

Etude botanique et évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de *Hunteria eburnea* Pichon (Apocynaceae) sur la croissance *in vitro* de souches multi-résistantes isolées chez des patients hospitalisés dans un CHU en Côte d'Ivoire

[Botanical study and evaluation of the antibacterial activity of the aqueous extract from *Hunteria eburnea* Pichon (Apocynaceae) on the multi-resistant stump growth isolated from hospital patients at a university hospital in Ivory Cost]

KANGA Yao¹, GUESSENND Nathalie², GNAHOUE Goueh³, BENE Kouadio¹, ZIRIHI Guédé Noel¹, and Mireille Dosso⁴

¹Laboratoire de Botanique, Unité de Formation et de Recherche Biosciences, 22 BP 582 Abidjan 22, Université Felix Houphouët-Boigny, Côte d'Ivoire

²UFR des Sciences Médicales, Université Félix Houphouët-Boigny, Côte d'Ivoire, Unité de Surveillance de la Résistance des Micro-organismes aux Anti-Infectieux (ASSURMI), Département de Bactériologie Virologie de l'Institut Pasteur, Côte d'Ivoire

³Laboratoire de Biochimie et de Microbiologie, Ecole Normale Supérieure (ENS), 08 BP 10 Abidjan 08, Côte d'Ivoire

⁴Laboratoire de Bactériologie- Virologie, Institut Pasteur, Côte d'Ivoire

Copyright © 2016 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: Treatment failures and the more high cost of treatment of infections caused by resistant bacteria called to find other care alternatives. This study was initiated to evaluate the antibacterial activity of the aqueous extract from *Hunteria eburnea* stem bark on multi-resistant strains. The methods of diffusion in agar and liquid media were used for susceptibility testing and MIC and MBC determination. The tests were performed on four multi-resistant strains isolated from patients and three reference strains were used as control. The minimum inhibitory concentrations of the extracts ranged from 3,12 mg/mL and 50 mg/mL and minimum bactericidal concentrations between 25 mg/mL and 100 mg/mL. The results obtained show that all the bacterial strains are sensitive to aqueous total extract. This extract is bactericidal on *S. aureus*, *E. coli* and bacteriostatic on *P. aeruginosa*. This might justify the use of *Hunteria eburnea* trunk bark in the treatment of various infections in traditional settings.

KEYWORDS: *Hunteria eburnea*, aqueous extract, MIC, MBC, Ivory Cost.

RÉSUMÉ: Les coûts de plus en plus élevés des traitements des infections dues aux bactéries résistantes appellent à trouver d'autres alternatives de soins. La présente étude a été initiée dans le but d'évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Hunteria eburnea* sur des souches multi-résistantes. Les méthodes de la diffusion en milieu gélosé et en milieu liquide ont été utilisées pour le test de sensibilité et la détermination de la CMI et de la CMB. Les différents tests ont été effectués sur quatre souches multi-résistantes isolées chez des malades et trois souches de référence. Les concentrations minimales inhibitrices des extraits varient entre 3,12 mg/ml et 50 mg/ml et les concentrations minimales bactéricides entre 25 mg/mL et 100 mg/ml. Les résultats obtenus montrent que toutes les souches bactériennes sont sensibles à l'extrait total aqueux. Cet extrait est bactéricide sur *S.aureus*, *E.coli* et bactériostatique sur *P.aeruginosa*. Ceci

pourrait justifier l'utilisation de l'écorce de tronc de *Hunteria eburnea* dans le traitement de diverses infections en milieu traditionnels.

MOTS-CLEFS: *Hunteria eburnea*, extrait aqueux, CMI, CMB, Côte d'Ivoire.

