

EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DE *MOMORDICA CHARANTIA* (CUCURBITACEAE), *PSIDIUM GUAJAVA* (MYRTACEAE) ET *PTELEOPSIS SUBEROSA* (COMBRETACEAE)

Koffi Apeti Gbogbo

Laboratoire de Botanique et Ecologie Végétale, Université de Lomé, Togo

Amégninou Agban

Laboratoire de Microbiologie de l'ESTBA, Université de Lomé, Togo.

Yawo Agbelessessi Woegan

Eyana Kpemissi Amana

Laboratoire de Botanique et Ecologie Végétale, Université de Lomé, Togo

Patrick Yao Hoekou

Laboratoire de Microbiologie de l'ESTBA, Université de Lomé, Togo.

Komlan Batawila

Laboratoire de Botanique et Ecologie Végétale, Université de Lomé, Togo

Kossi Koumaglo

Laboratoire des Extraits Végétaux et Aromes Naturels, Université de Lomé, Togo

Koffi Akpagana

Laboratoire de Botanique et Ecologie Végétale, Université de Lomé, Togo

Abstract

Three plants [*Momordica charantia* (Cucurbitaceae); *Psidium guajava* (Myrtaceae) and *Pteleopsis suberosa* (Combretaceae)] used in traditional medicine in the management of common infections in Togo were assessed for their antimicrobial properties. To do this, the extracts of the three plants obtained by column chromatography were tested by the method of dilution in liquid medium coupled with the spreading on solid medium. A basic phytochemical analysis of these extracts has highlighted the major chemical compound. The results show that the aqueous extracts of leaves of *Momordica charantia* were most active against bacteria (*Escherichia coli*, *Salmonella sp.* and *Staphylococcus aureus*) with percentage of inhibition of 92.64, 91.86 and 93.57% respectively. The aqueous extract of stem bark of *Pteleopsis suberosa* was the most active against the yeast *Candida albicans* with percentage of inhibition of 80.74%. The presence of alkaloids, flavonoids and tannins disclosed in these plant extracts would be the cause of

the antimicrobial activities observed. These results validate the use of these plants in the treatment of diseases caused by microorganisms tested.

Keywords: *Momordica charantia*, *Psidium guajava*, *Pteleopsis suberosa*, Antimicrobial activity, Togo

Résumé

Trois plantes [*Momordica charantia* (Cucurbitaceae); *Psidium guajava* (Myrtaceae) et *Pteleopsis suberosa* (Combretaceae)] utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement des infections les plus courantes au Togo ont été évaluées pour leurs propriétés antimicrobiennes. Pour ce faire, les extraits de ces trois plantes obtenus par chromatographie sur colonne ont été testés par la méthode de dilution en milieu liquide couplée à l'étalement sur milieu solide. Une analyse phytochimique sommaire de ces différents extraits a permis de mettre en évidence les grands groupes chimiques. Les résultats montrent que les extraits aqueux de feuilles de *Momordica charantia* ont été plus actifs sur les bactéries (*Escherichia coli*, *Salmonella sp.* et *Staphylococcus aureus*) avec des pourcentages d'inhibitions de 92.64, 91.86 et 93.57% respectivement. L'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Pteleopsis suberosa* a été le plus actif sur la levure (*C. albicans*) avec un pourcentage d'inhibition de 80,74%. La présence d'alcaloïdes, flavonoïdes et des tanins révélée dans ces différents extraits de plantes serait à l'origine des activités antimicrobiennes observées. Ces résultats permettent de valider l'utilisation de ces plantes dans le traitement des maladies dues aux microorganismes testés.

Mots clés: *Momordica charantia*, *Psidium guajava*, *Pteleopsis suberosa*, Activités antimicrobiennes, Togo

Introduction

Face au problème posé par les résistances des microorganismes aux antibiotiques classiques, il y a un besoin impérieux de renouvellement constant des principes actifs (Mwambete, 2009). Ces molécules recherchées doivent posséder diverses autres propriétés chimiques et utiliser de nouveaux mécanismes d'action contre ces microbes pathogènes (Mada et al., 2013). Les plantes médicinales restent la source la plus importante de molécules entrant dans la composition des médicaments pharmaceutiques (Marin et Chrestin, 2007). Il devient donc logique de continuer ou même d'intensifier la recherche dans cette direction sachant que les plantes restent une source quasi inépuisable de biomolécules. La rationalité industrielle trouve dans cette démarche une base d'innovation pour la mise au point de médicaments nouveaux qui peut être source de gain de temps dans les processus de

recherche et développement (Chominot, 2000). En plus actuellement une attention particulière est portée vers les médicaments et produits d'origine naturelle (Biswas et al., 2013).

