

Recherche des activités antifongique et antibactérienne des feuilles d'*Annona senegalensis* Pers. (Annonaceae)

Traoré Y.⁽¹⁾, Ouattara K.^{(1, 2)*}, Yéo D.⁽¹⁾, Doumbia I.⁽¹⁾, Coulibaly A.⁽¹⁾

¹ Laboratoire de Pharmacodynamie Biochimique -UFR Biosciences, Université FH-B de Cocody Abidjan

² Laboratoire de Microbiologie du Centre Ivoirien Anti-Pollution (CIAPOL)

*Auteur à qui toute correspondance doit être adressée: 22 BP 582 Abidjan 22 RCI Laboratoire de Pharmacodynamie-Biochimique, UFR Biosciences, Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody-Abidjan. ouattkara@yahoo.fr Tel: 08-70-39-72

Original submitted in on 11th September 2012. Published online at www.m.elewa.org on 31st October 2012.

RESUME

Objectif : Evaluer *in vitro* les activités antifongique et antibactérienne de deux extraits de feuilles d'*Annona senegalensis* Pers ou "sounsou" en Bamanan de Côte d'Ivoire (l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique 70%) sur la croissance de *Streptococcus pneumoniae* et *Aspergillus fumigatus*.

Méthodologies et Résultats : La méthode de diffusion en milieu solide et la macrométhode de dilution en milieu liquide ont été utilisées pour les essais antimicrobiens. Les résultats obtenus ont révélé une sensibilité des germes testés aux différents extraits. Cependant, quelque soit le germe, l'extrait éthanolique s'est avéré le plus actif avec des valeurs de Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et de Concentration Minimale Bactéricide (CMB) identiques et égales à 0,156 mg/mL et de Concentration Minimale Fongicide (CMF) de 6,25 mg/mL. Par ailleurs, tous les deux extraits étudiés ont montré des effets bactéricides sur *S. pneumoniae* et fongicides contre *A. fumigatus*.

Conclusion et Application : D'après nos résultats, l'éthanol a été le meilleur solvant dans la concentration des principes actifs de la plante. En outre, les activités antimicrobiennes des extraits des feuilles d'*Annona senegalensis* mise en évidence dans cette étude pourraient justifier l'usage thérapeutique de cette plante en médecine traditionnelle dans le traitement d'un grand nombre d'infections microbiennes dont les sinusites et les aspergiloses.

Mots clés : *Annona senegalensis*, extrait total aqueux, extrait éthanolique, sinusite, aspergillose.

Evaluation of antibacterial and antifungal activities in the leaves of *Annona senegalensis* Pers. (Annonaceae)

Objective: To evaluate the *in vitro* antifungal and antibacterial activities of two extracts from the leaves of *Annona senegalensis* Pers or "sounsou" (Aqueous extract and ethanolic extract) on the growth of *Aspergillus fumigatus* and *Streptococcus pneumoniae*.

Methodology and Results: The method of diffusion in solid and macromethod of dilution in liquid medium were used for antimicrobial testing. The results showed a sensitivity of seeds tested at various extracts. However, whatever the germ, the ethanolic extract was found to be the most active with values of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) identical and equal to 0.156

mg/mL and Minimum Fungicide Concentration (CMF) of 6.25 mg/mL. In addition, both extracts studied showed bactericidal effects on *S. pneumoniae* and fungicides against *A. fumigatus*.

Conclusion and Application: According to our results, ethanol was the best solvent in the concentration of the active ingredients of the plant. In addition, the antimicrobial activities of the extracts from the leaves of *Annona senegalensis* highlighted in this study could justify the therapeutic use of this plant in traditional medicine in the treatment of many bacterial infections including sinusitis and aspergiloses.

Keywords : *Annona senegalensis*, aqueous total extract, ethanolic extract, sinusitis, aspergillosis.

INTRODUCTION

Dans les pays en développement, les maladies infectieuses constituent une préoccupation importante de santé publique à cause de leur fréquence et de leur gravité (Bourgeois, 1999). En effet, elles sont à l'origine de plus de 17 millions de décès par an de par le monde dont plus de la moitié provient du seul continent africain (OMS, 2006). Divers champignons et bactéries dont *Aspergillus fumigatus* et *Streptococcus pneumoniae* sont impliqués dans ces infections. En dépit des dommages causés par ces micro-organismes nuisibles, le monde scientifique a découvert de nombreux traitements pour soulager les patients. Ces remèdes ont permis de réduire l'incidence des maladies infectieuses surtout dans les pays développés (Soro et al., 2010). Les populations pauvres ont toujours eu recours aux plantes pour se soigner. De nos jours, en raison du coût sans cesse élevé des prix des médicaments disponibles associé à l'émergence de microbes multirésistants, on note un regain d'intérêt pour la pharmacopée (Kaboré et al., 1997 ; Akoua et al., 2004 ; Guillemot et al., 2004). Sont concernées par ces pratiques, les populations à faibles revenus qu'on peut rencontrer partout dans le monde (Emurawa, 1982 ; de Souza et al., 1993 ;). Face à ces différents obstacles d'ordre financier et