1 INTRODUCTION

Depuis leur apparition, les antibiotiques sont restés le moyen privilégié de lutte contre les infections bactériennes. L'apparition des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques et leur diffusion dans les populations constituent un phénomène émergent majeur ; cette évolution se traduit par des taux élevés de résistance de certaines espèces bactériennes à plusieurs familles d'antibiotiques qui étaient sensibles il y a quelques années [1,2]. A l'instar de certains pays d'Afrique, de nombreux cas de bactéries multi-résistantes sont rapportés en Côte d'Ivoire [3,4]. Si la découverte et l'utilisation des antibiotiques ont été à l'origine des plus grands succès de la médecine, aujourd'hui, l'émergence et la diffusion des bactéries multi-résistantes dans les populations humaines sont devenues des problèmes de santé publique très préoccupants [5]. De ce fait, la recherche de nouvelles molécules est devenue nécessaire et d'actualité. Ces dernières années les recherches sur les plantes ont eu un impact significatif dans la lutte contre les maladies infectieuses. C'est dans cette optique que nous avons entrepris une enquête ethnobotanique dans le centre Ouest de la Côte d'Ivoire (Département d'Issia) sur les plantes utilisées dans le traitement des maladies microbiennes. Cette étude nous a permis de sélectionner *Hunteria eburnea* et d'évaluer les propriétés antibactériennes de l'extrait aqueux de l'écorce du tronc sur la croissance *in-vitro* de quelques souches bactériennes multi-résistantes.

2 MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 MATÉRIEL

2.1.1 MATÉRIEL VÉGÉTAL

Le matériel végétal utilisé est constitué des écorces de tronc de *Hunteria eburnea* récoltées dans le Département d'Issia en Août 2013 dont l'identification a été faite par le Centre National de Floristique de l'Université Felix Houphouët Boigny de Côte d'Ivoire. Le numéro d'identification est : 01 /06/1981, Aké-Assi 15904, Forêt du Banco.

2.1.2 SOUCHE BACTÉRIENNE TESTÉES

Pour évaluer l'activité antibactérienne de *Hunteria eburnea*, six (6) souches bactériennes de la banque de l'Unité des Antibiotiques, des Substances Naturelles et de la surveillance des Micro-organismes aux Anti-infectieux (ASSURMI) de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI) ont été utilisées. Il s'agit de 3 souches de référence (*P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25922 et *S. aureus* ATCC 25923) et 3 souches infectieuses isolées sur des malades hospitalisés du CHU de Cocody (*E.coli* BLSE 1087 C /13, *P. aeruginosa* IMP-I 865 C /10 et *S. aureus* METI-R 1532/13)

2.2 MÉTHODES

2.2.1 ETUDE MONOGRAPHIQUE DE *HUNTERIA EBURNEA*

Pour permettre une identification facile de cette plante en milieu naturel, une étude monographique complète a été réalisée ; elle a pris en compte :

- la famille botanique de la plante ;
- les généralités sur cette famille botanique ;
- la description détaillée de la plante ;
- la répartition géographique de cette plante ;
- quelques usages thérapeutiques traditionnels dans la pharmacopée ouest-africaine.

2.2.2 PRÉPARATION DES EXTRAITS TOTAUX

Préparation des extraits : Les écorces de tige de *Hunteria eburnea* récoltées, ont été rincées à l'eau et séchées à l'abri du soleil. Ces organes végétaux séchés ont été ensuite réduits en poudre fine grâce à un broyeur électrique IKA-MAG RTC. On obtient une poudre de couleur grise. Les extraits totaux ont été préparés selon la méthode décrite par Zirihi et al [6]. Extrait total aqueux : Cent grammes (100 g) de poudre des écorces sont homogénéisés dans 1 litre d'eau distillée dans un Blender (Mixer) de marque Life's Superb (LS-317) pendant trois fois trois minutes à la température ambiante. L'homogénat obtenu est filtré successivement sur du coton hydrophile puis sur du papier Wattman (3 mm). A l'aide d'une étuve réglée à 50°C, le solvant d'extraction est éliminé. L'évaporat sec est récupéré sous forme de poudre et constitue l'extrait total aqueux (ETA).

2.2.3 CALCUL DU RENDEMENT

Il consiste à faire le rapport de la masse de l'extrait sur la masse de la poudre végétale qui a servi pour l'extraction multiplié par 100, selon la formule suivante :

$$r = (m \times 100) / M$$

(r: rendement d'extraction ; m : masse de l'extrait ; M : masse de la poudre).

