïdes	+	+	+	-	+	+	+	+
Saponosides	+	+	+	-	+	+	+	-

+ : présence, - : absence, EE : Extrait Ethanolique, Faq : Fraction aqueuse, FD : Fraction Dichlorométhane, FAE : Fraction Acétate d'Ethyle

Tableau 3 : Composition phytochimique des extraits et fractions de *D. senegalense*.

Composés phytochimiques	Chimiotype toxique				Chimiotype comestible			
	EE	Faq	FAE	FD	EE	Faq	FAE	FD
Tanins	+	-	+	-	+	+	+	-
Alcaloïdes	-	-	-	-	-	-	-	-
Flavonoïdes	+	+	+	-	+	+	+	+
Saponosides	+	+	+	-	+	+	+	-

+ : présence, - : absence, EE : Extrait Ethanologique, Faq : Fraction aqueuse, FD : Fraction Dichlorométhane, FAE : Fraction Acétate d'Ethyle

Tableau 4 : Teneur en polyphénols totaux des extraits et fractions de *D. microcarpum*.

	Jeunes feuilles				Feuilles adultes			
	EE	Faq	FAE	FD	EE	Faq	FAE	FD
Concentrations mg/L	2,03±0,580	2,14±0,745	8,55±0,122	0,969±1,00	2,79±0,229	2,14±0,0612	6,78±0,945	0,583±0,183
Teneur en polyphénols (mg équivalent acide tannique/g)	2,84±0,812	3,00±1,04	11,9±0,171	1,35±1,40	3,92±0,307	2,99±0,0854	9,49±1,32	0,816±0,256

EE : Extrait Ethanologique, Faq : Fraction aqueuse, FD : Fraction Dichlorométhane, FAE : Fraction Acétate d'Ethyle

Tableau 5 : Teneur en polyphénols totaux des extraits et fractions de *D. senegalense*.

	Chimiotype toxique				Chimiotype comestible			
	EE	Faq	FAE	FD	EE	Faq	FAE	FD
Concentrations mg/L	0,475±0,336	1,01±0,0925	13,7±0,351	3,67±2,90	11,7±2,58	4,12±0,0301	12,9±5,77	3,88±1,43
Teneur en polyphénols (mg équivalent acide tannique/g)	0,665±0,470	1,42±0,128	19,2±0,492	5,14±4,06	16,4±3,61	5,77±0,0432	18,1±8,08	5,44±2,00

EE : Extrait Ethanologique, Faq : Fraction aqueuse, FD : Fraction Dichlorométhane, FAE : Fraction Acétate d'Ethyle

Tableau 6 : Teneur en polyphénols totaux des extraits et fractions de *P. reticulatum*.

	EE	Faq	FAE	FD
Concentrations mg/L	4,79 ± 1,13	2,22±0,244	8,48±0,0612	1,65±0,382
Teneur en polyphénols (mg équivalent acide tannique/g)	5,76±2,50	3,11±0,342	11,8±0,0865	2,31±0,534

EE : Extrait Ethanologique, Faq : Fraction aqueuse, FD : Fraction Dichlorométhane, FAE : Fraction Acétate d'Ethyle

Tableau 7 : Diamètres d'inhibition (mm) et CMI (mg/mL) pour les extraits et fractions de *D. microcarpum*.

