

Article Original

Composition Chimique et Activité Antimicrobienne de l'Extrait Méthanolique d'Ecorces de *Vernonia conferta* (Asteraceae sur des Souches Responsables d'Infections Cutanées)

Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Methanol Extract of Barks of Vernonia conferta (Asteraceae) on Strains Responsible for Skin Infections

Soppo Lobe Charlotte Vanessa¹, Nko'o Moïse Henri Julien¹, Foumane Maniepi Ngoupiho Jacqueline Saurelle¹, Benga Mekoulou Félicité¹, Nyangono Ndongo Martin², Emanda Ekoudi Martin¹, Toukam Michel³, Nnanga Nga¹, Ze Minkande Jacqueline⁴

RÉSUMÉ

Introduction. *Vernonia conferta* est une espèce utilisée par les populations camerounaises dans la prise en charge des plaies. L'objectif de ce travail était de déterminer la composition chimique et d'évaluer les propriétés antimicrobiennes de cette plante. **Méthodologie.** L'étude était de type expérimental. Le matériel végétal était constitué d'écorces de tronc de *V. conferta*. L'extraction a été réalisée par macération dans le MeOH. Il s'en est suivi le criblage phytochimique qualitatif, l'isolement et la caractérisation des molécules et l'évaluation des propriétés antimicrobiennes de l'extrait. **Résultats.** Le rendement d'extraction a été de 2,66%, les composés phénoliques et terpénoïdes ont été révélés. Un mélange de β -sitostérol et de stigmastérol, ainsi que l'acide bétulinique, ont été isolés. L'extrait méthanolique a montré une forte activité antibactérienne sur les souches de *S. aureus* et *E. coli* avec une CMI de 1.25 μg / ml et une très forte activité antifongique sur la souche de *C. albicans* avec une CMI de 0,78 μg / ml, de plus l'activité a été bactéricide et fongistatique. **Conclusion.** Ces résultats démontrent que l'extrait d'écorces de *V. conferta* peut être utilisé pour la formulation d'une solution antiseptique.

ABSTRACT

Introduction. *Vernonia conferta* is a species used by the Cameroonian populations for the management of wounds. The aim of this work was to determine the chemical composition and evaluate the antimicrobial properties of this plant. **Methodology.** The study was experimental. The plant material consisted of trunk bark of *V. conferta*. The extraction was carried out by maceration in MeOH, followed by qualitative phytochemical screening, the isolation and characterization of the molecules and the evaluation of the antimicrobial properties of the extract. **Results.** The extraction yield was 2.66%, the phenolic and terpenoid compounds were revealed. A mixture of β -sitosterol and stigmaterol and also betulinic acid, were isolated. The methanolic extract showed high antibacterial activity against the *S. aureus* and *E. coli* strains with a MIC of 1.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and very high antifungal activity against the *C. albicans* strain with a MIC of 0.78 μg / ml, in addition the activity was bactericidal and fungistatic. **Conclusion.** These results demonstrate that *V. conferta* bark extract can be used for the formulation of an antiseptic solution.

1. Département de Pharmacie Galénique et Législation Pharmaceutique, Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales, Université de Yaoundé 1

2. Département de Pharmacie, Faculté de Médecine et des Sciences

Pharmaceutiques/Université d'Ebolowa
3. Département de Microbiologie, Parasitologie Hématologie et des Maladies infectieuses, Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales, Université de Yaoundé 1

4. Département de Chirurgie et spécialités, Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales, Université de Yaoundé 1

Auteur correspondant :

Dr Soppo Lobe Charlotte Vanessa
Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales
Université de Yaoundé 1, Cameroun
Email : soppovanessa@yahoo.fr ; charlotte.soppo@fmsb-uy1.cm
Tél : 694-43-99-74

Mots clés : *Vernonia conferta* ; Activité antimicrobienne ; β -sitostérol ; Stigmastérol ; Acide bétulinique,

