

Tri Phytochimique et Activités Antimicrobiennes des Extraits Hydroacétoniques de *Baphia Nitida* (Fabaceae) sur *Shigella* spp et *E. coli*, Deux Entérobactéries Impliquées dans les Diarrhées Infantiles à Daloa, Côte d'Ivoire

Djako Sosthène Thierry Akré

Kan Benjamin Kouamé

Obou Constantin Okou

Daouda Diakité

Jacques Auguste B. A. Ackah

UFR Agroforesterie Département de Biochimie-Microbiologie
Laboratoire d'Agrovalorisation, Université Jean Lorougnon Guedé de Daloa,
Côte d'Ivoire

Allico Joseph Djaman

UFR Biosciences Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan, Côte
d'Ivoire. Institut Pasteur de Côte d'Ivoire

Doi: [10.19044/esipreprint.11.2022.p711](https://doi.org/10.19044/esipreprint.11.2022.p711)

Approved: 28 November 2022

Posted: 30 November 2022

Copyright 2022 Author(s)

Under Creative Commons BY-NC-ND
4.0 OPEN ACCESS

Cite As:

Akré D. S. T., Kouamé K.B., Okou O.C., Diakité D., Achah J.A.B.A. & Djaman A.J. (2022). *Tri Phytochimique et Activités Antimicrobiennes des Extraits Hydroacétoniques de Baphia Nitida (Fabaceae) sur Shigella spp et E. coli, Deux Entérobactéries Impliquées dans les Diarrhées Infantiles à Daloa, Côte d'Ivoire*. ESI Preprints.

<https://doi.org/10.19044/esipreprint.11.2022.p711>

Resume

Introduction : Dans le but de contribuer à une prise en charge efficace des diarrhées infantiles et des troubles gastrointestinales, nous avons évalué les activités antibactériennes des extraits des organes (feuilles, tiges et racines) de *Baphia nitida*, une plante de la pharmacopée ivoirienne. **Méthodes :** Ainsi, un tri phytochimique des extraits hydroacétoniques d'organes de *B. nitida* à partir des réactions de précipitations et de colorations suivi des tests de sensibilité antimicrobienne sur *Shigella spp* et *E. coli* ATCC 25922 ont été réalisés. **Resultats :** Les résultats obtenus ont montré que les trois organes de plante étaient riches en polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes et tanins catéchiques. En plus, les extraits des feuilles de *B.*

nitida ont présenté une plus grande diversité d'autres métabolites secondaires faiblement représentés. Les extraits de *B. nitida* se sont révélés bactéricides pour les deux souches testées. Ces actions seraient dose –dépendante avec une inhibition maximale à c =.200 mg/mL. Les extraits des feuilles ont montré une activité antibactérienne plus efficace que les extraits de tiges, eux mêmes plus actifs que les extraits de racines. *Conclusion* : Les souches d'*E. coli* testées se sont révélées plus sensibles que celles de *Shigella spp* pour les trois types d'organes de *B. nitida*. Les extraits des organes de *B. nitida* (en particulier les feuilles) pourraient constituer une alternative pour le traitement des diarrhées et une nouvelle source de molécules naturelles antiinfectieuses.

Mots-clés : Tri phytochimique, *Baphia nitida*, CMI, *E. coli*, *Shigella sp.*

Phytochemical Screening and Antimicrobial Activities of Hydroacetone Extracts of Baphia Nitida (Fabaceae) on Shigella spp and E. coli, Two Enterobacteria Associated with Children's Diarrhea in Daloa, Côte D'Ivoire

Djako Sosthène Thierry Akré

Kan Benjamin Kouamé

Obou Constantin Okou

Daouda Diakité

Jacques Auguste B. A. Ackah

UFR Agroforesterie Département de Biochimie-Microiologie
Laboratoire d'Agrovalorisation, Université Jean Lorougnon Guedé de Daloa,
Côte d'Ivoire

Allico Joseph Djaman

UFR Biosciences Université Félix Houphouet Boigny, Abidjan, Côte
d'Ivoire. Institut Pasteur de Côte d'Ivoire

Abstract

Introduction : In order to contribute to an efficient management of infantile diarrhea and gastrointestinal disorders, we evaluated the antibacterial activities of extracts of organs (leaves, stems and roots) of *Baphia nitida*, a plant of the Ivorian pharmacopoeia. **Methods** : Thus, a phytochemical screening of hydroacetone extracts of *B. nitida* organs based on precipitations and staining reactions followed by antimicrobial susceptibility tests on *Shigella spp* and *E. coli* ATCC 25922 were performed.

Results : The results obtained revealed that the three plant organs were abundant in polyphenols, flavonoids, alkaloids and catechic tannins. In addition, the extracts from the leaves of *B. nitida* exhibited a greater diversity of other secondary metabolites that were weakly represented. *B. nitida* extracts were found to be bactericidal for both strains tested. These actions appeared to be dose-dependent with maximum inhibition at $c = 200 \text{ mg/mL}$. The leaf extracts showed a more effective antibacterial activity than the stem extracts, which were more effective than the root extracts. Conclusion : The *E. coli* strains tested were more sensitive than *Shigella* spp. for all three types of *B. nitida* organs. The extracts of *B. nitida* organs (especially the leaves) could be an alternative for the treatment of diarrhoea and a new source of natural antibacterial molecules.

Keywords: Phytochemical screening, *Baphia nitida*, MIC, *E. coli*, *Shigella* sp.

Introduction

La diarrhée est la 2^{ème} cause de mortalité chez les enfants de moins de 5 ans dans le monde dont la plupart sont originaires des pays en voie de développement d'Afrique subsaharienne ou d'Asie du sud (MSF, 2016, OMS, 2017). En effet, il existerait environ 1, 7 milliards de cas de diarrhées infantiles par an à l'échelle mondiale. Les *Rotavirus*, *E. coli*, *Shigella* et *Cryptosporidium* sont les principaux agents de ces diarrhées. (OMS, 2017). Malgré les progrès enregistrés grâce à la sensibilisation et vaccination, le nombre de décès lié aux cas de diarrhées reste toujours inquiétant. L'émergence des nombreux cas de résistances bactériennes aux antibiotiques va amener les scientifiques à explorer d'autres sources de molécules thérapeutiques (Fatna et al, 2009 ; Ben & Khedher, 2010).

Les populations africaines à revenus modestes vont se tourner résolument vers l'utilisation des plantes pour leurs problèmes de santé. En effet, la flore tropicale africaine riche et diversifiée, contient une multitude de plantes qui contribuent à la satisfaction des besoins nutritionnels, médicinales et à l'activité économique des populations (Anonyme, 1974 ; Nacoulma-ouedraogo, 1996) ; Jamila, 2018).

Ainsi, pour contribuer à la valorisation de la médecine traditionnelle, plusieurs investigations vont être réalisées au plan ethnobotanique et phytochimique, afin d'apporter une justification scientifique quant à l'utilisation traditionnelle des plantes médicinales (Perez *et al*, 2006 ; Terra *et al*, 2007 ; Burta *et al*, 2008 ; Cazarolli *et al*, 2008 ; Yang *et al*, 2008). Les composés extraits de ces plantes médicinales assureraient la prévention et le traitement de certains cancers, des maladies inflammatoires, les maladies de la reproduction, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (Li-

Weber, 2009 ; Bonfili *et al.*, 2008, Houmènou *et al.*, 2017). Certains de ces composés sont également utilisés comme additifs pour les industries agroalimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques (Teillet *et al.*, 2008).