Souches testées	Jeunes feuilles								Feuilles adultes							
	EE		Faq		FAE		FD		EE		Faq		FAE		FD	
	Diamètres d'inhibition	CMI	Diamètres d'inhibition	CMI	Diamètres d'inhibition	CMI	Diamètres d'inhibition	CMI	Diamètres d'inhibition	CMI	Diamètres d'inhibition	CMI	Diamètres d'inhibition	CMI	Diamètres d'inhibition	CMI
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	14	0,234± 0,110	NA	ND	16	0,117± 0,0552	15	0,0586± 0,0276	11	0,117± 0,0552	NA	ND	16	0,0586± 0,0276	14	0,0586 ± 0,0276
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	20	0,469± 0,221	18	0,937± 0,441	19	0,937± 0,441	14	0,469± 0,221	14	0,937± 0,441	19	0,937 ± 0,441	16	0,469± 0,221	12	0,469± 0,221
<i>E. coli</i> ATCC 35218	NA	ND	NA	ND	NA	ND	14	0,469± 0,221	NA	ND	14	1,87± 0,884	11	0,937± 0,441	NA	ND
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	NA	ND	10	1,87± 0,884	13	0,117± 0,0552	13	0,117± 0,0552	12	0,117± 0,0552	NA	ND	12	0,117± 0,0552	12	0,0293 ± 0,0138
<i>K. oxytoca</i> ATCC 43648	17	0,117± 0,0552	15	0,937± 0,441	15	0,117± 0,0552	13	0,117± 0,0552	14	0,0586 ± 0,0276	14	0,937 ± 0,441	14	0,117± 0,0552	NA	ND
<i>C. albicans</i> ATCC 6258	17	1,87± 0,884	13	1,87± 0,884	23	1,87± 0,884	18	1,87± 0,884	16	1,87± 0,884	16	1,87± 0,884	15	1,87± 0,884	15	1,87± 0,884

EE : Extrait Ethanolique, Faq : Fraction aqueuse, FD : Fraction Dichlorométhane, FAE : Fraction Acétate d'Ethyle, NA : Non Actif, ND : Non Déterminé, n = 2, * : n = 1

Tableau 8 : Diamètre d'inhibition (mm) et CMI (mg/mL) pour les extraits et fractions de *D. senegalense*.

Souches testées	Chimiotype toxique								Chimiotype comestible							
	EE		Faq		FAE		FD		EE		Faq		FAE		FD	
	Diamètres d'inhibition	CMI	Diamètres d'inhibition	CMI	Diamètres d'inhibition	CMI	Diamètres d'inhibition	CMI	Diamètres d'inhibition	CMI	Diamètres d'inhibition	CMI	Diamètres d'inhibition	CMI	Diamètres d'inhibition	CMI
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	14	0,469± 0,221	13	0,469± 0,221	18	0,0293± 0,0138	13	0,176± 0,0828	14	0,234± 0,110	13	0,234± 0,110	16	0,117± 0,0552	11	0,117± 0,0552
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	18	0,469± 0,221	20	1,25*	20	0,234± 0,110	15	0,0878± 0,0414	15	3,75± 1,77	15	0,234± 0,110	20	0,117± 0,0552	NA	ND
<i>E. coli</i> ATCC 35218	NA	ND	NA	ND	15	0,117± 0,0552	NA	ND	NA	ND	NA	ND	NA	ND	NA	ND
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	13	0,0293± 0,0138	NA	ND	NA	ND	NA	ND	13	0,0293± 0,0138	12	0,234± 0,110	12	0,0293± 0,0138	NA	ND
<i>K. oxytoca</i> ATCC 43648	14	0,117± 0,0552	15	0,937± 0,441	16	2,50*	NA	ND	11	0,156*	13	0,312*	17	0,0780*	NA	ND
<i>C. albicans</i> ATCC 6258	16	2,50*	14	1,87± 0,884	18	0,469± 0,221	15	0,703± 0,331	18	0,937± 0,441	19	0,937± 0,441	17	0,469± 0,221	19	1,87± 0,884

EE : Extrait Ethanologique, Faq : Fraction aqueuse, FD : Fraction Dichlorométhane, FAE : Fraction Acétate d'Ethyle, NA : Non Actif, ND : Non Déterminé, n = 2, * : n = 1

Tableau 9 : Diamètre d'inhibition (mm) et CMI (mg/mL) pour les extraits et fractions de *P. reticulatum*.