2.2.4 ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES EXTRAITS VEGETAUX

2.2.4.1 TEST DE SENSIBILITÉ

La sensibilité des souches aux extraits de plantes a été déterminée selon la technique de diffusion en milieu gélosé. Les milieux de Mueller Hinton ont été ensemencés par inondation. A l'aide d'un emporte-pièce stérile, des puits d'environ 6 mm de diamètre ont été effectués dans la gélose. Chaque puits a reçu 80 µl de la substance à tester aux concentrations 200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25 et 3,12 mg/ml. Après 30 min de diffusion à la température du laboratoire, les boîtes de Pétri ont été incubées à 37 °C pendant 18 à 24 h. La présence ou non d'une zone d'inhibition a été observée [7]. L'interprétation a été faite selon Duraffourd et Ponce [8,9].

2.2.4.2 PRÉPARATION DE L'INOCULUM

L'*inoculum* bactérien a été préparé à partir de colonies de moins de 24 h en bouillon Mueller Hinton (BMH). Une colonie isolée de la culture bactérienne a été prélevée à l'aide d'une anse de platine et homogénéisée dans 10 ml du bouillon puis incubé pendant 3 à 5 h à 37 °C pour avoir une pré-culture. Un volume de 0,01 ml ou 0,1 ml ou 1 ml a été prélevé respectivement pour les *Pseudomonas*, les *entérobactéries* et les *Staphylocoques* et a été ajouté à 10 ml de BMH stérile. Cette suspension bactérienne réalisée est évaluée à environ 10⁶ cellules/ml et constitue la dilution 100 ou l'*inoculum* pur

2.2.4.3 NUMÉRATION DE L'INOCULUM

La numération de l'*inoculum* a été réalisée par une dilution au 10^{ème} à partir de l'*inoculum* pur. On a obtenu 4 dilutions à 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴. Ces différentes dilutions ainsi que l'*inoculum* pur ont été ensemencés à l'aide d'une anse calibrée de 2 µl par stries de 5 cm de long sur une gélose Mueller Hinton puis incubés à 37 °C pendant 24 h. Cette préparation constitue la boîte A.

2.2.4.4 PREPARATION DE LA GAMME DE CONCENTRATION DES EXTRAITS VEGETAUX

La gamme de concentration de l'extrait végétal a été préparée dans sept tubes à essais numérotés de 1 à 7 par la méthode de la double dilution selon une progression géométrique de raison 1/2.

2.2.4.5 INOCULATION

Dans une série de huit tubes à hémolyse numérotées de C₁ à C₈, on a introduit 1ml de l'*inoculum* pur. Ensuite, on a ajouté dans les tubes, 1ml d'extrait végétal selon la gamme de concentration préparée. Cette répartition d'extrait végétal a été faite de sorte que 1ml d'extrait végétal de 200 mg/ml soit transféré dans le tube C₁, le tube C₂ a reçu 1 ml de 100 mg/ml ainsi de suite jusqu'au tube C₇ qui a reçu 1ml de la solution à 3,12 mg/ml. Le tube C₈ a reçu en lieu et place de l'extrait végétal, 1 ml

de BMH stérile qui a servi de témoin de croissance. Du fait de la dilution volume/volume ainsi réalisée, la concentration dans les tubes a été réduite de moitié. Ces tubes ont été incubés à 37 °C pendant 24 h.

2.2.4.6 DETERMINATION DE LA CONCENTRATION MINIMALE INHIBITRICE (CMI)

La CMI est la plus faible concentration de la substance pour laquelle il n'y a pas de croissance visible à l'œil nu après un temps d'incubation de 18 à 24 h. Sa détermination a été faite par observation du trouble induit par la croissance des germes étudiés dans chaque tube. La CMI a été la plus petite concentration pour laquelle il n'y a pas eu de trouble observé à l'œil nu.

2.2.4.7 DETERMINATION DE LA CONCENTRATION MINIMALE BACTERICIDE (CMB)

La concentration minimale bactéricide (CMB) est la plus faible concentration de substance qui laisse au plus 0,01% de germes survivants. A l'aide d'une anse calibrée à 2 µl, les contenus des tubes dans lesquels aucun trouble n'a été observé ont été prélevés et ensemencés sur une gélose Mueller-Hinton en commençant par le tube de la CMI. L'ensemencement a été fait par stries parallèles de 5 cm de long à la surface de la gélose (Boîte B). Après 24 h d'incubation à l'étuve à 37 °C, le nombre de colonies sur les stries a été comparé à celles de la boîte de numération de l'*inoculum* (Boîte A). Ainsi, le premier tube expérimental dont le nombre de germes présents sur sa strie est inférieur ou égal à celui de la dilution 10⁻⁴ correspondra à la CMB [10,11].

