

ACTION DES PRINCIPES ACTIFS NATURELS D'UNE PLANTE AROMATIQUE ALGERIENNE VIS-A-VIS DES ENTEROBACTERIES PATHOGENES

BENKHERARA Salah^{*}, BORDJIBA Ouahiba et DJAHRA Ali Boutlelis
Laboratoire de Biologie Végétale et Environnement (LBVE), Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université BADJI Mokhtar, 23000 Annaba – Algérie.
E-mail: salahbn07@yahoo.fr, ouahiba_bordjiba@yahoo.fr, djahra_ab@yahoo.fr

Résumé. - L'étude vise l'évaluation de l'effet des principes actifs naturels d'une plante aromatique et médicinale, la Sauge officinale ou *Salvia officinalis* L. (Lamiacées). Pour ce faire, les huiles essentielles sont extraites par hydrodistillation, séparées et identifiées par CG/SM. Leur effet antibactérien est déterminé, *in vitro* sur milieu Mueller-Hinton, vis-à-vis quelques entérobactéries pathogènes. Les résultats ont démontré que l'huile essentielle isolée est constituée d'un chémotype de dix-neuf (19) composés terpéniques avec une prédominance de l' α -Thujone (environ 37%). Les tests de l'activité antibactérienne révèlent que l'inhibition de la croissance varie en fonction de l'espèce bactérienne et de la concentration du produit naturel extrait. De toutes les souches testées, trois d'entre, elles se sont montrées très sensibles face aux différentes concentrations de l'extrait végétal obtenu. Les zones d'inhibition enregistrées dépassent le plus souvent celles provoquées par l'antibiotique utilisé (rifampicine à 5 μ g). Ces résultats sont prometteurs et apportent une validation scientifique quant à l'usage massif de la Sauge officinale. Ainsi l'effet des principes actifs naturels isolés des plantes médicinales pourrait bien rivaliser celui des antibiotiques.

Mots clés: Effet antibactérien, huiles essentielles, *Salvia officinalis*, entérobactéries.

ACTION OF NATURAL ACTIVE PRINCIPLES OF AN ALGERIAN AROMATIC PLANT AGAINST SOME PATHOGEN ENTEROBACTERIACEAES

Abstract. - This study was designed to evaluate the effect of natural active principles of a medicinal and aromatic plant: the Sage or *Salvia officinalis*. To do this, the essential oils were extracted by hydrodistillation, separated and identified by GC/MS. Their antibacterial effect was determined, *in vitro* on Mueller-Hinton medium, against some pathogen enterobacteria. Convincing results were obtained. These results showed that the isolated essential oil is constituted of a Chemotype of nineteen (19) terpene compounds with a predominance of α -Thujone (about 37%). The tests of the antibacterial activity showed that the inhibition of the growth depends on the bacterial species and the concentration of the extracted natural product. Generally, the obtained essential oils have a very important antibacterial therapeutic action against the studied multiresistant germs. From all tested strains, three of them were very sensitive face to different concentrations of the obtained plant extract. The recorded inhibition zones often exceed those caused by the used antibiotic (Rifampin 5 μ g). These results are promising and provide a scientific validation for the massive use of the Sage. Thus the effect of natural active principles isolated from medicinal plants could well rival that of antibiotics.

Keywords: Antibacterial effect, essential oils, *Salvia officinalis*, enterobacteria.

Introduction

Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base: nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité.

Dans le monde, 80% des populations ont recours à des plantes médicinales pour se soigner, par manque d'accès aux médicaments prescrits par la médecine moderne mais aussi parce que ces plantes ont souvent une réelle efficacité. Aujourd'hui, le savoir faire des tradipraticiens, est de moins en moins transmis et tend à disparaître. C'est pour cela que l'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie s'emploient à recenser, partout dans le monde, des plantes réputées actives et dont il appartient à la recherche moderne de préciser les propriétés et valider les usages [1].

À la fin de XIX^{ème} et au début du XX^{ème} siècle, plusieurs travaux scientifiques relataient de l'action antiseptique de plusieurs huiles essentielles [2, 3]. Ces huiles sont douées de propriétés antimicrobiennes à des degrés divers et reconnues depuis longtemps. Ces propriétés sont dues aux constituants de chaque huile essentielle [4, 5]. Ce sont des propriétés antifongiques [6, 7, 8, 9], antivirales [10], antiparasitaires [11] et également des propriétés insecticides [12, 13].