Souches testées	EE		Faq		FAE		FD	
	Diamètres d'inhibition	CMI	Diamètres d'inhibition	CMI	Diamètres d'inhibition	CMI	Diamètres d'inhibition	CMI
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	12	0,937±0,441	14	0,937±0,441	20	0,312*	NA	ND
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	16	0,937±0,441	15	0,937±0,441	15	1,25*	NA	ND
<i>E. coli</i> ATCC 35218	NA	ND	NA	ND	11	0,117±0,0552	NA	ND
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	10	0,0293±0,0138	13	0,937±0,441	11	0,0293±0,0138	NA	ND
<i>K. oxytoca</i> ATCC 43648	NA	ND	NA	ND	16	0,117±0,0552	NA	ND
<i>C. albicans</i> ATCC 6258	15	1,87±0,884	20	1,87±0,884	14	0,234±0,110	19	7,50±3,53

Extrait Ethanolique, Faq : Fraction aqueuse, FD : Fraction Dichlorométhane, FAE : Fraction Acétate d'Ethyle, NA : Non Actif, ND : Non Déterminé, n = 2, * : n = 1

Tableau 10 : Diamètre d'inhibition (mm) pour les antimicrobiens de référence.

Témoins Souches testées	Ofloxacine	Ceftazidime	Povidone iodée 10% dermique
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	27	24	-
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	17	27	-
<i>E. coli</i> ATCC 35218	28	31	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	19	11	-
<i>K. oxytoca</i> ATCC 43648	31	3	-
<i>C. albicans</i> ATCC 6258	-	-	30

DISCUSSION

L'identification des alcaloïdes, saponosides, tanins, flavonoïdes et le dosage des polyphénols ont été mis en œuvre car la majorité des effets pharmacologiques des plantes sont attribués à ces substances. Les flavonoïdes constituent le groupe de composé le plus présent dans les extraits et fractions de *P. reticulatum*, *D. microcarpum* et *D. senegalense* tandis que les alcaloïdes sont

totalément absents. Sur les 25 échantillons, seuls 6 ne contenaient pas de saponosides montrant ainsi leurs abondances. Les fractions dichlorométhane sont globalement pauvres en métabolites recherchés. Les fractions acétate d'éthyle renferment les plus grandes quantités de polyphénols. La présence de ces familles de composés a été mise en évidence par des travaux antérieurs sur différentes parties de ces plantes.

Ebi et Afieroho (2011) ont montré la présence de flavonoïdes et saponosides ainsi que l'absence de tanins et alcaloïdes dans l'extrait hydro-méthanolique de graines de *D. microcarpum*. En revanche, Abubakar et al. (2017) ont mis en évidence la présence de tanins, flavonoïdes, saponosides et alcaloïdes dans l'extrait méthanolique d'écorce de la tige.

L'extrait éthanolique de l'écorce de la tige de *P. reticulatum* renferme des tanins, flavonoïdes, saponosides et alcaloïdes (Ekuadzi et al., 2016). Ces derniers, mis à part les alcaloïdes, ont été identifiés dans l'extrait éthanolique des racines de *P. reticulatum* (Kubmarawa et al., 2007).

Nos extraits et fractions ont inhibé significativement la croissance microbienne à 20 mg/mL. Les diamètres d'inhibition variaient de 10 à 23 mm. Ceux de l'extrait éthanolique et des fractions aqueuses et d'acétate d'éthyle des jeunes feuilles ainsi que celui de la fraction aqueuse des feuilles adultes de *D. microcarpum* sur *P. aeruginosa* étaient supérieurs au DI obtenu avec l'ofloxacine (17 mm). En considérant les CMI, l'activité inhibitrice des extraits et fractions était plus faible que celle des antimicrobiens de référence. Ceci s'explique par le fait que les antibiotiques de référence sont des molécules isolées, pures et de concentrations connues (Sourabie et al., 2010), tandis que les extraits éthanoliques et leurs fractions sont des mélanges non purifiés (Ganfou et al., 2019). Il pourrait aussi y avoir une synergie dans nos échantillons, entre des composés très actifs et d'autres à effet antimicrobien limité (Sanogo et al., 2006). Les fractions acétate d'éthyle ont montré une activité plus prononcée avec des CMI allant jusqu'à $0,0293 \pm 0,0138$ mg/mL pour *E. faecalis*. Le pouvoir antimicrobien variait selon la nature des extraits et fractions mais aussi en fonction de la souche microbienne.