résistance que présente l'emploi des antimicrobiens actuellement disponibles, il est indispensable de rechercher de nouvelles substances à la fois efficace et à large spectre d'action. Une des stratégies pour cette recherche consiste à explorer les plantes utilisées en médecine traditionnelle. Afin d'identifier davantage des substances possédant des propriétés antimicrobiennes et de rationaliser leurs utilisation, nous nous sommes intéressés à *Annona senegalensis* Pers, (Annonaceae). Cette plante est utilisée par les paysans africains pour traiter un grand nombre de pathologies d'origine infectieuses (Okoli et al., 2011). Les travaux de Fall et al. (2003) ont permis de mettre en évidence une activité antiparasitaire des extraits de racines de *A. senegalensis* sur une souche résistante de *Plasmodium falciparum*. Par ailleurs, des activités antibactériennes au sujet de cette plantes ont été rapportées par More et al. (2008) notamment contre *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus oralis* et *Staphylococcus aureus*. Le présent travail vise à évaluer les activités antimicrobiennes des feuilles de *A. senegalensis* sur une souche fongique (*Aspergillus fumigatus*) et une souche bactérienne (*Streptococcus pneumoniae*).

MATERIEL ET METHODES

Matériel végétal : Le matériel végétal est constitué de feuilles d'*Annona senegalensis* Pers, (Annonaceae) récoltées dans la région de Korhogo en juillet 2010. Leur authentification a été effectuée par le Professeur Aké-Assi du Centre National Floristique (CNF) de l'Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody-Abidjan où un échantillon est conservé. Les feuilles ont été

séchées pendant deux semaines au laboratoire et réduites en poudre fine à l'aide broyeur.

Souches microbiennes : Le support microbien est composé d'une souche fongique (*Aspergillus fumigatus*) et d'une souche bactérienne (*Streptococcus pneumoniae*) issues de l'Unité de Formation et de Recherche (UFR) des Sciences Médicales d'Abidjan

(Côte d'Ivoire) et isolées respectivement sur des sujets atteints d'aspergillose et de sinusite..

Préparation des extraits végétaux

Préparation de l'extrait total aqueux (ETA) : La préparation de cet extrait a été faite selon la méthode décrite par Guédé-Guina et al. (1996) qui consiste à macérer 80 g de poudre végétale dans 2L d'eau distillée. Le macérât est homogénéisé pendant 24 heures à l'aide d'un agitateur magnétique de type IKAMAG-RCT. L'homogénat est filtré successivement 2 fois sur du coton hydrophile puis une fois sur du papier filtre Whatman 3 mm. Le filtrât obtenu est évaporé à l'aide d'une étuve de type Med Center Venticell, à 50°C pour donner une poudre noire qui constitue l'extrait total aqueux (ETA).

Préparation de l'extrait éthanolique 70% (EE_{70%}) : L'extrait éthanolique 70% a été obtenu en dissolvant 25 g de l'extrait total aqueux dans 500 mL d'une solution d'éthanol à 70% puis homogénéisé pendant 24 heures à l'aide d'un agitateur magnétique. Après filtration sur du coton hydrophile et sur du papier Whatman 3 mm, le filtrat recueilli est évaporé à l'étuve à 50°C. La poudre verdâtre obtenue constitue l'extrait éthanolique 70% (Zirihi et al., 2007).