Keywords: *Vernonia conferta* ; Antimicrobial activity; β -sitosterol; Stigmaterol; Betulinic acid

INTRODUCTION

Le genre *Vernonia* compte environ un millier d'espèces et les membres du genre sont largement utilisés comme aliment et comme médicament. Cent neuf (109) espèces de *Vernonia* ont été signalées dans la littérature comme ayant des propriétés médicinales, cent cinq (105) plantes étaient liées au traitement ou à la gestion de 44 maladies ou problèmes de santé humains. Des études de recherche *in vitro* et *in vivo* rapportant la validation des propriétés

médicinales de certaines espèces ont été réalisées ; cent trois composés bioactifs isolés de diverses espèces de *Vernonia* ont également été identifiés [1]. *Vernonia conferta* est un arbuste de la famille des Asteraceae, du genre *Vernonia* retrouvé dans la zone tropicale de l'Afrique, notamment au Cameroun, Congo, Nigeria, Sierra Leone, Côte d'Ivoire, Ghana etc.

POINTS SAILLANTS**Ce qui est connu du sujet**

Vernonia conferta de la famille des Asteraceae est retrouvé dans la zone tropicale de l'Afrique. La décoction des écorces et tiges est utilisée en massage et pour la désinfection des lésions.

La question abordée dans cette étude

Composition chimique et propriétés antimicrobiennes des écorces de *Vernonia conferta*.

Ce que cette étude apporte de nouveau

1. Les composés phénoliques et terpénoïdes ont été révélés. Un mélange de β -sitostérol et de stigmastérol, ainsi que l'acide bétulinique, ont été isolés.
2. L'extrait méthanolique a montré une forte activité antibactérienne sur les souches de *S. aureus* et *E. coli* et une très forte activité antifongique sur la souche de *C. albicans*.
3. L'activité a été bactéricide et fongistatique

Les implications pour la pratique, les politiques ou les recherches futures.

L'extrait de *V. conferta* peut constituer une matière première pour la formulation d'un médicament utilisé dans la prise en charge des plaies.

Dans la région du centre Cameroun, son nom vernaculaire est « *Abayak* » et dans le littoral, « *Bopolo polo* » ; la décoction des écorces et tiges est utilisée en massage et pour la désinfection des lésions [2]. Au Bénin, les feuilles infusées sont prises oralement ou appliquées localement dans le traitement des ulcères [3]. L'administration orale des feuilles macérées permet de lutter contre le mal d'estomac et les crampes [4]. Occasionnellement plantée au Ghana comme haie ou clôture, la cendre de la tige brûlée est utilisée dans la préparation du savon ou comme sel de cuisine ; l'écorce est médicinale. Les feuilles sont utilisées dans les bains de vapeur comme remède contre l'orchite à gonocoque. Macérés dans le vin de palme, ils sont un excellent aphrodisiaque. La décoction est laxative, antipyrétique et expectorante. Les jeunes pousses sont

galactogènes. La poudre d'écorce est utilisée comme vermifuge pour les enfants. Le cortex utilisé pour les problèmes oculaires, pour réduire les abcès et s'applique directement sur les blessures. La décoction est galactogène. L'écorce, les racines et les branches sont astringentes et s'utilisent contre la fièvre et la diarrhée. Les racines sont cardiotoniques en raison de la présence du glucoside nonina, d'action similaire à la digitaline, mais beaucoup moins toxique. Du savon est fabriqué avec les cendres des tiges brûlées [5]. La présente étude avait pour objectif de déterminer la composition chimique et d'évaluer les propriétés antimicrobiennes de *V. conferta*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES**Récolte du matériel végétal**

Les écorces de tronc de *V. conferta* ont été récoltées dans la région du Centre, département de la Mefou et Afamba, localité de Nkolafamba, L'identification du spécimen a été effectuée à l'Herbier National du Cameroun en comparaison avec l'échantillon n° 11111/HNC, sous le n° 10046. Le matériel a été nettoyé, séché durant 14 jours à l'abri du soleil, puis pulvérisé dans un broyeur mécanique.