E. coli s'est montré la plus résistante car seul 5 de nos extraits et fractions étaient actifs vis-à-vis d'elle. Cette résistance a été corrélée à la nature de ces membranes externes, imperméables à la plupart des agents biocides (Faucher et al., 2002). En revanche, *C. albicans* a été la souche la plus sensible. Sa croissance a été inhibée par tous les extraits et fractions. La valeur de CMI la plus faible ($0,0293 \pm 0,0138$ mg/mL) a été fréquemment retrouvée avec *E.*

faecalis. Les extraits éthanoliques de *D. senegalense* (chimiotypes comestible et toxique) étaient actifs sur les mêmes souches, mais présentaient des zones d'inhibition et des CMI différentes. Les résultats obtenus par la méthode de diffusion en milieu solide et celle de dilution en milieu liquide ont révélé qu'il n'y a pas de corrélation entre les CMI et les diamètres d'inhibitions. Ceci pourrait être lié à un problème de diffusion des extraits et fractions dans la gélose, une différence dans le catabolisme des composés actifs ou d'affinité entre les cibles microbiennes. La taille de la zone d'inhibition ne reflète pas la réelle efficacité antimicrobienne (Haddouchi et al., 2016).

Les fractions acétate d'éthyle étaient plus actives sur les souches testées. L'action inhibitrice pourrait être due aux teneurs plus élevées en polyphénols et à la présence de flavonoïdes, dotés d'un fort pouvoir antibactérien (Park et al., 2008). Selon Abe et al. (2010), au cours de l'extraction liquide-liquide, les phytomolécules sont réparties entre les solvants en fonction de leur polarité et leur solubilité. Les substances antibactériennes contenues dans les plantes étudiées seraient plus solubles dans l'acétate d'éthyle. Les résultats de cette étude confirment d'avantage l'efficacité des plantes médicinales vis-à-vis des pathologies microbiennes. De nombreux travaux ont également souligné antérieurement l'effet antimicrobien d'extraits d'autres organes des espèces végétales faisant l'objet de cette étude. L'extrait méthanolique d'écorces de tige de *D. microcarpum*, récoltées dans la zone de Giwa à Kaduna au Nigéria, avait exercé une activité inhibitrice sur les souches *E. coli* et *S. aureus* avec des CMI allant de 0,625 à 50 mg/mL (Abubakar et al., 2017).

Les CMI obtenues dans cette étude sont comparables à celles de Sowemimo et al. (2011) pour les extraits d'éther de pétrole des graines de *D. senegalense* à chimiotype comestible, collectées au marché d'Oyingbo à Lagos au Nigéria, sur les souches *S. aureus*, *E. coli* et *P. aeruginosa*. Cependant, dans les travaux de Kubmarawa et al. (2007), l'extrait éthanolique des écorces du tronc, récoltées à Riji à Adamawa au Nigeria, était inactif sur *S. aureus*, *E. coli*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* et *C. albicans* tandis que l'EE des feuilles de cette étude a inhibé l'ensemble de ces souches sauf

E. coli. L'alcaloïde anthocyanidique isolé de l'écorce de la tige de *D. senegalense* à chimiotype comestible était actif sur *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *E. coli* avec des CMI respectives de 25, 12,5 et 25 mg/mL (Okwu et al., 2009).

Selon Babajide et al. (2008), l'extrait d'acétate d'éthyle de feuilles de *P. reticulatum*, récoltées au village d'Ajebanbo à Ondo au Nigéria, était associé à des CMI de 0,050 mg/mL sur *C. albicans* et *E. coli* et 0,0125 mg/mL sur *S. aureus*. Les travaux de Zerbo et al. (2017) mentionnent que l'extrait méthanolique d'écorces de cette plante, récoltées à Ouagadougou (Burkina Faso), présentait des CMI de 6,25 mg/mL pour *E. coli*, 3,12 mg/mL pour *S. aureus* et 1,51 mg/mL pour *E. faecalis*. L'activité antimicrobienne des extraits hydro-éthanoliques de feuilles de *P. reticulatum* ont donné des CMI de 10 µg/mL pour *E. coli* et *P. aeruginosa* et 2,5 µg/mL pour *S. aureus* (Aderogba et al., 2006). Ces dernières valeurs trouvées sont plus faibles que celles de l'étude sur ces mêmes souches.