Activités antimicrobiennes

Tests antifongiques : Le milieu de culture utilisé pour les tests antifongiques est le Sabouraud (OXOID). L'incorporation des différents extraits au milieu Sabouraud a été faite en tubes inclinés selon la méthode de la double dilution (Touré et al., 2011) qui a conduit à l'obtention d'une gamme de concentration allant de 500 à 1,95 mg/mL pour l'ETA et de 25 à 0,096 mg/mL pour l'EE_{70%}. Pour chaque extrait, une série de tubes à essais a été préparée. Chaque série comporte 9 tubes expérimentaux et 2 tubes témoins dont l'un sans extrait végétal constituant le témoin de croissance des germes et l'autre sans extrait et sans germes servant de témoin de contrôle de stérilité du milieu de culture. Les tubes sont ensemencés avec 10µL d'un inoculum préparé par homogénéisation d'une colonie bien isolée de *A. fumigatus* dans 10 mL d'eau distillée stérile pour donner une suspension 10⁰. A partir de cette suspension, 0,1 mL est prélevé et mélangé dans 9 mL d'eau distillée stérile pour constituer la dilution 10⁻¹ qui correspond à 10⁵ cellules/mL. Tous les tubes sont incubés à 30°C pendant 48 heures. Les tests ont été répétés trois fois. Les colonies d'*A. fumigatus* ont été comptées et la croissance dans les tubes expérimentaux évaluée en pourcentage de survivance, calculé par rapport à 100% de survivance dans le tube

témoin de contrôle de la croissance. (Bagré et al., 2007). Ce qui a permis de déterminer Méthodologie les paramètres antifongique que sont la CMF et la CI₅₀ ; la CMF étant défini comme la concentration ne laissant pas de croissance visible à l'œil nu et la CI₅₀, déterminée graphiquement, est la concentration qui inhibe 50% des germes.

Tests antibactériens

Il s'agit ici de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et les concentrations minimales bactéricides (CMB). La macrométhode de dilution en milieu liquide a été utilisée (Doughari et Manzara, 2008). La gamme de concentration finale a varié de 50 à 0,195 mg/mL pour l'ETA et de 2,5 à 0,09 mg/mL pour l'EE_{70%}. Chaque tube a été ensemencé à l'aide d'un inoculum standardisé de 10⁶ cellules. Cet inoculum a été obtenu en délayant 2 à 3 colonies bien isolées dans 10 mL de bouillon Columbia (BC) stérile. Après homogénéisation, le mélange est incubé à 37°C pendant 3 à 5 heures pour donner une suspension à partir de laquelle 0,1 mL est prélevé et ajouté à 10 mL du BC. Après une incubation de 18 à 24 heures à 37°C, la CMI des extraits est déterminée. Elle correspond à la concentration du premier tube dans lequel il y a absence de croissance visible à l'œil nu du germe testé. On ensemence ensuite la surface d'une gélose Mueller-Hinton coulée en boîte de Pétri avec 0,1 mL du contenu des tubes ayant une concentration supérieure ou égale à la CMI pour déterminer la CMB. Elle correspond à la plus petite concentration qui laisse survivre au plus 0,01% des germes de la suspension de départ en 24 heures. Par ailleurs, le rapport CMB/CMI de chaque extrait a été calculé afin d'apprécier son pouvoir antibactérien.

Tests d'efficacité Ces tests ont été réalisés par la méthode de diffusion en milieu solide (Vinod et al., 2010) en déterminant les diamètres des zones d'inhibition. Ainsi, à partir des extraits végétaux, des disques de 9 mm de diamètre découpés dans un papier Whatman n°1, stérilisés et imprégnés de différentes concentrations d'extraits aqueux (50 mg/mL) et alcoolique (2,5 mg/mL), à raison de 20µL par disque, ont été déposés délicatement à la surface d'un milieu préalablement ensemencé. Parallèlement, 2 antibiotiques (Gentamicine et Ciprofloxacine) et 2 antifongiques (Amphotericine B et Nystatine) usuels ont été utilisés. Les diamètres d'inhibition sont mesurés autour des disques après une pré-incubation de 30 minutes à la température ambiante suivie d'une incubation à l'étuve à 30 ou 37°C pendant 24 ou 48

heures selon le germe. L'interprétation des résultats des antibiogrammes a été faite selon la méthode décrite par Drouhet et Dupont (1978) pour *A. fumigatus*

et les recommandations du CA-SFM (2010) pour ce qui concerne *S. pneumoniae*.

