

## Etude du potentiel antimicrobien d'*Amaranthus spinosus* L. (Amaranthaceae) et de *Tridax procumbens* L. (Asteraceae), deux légumes-feuilles de la région maritime du Togo

### [ Study of the antimicrobial potential of *Amaranthus spinosus* L. (Amaranthaceae) and *Tridax procumbens* L. (Asteraceae), two leafy vegetables from the maritime region of Togo ]

Stephane Effoe<sup>1</sup>, Amégninou Agban<sup>1</sup>, Yao Hoekou<sup>1</sup>, Koku Amégbo Dakey<sup>2</sup>, Iwaba Kpabi<sup>1</sup>, Holaly Efui Gbekley<sup>1-2</sup>, Passimna Pissang<sup>1</sup>, and Tchadjobo Tchacondo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire des Sciences Biomédicales, Alimentaires et de Santé Environnementale (LaSBASE), Ecole Supérieure des Techniques Biologiques et Alimentaires (ESTBA), 1 BP 1515 Lomé 1, Université de Lomé, Togo

<sup>2</sup>Laboratoire de Microbiologie et de Contrôle de Qualité des Denrées Alimentaires (LAMICODA), Ecole Supérieure des Techniques Biologiques et Alimentaires (ESTBA), 1 BP 1515 Lomé 1, Université de Lomé, Togo

---

Copyright © 2020 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**ABSTRACT:** The objective of this study was to assess the antimicrobial properties of the extracts of two leafy vegetables *Amaranthus spinosus* and *Tridax procumbens* traditionally used in the maritime region of Togo for their therapeutic properties. The agar well diffusion and Mueller Hinton broth microdilution methods were used to estimate the antimicrobial potential of the hydroethanolic extracts of the leaves of these plants on six reference strains and nine clinical strains including three multi-resistant and extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing. Antimicrobial susceptibility tests have shown that these tested extracts variously inhibit the growth of the used strains. The extract of *T. procumbens* was the most active and inhibited the growth of all strains except *Candida albicans* 1581 with diameters of inhibition zones varying from 9 to 31 mm. The extract of *A. spinosus* inhibited the growth of 11 strains out of the 15 with inhibition zones diameters ranging from 7 to 17.5 mm. The minimum inhibitory concentrations varied from 0.39 to 3.12 mg/mL and the total activities from 42.43 to 339.48 mL/g. The extract of *T. procumbens*, which is very active on the strains used, could be used to search for new active molecules to fight against microbial infections. These results show that the hydroethanolic extracts of the leaves of the two plants have antimicrobial activities and support their traditional use in the treatment of microbial infections.

**KEYWORDS:** *Amaranthus spinosus*, *Tridax procumbens*, hydroethanolic extracts, antimicrobial effects, Togo.

**RESUME:** L'objectif de cette étude était d'évaluer les propriétés antimicrobiennes des extraits de deux légumes-feuilles *Amaranthus spinosus* et *Tridax procumbens* utilisés traditionnellement dans la région maritime du Togo pour leurs vertus thérapeutiques. Les méthodes de diffusion en milieu gélosé à partir des puits et de microdilution en bouillon Mueller Hinton ont permis d'estimer le potentiel antimicrobien des extraits hydroéthanoliques des feuilles de ces plantes sur six souches de référence et neuf souches cliniques dont trois multi-résistantes et productrices de bêta lactamase à spectre élargie (BLSE). Les tests antimicrobiens ont montré que ces extraits testés inhibent diversement la croissance des germes utilisés. L'extrait de *T. procumbens* a été le plus actif et a inhibé la croissance de toutes les souches à l'exception de *Candida albicans* 1581 avec des diamètres de zones d'inhibition variant de 9 à 31 mm. L'extrait de *A. spinosus* a inhibé la croissance de 11 souches sur les 15 avec des diamètres de zones d'inhibition allant de 7 à 17,5 mm. Les concentrations minimales inhibitrices ont varié de 0,39 à 3,12 mg/mL et les activités totales de 42,43 à 339,48 mL/g. L'extrait de *T. procumbens* très actif sur les souches utilisées pourrait

servir à la recherche de nouvelles molécules actives pour lutter contre les infections microbiennes. Ces résultats montrent que les extraits hydroéthanoliques des feuilles des deux plantes possèdent d'activités antimicrobiennes et soutiennent leur usage traditionnel dans le traitement des infections microbiennes.