3 RESULTATS

3.1 ETUDE MONOGRAPHIQUE DE LA PLANTE

Hunteria eburnea appartient à la famille des apocynaceae.

- La Famille des Apocynaceae

Les Apocynaceae sont actuellement l'objet d'un grand nombre d'études botaniques, chimiques et pharmacologiques dans le monde entier, car beaucoup d'espèces sont riches en alcaloïdes ou en hétérosides présentant une grande activité physiologique.

Ce sont des lianes ligneuses, des arbrisseaux, des arbustes ou des arbres, rarement des herbes.

Les feuilles sont simples entières, opposées ou verticillées, sans stipules. Les inflorescences sont généralement cymeuses. Les fruits sont des baies, des drupes, des capsules ou des follicules. La flore de Côte d'Ivoire compte 74 espèces d'Apocynaceae [12].

- *Hunteria eburnea* Pichon

Nom vernaculaire Bété: Krigbiyi

- Description:

Hunteria eburnea est un arbuste ou petit arbre à écorce lisse très mince, entaille brune, latex blanc. Les feuilles sont simples, opposées, elliptiques à oblongues glabres, il y a 12 à 24 paires de nervures. Les inflorescences sont en petit cymes terminales ou axillaires. Les fleurs sont blanches odorantes de Décembre à Avril. Les fruits sont globuleux accouplés, jaune orangé à maturité de diamètre environ 5 cm. Dans le fruit, il y a 10 à 12 graines enfouies dans une pulpe gélatineuse. C'est une espèce des sous-bois des forêts humides (Figure 1).

- Répartition géographique:

Cette espèce est représentée dans les forêts denses humides africaines.

- Utilisation thérapeutique:

Les écorces de tige sont utilisées après décoction en boisson contre les maladies microbiennes dans la région de Daloa (Côte-d'Ivoire) et contre le paludisme.

En Sierra Leone, on prépare avec l'écorce de *Hunteria eburnea* un décocté amer qui est employé comme stomachique et en lotion pour traiter la fièvre.



Fig 1 : Rameau feuillé de *Hunteria eburnea* (photo, kanga 2014)

3.2 RENDEMENT DE L'EXTRACTION

Rendement de l'extrait total aqueux (ETA) : Pour 50 grammes de poudre de *Hunteria eburnea* nous avons obtenu 5 grammes d'extraits totaux aqueux soit $r = 10\%$.

Résultat de l'évaluation de l'activité antibactérienne

3.3 TEST D'EFFICACITÉ

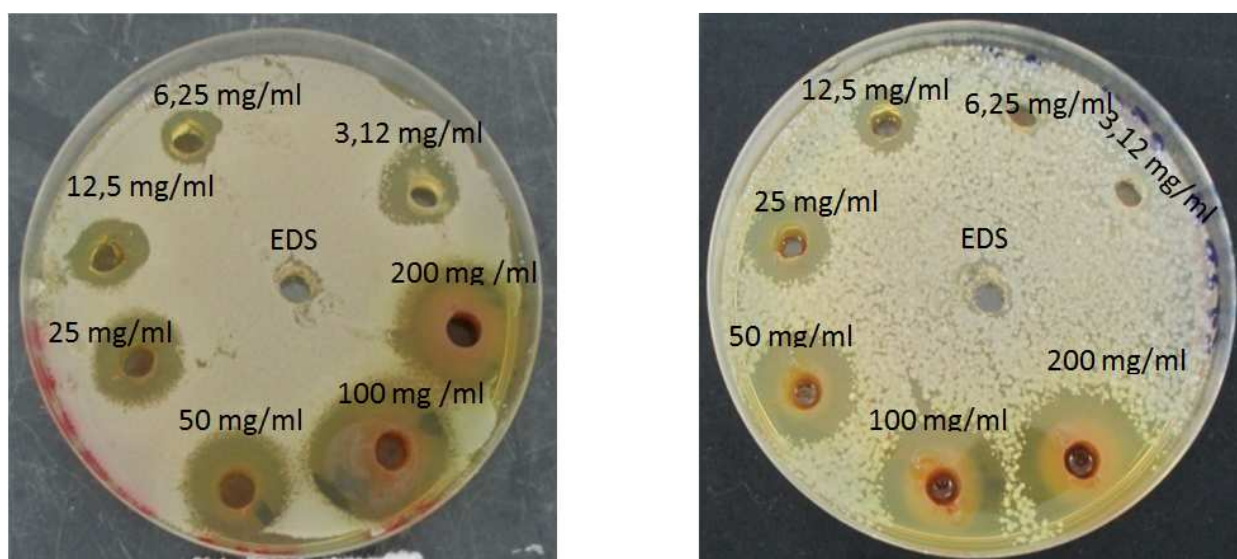
L'extrait aqueux de *Hunteria eburnea* a eu une activité sur toutes les souches infectieuses. Ses deux plus grandes activités avec des zones d'inhibition de 19,7 mm et 20,7 mm de diamètre, sont observées sur *Staphylococcus aureus* 1532 C/10 résistant à la méthycilline et sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 qui est une souche de référence (Figure 2). Les résultats sont donnés dans les Tableaux 1 et 2.