Mais, on constate que certaines ressources agricoles sont insuffisamment valorisées. De même, la grande majorité des substances utilisées en médecine traditionnelles reste encore peu étudiée voire inconnue. Parmi ces plantes médicinales étudiées figure *Baphia nitida* utilisée en phytothérapie en Côte d'Ivoire pour divers maux (Koné, 2005). *B. nitida* est une espèce de Fabaceae retrouvée dans toutes les savanes et les forêts d'Afrique de l'ouest. A l'instar des autres plantes médicinales, les feuilles et les écorces de *Baphia nitida* sont douées d'activités antihelminthiques, antidiarrhéiques et anticancéreuses (Koné, 2005; Adeyemi & Akindele, 2008 ; Kablan *et al.*, 2011). A notre connaissance, aucune étude exhaustive concernant les propriétés antibactériennes des extraits totaux de *B. nitida* n'a encore fait objet d'étude scientifique. C'est pourquoi cette étude qui s'est intéressée à l'activité antibactérienne des extraits d'organes (feuilles, tiges et racines) de *B. nitida* a trouvé tout son sens. L'objectif général de cette étude était de mettre en évidence l'activité antibactérienne des extraits des organes de *B. nitida*. Pour ce faire, nous allons identifier les groupes chimiques des métabolites secondaires présents dans ces organes par les tris phytochimiques et évaluer l'activité antibactérienne des extraits de ces trois organes sur la croissance des souches de *Shigella sp* et d'*E. coli*.

1. Matériel et Méthodes

1.1. Cadre d'étude

Cette étude s'est déroulée sur une période de quatre mois allant de Novembre 2019 à Février 2020. Le matériel végétal était constitué de feuilles, de tiges et de racines de *B. nitida* (Figure 1). Ces organes de plante ont été récoltés dans une jachère près de la forêt aux singes du village de Gbétitapéa sur l'axe Issia–Daloa, à 10 km de la ville de Daloa. Ces échantillons ont été transportés au Laboratoire d'Agrovalorisation à l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa (Côte d'Ivoire).

1.2. Matériel

1.2.1. Matériel technique

L'essentiel du matériel technique est composé des appareillages nécessaires pour les extractions des principes actifs ; des réactifs pour les tests d'identification des composés et des milieux de cultures pour l'étude des propriétés antibactériennes.

Appareillage

Les appareillages sont composés d'un broyeur mécanique (Retchsk 100), d'un mixeur (Moulinex) pour les macérations, d'une étuve (Prolabo) pour les séchages des extraits, d'une balance de précision (Ohaus) pour les différentes pesées, d'une autoclave (Mammooth Newmed) et d'un bain-marie (Polystest 12).

Les réactifs

Plusieurs réactifs ont été utilisés pour le triphytochimique. Ainsi, pour le recherche des polyphénols on a le chlorure ferrique (FeCl_3) à 2% qui donne une coloration bleu-noirâtre ou verte. Pour rechercher des flavonoïdes on a utilisé la cyanidine (alcool chlorhydrique + alcool n-amylque + magnésium). La recherche des tanins a été réalisée en présence de chlorure ferrique (FeCl_3) à 1% + eau distillée et le réactif de Stiasny, donnant une coloration verdâtre ou bleu noir (tanins galliques) ou des flocons (tanins cathéchiques). La solution d'acide chlorhydrique donne un précipité rouge en présence de phlobatanins. Les solutions d'acide sulfurique et d'hydroxyde d'ammonium donnent une coloration bleue violacée en présence d'anthocyanes. Les solutions de KOH ou NaOH en présence des d'antraquinones donnent une coloration rouge. Le réactif de Bornstraeger donne une coloration rouge ou violet en présence des composés quinoniques ou anthracénosides. Les solutions d'anhydride et d'acide sulfurique donnent une coloration violette virant au bleu puis au vert en présence de stérols et polyterpènes. Le réactif de Dragendorff donne une coloration orangée ou des précipités en présence des alcaloïdes. Les saponosides produisent une mousse abondante dans l'eau distillée. Les acides aminés produisent une coloration bleue – violette par action de la ninhydrine. Les indoles précipitent en jaune par action du réactif de Salkowski (mélange de 3 ml d'une solution aqueuse de chlorure de fer (III) à 1,5 mg/L, 100 ml d'eau distillée et 60 ml d'acide sulfurique concentré). La cyanidine réagit avec les leucoanthocyanes pour donner une coloration rouge cerise ou violacée.

Milieux de cultures

Les milieux de culture utilisés étaient la gélose Mueller Hinton (Conda Pronadisa) et le bouillon (BK048), préparés à partir de milieux déshydratés de (Bauer et al., 1966).

1.2.2. Matériel biologique

Matériel végétal

La récolte des organes a été effectuée le dimanche 03 Novembre 2019 de 07 h à 09 h 00 (GMT). Une fois récoltée, la plante a été identifiée par un enseignant-chercheuren botanique de l'UFR

Agroforesterie de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa. Les feuilles, les écorces et les racines de *B. nitida* récoltées ont été séchées à température ambiante à l'abri de la lumière au Laboratoire d'Agrovalorisation durant 21 jours pour les feuilles, 30 jours pour les écorces de tige et 35 jours pour les racines. La matière sèche obtenue est réduite en poudre à l'aide d'un broyeur électrique (Retschsk100) pour faciliter l'extraction des principes actifs. Les différentes poudres obtenues sont conservées à l'abri de la lumière dans des boîtes en verre pour servir ensuite à la préparation des différents extraits végétaux.



Figure 1. Différents organes de *B. nitida* : (a) = feuilles ; (b) = racines ; (c) = écorces de tige

Souches bactériennes.

Les souches cliniques de *Shigella sp.* (1055) et les souches de référence d'*E. coli* ATCC 25922 utilisées au cours de cette étude ont été fournies respectivement par le Laboratoire d'Analyses Médicales du Centre Hospitalier Régional (CHR) de Daloa et l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire.

1.3. Méthodes

1.3.1. Extraction du matériel végétal

L'extraction solide-liquide a consisté à extraire une substance solide à l'aide d'un solvant par macération. Ainsi, 100g de poudre de chaque organe de *B. nitida* ont été extraits dans un volume de 1L de solution

hydroacétonique (70/30 ; v/v), après homogénéisation dans un mixeur. L'extraction par macération a été effectuée à froid à 37°C pendant 24 heures. Cette opération a été répétée 2 fois durant 48 heures. Les filtrats obtenus a été scindés en 2 parties. Une partie a servi à la caractérisation des familles des composés actifs et l'autre partie évaporée et séchée à l'étuve à la température de 60 °C servira à l'évaluation de l'activité antimicrobienne. Le rendement représente le pourcentage d'extrait sec obtenu à partir de la masse de poudre végétale utilisée. Il a été calculé selon la formule suivante:

$$R (\%) = M_1 \times 100 / M_0.$$

R représente le rendement de l'extrait exprimé en pourcentage (%), M_1 est la masse de l'extrait sec obtenu (en g) et M_0 la masse de poudre végétale sèche initiale (en g) utilisée au cours de l'extraction) (Bssaibis et al., 2009 ; Dinzedi, 2015).

