

Article original

ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE D'EXTRAITS DE *PARKIA BIGLOBOSA* (JACQ.) BENTH. SUR DES SOUCHES DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

¹Millogo-Koné H., ²Asimi S., ¹⁻³Guissou IP., ³Nacoulma OG.

1- Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (C.N.R.S.T.)– Institut de Recherche en Sciences de la Santé (I.R.S.S.)

06 BP 9160 – Ouagadougou 06 – Burkina Faso – Tel: 226-70 16 05 01 E-mail: hassmillogo@gmail.com

2- Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (C.N.R.S.T.) – Direction de la Production Forestière

3- Université de Ouagadougou

Abstract

Extracts of stem barks of *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth (Mimosaceae) have been tested against strains of *Staphylococcus aureus* collected from pus, blood, vaginal secretions, sperm and urines and also against a collection strain of *Staphylococcus aureus* as a positive control. Tests have been conducted with the decoction, form under which the drug is prescribed by the traditional healers and extracts obtained with different solvents: dichloromethan, ethanol – water 70 % (70 – 30 v:v), hydroethanolic extract 70 % after extraction with the dichloromethan, ethyl acetate. The results showed that the decoction is indeed efficient against *Staphylococcus aureus*, thus justifying the successful use of it in the traditional medicine. They also revealed that the hydroalcoholic extract 70 % and the ethyl acetate extract are more effective against *Staphylococcus aureus* than the decoction. The dichloromethan extract has no effect against the tested strains. Submitted to a column chromatography, the ethanolic extract, the most effective of all the tested extracts, gave four fractions (F₁, F₂, F₃, F₄) that have been all tested against the strains of *Staphylococcus aureus*. F₂ fraction exerted the best inhibition. Submitted to a thin layer chromatography, this fraction gave three sub-fractions that have all been tested against *Staphylococcus aureus*. None of them showed anti-staphylococcus activity. Chemical screening conducted with all these extracts showed that the dichloromethan extract contains mainly sterols, triterpens and coumarins. It also showed that the ethyl acetate extract, the aqueous and the hydroethanolic extracts contain saponosides, anthracenosides, tannins, flavonoids, reducing compounds but in different proportions, justifying the differences in their respective anti – staphylococcus activities.

Key words: Stem barks – *Parkia biglobosa* – *Staphylococcus aureus*

Introduction

La résistance de plus en plus accrue des staphylocoques vis-à-vis des antibiotiques jadis reconnus pour leur efficacité, constitue à l'heure actuelle un véritable problème de santé publique (Nascimento et al, 2000). Les staphylocoques sont des bactéries ubiquistes (Stucke et al, 1993). En pathologie humaine, ils sont responsables de nombreuses infections : maladies des voies respiratoires (bronchites, pneumonies), maladies cutanéomuqueuses (sinusites, infections de la sphère génitale, abcès pelviens, otites, furoncles, dermatoses, plaies,...), intoxications alimentaires, endocardites. Les traitements des infections à staphylocoques sont généralement longs et onéreux (Berche et Gaillard, 1988). A l'heure actuelle, le séquençage a permis de dénombrier de nombreuses espèces et de souches appartenant à la famille des staphylocoques (Iandolo et al, 2002). La plupart des espèces font partie de la flore commensale humaine, donc vivent en symbiose avec l'organisme hôte qu'ils aident à lutter contre

d'autres microorganismes quand les conditions sont favorables. Chez un sujet immunodéprimé et d'une manière générale quand les conditions deviennent défavorables, ces espèces deviennent rapidement pathogènes. Parmi ces espèces on peut citer *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophiticus* et *S. haemolyticus*. *Staphylococcus aureus* est la plus pathogène de toutes les espèces de staphylocoques et est responsable de près de 25 % des septicémies rencontrées dans les milieux hospitaliers (Moyen et al, 1993).