Conclusion

Cette étude avait pour objectif de réaliser la caractérisation phytochimique et d'évaluer l'activité antimicrobienne *in vitro* d'extraits et de fractions de feuilles de *Detarium senegalense*, *Detarium microcarpum* et *Piliostigma reticulatum*. L'utilisation de ces trois plantes en médecine traditionnelle, pour la prise en charge de pathologies infectieuses, a ainsi été justifiée de manière scientifique. L'activité antimicrobienne est fonction de la nature du solvant utilisé, la fraction acétate d'éthyle s'étant montrée plus active. L'étude phytochimique a révélé la présence de métabolites secondaires et permis la quantification des polyphénols totaux. Suite à ce travail, un fractionnement sur colonne est en cours afin d'isoler puis de caractériser les composés chimiques, notamment bioactifs.

CONFLITS D'INTÉRÊTS

Les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêts.

CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

EOF et RG ont réalisé l'ensemble du travail expérimental et rédigé l'article. AD a assuré la formation et supervisé les tests

d'activité antimicrobienne. IWF, HT et TMW ont participé au travail expérimental. PID a participé à l'analyse statistique. KDB et MD ont effectué la collecte et l'identification du matériel végétal. AD et AD ont validé le protocole des tests d'activité antimicrobienne. KT, SOS et AD ont participé à l'élaboration de la méthodologie appliquée. BN, CSBB et YMD ont orienté et validé le projet d'étude ainsi que les résultats obtenus.

REMERCIEMENTS

Nous remercions le personnel des Laboratoire de Chimie Analytique et Bromatologie, de Pharmacognosie et Botanique ainsi que de l'Unité de Recherche et de Biotechnologie Microbienne pour leur soutien technique.

REFERENCES

- Abe E, Delyle SG, Alvarez JC. 2010. Extraction liquide-liquide: théorie, applications, difficultés. *Annales de Toxicologie Analytique*, **22**(2) : 51-59. DOI : 10.1051/ata/2010018
- Abreu PM, Martins ES, Kayser O, Bindseil KU, Siems K, Seemann A, Frevert J. 1999. Antimicrobial, antitumor and antileishmania screening of medicinal plants from Guinea-Bissau. *Phytomedicine*, **6**(3): 187-195. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0944-7113\(99\)80008-7](https://doi.org/10.1016/S0944-7113(99)80008-7)
- Abubakar S, Ibrahim H, Adeshina G, Olayinka B. 2017. Antibacterial studies of the stem bark of *Detarium microcarpum* Guill & Perr (*Fabaceae*). *International Journal of Nanotechnology in Medicine and Engineering*, **2**(4): 32-41. DOI: 10.25141/2474-8811-2017-4.0032
- Aderogba MA, Okoh EK, Okeke IN, Olajide AO, Ogundaini AO. 2006. Antimicrobial and anti-inflammatory effects of *Piliostigma reticulatum* leaf extract. *International Journal of Pharmacology*, **2**(1): 70-74. DOI: 10.3923/ijp.2006.70.74
- Alsan M, Schoemaker L, Eggleston K, Kammili N, Kolli P, Bhattacharya J. 2015. Out-of-pocket health expenditures and antimicrobial resistance in low-income and middle-income countries: an economic analysis. *The Lancet Infectious*