1.3.2. Caractérisation qualitative des métabolites secondaires

Les mises en évidence des métabolites secondaires étaient sur les réactions de précipitation ou de coloration à l'aide des réactifs spécifiques développés par Wagner (1983), Houghton & Raman (1998) et Edeoga *et al.* (2005). Les réactions des précipitations ont mis en évidence les tanins et les alcaloïdes. Les réactions de coloration ont révélé la présence des polyphénols, des flavonoïdes, des anthocyanes, des terpènes, des quinoniques et des anthraquinones.

Détection des polyphénols

Elle a été réalisée à partir de 2 mL de l'extrait hydroacétonique des différentes parties de *B. nitida* (feuille, racine, tige) réparties dans des tubes étiquetés auxquels sont additionnés une goutte de solution aqueuse de chlorure ferrique ($FeCl_3$) à 2%. La présence des polyphénols est mise en évidence par l'apparition d'une couleur bleu-noirâtre ou verte (Wagner, 1983).

Détection des flavonoïdes

Dans un tube à essai, à 2 ml d'infusé sont ajoutés 1 à 2 ml d'alcool chlorhydrique (mélange équimoléculaire d'éthanol à 95%, d'eau distillée et d'acide chlorhydrique concentré), 1 ml d'alcool n-amylique puis quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rose-orangée (flavones) ou rose-violacée (flavanones) ou rouge (flavonones, flavanonols) rassemblée dans la couche surnageante d'alcool isoamylique indique la présence d'un flavonoïde libre (génine). Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavoniques (Wagner,

1983).

Détection des tanins

Dans un Erlenmeyer, on met 5 g de poudre dans 100 mL d'eau bouillante. Après infusion pendant 15 mn, on filtre et on complète le filtrat à 100 mL avec de l'eau distillée. Cinq (5) mL d'infusée à 5% est placé dans un tube à essai, puis on y ajoute 1 mL d'une solution aqueuse de FeCl_3 à 1 %. En présence des tanins galliques, il se développe une coloration verdâtre ou bleue noir. Les tanins cathéchiques sont révélés à partir du réactif de Stiasny (Edeoga *et al.*, 2005 ; Koffi *et al.*, 2015).

Détection des phlobatanins

On fait bouillir l'extrait aqueux contenant 1% d'une solution d'acide chlorhydrique. L'apparition d'un précipité rouge traduit la présence de phlobatanins (Wagner, 1983).

Détection des anthocyanes

A 5 ml d'infusé à 5% présentant une coloration plus ou moins foncée, on ajoute 5 ml d'acide sulfurique puis 5 ml d'hydroxyde d'ammonium. Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu violacé en milieu basique, on peut conclure la présence d'anthocyanes (Wagner, 1983).

Détection des anthraquinones

A 5 mL d'extrait des broyats, on ajoute un volume équivalent d'hydroxyde de potassium (KOH) aqueux 10%. Après agitation, la présence des anthraquinones est confirmée par un virage de la phase aqueuse au rouge. Le KOH peut être remplacé par le NaOH (Wagner, 1983).

Détection des quinones

On utilise le réactif de Borntraeger (ammoniacal dilué 2 fois), qui permet la mise en évidence des substances quinoniques. On évapore 2 ml d'extrait de ces trois organes. Le résidu est repris avec 5 ml de HCl (1/5) puis mis à ébullition pendant 30 min au bain-marie dans un tube à essai. Après refroidissement sous courant d'eau froide, l'hydrolysate est extrait avec 20 ml de chloroforme dans un tube à essai. A la phase organique recueillie, on ajoute 0,5 ml d'ammoniacal dilué 2 fois. Le virage de la coloration au rouge ou violet indique la présence de composés quinoniques (Wagner, 1983).

Détection des anthracénosides

Cinq gramme (5g) de broyat de chaque organe de la plante sont macérés à l'hydro-acétone dans un tube à essai pendant 15 min, en agitant toutes les 5 min. La solution est ensuite filtrée sur du papier filtre avec du coton hydrophile dans un tube puis additionnée de 2 ml d'ammoniaque. Après agitation, l'apparition d'une coloration rouge indique la présence d'anthracénosides (Wagner, 1983).

Stérols et triterpènes

Un volume de 5 ml de la solution à analyser est évaporé à sec dans une capsule sur un bain de sable. Le résidu obtenu est dissout à chaud dans 1 ml d'anhydride acétique puis transvasé dans un tube à essai auquel est ajouté 0,5 ml d'acide sulfurique concentré. La réaction est positive s'il y a apparition d'un anneau pourpre ou violet virant au bleu puis au vert (Wagner, 1983).

Détection des alcaloïdes

A 2 mL d'extrait on ajoute quelques gouttes de réactif de Dragendorff. L'apparition de coloration orangée ou de précipité indique la présence d'alcaloïdes. Si le test est positif, il faut confirmer cette présence de polyphénols par le test Réactif de Nessler. A 2 ml d'extrait, on ajoute deux à trois gouttes de réactif de Nessler. L'apparition d'un précipité jaunâtre indique la présence d'alcaloïdes (Harbone, 1973 ; Wagner, 1983).

Détection des saponosides

Introduire 1 g de poudre végétale dans un erlenmeyer de 250 ml. Ajouter 100 ml d'eau distillée. Chauffer légèrement le mélange. Filtrer, refroidir et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée. Dans un tube à essai, introduire 10 ml du filtrat et agiter vigoureusement pendant 15 secondes. Placer le tube verticalement pendant 15 min. Si la mousse persiste au bout de cette période, la drogue végétale contient des saponines (Wagner, 1983).

Détection des acides aminés

Mettre 1 mL de la solution à tester (extrait) dans un tube à essai, puis y ajouter 1 mL de solution de ninhydrine fraîchement préparée. Si la coloration n'apparaît pas de suite, chauffer au bain marie ou au bec bunsen. Si une coloration bleue-violette apparaît, alors le test est positif : il y a présence d'acides aminés. La solution de ninhydrine est obtenue par mélange de 0,2 g de Ninhydrine, 95 ml de Butan-1ol et 10 mL d'acide acétique à 0,1 mol/L. pour confirmer la véracité de texte nous testons aussi le réactif sur le tryptophane (Wagner, 1983).

Détection des indoles

A 2 ml d'extrait contenu dans un tube à essai, on ajoute deux à trois gouttes de réactif de Salkowski. L'apparition d'un précipité jaunâtre indique la présence d'indoles (Wagner, 1983).

Détection des leucoanthocyanes

Les leucoanthocyanes sont caractérisés par la réaction à la cyanidine sans ajout de copeaux de magnésium avec un chauffage pendant 15 min au bain-marie. En présence de leucoanthocyanes, il se développe une coloration rouge cerise ou violacée. Les catéchols donnent une teinte brunrouge (Wagner, 1983).