Face à l'émergence et à la réémergence de certaines pathologies dues à la résistance des microorganismes et à d'autres facteurs, le recours aux substances naturelles, notamment aux plantes médicinales comme sources potentielles de nouvelles molécules actives trouve toute sa justification. En effet de nombreuses recherches ne cessent de démontrer que les plantes médicinales renferment de nombreux principes chimiques biologiquement actifs qui exercent différentes activités pharmacologiques : activités antioxydantes, antiinflammatoires, analgésiques, antibactériennes,

antifongiques, antiviraux, (Martnez *et al*, 1994, Essawi et Srour, 2000 ; Voravuthikunchai et Kitpipit, 2005 ; Kawshik *et al*, 2005; Fei *et al*, 2006). En médecine traditionnelle, nombreuses sont les plantes qui traitent avec succès des maladies contre lesquelles la médecine moderne a parfois du mal à trouver un remède. *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth. (Mimosaceae) fait partie de ces plantes. En effet, c'est une plante qui est utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement de nombreuses infections: caries dentaires, pneumonies, bronchites, violentes coliques, toux sévères, diarrhées, plaies, otites, dermatoses, amibiases, hémorroïdes, bilharzioses, lèpre, ankylostomes, trachéites, conjonctivites (Kerharo, 1973, Maydell, 1983, Nacoulma, 1996, Arbonnier, 2002).

Nos recherches avaient pour objectif de trouver un extrait très efficace contre *Staphylococcus aureus*, une bactérie responsable de nombreuses infections en pathologie humaine et résistante à de nombreux antibiotiques.

II. MATERIEL ET METHODES

2.1. Matière végétale

Les échantillons d'écorces de tronc ont été récoltés à Yako au mois de mai 2007. Ils ont été identifiés et authentifiés par le Prof Jeanne MILLOGO, botaniste du Département de Botanique et Ecologie tropicales, Université de Ouagadougou, Burkina Faso. Un specimen a été déposé à l'Herbier National.

2.2. Etudes phytochimiques

Les études phytochimiques et microbiologiques ont été effectuées par bioguidage.

- Extraits

Des écorces de tronc ont été séchées à la température ordinaire et finement écrasées. Différents extraits d'écorces de tronc ont été réalisés et testés contre des souches de *Staphylococcus aureus*. Ces extraits testés sont : l'extrait aqueux (décocté, forme sous laquelle l'extrait est prescrit par le tradithérapeute), l'extrait au dichlorométhane, l'extrait hydroéthanolique 70 %, l'extrait hydroéthanolique après épuisement au dichlorométhane, l'extrait à l'acétate d'éthyle.

L'extrait aqueux a été obtenu en faisant bouillir 20 g de poudre dans 100mL d'eau distillée pendant 10mn. L'extrait éthanolique a été obtenu en versant 100 mL d'éthanol - eau (70 : 30) v:v bouillant sur 20 g de matière végétale, selon la méthode de Harborne (1989). Le mélange a été soumis à une macération pendant 18 heures et le macéré a été filtré sur papier Whatman n°1.

L'extrait dichlorométhanolique a été obtenu en mettant en macération 20g de poudre dans 100 mL de dichlorométhane, sous agitateur magnétique. Le résidu a été séché et extrait avec de l'éthanol aqueux 70% bouillant comme précédemment.

L'extrait à l'acétate d'éthyle a été obtenu en mettant en macération 20 g de poudre dans 100mL d'acétate d'éthyle. L'extrait dichlorométhanolique et l'extrait d'acétate d'éthyle ont été solubilisés dans le DMSO.

Le rendement des différents extraits a été déterminé.

2.3. Etudes microbiologiques

Les souches de staphylocoques qui ont fait l'objet de tests ont été isolées du pus (1 souche), de prélèvements vaginaux (2 souches), de spermes (2 souches), d'uroculture (1 souche), de coproculture (1 souche) et d'hémoculture (1 souche).

Une souche de collection, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, a été testée comme témoin.

Les milieux de culture utilisés sont : le Bouillon tryptic soy broth pour les suspensions bactériennes et la gélose Mueller Hinton, un milieu tampon, pour les tests antimicrobiens. Ces tests ont été effectués avec des suspensions bactériennes de 18 heures, selon

la technique des puits (Perez *et al*, 1990). De même, la gentamicine, un antibiotique à très large spectre, a été testée, comme référence, sur ces souches de staphylocoques. Les lectures ont été effectuées au bout de 18 à 24 h.

2.4. Fractionnement

L'extrait hydroéthanolique étant le plus efficace, ses composés ont été séparés par chromatographie sur colonne *silica gel* en vue de cibler le ou les groupes de principes chimiques responsables de l'activité pharmacologique. Le système de solvants utilisé est : n-butanol - acide acétique - eau (40:20:5). Des fractions ont été obtenues.

Elles ont également fait l'objet de criblages chimiques et de tests antimicrobiens.

Une chromatographie sur couche mince de la fraction la plus efficace a permis d'obtenir des sous fractions qui ont également été testées en microbiologie.