RESULTATS

Les résultats des tests antifongiques et antibactériens des extraits sont consignés dans les tableaux 1 et 2. On observe une activité antifongique significative des deux extraits étudiés (ETA et EE_{70%}) sur *A. fumigatus*. De ces deux extraits, l'EE_{70%} s'est révélé le plus actif

avec une valeur de CMF de 6,25 mg/mL contre 500 mg/mL pour l'ETA. Les valeurs des CI₅₀ sont de 0,41 mg/mL et 13,50 mg/mL pour l'EE et ETA respectivement. (Tableau 1)

Tableau 1 : Valeurs des paramètres antifongiques comparées des extraits des feuilles d'*A. senegalensis* après 48 heures d'incubation. (n=3)

Extraits végétaux	Paramètres antifongiques (en mg/mL)	
	CI ₅₀	CMF
Extrait total aqueux (ETA)	13,5	500
Extrait éthanolique 70% (EE _{70%})	0,41	6,25

Tableau 2 : Valeurs des paramètres antibactériens comparées des extraits des feuilles d'*A. senegalensis* après 24 heures d'incubation. (n=3)

Extraits végétaux	Paramètres antibactériens (en mg/mL)			
	CI ₅₀	CMI	CMB	CMB/CMI
Extrait total aqueux (ETA)	1,33	50	50	1
Extrait éthanolique 70% (EE _{70%})	0,030	0,156	0,156	1

Pour ce qui concerne les essais antibactériens, il apparaît une nette inhibition de la croissance *in vitro* de *S. pneumoniae* par les deux extraits testés. Cependant, l'EE_{70%} a montré la plus forte activité avec une valeur de CMI de 0,156 mg/mL contre 50 mg/mL pour l'ETA et une valeur de CI₅₀ de 0,030 mg/mL tandis que celle obtenue avec l'ETA est de 1,33 mg/mL. En outre, pour chaque extrait testé, la valeur de la CMI déterminée est égale à celle de la CMB. Par ailleurs, on observe que le rapport d'activité CMB/CMI pour un extrait donné est égal à 1 (Tableau 2). Vis-à-vis des antimicrobiens usuels, sur la base des diamètres des zones d'inhibition

déterminés, la souche de *A. fumigatus* est sensible à la nystatine (17 mm) alors qu'elle résiste à l'amphotéricine B (0 mm) (Tableau 3). Quant à la souche de *S. pneumoniae*, elle se montre résistante à la gentamicine (4 mm) et présente une sensibilité intermédiaire à la ciprofloxacine (21 mm). Comparativement à ces antimicrobiens, les extraits végétaux ont induit des zones d'inhibition plus importantes. Cependant, l'EE_{70%} s'est révélé le plus actif quelque soit le germe testé avec des diamètres d'inhibition variant de 11 à 13 mm contre 10 à 11 mm pour l'ETA. (Tableaux 3 et 4).

Tableau 3 : Diamètre des zones d'inhibition des extraits végétaux et des antifongiques de référence sur *A. fumigatus*.

	Extraits végétaux		Antifongiques de référence	
	ETA (500mg/mL)	EE _{70%} (25mg/mL)	AMPH (100µg)	NYST (100IU)
Diamètre d'inhibition (mm)	11	13	0	17
Sensibilité	A	A	R	S

R : résistant ; **S :** sensible ; **A :** actif ; **ETA :** Extrait total aqueux ; **EE_{70%} :** Extrait éthanolique 70% ; **AMPH :** Amphotéricine B ; **NYST :** Nystatine

Tableau 4 : Diamètre des zones d'inhibition des extraits végétaux et des antibiotiques de référence sur *S. pneumoniae*

	Extraits végétaux		Antibiotiques de référence	
	ETA (50mg/mL)	EE ₇₀ % (2,5mg/mL)	GEN (500µg)	CIP (120µg)
Diamètre d'inhibition (mm)	10	11	4	21
Sensibilité	A	A	R	I

R : résistant ; **I** : intermédiaire ; **A** : actif ; **ETA** : Extrait total aqueux ; **EE₇₀%** : Extrait éthanolique 70% ; **GEN** : Gentamicine B ; **CIP** : Ciprofloxacine

DISCUSSION

Cette étude avait pour objectif d'évaluer les activités antifongique et antibactérienne de deux extraits des feuilles d'*Annona senegalensis*, sur la croissance *in vitro* d'*Aspergillus fumigatus* et *Streptococcus pneumoniae*. Les résultats obtenus ont permis de tracer les courbes de sensibilité de déterminer les différents paramètres antimicrobiens que sont les CI₅₀, CMF, CMI et CMB. L'analyse de ces résultats indique

que les deux souches microbiennes testées sont toutes sensibles aux différents extraits. Pour chaque extrait, cette sensibilité se traduit par une diminution du nombre de colonies des germes testés avec l'augmentation de la concentration. L'allure décroissante de toutes les courbes de sensibilité prouve clairement que les extraits sont actifs selon une relation dose-réponse (Figure 1et 2).