1.3.3. Evaluations des activités antibactériennes sur des extraits de *B. nitida*

L'étude de l'activité antibactérienne a été réalisée suivant 2 méthodes: la méthode de diffusion sur milieu solide afin de déterminer la concentration efficace des extraits et la méthode de dilution en milieu liquide pour déterminer les paramètres antibactériens (CMI et CMB) (Koné et al., 2007).

Méthode de diffusion en milieu gélosé.

L'inoculum bactérien est ensemencé par inondation de la surface de la gélose MH. L'excès d'inondation est rejeté puis la gélose est séchée pendant 3h à l'étuve à 37°C. Ensuite, faire des puits à l'aide d'une pipette pasteur de diamètre 5 mm et ajouté une goutte du milieu dans chaque puits. Enfin, ajouté une goutte des gammes de concentrations d'extraits préparées et mettre à l'étuve pour incubation. Après 18H à 24H d'incubation des boîtes, la présence ou non d'une zone d'inhibition a été observée. Puis le diamètre a été mesuré à l'aide d'une règle graduée. Les résultats ont été exprimés en millimètre puis interprétés.

Méthode de dilution en milieu liquide

Dénombrement de l'inoculum bactérien

Les souches bactériennes ont été revitalisées par deux passages successifs par la méthode des stries sur des boîtes de géloses de Mueller Hinton (M.H). L'inoculum pur a été préparé selon la méthode de Toty et al. (2013). Cet inoculum pur a été utilisé pour réaliser le dénombrement (ou numération) des souches de 10^{-1} à 10^{-4} . Une goutte de chaque suspension diluée et l'inoculum pur ont été ensemencés par stries parallèles sur une gélose M.H puis incubée à 37 °C / 24H. Cette boîte permettra de déterminer la CMB par lecture interprétative de l'abondance des colonies pour les tubes de culture de CMI.

Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

Elle se définit comme étant la plus petite concentration d'extrait de *B. nitida* pour laquelle il n'y a pas de croissance visible à l'œil nu (Okou & Yapo, 2018). Pour chaque essai 2 séries de 8 tubes ont été préparées (une série témoin et une série test). Pour la série test, les sept (7) premiers tubes ont été numérotés de 1 à 7 et le dernier tube codifié TC a servi de tube témoin de croissance du germe bactérienne. Pour la réalisation de ce test, 1 ml d'eau distillée est distribuée dans chaque tube d'expérience (T1 à T6) et le tube TC. Par la suite, 1 mL s'extrait concentré de *B. nitida* à 200 mg/mL est incorporé au tube T1 ($C_1=100$ mg/mL). Une série de double dilution est obtenue de T2 à T6 par addition de 1mL de mélange (T₁) dans T₂ puis T₂ à T₃ et ainsi de suite jusqu'à T₆. On obtient une concentration finale à T₆ ($C_6=3.125$ mg/mL). Au tube témoin d'extraction (TE) on ajoute 2 mL d'extrait total à 200 mg/mL. Après la réalisation de cette gamme de dilution 1 mL d'inoculum bactérien est incorporé dans chaque tube (de T₁ à T₆) et TC.

Pour la réalisation de la série de référence, l'opération précédente a été utilisée. Cependant en lieu et place de l'inoculum pur, l'eau distillée stérile a été utilisée. Aussi, à la place du tube de contrôle de croissance de la série test, il y a un tube témoin de contrôle de stérilité (TS). Les tubes de la série test et de la série de référence ont été incubés pendant 18 h à 24 h à 37 °C.

La CMI des différents extraits a été déterminée par comparaison tube par tube, concentration par concentration entre les tubes de la série de référence et ceux de la série test. Cette concentration a été déterminée à l'œil nu, à la lumière du jour à la recherche d'une absence de turbidité ou de croissance visible (Okou & Yapo, 2018).

Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB)

La CMB est considérée comme la plus petite concentration d'extrait de plante pour laquelle, il y a 1/10000 des bactéries survivantes, comparativement à la numération de l'inoculum de départ (Okou & Yapo, 2018). Pour sa détermination, les tubes où il y a une absence de croissance visible à l'œil nu après la détermination de la CMI et la culture du tube témoin de croissance (TC) ont été ensemencés par des stries parallèles de 5 cm sur une gélose M.H. Parallèlement à cette opération, un dénombrement est réalisé pour le tube témoin de croissance (TC) jusqu'à la dilution 10^{-4} . Les différentes dilutions ont été par la suite ensemencées suivant les stries de 5 cm, dans une autre boîte gélosée de M.H. L'ensemble de diverses boîtes ensemencées ont été incubés à 37 °C pendant 18 H à 24 H. La CMB correspond à la strie de la boîte il y a au moins un même nombre de colonies que celle de la

dilution 10^{-4} du tube témoin de croissance (TC). Le Rapport CMB/CMI permet de démontrer l'efficacité d'un médicament. Selon Marmonier (1990), lorsque ce rapport est inférieur ou égal à 4, la drogue testée est bactéricide, mais s'il est supérieur à 4, la substance testée est bactériostatique.

1.4. Analyses statistiques

Les analyses statistiques des résultats ont été réalisées dans la base de donnée générée en excel. Les test de khi2 de Pearson a été utilisée pour comparer les moyennes au seuil $\alpha=5\%$.

2. Résultats et disussion

2.1. Résultats

2.1.1. Rendements de l'extraction des différents organes de *B. nitida*.

Les rendements en extraits secs ont été déterminés pour 100 g de la matière végétale (broyat) (M_0). Les masses des extraits secs (M_1) ont été déterminées après pesages (Tableau I). La masse d'extrait sec obtenue pour les feuilles est supérieure a celle obtenue pour les eorses de tiges et les racines. D'après les test de Khi2 de comparaison des moyennes, nous pouvons affirmer que les extraits des feuilles ont été plus concentrées en principes actifs que les tiges et les racines.

Tableau 1. Rendement d'extraction des différents organes de *B. nitida*

Organes de <i>B. nitida</i>	Masse de matière sèche végétale (M_0)	Masse de l'extrait sec (M_1)	Rendement (%)
Feuilles	100	20,7	20,7
Tige	100	15,1	15,1
Racine	100	13,9	13,9

M_0 : masse de la poudre avant l'extraction. M_1 : masse de l'extrait sec obtenu. Le test khi2 avec les paramètres suivants degré de liberté (dl) est égale à 2, seuil de probabilité choisi est 5% et la valeur critique est de 5,9915 (voir la table). Le calcul de khi2 pour les feuilles, la tige et la racine sont respectivement **0.7569**, **3.9601** et **4.9729**. La valeur de khi2 pour le test est de **9,5728** contre **5,9915**. La valeur de khi2 étant supérieur à la valeur critique des paramètres obtenus, on peut affirmer que les paramètres obtenus sont dépendant des uns et autres.