Plusieurs huiles essentielles présentent un fort pouvoir antibactérien [14]: Origan d'Espagne, Thym (*Thymus vulgaris*), Cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*), Sarriette (*Satureia montana*), Girofle (*Eugenia caryophyllata*), par rapport à d'autres qui ont une activité moyenne : Pin (*Pinus sylvestris*), Cajeput (*Melaleuca leucadendron*), Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*), Lavande (*Lavandula officinalis*), Myrte (*Myrtus communis*), Géranium rosat (*Pelargonium graveolens*). Les huiles essentielles qui présentent une bonne activité antibactérienne sont aussi de bons antifongiques [15, 16].

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à une espèce végétale très répandue dans le bassin méditerranéen et très utilisée pour ses innombrables vertus thérapeutiques. Il s'agit de *Salvia officinalis* L. (Lamiacées) ou Sauge officinale. L'objectif était de vérifier la spécificité de cette espèce végétale sur le plan antiseptique et notamment l'activité antibactérienne de ses huiles essentielles vis-à-vis quelques entérobactéries pathogènes.

1.- Matériels et méthodes

1.1.- Matériels utilisés

Le matériel végétal utilisé lors de la réalisation de ce travail est constitué de feuilles de l'espèce *Salvia officinalis* L. Les échantillons sont prélevés au niveau du Parc National d'El-Kala (P.N.E.K) au nord-est algérien, tôt le matin et au moment de débourrement de la plante. Le matériel microbiologique, est constitué de quatre souches d'entérobactéries pathogènes, souvent multirésistantes aux antibiotiques et responsables de certaines maladies infectieuses plus ou moins graves. Ces bactéries sont *Escherichia coli* 12, *Escherichia coli* 1554, *Escherichia coli* 1429 et *Escherichia coli* ATCC 25922. Elles proviennent d'un laboratoire

d'analyses médicales situé à la wilaya d'Annaba. La gélose Mueller-Hinton (pH=5.7) est le principal milieu de culture utilisé.

Au cours de ce travail, un antibiotique de la famille des rifamycines (rifampicine à 5 µg) est utilisé afin de comparer les activités antibactériennes des huiles essentielles extraites avec celles des antibiotiques. Il a une excellente activité sur les germes à Gram positif: *Staphylocoques* et *entérocoques* [17, 18, 19].

1.2.- Méthodes d'analyse

1.2.1.- Extraction et identification des huiles essentielles

Selon Bruneton (1999), l'extraction des huiles essentielles (HE) est faite par entraînement à la vapeur d'eau avec 50 g de matière sèche, portés à ébullition pendant 3 heures avec une vitesse de distillation de 2 à 4 ml par minute [20].

L'analyse des huiles essentielles extraites est effectuée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse de type Shimadzu équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) et muni d'une colonne capillaire en silice fondue de type QP20 10C25 FS-OV1701 de 25 m de longueur, 0,25 mm de diamètre interne et 0,25 µm d'épaisseur de film. La température de la colonne est programmée de 60 à 200°C à raison de 3°C /min pendant 13 minutes. La température de l'injecteur, est fixée à 240°C et celle de détecteur (FID) à 250°C. Le débit de gaz vecteur (Hélium), est fixé à 1.5 ml/min. Le volume de l'échantillon injecté est 0,1 µl de l'huile pure diluée à 10% dans l'hexane.

Les composés de l'huile essentielle, sont identifiés par leurs indices de rétention sur la colonne (indice de rétention est calculé par rapport aux temps de rétention d'une série d'alcane linéaire (C9–C28)) et par la comparaison de leurs spectres de masse avec ceux des composés chimiques répertoriés dans une bibliothèque commerciale (ov.17/ GCMS Real time analysis).

Le pourcentage de chaque composé est déterminé à partir des aires de pics sans tenir compte des facteurs de correction en supposant que tous les constituants ont des coefficients de réponse voisins.

1.2.2.- Activité Antibactérienne

L'activité antibactérienne est évaluée par la méthode de l'aromatogramme. C'est est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antibactérien des HE et c'est l'équivalent d'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par les HE [14, 21].