**MOTS-CLEFS:** *Amaranthus spinosus*, *Tridax procumbens*, extraits hydroéthanoliques, effets antimicrobiens, Togo.

## 1 INTRODUCTION

Les microorganismes sont à la base de plusieurs maladies entraînant des prescriptions d'antibiotiques par la médecine conventionnelle [1]. Les médicaments prescrits sont en général, onéreux pour la majeure partie des populations contraintes à l'automédication [2]. Ces manquements et comportements conduisent à l'émergence de nouvelles souches microbiennes, résistantes aux antibiotiques [3-5]. Il est donc primordial de rechercher de nouvelles molécules bioactives peu onéreux, accessibles à tous et qui répondent aux cultures et habitudes alimentaires des populations.

Les légumes-feuilles traditionnelles occupent une place importante dans l'alimentation des populations de l'Afrique subsaharienne. Ils contribuent à l'amélioration de l'état nutritionnel des populations aussi bien dans les zones rurales que dans les zones urbaines [6, 7]. Au Togo, la flore médicinale regorge plusieurs espèces végétales sauvages en particulier les légumes-feuilles. Ils sont utilisés traditionnellement, certains pour leur importance nutritionnelle [8] et d'autres pour leurs propriétés à prévenir ou soigner certaines pathologies [9, 10].

Ces espèces végétales sont pour la plupart négligées ou menacées de disparition à cause de divers facteurs écologiques et sociales [11]. Parmi ces espèces sous-exploitées, deux légumes-feuilles *Amaranthus spinosus* L. et *Tridax procumbens* L. sont utilisés traditionnellement dans la région maritime du Togo pour leurs vertus thérapeutiques. Peu de travaux ont été effectués sur ces deux espèces [8, 12]. De plus, plusieurs aspects n'ont pas été pris en compte.

Cette étude se propose donc de valoriser ces deux espèces, tout en recherchant leur potentiel médicinal. Ceci permettra de répondre au besoin de la population en terme de produits alimentaires et thérapeutiques (aliments) disponibles et accessibles.

L'objectif de ce travail est d'évaluer les potentialités antimicrobiennes des extraits hydro-éthanoliques des feuilles de *Amaranthus spinosus* et de *Tridax procumbens* sur des germes souvent impliqués en pathologie humaine.

## 2 MATERIEL ET METHODES

### 2.1 MATÉRIEL VÉGÉTAL

Les feuilles fraîches des deux espèces végétales: *A. spinosus* et *T. procumbens*, ont été récoltées respectivement à Lomé et à Afagnagan dans la région maritime du Togo. L'identification des plantes a été faite au laboratoire de botanique de la Faculté des Sciences de l'Université de Lomé. Les feuilles ont été ensuite lavées à l'eau de robinet puis séchées au laboratoire sous climatisation pendant une semaine. Elles ont été ensuite réduites séparément en poudres fines à l'aide d'un moulin électrique de marque THOMAS-Wiley, Model 4, Thomas scientific USA et conditionnées dans des flacons en verre teinté à l'abri de l'humidité et de la lumière.