- Diseases*, **15**(10) : 1203-1210. DOI : 10.1016/S1473-3099(15)00149-8
- Aminov RI. 2010. Une brève histoire de l'ère des antibiotiques : leçons apprises et défis pour l'avenir. *Frontiers in Microbiology*, **1**: 1-7. DOI: 10.3389/fmicb.2010.00134
- Babajide OJ, Babajide OO, Daramola AO, Mabusela WT. 2008. Flavonols and an oxochromonol from *Piliostigma reticulatum*. *Phytochemistry*, **69**(11): 2245-2250. DOI: 10.1016/j.phytochem.2008.05.003
- Bassène E. 2012. *Initiation à la Recherche sur les Substances Naturelles. Extraction-Analyse-Essais Biologiques*. Presses Universitaires de Dakar ; 150 p.
- Bekro YA, Mamyrbekova JA, Boua BB, Bi FT, Ehile EE. 2007. Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (*Caesalpinioaceae*). *Sciences & Nature*, **4**(2) : 217-225. DOI : 10.4314/scinat.v4i2.42146
- Brou KG, Mamyrbekova-Bekro JA, Dogbo DO, Gogbeu SJ. 2010. Composition phytochimique qualitative des extraits bruts hydrométhanoliques des feuilles de 6 cultivars de *Manihot esculenta* crantz de Côte d'Ivoire. *European Journal of Scientific Research*, **45**(2) : 200-211.
- Ebi GC, Afieroho OE. 2011. Phytochemical and antimicrobial studies on *Detarium microcarpum* Guill & Perr (*Caesalpinioaceae*) seeds coat. *African Journal of Biotechnology*, **10**(3): 457-462. DOI : 10.5897/AJB09.2009
- Ekuadzi E, Dickson RA, Fleischer TC, Dapaah SO, Reynolds EO, Akpabey ES, Fianu MG. 2016. Antimicrobial and modulation effects of selected Ghanaian medicinal plants. *Journal of Science and Technology (Ghana)*, **36**(3): 1-7. DOI : 10.4314/just.v36i3.1
- Fauchère JL, Avril JL. 2002. *Bactériologie Générale et Médicale* (6e éd.). Ellipses : Paris.
- Ganfou H, Houvohehou JP, Assanhou AG, Bankole HS, Gbenou J. 2019. Activité antibactérienne de l'extrait éthanolique et des fractions de *Anogeissus leiocarpa* (DC) Guill. Et Perr. (*Combretaceae*). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **13**(2) : 643-651. DOI: https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v13i2.6
- Haddouchi F, Zerhouni K, Sidi-Yekhelef A, Chaouche TM. 2016. Évaluation de l'activité antimicrobienne de différents extraits d'*Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, **85** : 152- 159. DOI: 10.25518/0037-9565.5894
- Konan FK, Guessennd NK, Oussou KR, Bahi C, Coulibaly A, Djaman AJ, Dosso M. 2014. Effet antibactérien de l'extrait aqueux de l'écorce de *Terminalia glaucescens* Planch ex Benth (*Combretaceae*) sur la croissance *in vitro* des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (EBLSE). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **8**(3): 1192-1201. DOI: http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v8i3.30
- Kouyaté AM. 2005. Aspects ethnobotaniques et étude de la variabilité morphologique et phénologique de *Detarium microcarpum* Guill & Perr. (Mali). Thèse de Doctorat, Université de Gent, p. 190.
- Kubmarawa D, Ajoku GA, Enwerem NM, Okorie DA. 2007. Criblage phytochimique et antimicrobien préliminaire de 50 plantes médicinales du Nigéria. *African Journal of Biotechnology*, **6**(14) : 1690-1696.
- Nassirou RS, Ibrahim ML, Ilagouma AT, Ilagouma AT, Mahamadou A, Mamoudou M, Abdoulaye A, Oukem-Boyer OOM, Ikhiri K. 2015. Evaluation *in vitro* de l'activité antiplasmodiale d'extraits de plantes issues de la pharmacopée traditionnelle du Niger. *Journal of Applied Biosciences*, **89**: 8291-8300. DOI: 10.4314/jab.v89i1.8
- Oke F, Aslim B, Ozturk S, Altundag S. 2009. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. *Food Chemistry*, **112**(4): 874-879. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.06.061
- Okwu DE, Uchebgu R. 2009. Isolation, characterization and antibacterial activity screening of ethoxyamine tetrahydroxyanthocyanidines from *Detarium senegalense* JF Gmel stem