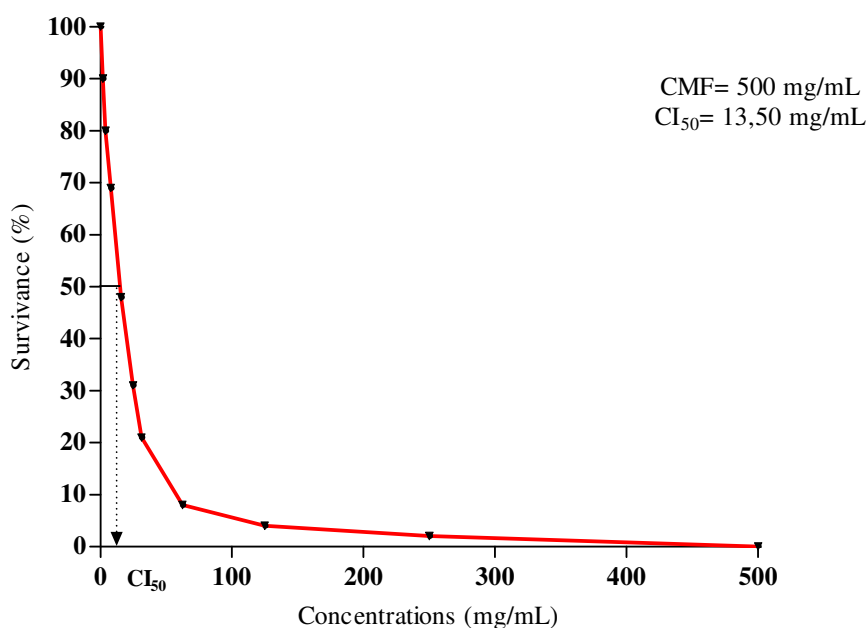


Figure 1: Effet de l'extrait total aqueux sur la croissance *in vitro* de *Aspergillus fumigatus*

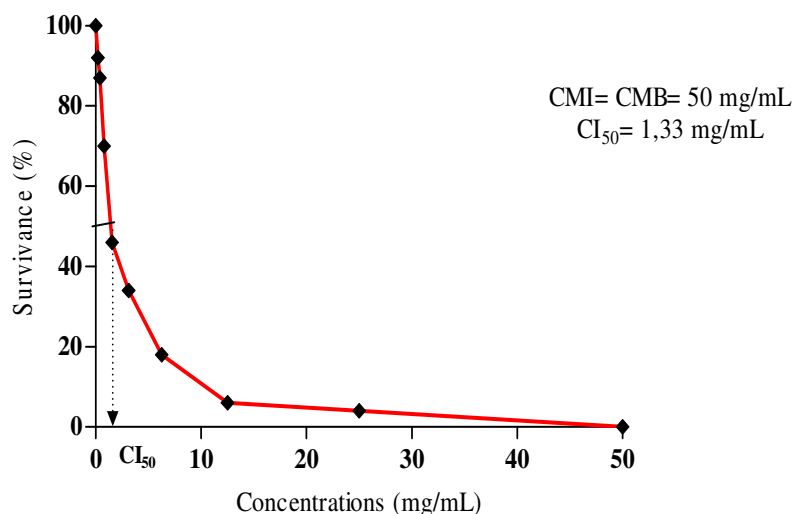


Figure 2: Effet de l'extrait total aqueux sur la croissance *in vitro* de *Streptococcus pneumoniae*

Sur la base de CMF ou CMI selon le germe, les rapports d'efficacité déterminés, à savoir CMF_{ETA}/CMF_{EE70} (pour *A. fumigatus*) et $CMI_{ETA}/CMI_{EE70\%}$ (pour *S. pneumoniae*) sont respectivement 80 et 320. Cela signifie que l'EE_{70%} est 80 fois plus actif sur *A. fumigatus* et 320 fois plus actif sur *S. pneumoniae* que l'ETA. De plus, on remarque que quelque soit le germe, les valeurs des CI₅₀ enregistrées avec l'EE_{70%} (0,030 et 0,41 mg/mL) sont plus faibles que celles obtenues avec l'ETA (1,33 et 13,50 mg/mL). De cette analyse, on peut donc déduire que l'EE_{70%} est plus actif que l'ETA. Une différence de composition entre les deux extraits, liée au mode

d'extraction utilisé selon Thangara et al., 2000, pourrait expliquer ces résultats. Cette observation est soutenue par plusieurs travaux dont ceux de Moroh et al. (2008) et de Bagré et al. (2011) qui ont montré que l'éthanol permet une meilleure concentration des principes actifs comparativement à l'ETA. En effet, selon ces auteurs, lorsqu'on passe de l'extrait total aqueux à l'extrait éthanolique, certains groupes chimiques sont éliminés et d'autres sont concentrés. C'est le cas des dérivés moins polaires comme les terpènes dont la présence en proportion suffisamment élevée est signalée après une étude phytochimique des différents extraits étudiés (Okoli et al., 2010). (Figure 3et 4).