2.1.2. Profilage phytochimique des extraits de *B. nitida*

Le tri phytochimique de l'extrait hydroacétonique de *B. nitida* a mis en évidence la présence de plusieurs composés phytochimiques. Les polyphénols, des alcaloïdes, des tannins cathéchique et les flavonoïdes sont les omposés majoritaires et présents dans tous les organes. L'indole est le seul composé présent dans la tige et la racine alors que les

stérols et les terpènes sont les composés communs à la feuille et à la racine. Les phlobatanins, les leucoanthocyanes et anthraquinones sont présents dans les feuilles. Les anthracénoïdes présents dans les racines. Les glycosides cardiolipidiques, les composés quinoniques, les aminoacides, les saponosides et les anthocyanes n'ont pas été détectés. Les résultats des criblages phytochimiques sont résumés dans le Tableau II.

Tableau 2. Tri photochimique sur les extraits hydroacétoniques d'organes de *B. nitida*

Familles de métabolites secondaires	Extraits aqueux des différents organes de <i>B. nitida</i>		
	Feuille	Tige	Racine
Polyphénols	++	+++	+++
Flavonoïdes	+	+	-
Alcaloïdes	+++	++	+
Tanin catéchique	+	+	+
Tanin gallique	-	-	-
Anthracénosides	-	-	-
Stérols et polyterpènes	+	-	+
Phlobatanin	+	-	-
Glycosides cardiotoniques	-	-	-
Quinones	-	-	-
Acides aminés	-	-	-
Saponosides	-	-	-
Anthocyane	-	-	-
Leucoanthocyane	+	-	-
Anthraquinone	+	-	-
Indole	-	+	+

(+) = présence, (-) = absence

2.1.3. Inhibition de la croissance des bactéries en milieu gélosé

La Figure 2 présente l'évolution des diamètres d'inhibition de la croissance des bactéries en fonction des concentrations des extraits des organes de *B. nitida*. En général, les extraits de *B. nitida* ont été plus actives sur la souche d'*E. coli* que sur *Shigella sp.* De plus, on a constaté que l'action inhibitrice diminuait lorsque le facteur de dilution augmentait. Un effet dose dépendant est donc envisageable en fonction des concentrations croissantes des extraits d'organes pour les 2 souches étudiées. Pour la souche de *Shigella sp.*, on observe une variation importante au niveau des activités des différentes fractions d'organes. De plus, l'effet d'inhibition de la croissance bactérienne disparaît totalement à la concentration $c = 6,25$ mg/mL (pour la dilution $d = 1/64$) avec les extraits de feuilles et de la tige. L'inhibition maximale est obtenue à la concentration $c = 200$ mg/mL (pour $d=1/2$) avec un diamètre d'inhibition $D = 15$ mm pour les extraits des

feuilles. Pour la souche de *Shigella*, les extraits de racines ont été moins actives. Pour *E. coli*, les activités sont très proches car les diamètres d'inhibition sont peu variables pour des concentrations identiques. Néanmoins l'inhibition disparaît lorsque le seuil minimum $c = 3,12$ mg/mL (pour $d = 1/128$) pour les feuilles et racines. Cette inhibition est maximale à $c = 200$ mg/mL pour les extraits de feuilles avec un diamètre d'inhibition $D = 25$ mm.

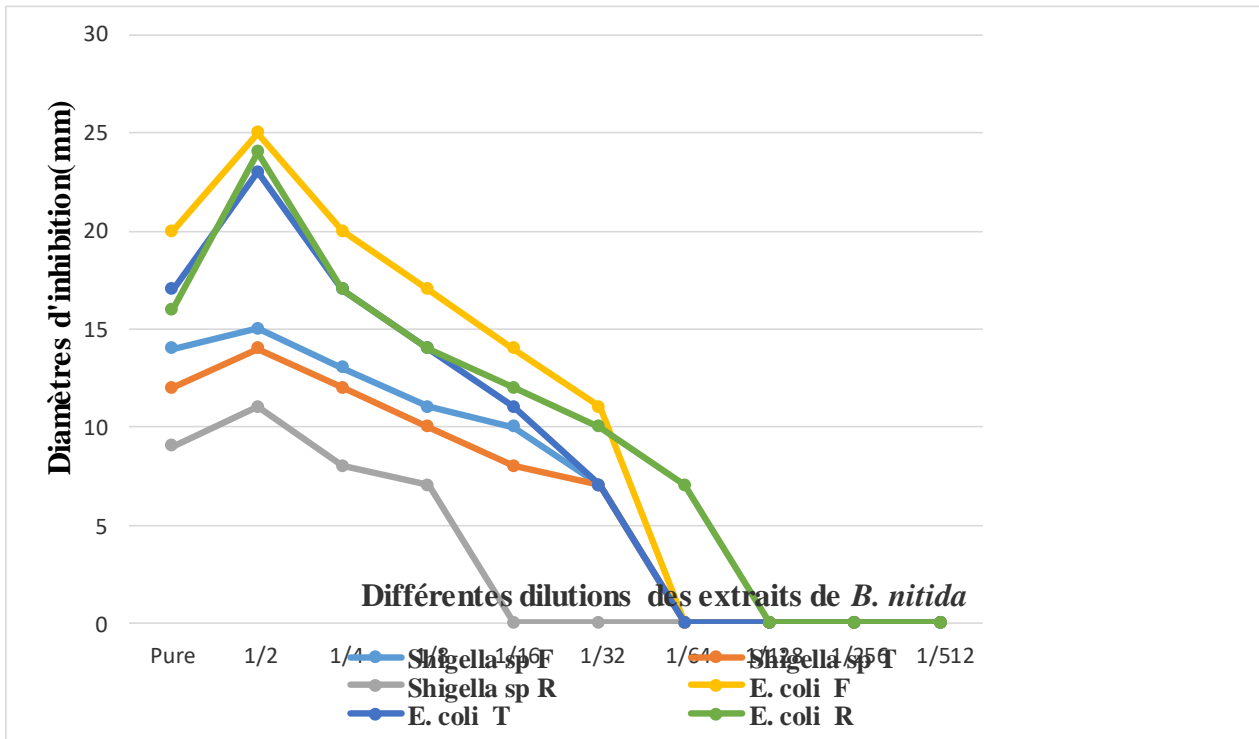


Figure 2. Evolution de l'inhibition de la croissance des souches en fonction des dilutions des extraits de *B. nitida*

2.1.4. Détermination de la CMI et de la CMB des extraits des extraits

L'évolution de la croissance des souches de *Shigella spp* et d'*E. coli* en milieu liquide à différentes concentrations d'extraits a permis de déterminer les CMI pour les souches de *Shigella spp* ($c = 12,5$ mg/mL pour les feuilles et tige et $c = 50$ mg/mL pour les racines) et pour *E. coli* ($c = 6,25$ mg/mL pour les feuilles et racine et $c = 12,5$ mg/mL pour la tige). Les rapports CMI/CMB ont montré que les extraits hydroacétoniques de *B. nitida* étaient bactéricides (Tableau III).