Microorganismes

Trois (3) souches cliniques fraîchement isolées des sujets camerounais ont été utilisées : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Candida albicans*.

Extraction

Elle a été faite par double macération de 72h dans 11 L de MeOH de la poudre d'écorces de *V. conferta*. Le mélange a été filtré sur du papier filtre Whatman N°3, le filtrat concentré à l'évaporateur rotatif Heidolph® (Hei-VAP ML/G3). L'extrait sec a été conservé à température ambiante à l'abri du soleil.

Le rendement d'extraction a été calculé selon la formule ci-dessous :

$$R = \frac{\text{(masse de l'extrait brut)}}{\text{masse de la poudre}} \times 100$$



Figure 1 : plante entière (gauche) écorces de tronc (droite)[6]

Criblage phytochimique qualitatif

Il a été réalisé en utilisant les protocoles standards d'Harbonne de 1998 [7].

Tableau I : méthodes usuelles de criblage phytochimique qualitatif

Classes de métabolites secondaires	de	Familles de métabolites secondaires	de	Réactifs
Composés Azotés		Alcaloïdes		Dragendorff
Terpènes et Stéroïdes		Triterpènes et Saponines	et	Libermann-Buchardt
Composés Phénoliques		Phénols et polyphénols	et	FeCl ₃ 10%
		Flavonoïdes		Shinoda
		Anthocyanines		H ₂ SO ₄ 1%
		Anthraquinones		Bornstrager
		Tanins catéchiques		FeCl ₃ 3%

Isolement et caractérisation des molécules bioactives

L'extrait brut a été dissout dans du MeOH et fixé sur une quantité équivalente de silice (de granulométrie 60 – 200µm / 60A) puis séché à température ambiante. Le mélange a été ensuite séparé sur une colonne chromatographique ouverte élue au système de solvants *n*-hexane/AcOEt à des polarités croissantes. La composition qualitative des fractions recueillies a été déterminée à l'aide de la CCM. L'élucidation des structures des composés isolés a été faite grâce aux méthodes de RMN ¹H et ¹³C.

Activité antimicrobienne

Préparation de l'inoculum microbien

Les suspensions de l'inoculum de bactéries ou de fungi ont été préparées selon la technique décrite par l'OMS dans son manuel de laboratoire. La turbidité de la suspension microbienne a été ajustée à un standard de 0,5 Mc Farland. Cette suspension a été diluée au centième, constituant ainsi l'inoculum standard [8].

Préparation de l'extrait et des molécules de référence

La solution mère a été préparée en dissolvant 1mg d'extrait sec dans 100 µL de DMSO puis additionnée de 1900 µL de milieu de culture, pour une concentration de 500 µg / mL. Les molécules de référence Ceftriaxone et Fluconazole ont été préparées à la même concentration. Trois témoins ont été utilisés. Le premier a été constitué uniquement du milieu de culture pour la stérilité du milieu. Le second, de 200 µL de DMSO et 100 µL de l'inoculum pour la viabilité des germes vis-à-vis du DMSO. Le troisième, du milieu de culture, de l'inoculum et de la substance de référence.

Détermination des concentrations minimales inhibitrices

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisée en triplicate dans les microplaques stériles de 96 puits. Cinq dilutions d'ordre 2 ont été réalisées (de 50 µg /mL à 1,56 µg/mL). L'incubation a été faite pendant 24 h à 37 °C (bactéries) et à 28 °C (fungi). La croissance des microorganismes a été observée grâce à un indicateur coloré l'iodonitrotétrazolium qui virait au rose en présence de bactéries viables. La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la plus faible concentration à laquelle l'extrait a empêché la croissance visible des bactéries et

fungi [9]. L'activité de l'extrait a été classé en : i) très forte, CMI ≤ 5 µg/mL ; ii) forte, 5 µg/mL ≤ CMI ≤ 50 µg/mL ; iii) modérée, 50 µg/mL ≤ CMI ≤ 325 µg/mL et iv) faible, CMI > 325 µg/mL [10].