Tableau 1: Test d'efficacité avec l'extrait aqueux de *Hunteria eburnea* sur 3 souches

concentration en mg/mL	Zone d'inhibition (mm) sur les souches bactériennes résistantes		
	<i>S. aureus</i> 1532C/13	<i>P. aeruginosa</i> 865C/10 IMP-I	<i>E. coli</i> 1087C/13
200	19,7±0,6	10±0	14,66±0,6
100	18±0	7,3±0,6	13±0
50	15,3±0,6	0	10,3±0,6
25	12,7±0,6	0	7,3±0,6
12,5	11±0	0	0
6,25	9±0	0	0
3,12	5±0	0	0

Tableau 2: Résultats du test d'efficacité avec l'extrait aqueux de *Hunteria eburnea* sur les souches de référence

concentration en mg/mL	Zone d'inhibition (mm) sur les souches de références bactériennes		
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>P. aeruginosa</i> 27853 ATCC	<i>E. coli</i> 25922 ATCC
200	20,7±0,6	9±0	10,3±0,6
100	19,7±0,6	5,7±0,6	7±0
50	16±0	0	0
25	13±0	0	0
12,5	10,3±0,6	0	0
6,25	0	0	0
3,12	0	0	0

Fig 2 : Zones d'inhibitions de l'extrait aqueux de l'écorce de *Hunteria eburnea*

EDS : eau distillée stérile

3.4 DÉTERMINATION DES PARAMÈTRES ANTIBIOTIQUES

Extrait aqueux de *Hunteria eburnea*

L'extrait aqueux des écorces de tige de *Hunteria eburnea* est bactéricide sur 70% des souches testées sauf sur *Pseudomonas aeruginosa*. Il est actif sur *Staphylococcus aureus* résistant à la méthycilline 1532C/10 avec une CMI de 12,5 mg/mL. La plus petite valeur de CMB est de 25 mg/ mL. La CMB de l'extrait aqueux de *Hunteria eburnea* sur *E. coli* BLSE 1087C/13 est de 100 mg / mL (Tableau 3).

Tableau 3 : CMI et CMB de l'extrait aqueux de *Hunteria eburnea*.

	CMI (mg/ml)	CMB (mg/ml)	CMI/CMB	Pouvoir
<i>S. aureus</i> METI-R 1532C/13	25	25	1	Bactéricide
<i>P. aeruginosa</i> 865C/10 IMP-I	6,25	50	8	Bactériostatique
<i>E. coli</i> 1087C/13 BLSE	50	100	2	Bactéricide
<i>E. coli</i> ATCC 25922	50	100	2	Bactéricide
<i>S. aureus</i> ATCC25923	12,5	25	2	Bactéricide
<i>P. aeruginosa</i> 27853	3,12	25	8	Bactériostatique

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice, CMB : Concentration Minimale Bactéricide