Principe de la méthode

C'est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antibactérien de ou des principes actifs naturels qui consiste à déterminer le spectre d'activité de ces composés sur des espèces bactériennes pour essayer de vérifier la sensibilité ou la résistance des germes pathogènes vis-à-vis de ces principes actifs isolés.

Un disque (6 mm de diamètre) imprégné du produit à tester (HE pures, HE diluées au 1/2, HE diluées au 1/4) est placé sur une gélose (4 mm d'épaisseur; dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre) préalablement inoculée avec la souche, s'humidifie et le produit diffuse radialement du disque dans la gélose en formant ainsi un gradient de concentration. Après une incubation de 18 à 24 heures à une température de 37°C. Si le produit est toxique pour la bactérie, il se forme un halo ou une zone autour du disque. Plus grande est cette zone, plus la bactérie est sensible. Des disques témoins (eau distillée stérile) et des disques de comparaison (antibiotique) sont inclus dans les essais.

Suspensions bactériennes

A partir des cultures bactériennes préalablement réactivées sur milieu Mueller-Hinton (MH) à une température de 37°C pendant 24 heures, des suspensions bactériennes sont préparées dans de l'eau physiologique et homogénéisées de façon à obtenir une concentration de l'ordre de 10^6 à 10^8 C.F.U/ml. Après ensemencement des bactéries, les disques imprégnés du produit à tester sont appliqués.

2.- Résultats

2.1.- Extraction et identification des huiles essentielles

Dans 100 g de matière végétale sèche, une teneur moyenne de 1,52 ml d'huiles essentielles est obtenue. Cette teneur correspond à un taux de 1,52 % (tab. I). Ces huiles sont de densité plus importante que celle de l'eau, d'un aspect liquide limpide fluide et mobile, de couleur jaune pâle et d'odeur agréable.

Tableau I.- Teneurs (ml) en huiles essentielles des feuilles de *Salvia officinalis* L.

Essai	Essai.1	Essai.2	Essai.3
Teneur	1,32	1,36	1,88
Teneur moyenne	1,52		

De l'analyse et l'identification des huiles essentielles extraites, un profil de chromatogramme est obtenu. Ce profil montre la présence de dix neuf composés terpéniques: l' α -Thujone (36,74%), le Cinéole (22,97%), le Camphre (11,34%) et la β -Thujone (8,81%) sont des composés majoritaires, d'autres qui sont moyennement abondants tels que le Bornéol, la β -Humulène, l'Eucalyptol et le L-Camphre avec 2,94%, 3,15%, 3,27%, 3,81% respectivement.

Le reste des composés identifiés ne présentent que des teneurs faibles comprises entre 0,20% pour le D-Limonène et 1,54% pour le Caryophyllène (tab. II).

Tableau II.- Liste des composés terpéniques minoritaires de l'huile essentielle obtenue

α -Pinène	Camphène	Ocimène	β -Pinène	β -Myrcène	β -Linalool	α -terpénol	α -caryophyllène	α -Longipinène
0.22%	0.41%	1.06%	0.37%	0.25%	1.10%	0.25%	1.34%	0.23%

2.2.- Activité antibactérienne

A travers l'évaluation *in vitro* et sur milieu Mueller-Hinton du pouvoir antibactérien des principes actifs extraits face aux différentes entérobactéries testées, il paraît évident qu'il y a une énorme hétérogénéité dans les résultats obtenus. Les souches ont réagi plus ou moins bien selon la concentration des huiles essentielles isolées. Les meilleures zones d'inhibition sont enregistrées avec la solution (HE au 1/2).

De toutes les souches testées, la souche *Escherichia coli* 1554 semble la plus sensible par rapport aux autres souches d'*Escherichia coli*, avec une zone d'inhibition de 34.48 mm de diamètre. Ce chiffre est de loin plus important que celui noté en présence de l'antibiotique. D'autre part, les souches *Escherichia coli* 12 et *Escherichia coli* ATCC 25922 n'ont montré aucune sorte de sensibilité à l'antibiotique utilisé. Cependant, elles n'arrivent pas à se développer face aux huiles essentielles extraites. De même, une efficacité parfaite de ces huiles est observée contre le germe *Escherichia coli* 1429 qui est également très sensible à l'action de l'antibiotique utilisé (tab. II).