En Afrique, près de 80 % des malades n'ont recours pour se soigner qu'aux tradipraticiens, faute de médicaments et parfois de médecins dans les villages (Pousset, 1989, OMS 2002). Ces tradipraticiens sont détenteurs d'une quantité impressionnante de recettes fondées sur les plantes qu'on peut utiliser comme base pour des screenings. C'est dans cette optique que plusieurs travaux ont été menés au Togo pour valider l'utilisation de diverses plantes dans le traitement traditionnel d'affections microbiennes courantes (Hoekou et al., 2012 ; Gbogbo et al., 2013 ; Tittikpina et al., 2013). Suite à une enquête ethnobotanique dans la région des plateaux au Togo, on a relevé l'utilisation de plantes de plusieurs espèces dont *Momordica charantia*, *Psidium guajava* et *Pteleopsis suberosa* dans des affections susceptibles d'être d'origine microbienne (Amadou, 2009). Il s'agit de l'utilisation de macérat de feuilles et tigelles de *Momordica charantia* en bain et par voie orale chez les personnes atteintes de varicelle ou d'autres affections de la peau. On a noté aussi l'utilisation de décoctés de feuilles de *Psidium guajava* pour traiter les douleurs abdominales, les diarrhées et les mycoses digestives. Dans le cas de *Pteleopsis suberosa*, on utilise généralement dans cette zone, le décocté des écorces pour traiter les mycoses digestives et les douleurs abdominales. Les observations de cette enquête sont corroborés par divers auteurs dans d'autres régions (Adjanohoun et al., 1987, Agody, 2006, Ekoumou, 2003, Taylor 2007, Biswas et al., 2013)

Il est donc utile d'évaluer les activités antimicrobiennes de ces plantes afin d'améliorer les recettes des tradithérapeutes, et arriver à la production de médicaments traditionnels améliorés, standardisés à des coûts accessibles aux populations. Cette étude a donc pour objectif d'apporter une contribution à la valorisation des plantes médicinales. Elle vise à évaluer l'activité antimicrobienne des extraits des trois plantes sur *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*, des germes qui sont souvent impliqués dans les affections traitées par la pharmacopée traditionnelle en utilisant ces plantes. Ces plantes sont parfois utilisées dans certaines régions à la fois comme aliment et médicaments. C'est le cas de *M. charantia* et de *P. guajava*, en Inde, Asie, Amérique du sud et en Afrique (Ananya et Sarmistha, 2010 ; Leelaprakash et al., 2011 ; De Abreu, 2012)

Materiel Et Methodes

Matériel

Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des écorces et des feuilles, de *Momordica charantia* (*Cucurbitaceae*), *Psidium guajava* (*Myrtaceae*) et

Pteleopsis suberosa (Combretaceae) collectées à Kolocopé dans la région des Plateaux au Togo. Les plantes ont été identifiées au Laboratoire de Biologie et Ecologie Végétale de l'Université de Lomé (Togo). Ces organes sont séchés à l'air ambiant ($\pm 28^{\circ}\text{C}$) et l'abri de la lumière.

Microorganismes

Il s'agit de quatre souches dont trois bactéries (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp*) et une levure (*Candida albicans*). *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.* ont été isolés respectivement des urines, des pus et des selles. *Staphylococcus aureus* et *Salmonella sp.* proviennent du laboratoire de l'Institut National d'Hygiène (INH) de Lomé. *Escherichia coli* provient du laboratoire de bactériologie du Centre Hospitalier Universitaire de Tokoin (CHU-Tokoin) de Lomé. *Candida albicans* a été isolé d'un prélèvement vaginal au laboratoire de bactériologie du CHU-Tokoin de Lomé.

Méthodes

Tests antimicrobiens

Extraction

C'est une extraction par épuisement de solvants de polarité croissante. Ceci a pour but de séparer les composés en fonction de leur polarité. Le système de solvant : acétone, acétone-acétate d'éthyle et acétate d'éthyle sert à éliminer rapidement la chlorophylle (10 à 15 minutes de contact). Le système suivant : acétate d'éthyle - chloroforme, chloroforme, chloroforme-éthanol, éthanol, éthanol-eau, eau sert à séparer les composés de plus en plus polaires en diverses fractions (Taleb-contini et al., 2003, Agban et al., 2012). Chaque extrait obtenu est évaporée au Rotavapor® pour obtenir des extraits solides.