Détermination des concentrations minimales bactéricides (fongicides)

L'ensemencement a été effectué à partir des puits de CMI, sur les géloses Muller Hinton e et Sabouraud et l'incubation s'est faite à 37 °C pendant 24 h (bactéries) et 28 °C (champignons). La CMB/CMF est la plus petite concentration à laquelle l'extrait a empêché la croissance visible des microorganismes après repiquage [9]. L'effet de l'extrait a été déterminé par le rapport CMB ou CMF/CMI : < 1, «bactéricide/fongicide absolu», ≤ 4, «bactéricide/fongicide», > 4, «bactériostatique /fongistatique» [11,12].

i. Considérations éthiques

Pour réaliser cette étude, une clairance éthique N°276 du Comité Institutionnel d'Éthique et de la Recherche de la FMSB/UY1 a été obtenue.

Analyses des données

Elle est réalisée par l'analyse de la variance ANOVA suivie du test de comparaison de Dunnett's afin de déterminer la CMI de chaque dilution (comparaison avec le témoin 1). L'outil statistique utilisé est Minitab V19. Les valeurs sont exprimées en moyenne, avec un seuil de signification statistique fixé à 5%.

RÉSULTATS

Extraction

La double macération de 72h dans le MeOH (11 L) d'une masse de 2, 25 Kg de poudre d'écorces de *V. conferta* a permis d'obtenir un extrait brut de 60,25g, soit un rendement de 2, 66%.

Criblage phytochimique qualitatif

Nous notons la présence des composés phénoliques, des triterpènes et stéroïdes et l'absence des alcaloïdes. Le tableau II résume la composition de l'extrait en métabolites secondaires.

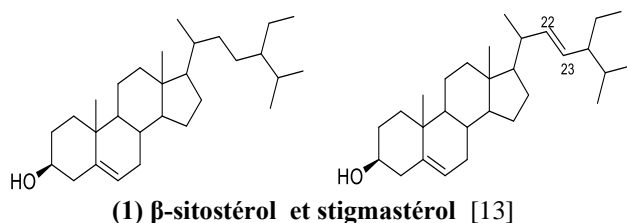
Tableau II : résultats du criblage phytochimique qualitatif

Classes de métabolites secondaires	de	Familles de métabolites secondaires	de	Extrait d'écorces de tronc de <i>V. conferta</i>
Composés Azotés		Alcaloïdes		-
Terpènes et Stéroïdes		Triterpènes		+
		Stéroïdes		+
		Saponines		+
Composés Phénoliques		Phénols		+
		Polyphénols		+
		Flavonoïdes		+
		Anthocyanines		+/-
		Anthraquinones		-
		Tanins catéchiques		+
+ : présence		- : absence		+/- : faible présence

Isolement et caractérisation des molécules bioactives

Le fractionnement sur colonne chromatographique de l'extrait méthanolique de *V. conferta* a permis d'isoler deux composés (1 et 2)

Le composé 1 (β -sitostérol et stigmastérol) a été obtenu sous forme de paillettes blanches dans le système de solvants *n*-hexane – AcOEt (95 : 5). Sa caractérisation a été faite par comparaison CCM avec un échantillon authentique disponible au laboratoire [13].