### 2.2 SOUCHES MICROBIENNES

Les souches microbiennes ont été obtenues à l'Institut National d'Hygiène (INH) et au Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Sylvanus Olympio de Lomé. Il s'agit de six souches de référence et de neuf souches cliniques dont trois sont multi-résistantes et productrices de Bêta lactamase à spectre élargie (BLSE). Les souches de référence: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Shigella flexneri* ATCC 12022 et *Candida albicans* ATCC 10231 sont des souches recommandées par le « National Committee for Clinical Laboratory Standards » (NCCLS) pour les études de sensibilité. Les souches cliniques sont *Escherichia coli* 0792 (isolée des urines), *Staphylococcus aureus* 1230 et *Pseudomonas aeruginosa* 0561 (isolées des pus), *Salmonella typhi* 815 et *Shigella flexneri* 0141 (isolée des selles) et *Candida albicans* 1581 (isolé des sécrétions vaginales). Pour les souches multi-résistantes et productrices de bêta lactamase à spectre élargie, il s'agit de *Escherichia coli* 15, *Klebsiella ozaenae* 44 et *Proteus vulgaris* 41.

## 2.3 MÉTHODES

### 2.3.1 EXTRACTION HYDRO-ALCOOLIQUE

Une masse de 100 g de la poudre obtenue de chaque plante a été macérée dans 1 litre de mélange éthanol/eau dans une proportion 70/30 (v/v). Le tout est agité pendant 24 heures à la température ambiante à l'aide d'un agitateur magnétique IKA-COMBIMAG de type REO. Le macérât a ensuite été filtré à l'aide d'un papier Whatman n°1 et le filtrat obtenu a été évaporé sous vide à 40°C et à pression réduite entre 999-1000 mb à l'aide d'un évaporateur rotatif de type Büchi R-100. Les extraits secs obtenus ont été conservés à +4° au réfrigérateur jusqu'à utilisation [13], pour les tests antimicrobiens et phytochimiques. Le rendement d'extraction a été calculé par rapport à la masse du matériel végétal sec [14] par la formule suivante:

$$R (\%) = \frac{Me \times 100}{Mv}$$

Avec R (%) = Rendement de l'extraction en pourcentage, Me = Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant, Mv = Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction.

### 2.3.2 TESTS DE SENSIBILITÉ

Les tests de sensibilité ont été réalisés sur gélose Mueller Hinton pour les bactéries et sur gélose Sabouraud Chloramphénicol pour les levures suivant les travaux antérieurs de Hoekou et al, [15]. Les microorganismes issus d'une culture de 18 à 24 heures incubés à 37°C ont été suspendus dans de l'eau physiologique à une turbidité correspondante au Mac Farland 0.5 (approximativement 10<sup>8</sup> cellules/mL). Cette suspension a été utilisée pour ensemercer des boîtes de Pétri par écouvillonnage. Les extraits ont été dissouts dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) et dilués avec de l'eau distillée stérile à une concentration finale de 1% de DMSO. Des puits de 6 mm de diamètre ont été faits dans la gélose et ces puits ont été ensuite inoculés avec 50 µL d'extraits à la concentration de 200 mg/mL. La gentamicine pour les bactéries et la nystatine pour les levures; et le DMSO à 1% dans de l'eau distillée stérile ont été utilisés respectivement comme contrôles positifs et négatif. Les boîtes ont été ensuite laissées à la température ambiante pendant 1 heure pour la prédiffusion puis incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures. L'activité antimicrobienne a été estimée par la mesure à la règle graduée, du diamètre de la zone d'inhibition autour des puits.

### 2.3.3 DETERMINATION DES CONCENTRATIONS MINIMALES INHIBITRICE (CMI), BACTERICIDE (CMB), FONGICIDE (CMF) ET DE L'ACTIVITE TOTALE DES EXTRAITS

Les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) ont été déterminées en utilisant la technique de microdilution avec du bouillon Mueller Hinton pour les bactéries et du bouillon Sabouraud Chloramphénicol pour les levures [16]. Les suspensions microbiennes ont été diluées au 1/100 avec du bouillon et distribuées dans des tubes à hémolyse contenant une gamme de concentrations d'extraits hydro-éthanoliques allant de 100 à 0,19 mg/mL pour chaque extrait. Les inocula déterminés par le comptage des colonies à partir des tubes témoins sans extraits ont été approximativement de 10<sup>5</sup> UFC/mL. Les tubes ont été incubés à 37°C pendant 24 heures. La CMI, déterminée à l'œil nu, a été définie comme la concentration minimale d'extrait pour laquelle on n'observe pas de croissance visible à l'œil nu.