Tableau III.- Diamètres des zones d'inhibition (mm) de la croissance des bactéries face aux produits testés

		<i>Escherichia coli</i> 12	<i>Escherichia coli</i> 1429	<i>Escherichia coli</i> 1554	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
Huiles essentielles	HE pures	27.40	31.56	23.32	13.40
	HE au ½	27.50	33.62	34.48	12.65
	HE au ¼	19.35	29.64	28.04	29.35
Antibiotique (Rifampicine à 5µg)		00.00	30.50	27.72	00 .00

3.- Discussion

A partir de l'extraction des huiles essentielles, leur rendement obtenu, leur analyse ainsi que leur composition biochimique, il paraît évident que l'espèce *Salvia officinalis* L. est de nature aromatique et se caractérise par un chémotype à thujone (mélange composé de α - et β -thujone).

A la lumière de ces résultats et par comparaison avec d'autres travaux, des résultats plus ou moins similaires ont été signalés par Brieskorn (1991) sur la même espèce végétale dont les rendements d'HE obtenues sont compris entre 1 et 2.5% et avec environ 60% de thujone (mélange composé de α - et β -thujone) [22]. Cependant, dans un autre travail réalisé par Fleurentin (2008) sur la Sauge officinale de l'Espagne, l'auteur a signalé la présence d'un chémotype à différents composés terpéniques avec une prédominance de Camphre (11 à 36%), suivi de Cinéole (11 à 25%) et très peu de Thujone (< 0.5 %) [23]. Cette divergence dans les résultats explique le rôle que peuvent jouer les facteurs environnementaux et climatiques sur la composition biochimique et sur la qualité de l'extrait de l'espèce végétale.

Généralement, ces HE sont plus efficaces à la dilution (HE au ½) contre la majorité des

souches. Ce pouvoir antibactérien des HE a été signalé par de nombreux travaux notamment ceux réalisés par Burt (2003) sur cinq HE de l'Origan et de Thym qui ont provoqué des propriétés antibactérienne les plus fortes, suivi de celles de Laurier et de Clou de girofle sur *Escherichia coli* sous des températures variables [24]. Dans ce même contexte et selon Rhayour (2003), les HE de Clou de girofle et d'Origan en particulier le Thymol et l'Eugénol ont provoqué la lyse cellulaire des bactéries associée à une rapide mortalité sur *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis* [25]. De plus, selon Ahmad *et al.* (2005), ces HE du Clou de girofle ont une activité antifongique contre les champignons pathogènes opportunistes tels que *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* et *Aspergillus fumigatus* [26]. Par ailleurs, Chami *et al.* (2005) ont affirmé l'efficacité thérapeutique de deux composés phénoliques (Carvacrol et Eugénol) contre la Candidose buccale induite de façon expérimentale chez des rats avec un système immunitaire déprimé [27].

Une étude réalisée par Ohno *et al.* (2003) sur les HE de l'Origan et de Laurier, a signalé un pouvoir inhibiteur sur des bactéries Gram (+) et Gram (-) entre autre l'inhibition du développement de *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* [28].

De même, les HE isolées d'une Lamiacée *Ocimum gratissimum* ont provoqué une forte inhibition de la souche *Escherichia coli* ATCC 25922 [29] et une activité insecticide entraînant la réduction de la ponte chez les femelles de *Callosobruchus maculatus* [30], ainsi qu'une parfaite inhibition de la croissance d'*Aureobasidium pollulants* et de *Microsporium gypseum* [31]. Selon N'dounga et Ouamba (1997), ces HE ont fortement inhibé la croissance des bactéries et des champignons isolés à partir des pus des malades hospitalisés [32].

L'activité biologique des principes actifs naturels entre autre celle des huiles essentielles est liée à leur chémotype c'est-à-dire la ou les molécules biologiquement actives et majoritairement présentes, leur composition ou les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcool, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs actions synergiques. Cette activité antibactérienne de substances naturelles s'explique par la lyse des membranes bactériennes; les HE, les flavonoïdes, les alcaloïdes voire même les tanins pourraient induire une fuite d'ions potassium au niveau de la membrane et par voie de conséquences des lésions irréversibles au niveau de cette membrane. Cette perméabilité au potassium est un effet précurseur de leur mort.