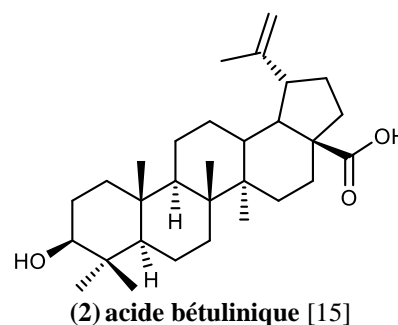
Le composé 2 a été obtenu sous forme de poudre blanche dans le système de solvants *n*-hexane – AcOEt (85 : 15)

Son spectre RMN ^1H met en évidence un ensemble de signaux, parmi lesquels deux singulets d'un proton chacun à δ_{H} 4,62 et 4,50 ppm correspondants aux protons oléfiniques d'un méthylène terminal ; puis un singulet de trois protons à δ_{H} 1,72 ppm attribuable à un méthyle probablement lié à un carbone sp^2 . Ces trois signaux sont caractéristiques d'un groupement propényle. On observe également sur ce spectre un multiplet d'un proton à δ_{H} 3,12 ppm attribuable au proton d'un hydroxyméthine et cinq singulets de trois protons chacun entre δ_{H} 0,75-0,97 ppm correspondant à cinq groupements méthyles angulaires.[14].

Son spectre RMN ^{13}C présente trente signaux correspondant à trente atomes de carbones. Parmi ces signaux, on distingue un signal à δ_{C} 177,6 ppm caractéristique du carbonyle des acides carboxyliques ;

par la suite, on distingue deux signaux à δ_{C} 150,0 et 109,4 ppm correspondants aux carbones sp^2 de la double liaison terminale C-20 et C-29 ; et un signal à δ_{C} 79,2 ppm caractéristique de l'hydroxyméthine en C-3 des triterpènes. Le reste des signaux apparaissant dans les champs forts entre δ_{C} 56,2 et 15,1 ppm correspondants aux carbones hybridés sp^3 .

L'ensemble des données spectrales comparées à celles de la littérature nous a permis d'attribuer au composé 2 la structure de l'acide bétulinique, le tableau III montre cette comparaison [15].

**Activité antimicrobienne**

Des CMI de 12,5 pour *S. aureus* et *E. coli* et de 0,78 pour *C. albicans* ont été obtenues, ces valeurs nous ont permis de catégoriser l'activité de notre extrait en forte activité antibactérienne, et très forte activité antifongique. La concentration de 2,5 $\mu\text{g/ml}$ est celle pour laquelle aucune population bactérienne n'a été observée pour les souches de *S. aureus* et *E. coli*. Pour *C. albicans*, cette concentration était de 6,25 $\mu\text{g/ml}$. Ceci nous a permis de classer les effets de notre extrait en bactéricide et fongistatique. Le tableau IV résume les différentes valeurs de CMI et CMB.

Tableau III : données spectrales comparatives RMN ^{13}C du composé 2 et l'acide bétulinique[15]

Composé 2		Acide bétulinique [15]		Composé 2		Acide bétulinique [15]		Composé 2		Acide bétulinique [15]	
N°	δ_{C}	N°	δ_{C}	N°	δ_{C}	N°	δ_{C}	N°	δ_{C}	N°	δ_{C}
1	38,3	1	38,7	11	20,7	11	20,8	21	29,5	21	29,7
2	27,3	2	27,4	12	25,2	12	25,5	22	36,9	22	37,0
3	78,2	3	78,9	13	38,2	13	38,4	23	27,7	23	27,9
4	38,7	4	38,8	14	42,3	14	42,4	24	15,1	24	15,3
5	55,2	5	55,3	15	306	15	30,5	25	15,9	25	16,0
6	18,2	6	18,3	16	32,0	16	32,1	26	16,0	26	16,1
7	34,2	7	34,3	17	56,2	17	56,3	27	14,6	27	14,7
8	40,5	8	40,7	18	46,7	18	46,8	28	177,6	28	180,5
9	50,3	9	50,5	19	49,1	19	49,2	29	109,4	29	109,6
10	37,1	10	37,2	20	150,0	20	150,3	30	19,2	30	19,4

Tableau IV : concentrations minimales inhibitrices et bactéricides (fongicides)