2.5. Analyses statistiques : les données ont été exprimées sous la forme $X \pm SE$. X représente le diamètre de la zone d'inhibition en mm et SE, l'écart type. Les différences significatives ont été déterminées par le Newman-Keuls Test Pharmacological Calculation System.

III. RESULTATS

3.1. Etudes phytochimiques

3.1.1. Détermination du rendement des extraits

Le tableau I montre que l'extrait hydroéthanolique est celui qui extrait le mieux les principes chimiques ($18,95 \pm 0,17$ %), suivi de l'eau ($15,56 \pm 0,62$ %) qui est le solvant d'extraction utilisé par le tradithérapeute.

Tableau I : Rendements des différents extraits

Extraits	Rendements en %
Aqueux (décocté)	$15,56 \pm 0,62$
Dichlororméthane	$1,7 \pm 0,27$
Acétate d'éthyle	$13,08 \pm 0,22$
Ethanol aqueux 70 %	$18,95 \pm 0,17$
Extrait à l'éthanol 70 % après épuisement au dichlorométhane	$12,35 \pm 0,17$

3.1.2. Criblage chimique des extraits

Le tableau II présente les résultats de criblages chimiques des différents extraits. A l'exception de l'extrait au dichlorométhane, tous les extraits renferment des saponosides, des tanins, des anthracénosides, des flavonosides et des sucres réducteurs mais dans des proportions différentes, selon les tests de coloration. L'extrait au dichlorométhane renferme essentiellement des stéroïdes et triterpènes de même que des coumarines.

Tableau II : Criblage chimique des différents extraits

Extractions Principes Chimiques	Aqueux (décoction)	Dichlorométhane	Acétate d'éthyle	Ethanol 70%	Extrait à l'éthanol 70% après épuisement au dichlorométhane
Stérols & Triterpènes	-	+		-	-
Saponosides	++	-	+	+	+++
Coumarines	-	+	+	-	-
Tanins	+++	-	+	+	+++
Anthracénosides	+++	-	+	+	++
Flavonosides	++	-	+	+	++
Sucres réducteurs	+++	-	+	+	+++

- signifie absent ; + signifie présent ; ++ signifie abondant ; +++ signifie très abondant.

3.2. Tests antimicrobiens

Les tests antimicrobiens ont été effectués avec les différents extraits obtenus en chimie: extrait aqueux, extrait hydroéthanolique 70 %, extrait à l'acétate d'éthyle, extrait au dichlorométhane et extrait hydroéthanolique 70 % après épuisement au dichlorométhane.

Tableau III : Tests antimicrobiens avec les différents extraits

Conc.mg/ml	20	10	5	2,5
Extrait Aqueux	13 ± 0,5	12 ± 0,5	10 ± 0,25	8,5 ± 0,2
Extrait hydro Ethanolique 70%	15 ± 0,2	12,4 ± 0,40	10 ± 0,50	8,2 ± 0,25
Extrait à l'acétate d'éthyle	14,25 ± 0,25	12,75 ± 0,2	10,5 ± 0,45	9 ± 0,6
Extrait au Dichlorométhane	-	-	-	-
Diamètres des zones d'inhibition en mm				

L'extrait à l'éthanol aqueux 70 % après épuisement au dichlorométhane donne exactement les mêmes résultats que l'éthanol aqueux 70 %, ce qui signifie que les principes chimiques extraits par le dichlorométhane n'ont apparemment pas d'activités sur le *Staphylococcus aureus*.

3.3. Fractionnement en chromatographie sur colonne de l'extrait hydroéthanolique 70 %

L'extrait hydroalcoolique 70 %, le plus efficace des extraits, a été fractionné par chromatographie sur colonne. Le système de solvants utilisé est: n-butanol - acide acétique - eau (40:20:5). La photo ci-dessous présente les différentes fractions (4) obtenues.



Photo 1 : Fractions obtenues par la chromatographie sur colonne silica gel.

Les quatre fractions (F₁, F₂, F₃, F₄) ont été testées au trichlorure ferrique (FeCl₃). La fraction F₂ s'est révélée être la plus riche en composés phénoliques.

Le criblage chimique effectué a montré que chacune des fractions contient des tanins, des flavonoïdes, des sucres réducteurs, des anthracénosides et des saponosides mais dans des proportions différentes, justifiant leur différence d'effet sur la croissance de *Staphylococcus aureus*.