Conclusion

Au terme de cette étude, l'analyse et l'identification des huiles essentielles des feuilles de l'espèce végétale *Salvia officinalis* L. ou Sauge officinale, un chémotype de dix-neuf composés terpéniques, est déterminé. De l'activité antibactérienne évaluée par les tests *in vitro*, il ressort que les huiles essentielles possèdent un fort pouvoir antibactérien sur les bactéries multirésistantes testées. Toutefois, l'inhibition de la croissance varie en fonction de l'espèce bactérienne et de la concentration du l'extrait volatil obtenu. Ce pouvoir antibactérien est dû à la richesse des huiles essentielles en substances inhibitrices. Il s'agit probablement des phénols qui sont doués d'une forte activité antibactérienne. De toutes les souches testées, trois d'entre elles se sont montrées très sensibles face aux différentes concentrations de l'huile essentielle obtenue : *Escherichia coli* 12, *Escherichia coli* 1554 et *Escherichia coli* 1429. Les zones d'inhibition enregistrées dépassent le plus souvent celles provoquées par l'antibiotique

utilisé (rifampicine à 5µg).

D'une manière générale, les résultats obtenus ont démontré que les huiles essentielles de *Salvia officinalis* L. pourraient bien présenter une alternative intéressante à l'utilisation des antibiotiques. De ce fait, nous pensons qu'il est important d'extraire les autres principes actifs de la plante et de tester leur pouvoir antibactérien sur un large panel de souches bactériennes et fongiques devenues à l'heure actuelle multirésistantes aux antibiotiques.

Références bibliographiques

- [1].- Pelt J. M., 2001 - Les nouveaux actifs naturels. Ed., Marabout, Paris.
- [2].- Bertrand G., 1983 - Le goménol. Bull Gén de Thér Ann Inst Pasteur.
- [3].- Chamberland M., 1887 - Les essences au point de vue de leurs propriétés antiseptiques. Ann Inst Pasteur, 1: 153-154.
- [4].- Guenther E., 1948 - The Essential oils. D. Van Nostrand, New York, 552-575.
- [5].- Boyle W., 1955 - Species and essential oils as preserve. American Perfumer and Essential Oil Rev., 66.
- [6].- Azzouz M. A. and Bullerman L. B., 1982 - Comparative antimycotic effects of selected herbs, species, plant components and commercial antifungal agents. Journal of Food Protection, 45: 14-15.
- [7].- Akgul A. and Kivanc M., 1988 - Inhibitory effects of selected Turkish species and oregano components on some food borne fungi. International Journal of Food Microbiology, 6: 263-268.
- [8].- Jayashree T. and Subramanyam C., 1999 - Antiaflatoxic activity of eugenol is due to inhibition of lipid peroxidation, Letters in Applied Microbiology, 28: 179-183.
- [9].- Mari M., Bertolini P. and Pratella G. C., 2003 - Non-conventional methods for the control of post-harvest pear diseases. Journal of Applied Microbiology, 94: 761-766.
- [10].- Bishop C. D., 1995 - Antiviral activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (Maiden and Betche) Cheel (tea tree) against tobacco mosaic virus. Journal of Essential Oil Research, 7: 641-644.
- [11].- Pessoa L. M., Morais S. M., Bevilacqua C. M. L. and Luciano J. H. S., 2002 - Anthelmintic activity of essential oil of *Ocimum gratissimum* L. and eugenol against *Haemonchus contortus*. Veterinary Parasitology, 109: 59-63.
- [12].- Kanstantopoulou I., Vassilopoulou L., Mavragani-Tsipidou P. and Scouras Z. G., 1992 - Insecticidal effects of essential oils. A study of the effects essential oils extracted from eleven Greek aromatic plants on *Drosophila auraria*. Experientia, 48: 616-619.