Microorganismes	CMI ($\mu\text{g/ml}$) moy.			Activité	CMB ($\mu\text{g/ml}$)	CMB/CMI	Effet
	Extrait	Cef	Flu				
<i>S. aureus</i>	12,5	0,39		Forte	2,5	2	Bactéricide
<i>E. coli</i>	12,5	0,39		Forte	2,5	2	Bactéricide
<i>C. albicans</i>	0,78		0,195	Très forte	6,25	8	Fongistatique

Cef : Ceftriaxone
Flu : Fluconazole
Moy : moyenne

DISCUSSION

La présente étude avait pour objectif d'évaluer les propriétés antimicrobiennes de *V. conferta* et déterminer sa composition chimique.

Un rendement d'extraction de 2,66% a été obtenu. Mvondo et al ont obtenu une valeur similaire (2,97%) lors de l'extraction hydroéthanolique des écorces de *V. conferta* [16]. Le criblage phytochimique qualitatif de l'extrait méthanolique de *V. conferta* a révélé la présence des composés phénoliques et des composés terpénoïdes. Orabueze et al. au Nigéria et Mvondo et al. au Cameroun ont, lors de leurs études, révélé la présence de ces classes de métabolites secondaires [16,17]. Ils ont obtenu en plus des alcaloïdes, ceci pourrait s'expliquer par la différence du lieu et de la période de la récolte. De plus, des études menées sur d'autres espèces du genre *Vernonia* ont démontré la présence de composés terpénoïdes [18,19].

L'isolement et la purification nous ont permis d'obtenir les composés **1** (β -sitostérol et stigmastérol) et **2** (Acide bétulinique). Ce résultat corrobore celui de Erasto et al en Afrique du Sud qui ont isolé deux sesquiterpènes lactones de l'extrait éthanolique des feuilles de *Vernonia amygdalina* (le vernolide et le vernodalol). Umoh et al au Nigéria, ont isolé pour la première fois β -sitostérol des feuilles de *Vernonia conferta* [20]. La majorité des triterpènes obtenus était de la classe des lupanes. Dans une revue sur les activités biologiques et les triterpénoïdes des espèces du genre *Vernonia*, sept classes de triterpénoïdes ont été isolées et signalées dont cinq sont étroitement liés et possèdent cinq cycles dans leur squelette de base (oléanane, ursane, taraxarène, friedelane et friedoursane), les deux autres classes étant les lupanes (quatre cycles et un à cinq cycle) et un triterpénoïde tétracyclique [18].

Concernant l'activité antimicrobienne, les valeurs de CMI obtenues étaient de 2,5 μ g/ml pour les bactéries avec un rapport CMB/CMI égal à 2. Ce résultat se rapproche de ceux de Mvondo et collaborateurs qui ont obtenu des rapports CMB/CMI de 1 pour *E. coli* et 2 pour *S. aureus* avec l'extrait hydroéthanolique d'écorces de *V.c.* Ceci confirme l'effet bactéricide de l'extrait méthanolique des écorces de notre spécimen [16]. Cette équipe, lors du screening phytochimique, a révélé la présence de composés phénoliques, terpénoïdes et azotés. Ces métabolites secondaires ont été retrouvés lors de nos travaux, en dehors des composés azotés. Ceci proposerait que les métabolites détectés soient responsables de l'activité antibactérienne. En effet les données de la littérature rapportent que les triterpènes et les stéroïdes sont des composés bioactifs reconnus comme possédant des propriétés antimicrobiennes, les triterpènes du groupe des lupanes quant à eux ont révélé des propriétés antibactériennes contre *E. coli* et *P. aeruginosa*, [3,4,16,20,21]. Cependant des scientifiques ont constaté que l'activité antimicrobienne la plus élevée était liée à la présence de groupes hydroxyles (composés phénoliques et alcooliques), alors que les hydrocarbures entraînaient une activité moindre [22]. S'agissant des molécules bioactives isolées de *V. c.*, il a été noté que le stigmastérol et β -sitostérol possèdent une activité anti-oxydante, ils seraient efficaces dans le traitement des cancers. Le β -sitostérol serait également efficace dans le traitement des troubles

neuro-dégénératifs tels que la maladie d'Alzheimer ; il serait un excellent antidiabétique, antiinflammatoire, antihelminthique...[23].