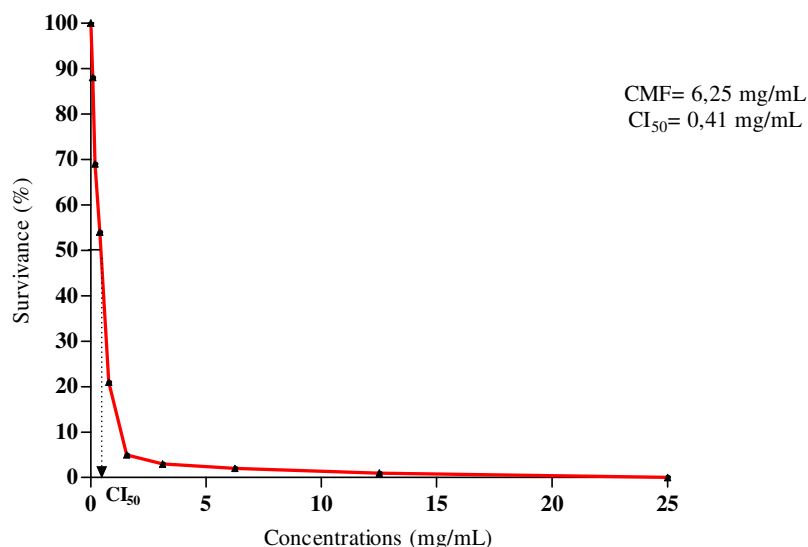


Figure 3: Effet de l'extrait éthanolique 70% sur la croissance *in vitro* de *Aspergillus fumigatus*

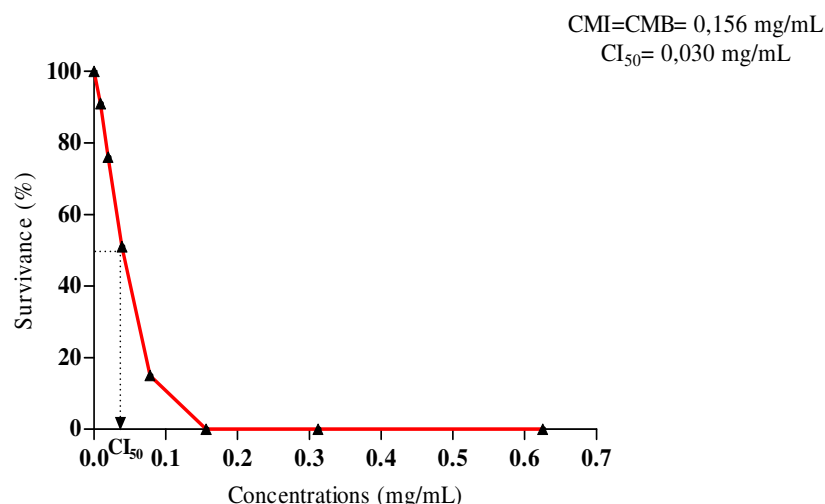


Figure 4: Effet de l'extrait éthanolique 70% sur la croissance *in vitro* de *Streptococcus pneumoniae*

S'agissant des pouvoirs antibactériens de nos extraits, les résultats enregistrés indiquent que le rapport d'activité CMB/CMI est égal à 1 pour chaque extrait donné. Selon Berche et al. (1991), cette valeur qui est égale à 1, nous permet d'affirmer que tous les extraits testés sont bactéricides. Car d'après ces chercheurs, lorsque le rapport CMB/CMI d'une substance est inférieur ou égal à 4, cette substance est jugée

bactéricide tandis qu'elle est dite bactériostatique, si ce rapport est supérieur à 4. En outre, un ensemencement sur milieux neufs d'écouvillons prélevés à la surface de chacun des milieux représentant la CMF, montre une absence de germes après 48 heures d'incubation à 30°C. Ce qui signifie que les extraits étudiés sont fongicides. Ces résultats confirment ceux de plusieurs autres chercheurs qui ont déjà démontré les activités