L'activité totale (AT) de l'extrait a été déterminée suivant les travaux d'Eloff [17], reprise par Hoekou et al [15]. L'activité totale est obtenue en divisant la masse totale en mg, extraite d'un gramme de poudre d'organes de plante, par la concentration minimale inhibitrice (en mg/mL). L'activité totale s'exprime en mL/g et indique le volume auquel l'extrait de 1 g de poudre d'organes de plante peut être dissout tout en gardant son activité inhibitrice.

### 2.3.4 ANALYSE DES DONNÉES

Les données ont été saisies dans Excel 2013. Les diamètres des zones d'inhibition ont été présentés sous forme de diamètres moyens ± écart-type standard.

### 3 RESULTATS ET DISCUSSION

#### 3.1 RENDEMENTS D'EXTRACTION

Le rendement d'extraction hydroéthanolique des feuilles de *A. spinosus* est de 15,03% et de 13,24% pour l'extrait des feuilles de *T. procumbens* (Tableau 1).

Tableau 1. Rendement des extraits

Organe utilisé	Rendement (%)	
	<i>A. spinosus</i>	<i>T. procumbens</i>
Feuilles	15,03	13,24

L'eau et l'éthanol sont classés comme des solvants à polarité élevée. Le mélange des deux solvants à la proportion 30/70 respectivement permet d'obtenir la majorité de composés chimiques. Le calcul des rendements permet d'apprécier les extraits totaux qu'on peut tirer de chaque espèce.

#### 3.2 ACTIVITÉS ANTIMICROBIENNES

Les diamètres des zones d'inhibition (en mm) des extraits testés sont présentés au tableau 2.

Le screening antimicrobien des extraits hydroéthanoliques des 2 plantes a été effectué sur 6 souches de référence, 9 souches cliniques dont 3 multi-résistantes productrices de bêta lactamases à spectre élargie (BLSE). Les extraits de plantes testés ont de façon variée inhibé la croissance des souches utilisées sauf quelques exceptions. L'extrait des feuilles de *A. spinosus* a été inactif sur la croissance des souches de *P. aeruginosa* 0561, *C. albicans* 1581, *K. ozaenae* BLSE 44 et *P. vulgaris* BLSE 41 alors que l'extrait de *T. procumbens* n'a été inactif que sur la souche de *C. albicans* 1581. Les diamètres des zones d'inhibition ont varié de 7 à 17,5 mm pour l'extrait de *A. spinosus* et de 9 à 31 mm pour l'extrait de *T. procumbens*. La gentamicine utilisée comme drogue de référence pour la sensibilité des bactéries et la nystatine comme drogue de référence pour la sensibilité des levures, ont inhibé la croissance de toutes les souches testées à l'exception des souches BLSE qui ont été résistantes à la gentamicine. Le mélange eau distillée stérile et DMSO utilisé comme témoins négatifs a été inactif sur toutes les souches testées.

Tableau 2. Diamètres des zones d'inhibition (en mm) des extraits testés

Souches	Diamètres de zones d'inhibition (mm)				
	<i>A. spinosus</i>	<i>T. procumbens</i>	Gentamicine	Nystatine	DMSO
<i>E. coli</i> ATCC 25922	10,5±0,71	15,50±0,71	14,00±1,41	NT	0,00
<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	10,00±1,41	13,50±0,71	15,50±0,71	NT	0,00
<i>S. flexneri</i> ATCC 12022	9,00±1,41	12,50±0,71	14,50±0,71	NT	0,00
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	14,00±1,41	13,00±0,00	16,50±0,71	NT	0,00
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	17,00±2,83	31,00±2,83	20,50±0,71	NT	0,00
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	8,00±1,41	11,00±0,00	NT	17,50±0,71	0,00
<i>E. coli</i> 0792	14,00±1,41	12,50±0,71	13,00±0,00	NT	0,00
<i>S. typhi</i> 815	8,00±1,41	9,00±1,41	14,50±0,71	NT	0,00
<i>S. flexneri</i> 0141	7,00±0,00	15,00±1,41	14,00±1,41	NT	0,00
<i>P. aeruginosa</i> 0561	0,00	9,50±2,12	13,50±0,71	NT	0,00
<i>S. aureus</i> 1230	17,50±0,71	30,50±0,71	20,00±2,83	NT	0,00
<i>C. albicans</i> 1581	0,00	0,00	NT	16,50±0,71	0,00
<i>E. coli</i> BLSE 15	13,00±2,83	11,50±0,71	0,00	NT	0,00
<i>K. ozaenae</i> BLSE 44	0,00	11,00±0,00	0,00	NT	0,00
<i>P. vulgaris</i> BLSE 41	0,00	10,00±1,41	8,00±1,41	NT	0,00