Tableau 3. Evaluation du rapport CMI/CMB en fonction des activités des extraits

Souches microbiennes	Organes	CMI (mg/mL)	CMB (mg/mL)	CMI/CMB	Interprétation
<i>Shigella spp</i>	F	12,5	12,5	1	Bactéricide
	T	12,5	12,5	1	Bactéricide
	R	50	50	1	Bactéricide
<i>E. coli</i> ATCC 25922	F	6,25	12,5	1/2	Bactéricide
	T	12,5	25	1/2	Bactéricide
	R	6,25	12,5	1/2	Bactéricide

2.2. Discussion

La tige de *Baphia nitida* a révélé une présence abondante en polyphénols, alcaloïdes, flavonoïdes, tanins cathéchiques et en indoles qui pourraient expliquer cette action antidiarrhéique. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Bruneton (1999) qui a cependant montré l'utilisation des tanins comme anti-diarrhéique sur les diarrhées infectieuses de moins de 3 à 4 jours. Selon Biaye (2002) les tanins auraient aussi des activités antiseptiques, bactéricides et antioxydantes. Les résultats de cette étude sont similaires à ceux de Kablan et al. (2011) réalisés sur 10 plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du cancer de sein en Côte d'Ivoire. Ces auteurs ont aussi isolés dans des feuilles de *Baphia nitida* les stéroïdes et les polyterpènes, des tanins, des composés phénoliques et des flavonoïdes.

Environ 20 % des espèces de plantes produisent des alcaloïdes. Dans nos travaux, les alcaloïdes ont été retrouvés dans tous les organes de la plante. Les alcaloïdes en général sont biologiquement actifs. Ils entrent dans la composition de nombreux médicaments comme principe actif. Les plantes les utilisent dans leur système de défense contre les herbivores et les pathogènes, car ces composés sont toxiques. Du fait de leurs rôles physiologiques ou de leurs activités biologiques spécifiques, les alcaloïdes restent d'importants réactifs biologiques. Elles présentent un intérêt toujours actuel en thérapeutique. Si la recherche des principes actifs continue activement en ce qui concerne les plantes médicinales et/ou toxiques, les alcaloïdes connus sont des produits de base en pharmacie. Comme exemple on a la nicotine, la ryanodine.

Selon Xiao et al. (2014), les flavonoïdes auraient des activités antibactériennes, diurétiques, oestrogéniques et cardioprotectrice. Akroum (2011) a mis en évidence leur activité antistreptococcique dans les poumons de rats. Cette activité a révélée des réponses plus intéressantes que celles de l'amoxicilline utilisée comme antibiotique de référence qui montrait des taux de résistances élevés par *E. coli* (Fanna et al, 2009 ; Ben &

Kehdher, 2010).

Les leucoanthocyanes ont été identifiés uniquement dans les feuilles. Par ailleurs, ils traitent les affections capillaires, oculaires et veineuses. Les terpénoïdes et les stéroïdes qui dérivent des terpénoïdes constituent le plus vaste ensemble connu des métabolites secondaires des végétaux (Yamunadevi *et al.*, 2011). Les stéroïdes sont des métabolites secondaires connus pour leurs propriétés analgésiques et cardiotoniques. Ils régularisent le métabolisme des protéines et des glucides, favorisent la synthèse des muscles et des os et sont aussi associés au contrôle hormonal chez les femmes (Hossain *et al.*, 2013). Le contrôle hormonal exercé par les stéroïdes chez les femmes se ferait dans le sens de la fonction reproductive de la femme (Bruneton, 2009).

Les tanins, flavonoïdes, leuco-anthocyanes sont les composés phénoliques ayant de puissantes propriétés antioxydantes qui agissent comme des capteurs de radicaux libres en prévenant et en arrangeant les dommages causés par ceux-ci (Ebrahimzadeh *et al.*, 2010). Ces antioxydants peuvent ainsi activer la défense immunitaire et réduire les risques de cancer et des maladies dégénératives (M'pondo *et al.*, 2012).

Contrairement à ces résultats, les travaux de Kablan *et al.* (2011) ont mis en évidence la présence des saponosides dans les feuilles de *Baphia nitida*. Cette différence peut s'expliquer par les types de solvants utilisés dans les différentes études (chloroforme vs mélange hydroacétonique) ou période de récolte qui s'est effectuée à différents moments de l'année, quand nous savons que selon les conditions abiotiques que subit une plante, celle-ci synthétise certains métabolites secondaires pour se protéger contre les agressions extérieures.

Les différents extraits ont la même concentration efficace 200 mg/mL sur les souches bactériennes et présentent des zones d'inhibitions différentes. La zone d'inhibition décrite autour de chaque extrait est fonction de la concentration utilisée. Cette action est dose-dépendante puisque. Il est possible de dire que la méthode de diffusion en milieu gélosé est un pré-test ou un test d'efficacité qui permet de détecter l'existence d'activité antibactérienne d'une substance (Oussou *et al.*, 2008). Cette méthode est une méthode présomptive pour l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits. Elle est peu fiable à cause du problème de diffusion des extraits et la stabilité de leurs effets surtout lorsque les principes actifs sont volatiles.

Les flavonoïdes ont une activité antibactérienne très vaste et très diversifiée. En effet, ils s'attaquent à un grand nombre de bactéries avec une intensité différente selon le microorganisme et l'écosystème dans lequel il se trouve. Ces travaux sont en accords avec ceux de plusieurs auteurs qui stipulent que les flavonoïdes sont capables d'inhiber la

croissance de différents types de bactéries : *E. coli* (Ulanowska et al., 2006), *E. faecalis*, *E. cloacae*, *H. sinuatum*, *P. mirabilis*, *Shigelles spp* (Okigbo et al. 2005 ; Mamatha, 2006). Cette activité antimicrobienne serait due principalement à la capacité de ces molécules à inhiber l'expression de l'ADN et la synthèse de certaines enzymes et protéines membranaires des microorganismes (Ulanowska et al., 2006).

Les extraits de feuilles sont plus actives que ceux des tiges, plus actives que ceux des racines. Cependant, sur la souche d'*E. coli*, les extraits des feuilles seraient plus actifs que ceux des racines, plus actifs que ceux des tiges. Par ailleurs, sous l'action de *B. nitida*, la souche d'*E. coli* est plus sensible que la souche de *Shigella sp*. Les valeurs des rendements obtenues sont en accord avec celles indiquées par la Pharmacopée Ouest Africaine (OOAS, 2013).