antibactériennes et antifongiques d'*Annona senegalensis* Pers sur divers germes dont *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) et *Aspergillus niger* (Noumi et Fozi, 2003 ; Abubakar et al., 2007 ; Magassouba et al., 2007 ; More et al., 2008). Les diamètres d'inhibition enregistrés varient de 10 à 11 mm pour l'ETA et de 11 à 13 mm pour l'EE_{70%}. Selon Biyiti et al. (2004), un extrait est considéré comme actif s'il enduit une zone d'inhibition supérieure ou égale à 10 mm. Ainsi, on peut donc conclure que tous les deux extraits utilisés sont actifs sur les germes testés. Cependant, avec des diamètres de 11 et 13 mm sur

respectivement *A. fumigatus* et *S. pneumoniae*, l'EE_{70%} se révèle le plus actif des deux extraits. Ce résultat confirme l'efficacité de l'extrait éthanolique par rapport à l'extrait aqueux. Par ailleurs, il est comparable à ceux trouvés par Zihiri et al. (2003) qui ont rapporté que l'extrait éthanolique de *MycroGLOSSA pyrifolia* est 100 fois plus actif que son extrait aqueux.

Lors de cette étude, la sensibilité des germes testés face aux extraits d'*Annona senegalensis*, pourrait justifier l'utilisation des feuilles de cette plante dans le traitement traditionnel des maladies microbiennes comme les sinusites et les aspergilloses dans différentes régions de la Côte d'Ivoire.

CONCLUSION

Les résultats de cette études ont montré que *A. fumigatus* et *S. pneumoniae* sont sensibles aux extraits de *A. senegalensis* selon une relation dose-réponse. Les deux extraits étudiés possèdent des propriétés bactéricide et fongicide. Cependant, la plus forte activité a été enregistrée avec l'extrait éthanolique 70%.

D'après les résultats obtenus, cet extrait concentre mieux les principes actifs. Par ailleurs, nos résultats peuvent être exploités pour la purification du ou des principes actifs de la plante et la préparation des formes améliorées de remèdes efficaces à base d'*Annona senegalensis* Pers.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abo KA, Lawal IO, Ogunkanmi A, (2011) .Evaluation of extracts of *Triclisia subcordata* Oliv and *Heinsia crinita* (Afz) G. Taylor for antimicrobial activity against some clinical bacterial isolates and fungi. African Journal of Pharmacy and Pharmacology Vol. 5(2). pp. 125-131
- Abubakar MS, Musa AM, Ahmed A, Hussaini IM, (2007). The perception and practice of traditional medicine in the treatment of cancers and inflammations by the Hausa and Fulani tribes of northern Nigeria. J. Ethnopharmacol. 111: 625-629.
- Akoua KC, Guessend N, Gbonon V, Faye-kette AYH, Dosso M, (2004). Methicillini-resistant of *S. aureus* activity in Abidjan (1998-2001): A new hospital problem. Medecines Maladies Infectieuses, 34(3): 132-36
- Berche P, Gaillard JL, Simonet M, (1991). Les bactéries des infections humaines. Editeur Flammarion, Médecine et Sciences, 660p
- Biyiti L.F., Meko'o D.J.L., Tamzc V. et Amvam ZPH, (2004). Recherche de l'activité antibactérienne de quatre plantes médicinales camerounaises. Pharm. Méd. Trad. Afr. 2004, Vol.13, pp.11-20
- Bagré I, Bahi C, Ouattara K, Zihiri GN, Djaman AJ, Coulibaly A, N'guessan JD, (2011). Étude botanique et exploration de l'activité antifongique de *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redh. sur la croissance *in vitro* de *Cryptococcus neoformans*. Phytothérapie 9: 136–141
- Bagré I, Bahi C, Gnahoué G, Djaman AJ, Guédé-Guina F, (2007). Composition phytochimique et évaluation *in vitro* de l'activité antifongique des feuilles de *Morinda morindoides* (BAKER) Milne-redh (*rubiacées*) sur *Aspergillus fumigatus* et *Candidat albicans*. J.sci. pharm. Biol., 8 (1), 2007, 15-23. EDUCI 2007.
- Bourgeois A, (1999) Les MST/SIDA au Cameroun. Bidiagnostic and therapy. Magasine bilingue de santé au Cameroun N°004
- Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) (2010). Edition de Janvier 2010. 49 pages
- de Souza C, Amegavi KK, Koumaglo K, Gbeassor M, (1993). Étude de l'activité antimicrobienne des extraits aqueux totaux de dix plantes médicinales. Revue de Méd et Pharmaco afr. 7: 109-115
- Doughari JH and Manzara S, (2008). *In vitro* antibacterial activity of crude leaf extracts of *Mangifera indica* Linn. African Journal of Microbiology Research Vol.(2) pp. 067-072