- [13].- Karpouhtsis L., Pardali E., Feggou E., Kokkini L., Scouras Z. G. and Mavragani-Tsipidou P., 1998 - Insecticidal and genotoxic activities of oregano essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 1111-1115.
- [14].- Belaïche P., 1979 - *Traité de Phytothérapie et d'Aromathérapie*. Tome 1, Ed., Maloine, Paris, 9-20.
- [15].- Pellecuer J., Roussel J. L. et Andary C., 1973 - Propriétés antifongiques comparatives des essences de trois Labiées méditerranéennes: romarin, sarriette et thym. *Travaux de la Société de pharmacie de Montpellier*, 3: 584-585.
- [16].- Pellecuer J., Allegrini J. et Buochberg S., 1974 - Etude *in vitro* de l'activité antibactérienne et antifongique de l'essence de *Satureia montana*. *J. Pharm. Belg.*, 2: 137-144.
- [17].- Ganescu I., Bratulescu G., Lilea B. et Ganescu A., 2002 - Anions complexes du chrome en analyse et le contrôle des médicaments, détermination de la Rifampicine. *Acta. Chim. Slov.*, 49: 339-340.
- [18].- Couraud S., Girodet B., Vuillermoz S. et Vincent M., 2006 - Thrombopénie immunoallergique à la rifampicine, à propos d'un cas Rifampin induced thrombocytopenia. *Revue Française d'Allergologie*, 46: 656-658.
- [19].- Yala D., Merad A. S., Mohamedi D. et Ouar Korich M. N., 2001 - Résistance bactérienne aux antibiotiques. *Médecine du Maghreb, Alger*, 91: 12-13.
- [20].- Bruneton J., 1999 - *Pharmacognosie : Phytochimie. Plantes Médicinales*. Ed., Tec et Doc, Paris, 1120 p.
- [21].- Girault M., Bourgeon J., 1971 - *Les cahiers de biothérapie*, 29: 4-5.
- [22].- Brieskorn C. H., 1991 - Seine inhaltsstoffe und sein therapeutischer wert. *Z. Phytotherapie*, 12: 61-69.
- [23].- Fleurentin J., 2008 - *Plantes médicinales: Traditions et thérapeutique*. Ed. Ouest-France, 192 p.
- [24].- Burt S. A., 2003 - Antibacterial activity of select plant essential oils against *Escherichia Coli* O 157: 47. *Lett. Appl. Microbial*, 36: 162-167.
- [25].- Rhayour K., 2003 - Mechanism of bactericidal action of oregano and clove essential oils and their phenolic major components in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *Journal of essential oil research*, 15: 356-262.
- [26].- Ahmad N., Alam M. K., Shehbaz A., Khan A., Mannan A., Rashid Hakim S., Bisht D. and Owais M., 2005 - Antimicrobial activity of Clove oil and its potential in the

treatment of vaginal candidiasis. *J. Drug. Target.*, 13: 555-561.

- [27].- Chami F., Chami N., Bennis S., Bouchikhi T. and Remmal A., 2005 - Oregano and Clove essential oils induced surface alteration of *Saccharomyces cerevisiae*. *Phyther. Res.*, 19: 405-408.
- [28].- Ohno T., Kila M., Yamaoka Y., Imamura S., Yamamoto T., Mitsufuji S., Kodama T., Kaschima K. and Imanishi J., 2003 - Antimicrobial activity of essential oils against *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*, 8: 207-215.
- [29].- Oussou K. R., Yolou S., Boti J. B., Guessennnd K. N., Kanko C., Ahibo C. et Casanova J., 2008 - Etude chimique et activité antidiarrhéique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la pharmacopée ivoirienne. *European Journal of Scientific Research*, 24: 94-103.
- [30].- Seri-Kouassi B. P., Kanko C., Aboua L. R. N., Bekon A., Glitho A. I., Koukoua G. et N'guessan Y. T., 2004 - Action des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de Côte d'Ivoire sur *Callosobruchus maculatures F.* du niébé. *C.R. Chimie.*, 7: 1043-1046.
- [31].- Amvam Zollo P. H., Byti L., Choumboungang F. T., Menute C., Lamrti G. and Bouchet P. H., 1998 - Aromatics plants of central of Africa, Part XXXII: Chemical composition and activity of thirteen essential oils from aromatic plants of Cameroun. *Flavour and Fragrance Journal*, 13: 107-114.
- [32].- N'dounga M. and Ouamba J. M., 1997 - Antibacterial and antifungal activities of essential oils of *Ocimum gratissimum* and *O. basilicum* from Congo. *Fitoterapia*, 68: 191-192.