3.4. Tests antimicrobiens avec les différentes fractions

Les quatre (4) fractions obtenues par chromatographie sur colonne et testées contre des souches de staphylocoques donnent des résultats consignés dans le tableau IV. Les études statistiques montrent des différences significatives entre les activités antimicrobiennes des différentes fractions. Les résultats montrent une meilleure efficacité de la fraction F₂.

Tableau IV : Activité antimicrobienne des fractions de l'extrait hydro-éthanolique des écorces de *Parkia Biglobosa*.

Extractions en mL ⁻¹	10	5	2,5	1,25
Fraction 1	9,5 ± 1,2	8,5 ± 0,35	-	-
Fraction 2	12,33 ± 0,57	11,33 ± 1,5	9 ± 1	-
Fraction 3	11,33 ± 1,15	9,66 ± 1,52	8,33 ± 0,57	-
Fraction 4	10,5 ± 0,5	8,5 ± 0,57	-	-
Fraction 2 testée sur souche ATCC	13 ± 1,33	12 ± 1,13	10 ± 0,57	
Diamètres des zones d'inhibition en mm				

A une concentration de 5 µg mL⁻¹, la gentamicine a été testée sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et a donné un diamètre d'inhibition de 26 ± 2,5 mm.

En chromatographie sur couche préparative, la fraction 2 a donné 3 sous-fractions. Chacune de ces sous-fractions a été isolée, dissoute dans de l'acétone et testée sur les souches de staphylocoques. Les résultats montrent qu'aucune de ces sous-fractions n'est active sur les souches de staphylocoques testées.

DISCUSSION

Bien que les écorces de tronc et les feuilles de *Parkia biglobosa* soient beaucoup exploitées dans la pharmacopée traditionnelle pour leurs différentes propriétés biologiques, très peu de recherches ont été menées sur ces parties de la plante. Par contre, la fermentation des graines, en vue de la production d'une moutarde appelée soubala, a fait l'objet de nombreuses études (Fetuga *et al*, 1974 ; Odunfa, 1981 ; Ndir *et al*, 2000 ; Diawara *et al*, 2004).

Les résultats montrent que les écorces de tronc de *Parkia biglobosa* renferment des stérols et des triterpènes, des tanins, des flavonoïdes, des anthracénosides, des saponosides, tous des métabolites secondaires doués d'activité antimicrobienne. La meilleure activité antimicrobienne (15 ± 0,2 mm de diamètre de zone d'inhibition) a été obtenue avec l'extrait hydroéthanolique 70 % qui a donné le meilleur rendement d'extraction des principes chimiques (18,95 ± 0,17%) par les solvants.

Ajaiyeoba *et al* (2002) ont étudié les propriétés phytochimiques et antimicrobiennes d'extraits de feuilles de *Parkia biglobosa* et de *Parkia bicolor*. Ils ont montré que seules à de fortes concentrations (50 à 100 mg.mL⁻¹) les extraits d'acétate d'éthyle, d'éthanol aqueux et le décocté de feuilles de *Parkia biglobosa* inhibent la croissance de *Bacillus cereus* et de *Staphylococcus aureus* et qu'aucun de ces extraits n'a un effet sur *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Leurs tests ont porté uniquement sur les feuilles et non sur les écorces de tronc de *Parkia biglobosa*. Ces résultats obtenus par Ajaiyeoba *et al* (2002) ont été confirmés par ceux de Millogo *et al* (2006) à travers une étude comparative des effets de feuilles et d'écorces de tronc de *Parkia biglobosa* sur des bactéries entéropathogènes et sur des souches de staphylocoques. Ces résultats ont montré que les écorces de tronc sont bien plus efficaces que les feuilles sur toutes les entérobactéries testées et sur *Staphylococcus aureus* mais que les feuilles pouvaient avoir des effets comparables à ceux des écorces de tronc si l'extraction des principes chimiques se fait à l'éthanol aqueux 70 %.