- Drouhet E et Dupont B, (1978). AntibioGramme des champignons aux antibiotiques. Bull. Soc. Fr. Mycol. Med. (2): 165-170
- Guédé-Guina F, Vangah-Manda M, Harounad D, Bahi C, (1996). Potencies of MISCA a plant source concentrate against fungi J. of Ethnopharmacol. 14(2): 45-53.
- Guillemot D, Maugendre P, Vhauvin, Sermé TC, (2004). Consommation des antibiotiques en France. BEH 3233 :141-147.
- Emurawa AC, (1982). Antibacterial substance [rom Carica papaya fruit extract. Journal of Natural Products, Vol. 45, pp. 123-127.
- Fall D, Badiane M, Ba D, Loiseau P, Bories C, Laurencs A, Hocquemiller R, (2003). Activité antiparasitaire d'*Annona* du Sénégal utilisé en médecine traditionnelle. Dakar Médical. 48(2) : 112-116
- Kaboré ZI, Millogo/Koné H, (1997). Étude antibactérienne *in vitro* d'extraits alcaloïdiques de *Holarrhena floribunda* (Apocynaceae) vis-à-vis d'*Escherichia coli* Entéropathogène, Sérotype 0127. Revue Pharmacopée et Médecine traditionnelles africaines, IX : 17-23.
- Magassouba FB, Diallo A, Kouyaté M, Mara F, (2007). Ethnobotanical survey and antibacterial activity of some plants used in Guinean traditional medicine. J. Ethnopharmacol. 114: 44-53.
- More G, Tshikalange TE, Lall N, Botha F and Meyer JJM, (2008). Antimicrobial activity of medicinal plants against oral microorganisms. J. Ethnopharmacol. 119: 473-477.
- Moroh JLA, Bahi C, Djè K, Loukou YG, Guédé-Guina F, (2008). Étude de l'activité antibactérienne de l'extract acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker) milne-redheat (rubiceae) sur la croissance *in-vitro* des souches d'*Escherichia coli*. Bull de la SR des Scien de Liège, 77 : 44 - 61
- Noumi E and Fozi FL, (2003). Ethnomedical Botany of Epilepsy treatment in Fongo-Tongo village, Western province, Cameroon. Pharmaceutical Biol. 41(5): 330-339.
- Okoli CO, Onyeto CA, Akpa BP, Ezike AC, Akah PA, Okoye TC, (2010). Neuropharmacological evaluation of *Annona senegalensis* leaves. African Journal of Biotechnology 9(49), : 8435-8444
- OMS, (2006). Maladies infectieuses en Afrique. Situation et perspectives d'action. 7ème Réunion du forum pour le partenariat avec l'Afrique. Moscou, Russie. 19 pages.
- Soro D, Koné MW, Kamanzi AK, (2010). Evaluation de l'activité antibactérienne et anti-radical libres de quelques taxons bioactifs de Côte d'Ivoire. Europ. J. Sci. Res. 40: 307-317.
- Thagara JHS, Adjei O, Allen BW, Portaels F, (2000) *In vitro* activity of ciprofloxacin, Sparfloxacin, Ofloxacin, Amikacin and Rifampicin against Ghanaian isolates of *Mycobacterium ulcerans* ; J. Antimicrob. Agents Chemother, 45 (2), 2000, 231-233.
- Touré A, Bahi C, Ouattara K, Djaman AJ, Coulibaly A, (2011). Phytochemical screening and *in vitro* antifungal activities of extracts of leaves of *Morinda morindoides* (Morinda, Rubiaceae). Journal of Medicinal Plants Research 5(31): 6780-86
- Vinod KG, Amit R, Vikas KN, Kalishankar M, (2010). Antimicrobial activity of *Spondias pinnata* resin. Journal of Medicinal Plants Research. 4(16), pp. 1656-1661
- Zirih GN, Kra AKM, Guédé-Guina F, (2003). Évaluation de l'activité antifongique *Microglossa Pirifolia* (Lamarck, O. Kuntze) (Asteraceae) « PYMI » sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*. Revue Med. et Pharm. Afric. 17: 11-18.
- Zirih GN, Kra AKM, Dibie ET, (2007). Etude botanique et évaluation des activités antifongiques de *Mitracarpus villosus* (MV) (Rubiaceae) et *Spermacoce verticillata* (SV) (Rubiaceae) sur la croissance *in vitro* de *A. fumigatus*. Rev. Med. Pharm. Afr. 9-17