- bark. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, **3**(1): 001-005. DOI: 10.5897/AJPAC.9000083
- Ouedraogo AS, Pierre HJ, Banuls AL, Ouédraogo R, Godreuil S. 2017. Émergence et diffusion de la résistance aux antibiotiques en Afrique de l'Ouest : Facteurs favorisants et évaluation de la menace. *Médecine et Santé Tropicales*, **27**(2) : 147-154. DOI: 10.1684/mst.2017.0678
- Park H, Lee S, Son HY, Park SB, Kim MS, Choi EJ, Singh TS, Ha JH, Lee MG, Hyun MC, Kwon TK, Kim YH, Kim SH. 2008. Flavonoids inhibit histamine release and expression of proinflammatory cytokines in mast cells. *Archives of Pharmacal Research*, **31**(10) : 1303-1311. DOI: 10.1007/s12272-001-2110-5
- Raja M, Ravikumar S, Gnanadesigan M, Vijayakumar V. 2010. *In vitro* antibacterial activity of diterpene and benzoxazole derivatives from *Excoecaria agallocha* L. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **4**(3): 692-701. DOI: 10.4314/ijbcs.v4i3.60494.
- Sanogo R, Diallo D, Diarra S, Ekoumou C, Bougoudogo F. 2006. Activité antibactérienne et antalgique des deux recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et la cystite au Mali. *Mali Médical*, **1** : 18-24.
- Sourabie TS, Nikiema JB, 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). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **4**(6): 2009-2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v4i6.64954>
- Sowemimo AA, Pendota C, Okoh B, Omotosho T, Idika N, Adekunle AA, Afolayan AJ. 2011. Chemical composition, antimicrobial activity, proximate analysis and mineral content of the seeds of *Detarium senegalense* JF Gmel. *African Journal of Biotechnology*, **10**(48) : 9875-9879. DOI: 10.5897/AJB11.1416
- Talbaoui A, Jamaly N, Idrissi AI, Bouksaim M, Gmouh S, El Moussaouiti M, Bakri Y. 2012. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from six Moroccan plants. *Journal of Medicinal Plants Research*, **6**(31): 4593-4600. DOI: 10.5897/JMPR10.078
- Tatsimo SJN, Tamokou JD, Tsague VT, Lamshoft M, Sarkar P, Bag PK, Spittle M. 2017. Antibacterial-guided isolation of constituents from *Senna alata* leaves with a reference against Multi-Drug-Resistant *Vibrio cholerae* and *Shigella flexneri*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **11**(1): 46-53. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v11i1.4>
- Tira-Picos V, Nogueira JM, Gbolade AA. 2010. Comparative analysis of leaf essential oil constituents of *Piliostigma thonningii* and *Piliostigma reticulatum*. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*, **4**(2): 67-70. DOI: 10.4103/0973-8258.63877
- Yelemou B, Bationo BA, Yaméogo G, Rasolodimby JM. 2007. Gestion traditionnelle et usages de *Piliostigma reticulatum* sur le Plateau central du Burkina Faso. *Bois & Forêts des Tropiques*, **291** : 55-66. DOI : <https://doi.org/10.19182/bft2007.291.a20356>
- Zerbo P, Rasolodimby JM, Ouedraogo ON, Van Damme P. 2011. Plantes médicinales et pratiques médicales au Burkina Faso: cas des Sanan. *Bois & Forêts des Tropiques*, **307** : 41-53. DOI : <https://doi.org/10.19182/bft2011.307.a20481>
- Zerbo A, Koudou J, Ouédraogo N, Ouédraogo R, Guissou IP. 2010. Antioxidant and antibacterial activities of *Piliostigma reticulatum* (DC.) Hochst extracts. *African Journal of Biotechnology*, **9**(33) : 5407-5411.