NT: non testé

L'activité antimicrobienne des extraits a été évaluée en se référant à l'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne selon les travaux antérieurs de Ponce *et al* [18]. Ainsi, une souche est considérée comme extrêmement sensible lorsque le diamètre de zone d'inhibition de l'extrait est supérieur à 20 mm, très sensible lorsque ce diamètre se situe entre 15 à 19 mm, sensible pour 9 à 14 mm et non sensible lorsque le diamètre est inférieur à 9 mm. Eu égard à cette échelle, les souches *C. albicans* ATCC 10231, *S. typhi* 815, *S. flexneri* 0141, *P. aeruginosa* 0561, *C. albicans* 1581, *K. ozaenae* BLSE 44 et *P. vulgaris* BLSE 41 ne sont pas sensibles à l'extrait de feuilles de *A. spinosus* alors qu'avec l'extrait de feuilles de *T. procumbens*, seule la souche *C. albicans* 1581 a été non sensible. Les souches de *S. aureus* étudiées ont été plus sensibles à l'extrait de *T. procumbens* qu'à la drogue de référence. De plus, les souches BLSE étudiées ont été sensibles aux extraits testés excepté *K. ozaenae* BLSE 44 et *P. vulgaris* BLSE 41, qui sont résistantes à l'extrait de *A. spinosus* alors que ces souches sont résistantes à la gentamicine. Les souches de *C. albicans* utilisées ont été résistantes aux extraits excepté *C. albicans* ATCC 10231 qui a été sensible à l'extrait de *T. procumbens*.

Les souches sensibles aux extraits ont fait l'objet de la détermination des concentrations minimales inhibitrices dont les résultats sont présentés au tableau 3.

**Tableau 3. Concentrations minimales inhibitrices (en mg/mL) et activités totales des extraits testés (en mL/g)**

Souches	<i>A. spinosus</i>		<i>T. procumbens</i>	
	CMI (mg/mL)	AT (mL/g)	CMI (mg/mL)	AT (mL/g)
<i>E. coli</i> ATCC 25922	3,12	48,17	0,78	169,74
<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	3,12	48,17	1,56	84,87
<i>S. flexneri</i> ATCC 12022	3,12	48,17	3,12	42,43
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	1,56	96,34	1,56	84,87
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,78	192,69	0,39	339,48
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	ND	ND	3,12	42,43
<i>E. coli</i> 0792	1,56	96,34	1,56	84,87
<i>S. typhi</i> 815	ND	ND	3,12	42,43
<i>S. flexneri</i> 0141	ND	ND	1,56	84,87
<i>P. aeruginosa</i> 0561	ND	ND	3,12	42,43
<i>S. aureus</i> 1230	0,78	192,69	0,39	339,48
<i>C. albicans</i> 1581	ND	ND	ND	ND
<i>E. coli</i> BLSE 15	3,12	48,17	3,12	42,43
<i>K. ozaenae</i> BLSE 44	ND	ND	3,12	42,43
<i>P. vulgaris</i> BLSE 41	ND	ND	3,12	42,43

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice, AT: Activité Totale, ND: Non Déterminée