Le résultat de la dilution de l'inoculum pur révèle que l'épaisseur des nappes des colonies diminue en fonction de la dilution jusqu'à avoir des colonies isolées à la dilution 10^{-4} . Selon Toty et al. (2013), cela signifierait que les travaux ont été effectués dans les conditions standards de culture, respectant un inoculum de 10^6 UFC /ml. Cela vérifie les résultats des zones d'inhibitions et tri-phytochimique des différents extraits. Les feuilles ont été plus efficaces que les tiges et les racines sur les deux souches confondues. Les CMI d'*E. coli* sont inférieures à celles de *Shigelles*. De même les valeurs des CMB de *E. coli* sont les petites que celles de *Shigella* traduisant que les *E. coli* ont été plus sensibles aux extraits de *B. nitida* que les *Shigella spp*. Le rapport CMB/CMI de chaque extrait est égal à 1 pour les *Shigella sp* alors que pour *E. coli* a un rapport égal à 0.5. Cette forte activité corrobore avec celui de **Kouadio (2018)** qui a montré qu'aux valeurs plus petites des CMI, les extraits de racines sont plus efficaces que ceux des tiges sur la souche d'*E. coli* alors que sur la souche de *Shigella* les extraits des tiges sont plus actifs que ceux des racines. Donc l'extrait hydroacétonique a une activité antibactérienne bactéricide sur ces souches testées. Ces travaux concordent avec celui de Sirot (1990) et de Marmonier (1990) qui ont montré que lorsque ce rapport est inférieur ou égal à 4 l'extrait est de nature bactéricide alors que supérieur à 4 celui-ci est de nature bactériostatique. Pour lutter contre les entérobactéries, *B. nitida* est une des meilleures plantes. Ces trois extraits (feuilles, tiges et racines) sont efficaces pour lutter contre les entérites mais à des quantités (ou doses) différentes.

Les zones d'inhibitions ont montré que les souches entérobactéries (*E. coli* et *Shigella sp*) étaient sensibles aux différentes concentrations des extraits de *B. nitida* à des degrés variables. Cependant, les souches de *Shigella sp*. et *E. coli* sont sensibles aux concentrations les plus élevées

[200 – 100 mg/mL] et résistances aux concentrations inférieures à 100 mg/mL. Cette activité est valable pour les organes feuilles et tiges. Par contre, l'on note la que souche de *Shigella sp.* est résistance aux extraits de racine de *B. nitida* tandis que la souche d'*E. coli* est sensible à ces extraits racinaires. Les tests antimicrobiens en milieu liquide montrent que les extraits étaient bactéricides. La souche d'*E. coli* est plus sensible que la souche de *Shigella sp.* selon les diamètres d'inhibitions et les concentrations des activités obtenues. Les paramètres obtenus sont sensiblement égaux à ceux de Kablan et al. (2011).

Conclusion

L'étude tri phytochimique des extraits hydroacétoniques de *Baphia nitida* a montré la présence des composées qui appartiennent à la plante entière qui sont à l'origine des activités antibactériennes de nature bactéricide sur les souches de *Shigella* et *E. coli*. Cette action bactéricide observée est plus importante dans les feuilles que dans les écorces de tiges et les racines. L'usage de cette plante par les guérisseurs contre les douleurs gastro-intestinales et la diarrhée serait dû à sa teneur en polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes, stérols et polyterpènes. Les extraits des organes de *B. nitida* (en particulier les feuilles) pourraient constituer une alternative pour le traitement des diarrhées et une nouvelle source de molécules naturelles anti-infectieuses. Ces résultats pourraient contribuer à la valorisation de la médecine traditionnelle et pourraient constituer une base de données dans le monde scientifique.

Remerciements

Nous tenons à remercier l'Institut Pasteur de Côte D'Ivoire et le CHR de Daloa pour nous avoir fourni les souches bactériennes d'*E. coli* ATCC 25922 et *Shigella spp* pour cette étude.

Conflits d'intérêt: Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêt.

Contribution aux travaux : Tous les auteurs ont participé à toutes les étapes de manipulation et de rédaction cet article.

References:

1. Adeyemi, O. O. & Akindele, A. (2008). *Antidiarrhoeal activity of the ethyl acetate extract of Baphia nitida (Papilionaceae)*. Journal of Ethnopharmacology, 116(3), 407-12. DOI:10.1016/j.jep.2007.12.004.
2. Akroum, S. (2011), *Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels*, Thèse, Université Mentouri de Constantine

- (Algerie), Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biologie Animale, 115 p.
3. Anonyme. (1974). *L'histoire de la médecine et de la chirurgie, l'avenir de la médecine, les prix Nobel*. Encyclopédie Le Grand Médical. Edition Service S.A., Genève (Suisse), 397p.
 4. Bauer, G., Lüttge, U. & Kluge, M. (1992). *Botanique traité fondamentale*. 3^{ème} Edition Lavoisier. Techniques et Documentations, 546p.
 5. Ben, A. & Khedher, M. (2010). *Frequency and antibiotic resistance in uropathogenic bacteriain the university hospital tahar sfar*. Revue Tunisienne d'Infectiologie, 4, 57-61.
 6. Biaye, M. (2002). *Actions pharmacologiques des tanins*. Thèse de pharmacie, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Département de pharmacie. 162p.
 7. Bonfili, L., Cecarini, V., Amici, M., Cuccioloni, M., Angeletti, M., Keller, J. N., Eleuteri, A. M. (2008). *Natural polyphenols as proteasome modulators and their role as anti-cancer compounds*. Federation of European Biochemical Societies Journal, 275, 5512–5526.
 8. Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales*. Edition technique et documentation, 3^{ème} édition, Paris. p 227-785.
 9. Bssaibis, F, Gmira, N., & Meziane, M. (2009). *Activité antibactérienne de Dittrichia viscosa (L.) W. Greuter*. Revue de Microbiologie Industrielle Sanitaire et Environnementale, 3, 44-55.
 10. Burta, O., Tirlea, F., Burta, O. L., Qadri, S. M. (2008). *Phytotherapy in cardiovascular diseases: From ethnomedicine to evidence based medicine*. Journal of Biological Sciences, 8(2), 242-247.
 11. Cazarolli, L. H., Zanatta L., Alberton, E. H., Figueiredo, M. S., Folador, P., Damazio, R. G., Pizzolatti, M. G. & Silva, F. R. (2008). *Flavonoids: prospective drug candidates*. Mini review medicine Chemistry, 8, 1429-1440.
 12. Dinzedi, M. R. (2015). *Activités antibactériennes de extraits de Terminalia catappa et Thonningia sanguinea sur Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae et Staphylococcus aureus multiresistantes d'origine humaine*. Thèse de Doctorat de l'Université Félix Houphouët- Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire, 133 p.