Des études menées antérieurement n'ont pas tenu compte de la nature du sol et du microclimat environnemental qui sont pourtant des facteurs très importants dans la biosynthèse des principes chimiques et qui, par conséquent, influencent l'activité pharmacologique (Chaves *et al*, 1997). De nombreuses recherches ont montré que *Staphylococcus aureus* est une bactérie qui résiste aux antibiotiques grâce aux toxines et enzymes qu'elle sécrète, en particulier la β-lactamase (Chambers, 1988 ; Mulligan, 1993, Zéba, 2006). Parallèlement, des études ont montré que *S. aureus* est pourtant sensible à des extraits de plantes. En effet, Akinyemi *et al* (2005) ont testé des extraits de six plantes nigériennes sur des souches de staphylocoques résistantes à la méthicilline. Ils ont démontré que même à de très faibles concentrations ces plantes médicinales ont des effets antimicrobiens très importants, justifiant ainsi leur utilisation avec succès dans le traitement d'infections à staphylocoques, en médecine traditionnelle. De nos jours, malgré les multiples antibiotiques déjà disponibles sur le marché, on note un recours

sans précédent aux plantes médicinales comme sources potentielles de nouvelles molécules actives. Les recherches vont généralement des extraits bruts souvent moins actifs (comparés aux molécules pures) vers des fractions plus actives pour aboutir à des molécules isolées et purifiées.

Le fractionnement sur colonne de l'extrait hydroéthanolique a permis d'obtenir quatre fractions qui sont toutes actives sur les souches testées. La fraction F₂, fraction la plus efficace, a donné en chromatographie sur couche préparative, des sous-fractions qui n'ont aucun effet sur les souches de staphylocoques testées. Il y aurait donc une synergie d'action au niveau des principes chimiques présents dans l'extrait. Ces résultats montrent que l'isolement de molécules à partir d'un extrait total ne doit pas toujours être un objectif surtout qu'il demeure une opération très onéreuse sans pour autant aboutir à un produit plus efficace.

CONCLUSION

Les souches de *Staphylococcus aureus* testées sont toutes sensibles aux extraits d'écorces de *Parkia biglobosa*. Des extraits plus actifs que le décocté prescrit par le tradithérapeute ont été obtenus. Il s'agit de l'extrait hydroalcoolique, de l'extrait à l'acétate d'éthyle et de la fraction 2 de l'extrait hydroalcoolique. L'extrait hydroalcoolique est le plus efficace de ces extraits. Le fait que son fractionnement donne des extraits moins efficaces qui, fractionnés à leur tour donne des sous-fractions qui n'ont aucune activité, montre qu'il existerait une synergie d'action au niveau des molécules présentes dans l'extrait hydroéthanolique. Le fait que l'extrait au dichlorométhane n'ait aucun effet sur les souches testées signifierait que les stérols et les triterpènes, de même que les coumarines ne sont pas directement impliqués/responsables de l'activité antimicrobienne.

PERSPECTIVES

- Approfondir les recherches sur la fraction 2 de l'extrait hydroéthanolique par des fractionnements avec d'autres systèmes de solvants.
- Etudier d'autres paramètres biologiques de ces extraits.
- Envisager des formulations galéniques.
- Effectuer des tests cliniques

BIBLIOGRAPHIE

- Ajaiyeoba E. (2002). Phytochemical and antibacterial properties of *Parkia biglobosa* and *Parkia bicolor* leaf extracts, Afr. J. Biomed. Res., 5 : 125-129.
- Akinyemi K.O., Oladapo O., Chidi E Okwara C.E., Ibe C.C.& Fasare K.A.(2005). Screening of crude extracts of six medicinal plants used in South-West Nigerian unorthodox medicine for anti-methicillin resistant *Staphylococcus aureus* activity. MBC, Complement Altern Med., 5 : 6
- Arbonnier M. (2002). Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest. Ed. ISBN CIRAD, Pont-sur-Yonne, 392, 574 pages
- Berche P., Gaillard Jean Louis(1988). Bactériologie. Les bactéries des infections humaines. Médecine – Sciences Flammarion : 93 – 99.
- Brooks Geo. F., Butel Janet S., Morse Stephen A. (1998). Medical Microbiology. Lange Medical books/McGraw-Hill : 21: 224 – 226
- Chambers HF. (1988). Methicillin Resistance in *Staphylococci*: Molecular and Biochemical basis and Clinical implications. *Clinical Microbiology Reviews*, 10 :781–791
- Chaves N., Escudero J.C., Gutierrez-Merino C., (1997). Role of ecological variables in the seasonal variation of flavonoid content

of *Cistus ladanifer* Exudate, Journal of Chemical Ecology, 23(3) : 579-603.

Diawara B., Jakobsen M. (2004). Valorisation technologique et nutritionnelle du néré ou *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth. : une espèce agroforestière, **Eds Diawara B. et Jakobsen M., 174p.**

Essawi T., Srour M., (2000): Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 70 (3) : 343-349.