CONCLUSION

L'étude chimique des écorces de *Vernonia conferta* (*Asteraceae*) nous a permis d'une part de révéler la présence de composés phénoliques et terpénoïdes, d'autre part d'isoler et de caractériser 2 phytostérols (le β -sitostérol et le stigmastérol) et 1 triterpène de la classe des lupanes (l'acide bétulinique). L'activité antimicrobienne de l'extrait a été démontrée sur les souches de *S. aureus*, *E. coli* et *C. albicans* : bactéricide et fongistatique. Cette étude a permis de valoriser les activités décrites sur cette plante car, elle vient corroborer les propriétés ethnopharmacologiques décrites sur l'utilisation des écorces de *Vernonia conferta* au Cameroun. Cette étude ouvre une piste de recherche pour la mise au point d'une solution antiseptique répondant aux exigences de stabilité, d'efficacité et d'innocuité.

Contribution des auteurs

SLCV a effectué les expériences (extraction et chromatographie), NMHJ a réalisé l'isolement et la caractérisation physicochimique (criblage, RMN), FMNFS et BMF ont réalisé l'activité antimicrobienne, les autres auteurs ont participé à l'amélioration du document.

Conflits d'intérêt

Les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêts.

Remerciements

Au Laboratoire de Multidisciplinaire de Galénique et Législation Pharmaceutique de la FMSB/Uy1.

Au Laboratoires de Chimie Organique et Bio-organique de l'Université de Bielefeld-Allemagne

Au Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Yaoundé.

Au Centre for Study and Control of Communicable Diseases.

Source de financement

Cette recherche n'a reçu aucune subvention d'un organisme international ou public.

RÉFÉRENCES

1. Ngeh JT, Verpoorte R. A review of the medicinal potentials of plants of the genus *Vernonia* (*Asteraceae*). *J Ethnopharmacol.* 2013;146(3):681-723.
2. Bayaga HN, Guedje NM, Biye EH. Approche ethnobotanique et ethnopharmacologique des plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'ulcère de Buruli à Akonolinga (Cameroun). *Int J Biol Chem Sci.* 2017;11(4):1523-41.
3. Houndjrebo FS, Hounghin RA, Barogui YT, Sopoh GE, Diez G, PHYTOTHÉRAPIE JRC, et al. In: SOINS DES ULCÈRES CHRONIQUES DANS LES COMMUNES DE ZÈ ET OUIHI AU SUD DU BÉNIN. 2019.
4. Fonge B. A., Egbe EA, Fongod AGN, Focho DA, Tchetcha DJ, Nkembi L, et al. Ethnobotany survey and uses of plants in the Lewoh-Lebang communities in the Lebialem highlands, SouthWest Region, Cameroon. *J Med Plants Res [Internet].* 9 févr 2012 [cité 12 oct 2018];6(5). Disponible sur: <http://www.academicjournals.org/jmpr/abstracts/abstracts/abstracts2012/9Feb/Fong%20et%20al.htm>