13. Ebrahimzadeh, M. A., Nabavi, S. M., Nabavi, S. F., Bahramian, F. & Bekhradnia, A. R. (2010). *Antioxidant and free radical scavenging activity of H. Officinalis L. Var Angustifolius, V. Odorata, B. hyrcana et C. Speciosum*. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 23 (1), 29-34.
14. Edeoga, H. O., Okwu, D. E., & Mbaebie, B. O. (2005). *Phytochemical constituent of some Nigerian medicinal plants*. African Journal of biotechnology, 4(7), 685-68. DOI: 10.5897/AJB2005.000-3127.
15. Fatna, B., Nourredine, D., Brahim, B., Hamid, A. & Mohammed, T. (2009). *Profil de résistance aux antibiotiques des Escherichia coli uropathogènes communautaires au Maroc*. European Journal of Scientific Research, 38, 57-62.
16. Harborne, J. B. (1973). *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Technique of Plant Analysis*. Ed. Chapman and Hall, London, 107-150.
17. Hossain, H., Jahan, I. A., Howlader, S. I., Dey, S. K., Hira, A., & Ahmed, A. (2013). *Phytochemical Screening and Antinociceptive Properties of the Ethanolic Leaf Extract of Trema Cannabina Lour*. Advanced Pharmaceutical Bulletin, 3(1), 103-108.
18. Houghton, P. J., & Raman, A. (1998). *Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts*. 1ère édition, Chapman and Hall, 244 p.
19. Houmènou, V., Adjatin, A., TOssou, T. G., Yedomonhan, H., Dansi, A., Gbenou, J., & Akoegninou, A. (2017). *Etude ethnobotanique des plantes utilisées dans le traitement de la stérilité féminine dans les départements de l'Ouémé et du plateau au Sud Bénin*. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 11(4), 1851-1871. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v11i4.34>.
20. Kablan, G. R., Ambeu, N. C., Mamyrbékova, B. J. A., Békro, Y. A. (2011). *CCM D'extraits Selectifs de 10 Plantes Utilisees Dans le Traitement Traditionnel du Cancer du Sein en Côte d'Ivoire*. European Journal of Scientific Research, 63(4), 592 – 603.
21. Koffi, A. J, Bla, K. B., Yapi, H. F., Bidie, A. P., & Djaman, A. J. (2015). *Phytochemical Screening of Some Medicinal Plants in Côte D'ivoire and Evaluation of their Extraction Efficiency*. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research, 7(3), 563-569.
22. Koné, M. W. (2005). *Potentiel des plantes médicinales de Côte-d'Ivoire dans le contrôle des haemonchoses chez les ovins*. Thèse de Doctorat de Côte d'Ivoire, UFR Biosciences, Laboratoire de Botanique, 202 p.

23. Koné, W. M., Atindehou, K. K., Kacou-N'douba, A., & Dosso, M. (2007). *Evaluation of 17 medicinal plants from Northern Côte d'Ivoire for their in vitro activity against Streptococcus pneumoniae*. African Journal Traditional Complement Alternative Medicine, 4: 17-22.
24. Kouadio, L. M. (2018). *Evaluation de l'activité antibactérienne d'Euphorbia hirta sur deux souches cliniques de Shigella sp.* Mémoire de Master Université Jean Lorougnon Guédé, 40 p.
25. Li-Weber, M. (2009). *New therapeutic aspects of flavones: The anticancer properties of Scutellaria and its main active constituents Wogonin, Baicalein and Baicalin*. Cancer Treatment Review, 35, 57-68.
26. M'pondo, M. E., Dibong, S. D., Ladoh, Y. C. F., Priso, R. J., & Ngoye A. (2012). *Les plantes à phénols utilisées par les populations de la ville de Douala*. Journal of Animal and Plant Sciences, 15, 2083-2098.
27. Mamatha, B. (2006). *Screening of medicinal plants used in Rural Indian Folk medicine for treatment of diarrhea*. Pharmaceutical Reviews. <https://www.researchgate.net> › 2657.
28. Marmonier, A. A. (1990). *Introduction aux techniques d'étude des antibiotiques*. Bactériologie Médicale, technique usuelle. 227-236.
29. M. S. F. (2016). *Maladies diarrhéiques : des milliers d'enfants meurent chaque jour*. Rapport d'activité international 2016. <https://www.msf.ch/nos-actions/maladies/maladies-diarrheiques>.
30. Nacoulma-Ouédraogo O. (1996). *Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso : cas du Plateau central*, Thèse de Doctorat en Sciences Naturelles, Université de Ouagadougou, (Burkina-Faso), 605 p.
31. OMS. (2017). *Principaux repères sur les maladies diarrhéiques*. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>.
32. O. O. A. S. (2013). *Tetrapleura tétraptera*; dans Pharmacopée Ouest Africaine, 215-218.
33. Okigbo, R. N., Mbajinka, C. S., & Njoku, C. O. (2005). *Antimicrobial potentials of (UDA) Xylopiya aethopica and Occinum gratissimum L. some pathogenous of man*. International Journal of Molecular Medicine and Advance Sciences, 1 (4), 392-7.
34. Okou, O. C., Yapo, E-S., Kporou, K. E., Guy, L. B., Monthaut, S., & Djaman, A. J. (2018). *Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de feuilles de Solanum torvum Swartz*

- (Solanaceae) sur la croissance *in vitro* de 3 souches d'entérobactéries. *Journal of Applied Biosciences*, 122, 12287-12295.
35. Oussou, K. R., Yolou, S., Boti, J. B., Guessennd, K. N., Kanko, C., Ahibo, C., & Casanova, J. (2008). *Etude Chimique et Activite Antidiarrheique des Huiles Essentielles de Deux Plantes Aromatiques de la Pharmacopee Ivoirienne*. *European Journal of Scientific Research*, 24 : 94-103.
 36. Perez V. F., Duarte J. & Andriantsitohaina R. (2006). *Endothelial function and cardiovascular disease: Effects of quercetin and wine polyphénols*. *Free Radical Research.*, 40, 1054-1065.
 37. Sirot, J. (1990). *Evaluation de l'activité antibactérienne des antibiotiques in vitro*. In *Bactériologie médicale*, 2ème édition/Flammarion, 297-315.
 38. Teillet, F., Boumendjel, A., Boutonnat, J. & Ronot, X. (2008). *Flavonoids as RTK inhibitors and potential anticancer agents*. *Medicine Research Review*, 28 : 715-745.
 39. Terra, X., Valls, J., Vitrac, X., Mérrillon, J.-M., Arola, L., Ardèvol, A., Bladé, C., Fernad-Larrea, J., Pujadas, G., Salvadó, J., & Blay M. (2007). *Grape-seed procyanidins act as antiinflammatory agents in endotoxin-stimulated RAW 264.7 macrophages by inhibiting NFkB signaling pathway*. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 55, 4357-4365.
 40. Toty, A. A., Guessennd, N., Bahi, C., Kra, A. M., Otokore, D. A., & Dosso, M. (2013). *Evaluation in-vitro de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de Harungana madagascariensis sur la croissance de souches multi-résistantes*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 5(82), 12-21.
 41. ULanowska, K., Traczyk, A., Konopa, G., & Wegrzym, G. (2006). *Differentialantibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DND, RNA and protein synthesis in some bacterial strains*. *Archives of Microbiology*, 184(5), 271-8.
 42. Wagner, H. (1983). *Drogen analyse, Dünschicht chromatographische Analyse von Arzneidrogen*. Springer Verlag Berlin Heidelberg New York, 522 p.
 43. Xiao, Z. T., Zhu, Q., & Zhang, H. Y. (2014). *Identifying antibacterial targets of flavonoids by comparative genomics and molecular modeling*. *Open journal of genomics*, N^o3. DOI:10.13055/OJGEN_3_1_1.140317.

44. Yamunadevi, M., Wesely, E. G., & Johnson, M. (2011). *Phytochemical studies on the terpenoids of medicinally important plant Aerva lanata L. using HPTLC*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 1(2), 220-225. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60159-7](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60159-7)
45. Yang, Q., Yin, X., Lil, M. A., Danielson, M. L., Freiser, H., Huang, J. (2008). *Long-chain carboxychromanols, metabolites of vitamin E, are potent inhibitors of cyclooxygenases*. Production Natural Academic Science, 105, 20464-20469.