Les concentrations minimales inhibitrices ont varié de 0,78 à 3,12 mg/mL pour l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *A. spinosus* et de 0,39 à 3,12 mg/mL pour l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *T. procumbens*. La meilleure CMI (0,39 mg/mL) a été obtenue pour l'extrait de *T. procumbens* sur la croissance des souches de *S. aureus*. Les activités totales calculées sont de 48,17 à 192,69 mL/g pour l'extrait de *A. spinosus* et de 42,43 à 339,48 mL/g pour *T. procumbens*. L'activité totale la plus élevée est de 339,48 mL/g obtenue avec l'extrait de feuilles de *T. procumbens* sur la croissance des souches de *S. aureus*. Cette valeur montre que l'extrait de 1 g de poudre de feuilles de *T. procumbens* peut être dissout à 339,48 mL tout en ayant les mêmes effets antimicrobiens sur les souches de *S. aureus*.

D'autres études antérieures ont prouvé *in vitro* le pouvoir antimicrobien de *T. procumbens* [12, 19, 20]. Pai *et al* [20]. ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits à l'acétate d'éthyle de cette plante en obtenant des diamètres de zones d'inhibition de 15, 13 et 13 mm respectivement sur les souches de *S. aureus*, *S. typhi* et *Bacillus cereus*. L'activité de *T. procumbens* pourrait s'expliquer par la présence d'alcaloïdes, de tanins, de saponines et de flavonoïdes dont la présence a déjà été signalée. Les flavonoïdes sont connus pour être synthétisés par les plantes en réponse à une infection microbienne. Les tanins ont été rapportés pour leurs activités antimicrobiennes car, ils précipitent les protéines microbiennes, inhibant ainsi leur croissance [21]. *Tridax procumbens* possède également une activité anti-inflammatoire, hépatoprotectrice, cicatrisante et antidiabétique [19].

Sheeba et al [22]. ont obtenu avec les écorces de tiges de *A. spinosus*, un diamètre de la zone d'inhibition de 14 mm pour *E. coli* et 13 mm pour *P. aeruginosa* à des doses de 4,7 mg/disque et 3,8 mg/disque respectivement, en utilisant la méthode des disques imprégnés. L'extrait aqueux des fleurs de *A. spinosus* a inhibé la croissance de *S. aureus* (10 mm). D'autres auteurs ont également confirmé l'activité antimicrobienne de la plante [23, 24] mais son effet inhibiteur sur les souches de *S. typhimurium*, *S. flexneri* et de *C. albicans* n'a pas encore été étudié. D'autres propriétés pharmacologiques ont également été démontrées pour la plante telles que les activités antidiabétique et anticholestérolémique [25], antidiarrhéique et antiulcéreuse [26], antifertilité [27], antiplasmodiale [28], antioxydante et antipyrétique [29].

#### **4 CONCLUSION**

Cette étude a permis d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de *A. spinosus* et de *T. procumbens*, deux légumes-feuilles consommés dans la région maritime du Togo. Les extraits hydroéthanoliques de ces plantes inhibent la croissance des souches utilisées. Ces résultats démontrent le potentiel antimicrobien de *A. spinosus* et de *T. procumbens*, et supportent ainsi leurs utilisations dans le traitement traditionnel des infections microbiennes. Toutefois, des études phytochimique et toxicologique sont nécessaires afin de déterminer la nature des composés actifs et de prouver l'innocuité de ces plantes.