4 DISCUSSION

L'activité antibactérienne des écorces de *Hunteria eburnea*, a été réalisée sur la base des informations recueillies auprès des tradipraticiens. L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée sur 7 souches bactériennes. Nous avons vérifié d'abord la stérilité des extraits aqueux puis nous avons effectué le test d'efficacité. A la suite du test d'efficacité, l'extrait aqueux a eu des zones d'inhibition sur toutes les souches étudiées. On pourrait donc dire que les composés responsables de l'activité biologique sont solubles dans l'eau. Aussi cette forte activité de l'extrait aqueux peut être due à des molécules hydro-solubles. Toutes les souches bactériennes testées ont présenté différentes sensibilité à l'extrait aqueux de l'écorce de tige de *Hunteria eburnea*. Les tests de l'extrait aqueux de l'écorce de tige de *Hunteria eburnea* en milieu liquide gélosé ont montré, comparativement aux témoins de croissance, une variation décroissante de la turbidité des tubes au fur et à mesure que la concentration de l'extrait augmente. Cela montre que cet extrait manifeste une activité antibactérienne en inhibant la croissance *in-vitro* des différentes souches étudiées. Selon Marmonier lorsque le rapport d'activité CMB/CMI d'une substance antimicrobienne est inférieur ou égale à quatre cette dernière est qualifiée de substance bactéricide et si le rapport est supérieur à quatre, alors elle est dite bactériostatique [13].

En effet, l'extrait aqueux présente des valeurs de CMI allant de 3,12 à 50 mg/mL et des valeurs de CMB allant de 25 à 100 mg/ml. Il est bactéricide sur toutes les souches étudiées sauf sur 2 bactéries que sont *Pseudomonas aeruginosa* IMP-I 865c/10, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923.

Les travaux effectués sur l'étude chimique des écorces de *Hunteria eburnea* ont montré que les espèces du genre *Hunteria* sont très riches en alcaloïde et bien d'autres composés chimiques [14]. Selon Millogo Koné et al les alcaloïdes présents dans une apocynaceae *Holarrhena floribunda* exercent une activité antibactérienne [15]. On pourrait donc dire que l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tige de *Hunteria eburnea* observées sur toutes les souches est peut être due aux alcaloïdes présents dans l'écorce de tige. *Tabernaemontana crassa* Benth, une autre apocynaceae a montré une bonne activité antimicrobienne selon Biyiti L.F et al [16]. On pourrait donc dire que les espèces de la famille des Apocynaceae possèdent une activité antibactérienne similaire. La différence des paramètres antibactériens et du pouvoir bactéricide ou bactériostatique de l'extrait vis à vis des souches peut être dû à leurs profils. Elle peut aussi s'expliquer par les différents mécanismes et modes par lesquels chaque bactérie assure et organise sa résistance aux antibiotiques [17,18].

5 CONCLUSION

Notre étude qui a consisté à évaluer l'activité antibactérienne de *Hunteria eburnea*, plante médicinale utilisée dans le Département d'Issia dans le traitement des maladies microbiennes a confirmé son utilisation sur le plan scientifique. En effet l'extrait aqueux a été actif sur les *S.aureus* METI-R, *E.coli* BLSE, qui sont des bactéries qui présentent de grandes résistances aux antibiotiques utilisés en pratique courante. L'extrait aqueux des écorces de tige de *Hunteria eburnea* pourrait donc constituer une alternative moins coûteuse pour le traitement des infections bactériennes.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

S. Aureus : *Staphylococcus aureus*
E. coli : *Escherichia coli*
P. aeruginosa: *Pseudomonas aeruginosa*
METI-R: Résistant à la méthycilline
IMP: imipénème intermédiaire
BLSE : Bétalactamase à spectre élargi
CMI : Concentration Minimale Inhibitrice,
CMB : Concentration Minimale Bactéricide

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient sincèrement le laboratoire de Botanique de l'Université Felix Houphouet Boigny de Côte d'Ivoire et l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire pour leur appui technique dans ce travail.