5. *Vernonia conferta* Benth [Internet]. 2018. Disponible sur: <https://www.prota4u.org/database/protav8.asp?g=psk&p=Vernonia+conferta+Benth>.
6. Soppo Lobe CV. photos prises lors de la présente étude.
7. Harbonne JB. A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. 5e éd. London: Chapman and Hall Ltd; 1998. p. 72.
8. WHO. Manual for the laboratory identification and antimicrobial susceptibility testing of bacterial pathogens of public health importance in the developing world: *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoea*, *Salmonella serotype Typhi*, *Shigella*, and *Vibrio cholerae*. 2003.
9. Bashige VC, Bakari AS, Okusa PN, Kalonda EM, Lumbu JBS. Criblage phytochimique et activité antimicrobienne de six rhizomes comestibles utilisés en médecine traditionnelle à Lubumbashi (RDC). *Int J Biol Chem Sci.* 2020;14(4):1367-80.
10. Kuete V. Potential of Cameroonian Plants and Derived Products against Microbial Infections: A Review. *Planta Med* Oct. 2010;76(14):1479-91.
11. Carbone B, Denis F, Marmonier A, Pinon G, Vague R. Bactériologie Médicale: Techniques Usuelles. SIMEP Paris. 1987;228-82.
12. Gasting D, Mbah J, Garba I, Tane P, Djemgou P, Nji-Nkah B. An Antisalmonellal agent from the leaves of *Glossocalyx brevipes* Benth (Monimiaceae). *Pak J Biol Sci.* 2006;9(1):84-7.
13. Kamboj A, Saluja A. Isolation of Stigmasterol and β -Sitosterol from petroleum ether extract of aerial parts of *Ageratum conyzoides* (Asteraceae). *Int J Pharm Pharm Sci.* 3(1). 2011;94-6.
14. Mahato S, Kundu A. ¹³C NMR Spectra of pentacyclic triterpenoids - a compilation and some salient features. *Phytochemistry.* 1517;37(6).
15. Tangmouo J, Lontsi, Ngounou, Kuete V, Meli Lannang A, Manfouo. Diospyrone, a new coumarinyl binaphthoquinone from *Diospyros canaliculata* (Ebenaceae): Structure and antimicrobial activity. *Bulletin of Chemical Society of Ethiopia.* 19^e éd. 2005;81-8.
16. Mvondo Ozela IC, Mbopi PY, Bayaga HN, Fotsing PRK, Tchouani JJ, Ngoupayo J. Evaluation of the antibacterial activity on strains responsible for diarrhoea; antioxidant and cytotoxic activities in vitro of the leaves and trunk bark of *Vernonia conferta* Benth (Asteraceae). *GSC Biol Pharm Sci.* 2021;17(1):041-51.
17. Orabueze C, Adesegun S, Ota D, Coker H. In vivo antiplasmodial activities of four Nigerian plants used singly and in polyherbal combination against *Plasmodium berghei* infection. *Indian J Tradit Knowl Oct.* 2018;17(4):716-23.
18. Jepkorir Kiplimo J. A Review on the Biological Activity and the Triterpenoids from the Genus *Vernonia* (Asteraceae Family). *Int Res J Pure Appl Chem.* 2016;11(3):1-14.
19. Erasto P, Grierson DS, Afolayan AJ. Bioactive sesquiterpene lactones from the leaves of *Vernonia amygdalina*. *J Ethnopharmacol Juin.* 2006;106(1):117-20.
20. Umoh IJ, Eseyin OA, Ahmadu AA. Phytosterol from the leaves of *Vernonia conferta* Benth (Asteraceae). *Niger J Pharm Appl Sci Res.* 2016;5(3):16-7.
21. Diallo D, Sanogo R, Yasambou H, Traoré A, Coulibaly K, Maïga A. Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *Comptes Rendus Chim.* 2004;7(10):1073-80.
22. Aline Cristina Guimaraes, Leandra Martins Meireles, Mayara Fumiere Lemos. Antibacterial Activity of Terpenes and Terpenoids Present in Essential Oils. *Molecules.* 5 juill 2019;24(13):2471.
23. Kossivi Issa SALOUFOU, Pakoupati Bruno BOYODE, Oudjaniyobi SIMALOU, Kodjo ELOH. Identification de deux phytostérols biologiquement actifs de l'extrait cyclohexanique des feuilles de *Ficus* sur (Moraceae). *Int J Biol Chem Sci.* oct 2017;11(5):2510-20.