#### **REFERENCES**

- [1] N. Guessennd, V. Gbonon, K. Tiékoura, A. Kakou-N'douba, D. Ouattara, C. Boni-Cissé, M. Dosso, "Evolution de la résistance bactérienne à l'imipénème en Côte d'Ivoire de 2005 à 2009". Colloque scientifique de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire: pathologies émergentes et biologie intégrative, 2009.
- [2] N. Dash, B. Abuhalmeh, R. Aboukhater, S. Amira, "Misuse of antibiotics among social media users". GSTF Journal of Nursing and Health Care, vol. 5, no. 1, pp. 1-4, 2017.
- [3] A. D. J. Sosa, C. F. Amábile-Cuevas, D. K. Byarugaba, P.-R. Hsueh, S. Kariuki, I. N. Okeke, "Antimicrobial resistance in developing countries". Springer, 2010.
- [4] WHO, Antibiotic resistance: Multi-country public awareness survey. World Health Organization. Geneva, 2015.
- [5] R. C. Founou, L. L. Founou, S. Y. Essack, "Clinical and economic impact of antibiotic resistance in developing countries: A systematic review and meta-analysis". Plos One, vol. 12, no. 12, 2017.
- [6] W. J. Van Rensburg, S. Venter, T. Netshiluvhi, E. Van Den Heever, H. Vorster, J. De Ronde, C. Bornman, "Role of indigenous leafy vegetables in combating hunger and malnutrition", South African Journal of Botany, vol. 70, no. 1, pp. 52-59, 2004.
- [7] A. Dansi, A. Adjatin, R. Vodouhè, K. Adéoti, H. Adoukonou-Sagbadja, V. Faladé, H. Yédomonhan, A. Akoégninou, K. Akpagana, Biodiversité des Légumes Feuilles Traditionnels Consommés au Bénin. Bibliothèque Nationale du Bénin: Benin, 2008.
- [8] K. Batawila, S. Akpavi, K. Wala, M. Kanda, R. Vodouhe, K. Akpagana, "Diversité et gestion des légumes de cueillette au Togo". African Journal of Food, Agriculture, Nutrition And Development, vol. 7, no. 3-4, 2007.
- [9] A. Adjatin, Contribution à l'étude de la diversité des légumes feuilles traditionnels consommés dans le département de l'Atacora au Togo, Memoire online, Diplôme d'études approfondies, Université de Lomé (Togo), 2006.
- [10] H. E. Gbekley, S. D. Karou, C. Gnoula, K. Agbodeka, K. Anani, T. Tchacondo, A. Agbonon, K. Batawila, J. Simpure, "Étude ethnobotanique des plantes utilisées dans le traitement du diabète dans la médecine traditionnelle de la région Maritime du Togo". Pan African Medical Journal, vol. 20, pp. 437, 2015.
- [11] A. Kébenzikato, S. Akpavi, K. Batawila, K. Wala, M. Dourma, K. Kossi-Titrikou, K. Amouzou, I. Butare, H. Dantsey-Barry, K. Akpagana, "Contribution à l'étude des plantes alimentaires mineures dans la préfecture de Dankpen (Togo)". Journal de la Recherche Scientifique de l'Université de Lomé, vol. 8, no. 1, 2006.
- [12] A. Agban, K. A. Gbogbo, E. K. Amana, Tegueni K., K. Batawila, K. Koumaglo, K. Akpagana, "Évaluation des activités antimicrobiennes de *Tridax procumbens* (asteraceae), *Jatropha multifida* (euphorbiaceae) et de *Chromolaena odorata* (Asteraceae)". European Scientific Journal, vol. 9, no. 36, pp. 278-290, 2013.
- [13] A. H. Abu, C. N. Uchendu, "Safety assessment of aqueous ethanolic extract of *Hymenocardia acida* stems bark in wistar rats". Archives of Applied Science Research, vol. 2, pp. 56-68, 2010.
- [14] B. Loubaki, A. Ouattara, C. Ouattara, R. O. Traore, A. Traore, "Activités antimicrobiennes des extraits aqueux totaux de *Detarium microcarpum* [Cesalpiniaceae (Guill et Perr)] sur huit espèces bactériennes impliquées dans certaines maladies infectieuses au Burkina Faso". Sciences et Médecine, Rév. Cames-Série A, vol. 1, pp. 66-73, 1999.
- [15] Y.P. Hoekou, T. Tchacondo, K. A. Gbogbo, A. Agban, P. Pissang, W. Atakpama, D. S. Karou, K. Batawila, K. Akpagana, "Activités antimicrobiennes de *Parquetina nigrescens* (Afzel.) Bullock, une plante utilisée en médecine traditionnelle togolaise dans le traitement des infections microbiennes". Afrique Science, vol. 12, no. 5, pp. 182-188, 2016.