REFERENCES

- [1]- Guillemot D, Maugendre P, Chauvin C, Serme C, Consommation des antibiotiques en France. *BEH.*, 3233: p.141-147,2004
- [2]- Guessennnd N, Gbonon VC, Tiékoura KB, Kakou-N'douba A, Ouattara DN, Boni-Cissé C, Dosso M. Evolution de la résistance bactérienne à l'imipénème en Côte d'Ivoire de 2005 à 2009. Colloque scientifique de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire: pathologies émergentes et biologie intégrative, p 17, 2009
- [3]- Kacou-N'douba A, Bouzid SA, Guessenned KN, Kouassi M, Bengue AA, Faye-Kette AYH, Dosso M, Antimicrobial resistance of nasopharyngeal isolates of *Streptococcus pneumoniae* in health carriers/report of a study in 5-year-olds in marcory; Abidjan Côte d'Ivoire. *Annals of Tropical Paediatrics: International Child Health*, 21(2): p.149-154, 2001
- [4]- Akoua KC, Guessennnd N, Gbonon V, Faye-Kette AYH, Dosso M, Methicillin-resistant of *Staphylococcus aureus* in Abidjan (1998-2001): A new hospital problem. *Medicines et Maladies Infectieuses*, 34(3): p.132-136, 20004
- [5]- Lozniewski A., Rabaud C, Résistance bactérienne aux antibiotiques, Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux–Infections associées aux soins, CCLIN, Sud-Est, Nancy, 4 p, 2010
- [6]- Zirihhi G, Kra AKM, Guédé-Guina F, Evaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* (Lamarck O.Kuntze Asteraceae) «PYMI» sur la croissance *in-vitro* de *Candida albicans*. *Revue Med. Pharm. Afric.* 17(3): p.11-18, 2003
- [7]- Bssaibis F., Gmira N. et Meziane M, Activité antibactérienne de *Dittrichia viscoa* (L.) W. Greuter. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn*, 3 (1), p.44-45, 2009
- [8]- Duraffourd C., D'Hervicourt L. et Lapraz J. C, Cahiers de phytothérapie clinique. Examen de laboratoire galénique, Eléments Thérapeutiques Synergiques. 2ème Edition, Masson (Paris), 87 p, 1990
- [9]- Ponce A. G., Fritz R., del Valle C., and Roura S. I, Antibacterial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Society of Food Science and Technology (Elsevier)*, 36, p. 679-684, 2003
- [10]- Dosso M et Faye-Kette H, Savoir lire et interpréter un antibiogramme, à l'attention du biotechnologiste. INFAS /CHU de Treicheville. Abidjan (Côte d'Ivoire), 35p, 20001
- [11]- Kone W.M., Kamanzi A.K., Terreaux C, Hostettmann K, Traore D, Dosso M, Traditional medicine in North Côte-d'Ivoire: screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. *J. of Ethnopharmacol.* 93: p.43-49, 2004
- [12]- L. Aké-Assi, Flore de la Cote d'Ivoire : Catalogue systématique, biogéographie et écologie. Conservatoire et jardin botanique, Genève, Switzerland ; Boissera, 57, volume I, 396p, 2001
- [13]- Marmonier AA, Introduction aux techniques d'étude des antibiotiques. In *Bactériologie Médicale, Techniques Usuelles*. Doin: Paris, France, p. 227–236, 1990
- [14]- Le Men-Olivier L, Plante médicinale et phytothérapie, Tome XII, n°3, p.173-185, 1978
- [15]- Millogo K. et Kaboré Z.I, Etude antibactérienne In Vitro d'extraits Alcaloïdiques de *Holarrhena floribunda* vis-à-vis de *E. coli* enteropathogène sérotype O₁₂₇ *Pharm.Med.Trad.afri*. Vol.9, p. 17-23, 1997
- [16]- Biyiti L., Boum B., Nyemba A.M. et al, Etudes préliminaire de l'activité antibactérienne in vitro d'une plante médicinale du Cameroun. *Tabernaemontana crassa*. Science et Technique, Tome II. N°X, p 87-95, 1985
- [17]- CCAR, Comité Canadien sur la Résistance aux Antibiotiques, <http://www.ccar-ccar.org>. Consulté le 25 juin 2014,
- [18]- INRA (2003) Institut National de Recherche sur les Antibiotiques, Étude de la résistance des Bactéries aux antibiotiques, <http://inra.fr/presse/communiqués>. Consulté le 20 juin 2014.