Fei Q., Linchun M., Chenggang Z. and Guangfa X. (2006). Antioxidant properties of Chinese yellow wine, its concentrate and volatiles, *LWT - Food Science and Technology*. 39(2) :111-117.

Fetuga B.L., Babatunde G.M., Oyenuga V.A. (1974). Protein quality of some unusual protein foods – african locust bean seed. *Brit. J. Nutri.* 3 :1-6.

Harborne J B (1989). General procedures and measurement of total phenolics, in "Methods in plant biochemistry", 1 : 1-28, Academic Press, Londres.

landolo J., V. Worrell, K.H. Groicher, Y. Qian, R. Y. Tian, S. Kenton, A. Dorman, H-G. Jia, S. Lin, P. Loh, S. Qi, H. Zhu and B.A. Roe (2002). Comparative analysis of the genomes of the temperate bacteriophages phi 11, phi 12 and phi 13 of *Staphylococcus aureus* 8325. *Gene* 289 109-118.

Kerharo J., Adam JG. (1973). La pharmacopée sénégalaise traditionnelle, Plantes médicinales et toxiques, Edit. Vigot Frères, 579 – 580.

Kawshik K.C., Achinto S., Sitiesh C. B., Joydeb K. K. (2005). Analgesic and anti-inflammatory activities of *Desmodium triflorum* DC, *J. Biol. Sci.*, 5 (5) : 581-583.

Martínez M.J., Betancourt J., Alonso-González N., Jauregui A. (1996). Screening of some Cuban medicinal plants for antimicrobial activity, *BMC Complementary and Alternative Medicine* 6 : 2 doi:10.1016/0378-8741(96)01405-5 .

Maydell H.J.von (1981). Arbres et arbustes du Sahel : leurs caractérisations et leurs utilisations, 312-315.

Millogo – Kone H., Guissou, I.P., Nacoulma, O., Traore A.S.(2006). Study of the antibacterial activity of the stem bark and leaf extracts of *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth. on *Staphylococcus aureus*, *AJTAM*, 3 :74 – 78.

Moyen G., Nkoua J.L., Mpemba A.B., Fourcade-Pauty V., Nzingoula S. (1993). Septicémie à *Staphylococcus aureus* de l'enfant - à propos de 12 cas, *Medicine d'Afrique Noire*, 40 (6).

Mulligan ME. et al (1993). Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. A consensus review of the microbiology, pathogenesis and epidemiology with implications for prevention and management. *Am. J. Med.* 94 : 313.

Nascimento GGF, Locatelli J, Freitas PC, Silva GL (2000). Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Braz J Microbiol* 31 : 247-256.

Nacoulma O. (1996). Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au B.F. Cas du Plateau Central, 2: 179-180.

Ndir B., Lognay G., Wathelet B., Cornelius C. (2000). Composition chimique du nétéu, condiment alimentaire produit par fermentation des graines du caroubier africain *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth., *Biotechnol.Agron. Soc. Environ.* 4 (2) :101-105.

Odufa S.A. (1981). Identification of the microorganisms associated to Iru' fermentation. *J. Plant Foods*, 3 : 245-250.

Perez C, Pauli M, Bazevque P(1990). An antibiotic assay by the agar well diffusion method. *Acta Biologicae et Medicinae Experimentalis*, 15 :113-115.

Rojas J.J., Ochoa V.J., Ocampo S.A., John F Muñoz, J.F. (2006). Screening for antimicrobial activity of ten medicinal plants used in Colombian folkloric medicine: A possible alternative in the treatment of non-nosocomial infections, *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2006, 6:2doi:10.1186/1472-6882-6-2.

Stucke Vivien A. (1993). Microbiology for nurses. Low Price Edition 7: 215

Voravuthikunchai S.P., Kitpipit L. 2005. Effective medicinal plant extracts against hospital strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin. Microbiol. Infect.* 11(6) : 510-512.

Zéba B. (2006). Etude des supports enzymatiques de la résistance bactérienne aux antibiotiques: Application aux noyaux β -lactamines/ β -lactamases; épidémiologie. Thèse de Doctorat d'Etat ès sciences Biologiques, Université de Ouagadougou, 72-84.

REMERCIEMENTS

- Prof Jeanne Millogo, botaniste au laboratoire de botanique et écologie tropicales
- Monsieur Yaro boubacar
- Centre Médical Saint Camilles
- Laboratoire National d'Elevage