- [16] NCCLS, "Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard". Sixth edition. Wayne, PA: NCCLS. NCCLS document no. M07-A6, 2003.
- [17] J. N. Eloff, "On expressing the antibacterial activity of plant extracts - A small first step in applying scientific knowledge to rural primary health care", *South African Journal of Sciences*, vol. 96, no. 3, pp. 116-118, 2000.
- [18] A. G. Ponce, R. Fritz, C. E. Del Valle, S. I. Roura, "Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard". *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, vol. 36, pp. 679-684, 2003.
- [19] S. Mundada, and R. Shivhare, "Pharmacology of Tridax procumbens a weed". *International Journal of Pharmacology and Technical Research*, vol. 2, no. 2, pp. 1391-1394, 2010.
- [20] C. Pai, U. Kulkarni, M. Borde, S. Murali, P. Mrudula, Y. Deshmukh, "Antibacterial activity of Tridax procumbens with special reference to nosocomial pathogens". *British Journal of Pharmaceutical Research*, vol. 1, no. 4, pp. 164-173, 2011.
- [21] R. Dhanabalan, A. Doss, M. Jagadeeswari, S. Balachandar, E. Kezia, V. Parivuguna, C.M. Reena Josephine, R. Vaidheki, K. Kalamani, "In vitro Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of Aqueous and Methanolic Leaf Extracts of Tridax procumbens against Bovine Mastitis Isolated Staphylococcus aureus". *Ethnobotanical Leaflets*, vol. 12, pp. 1090-95, 2008.
- [22] A. M. Sheeba, S. R. Deepthi and I. Mini, Evaluation of Antimicrobial Potential of an Invasive Weed *Amaranthus spinosus* L. *Prospects in Bioscience*, pp. 117-123, 2013.
- [23] Z. C. Maiyo, R. M. Ngure, J. C. Nigure, C. Matasyoh and R. Chepkoru, Phytochemical constituents and antimicrobial activity of leaf extracts of three amaranthus plant species. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 9, no. 21, pp. 3178-3182, 2010.
- [24] M.U. Nduche, C.D. Iwuoha, A.U. Igbokwe, Antibacterial Activity of Four Nigerian Medicinal Plants. *Scholars Journal of Agriculture and Veterinary Sciences*, vol. 3, no. 3, pp. 172-180, 2016.
- [25] K. Girija, K. Lakshman, U. Chandrika, S. S. Ghosh, T. Divya, "Anti-diabetic and anti-cholesterolemic activity of methanol extracts of three species of *Amaranthus*", *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, vol. 1, no. 1, pp. 133-138, 2011.
- [26] Z. Hussain, G. Amresh, S. Singh, and C. Venkateswara Rao, "Antidiarrheal and antiulcer activity of *Amaranthus spinosus* in experimental animals". *Pharmaceutical Biology*, vol. 47, no. 10, pp. 932-939, 2009.
- [27] D. Jhade, D. Ahirwar, N. K. Sharma, B. Hatwar, S. Gupta, V. K. Jain, "Antifertility activity of ethanolic and aqueous root extract of *Amaranthus spinosus* Linn. in rats," *Pharmacologyonline*, vol. 2, no. 1, pp. 959-967, 2011.
- [28] A. Hilou, O.G. Nacoulma, T.R. Guiguemde, "In vivo antimalarial activities of extracts from *Amaranthus spinosus* L. and *Boerhaavia erecta* L. in mice," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 103, no. 1, pp. 236-240, 2006.
- [29] B. S. A. Kumar, K. Lakshman, K. N. Jayaveera, D. S. Shekar, A. A. Kumar, B. Manoj, "Antioxidant and antipyretic properties of methanolic extract of *Amaranthus spinosus* leaves," *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, pp. 702-706, 2010.