Tests antimicrobiens

Une colonie de 24 heures est prélevée à l'aide d'une anse stérile. Elle a servi à ensemencer 10 ml de bouillon Sabouraud ou 10 ml de bouillon Mueller Hinton. Des dilutions successives de ces bouillons ont été réalisées afin d'avoir la suspension microbienne qui va servir à la réalisation des tests. Les extraits aqueux, éthanoliques et chloroformiques des organes des trois plantes ont servi à préparer des solutions dont la concentration lors du test correspond à 25 mg.ml⁻¹. Ces extraits ont été stérilisés par filtration sur membrane millipore 0,22 μm . La stérilité des solutions d'extraits a été vérifiée en ensemencant des aliquotes de chaque solution sur les géloses : Mueller Hinton incubée à 37 °C pendant 24 heures pour les bactéries et Sabouraud Chloramphénicol incubée à 30°C pendant 48 heures pour la levure.

Pour la réalisation des tests antimicrobiens, la méthode de dilution en milieu liquide couplée à l'étalement sur milieux gélosés a été utilisée comme décrite par de Souza et al. (1993) et reprise par Hoekou et al. (2012). Le test consiste à utiliser une seule concentration des extraits pour identifier les extraits actifs. L'essai a été constitué en introduisant dans un tube à hémolyse stérile, 0,5 ml de l'extrait à tester et 10 µl de la suspension microbienne. Dans le tube témoin, l'extrait a été substitué par 0,5 ml de bouillon Sabouraud ou MH stérile. Les drogues de référence utilisées dans les mêmes conditions sont la nystatine (10 µg.ml⁻¹) pour la levure et la gentamicine (0,015 mg.ml⁻¹) pour les bactéries. Les tubes ainsi constitués sont incubés à 30 °C pour la levure et 37 °C pour les bactéries pendant 24 ou 48 heures puis les essais et les témoins sont étalés sur milieu gélosé Sabouraud Chloramphénicol pour la levure et Mueller Hinton pour les bactéries à raison de trois boîtes par tube. Les boîtes de pétri sont ensuite incubées à la température appropriée pendant 24 ou 48 heures. Les colonies sont alors comptées sur chaque boîte et les pourcentages d'inhibition sont calculés par rapport au témoin négatif selon la formule : **$PI = 100 (1 - \frac{x}{y})$**

PI : Pourcentage d'inhibition. ; **X** : nombre de colonies du germe dénombré sur la boîte test ; **Y** : nombre de colonies du germe dénombré sur la boîte témoin.

Etude phytochimique

La recherche des grands groupes chimiques dans les extraits végétaux est faite par une analyse phytochimique qualitative sommaire à partir des tests de coloration suivant Harbone (1973). Cette analyse a permis de rechercher les composés tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes et les tanins.

Resultats Et Discussion

Etude phytochimique

L'étude phytochimique a permis de déterminer les grandes familles des composés chimiques que ces extraits peuvent contenir. Les résultats sont consignés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Etude phytochimique des extraits.

Extraits	Constituants chimiques		
	Alcaloïdes	Flavonoïdes	Tanins
McFAI	+	+	-
McFA	+	+	-
McFC	-	-	-
PgETAI	-	+	+
PgETA	+	+	+
PgETC	-	+	-
PsETAI	-	-	+

PsETA	-	-	+
PsETC	-	-	-

- : Absence ; + : présence

McFAI = Extrait éthanologique de feuilles de *Momordica charantia* ; McFA= Extrait aqueux de feuilles de *Momordica charantia* ; McFC= Extrait chloroformique de feuilles de *Momordica charantia* ; PgETAI= Extrait éthanologique d'écorces de tige de *Psidium guajava* ;PgETA= Extrait aqueux d'écorces de tige de *Psidium guajava* ; PgETC = Extrait chloroformique d'écorces de tige de *Psidium guajava* ; PsETAI = Extrait éthanologique d'écorces de tronc de *Pteleopsis suberosa* ; PsETA = Extrait aqueux d'écorces de tronc de *Pteleopsis suberosa* ; PsETC = Extrait chloroformique d'écorces de tronc de *Pteleopsis suberosa*.

Tests Antimicrobiens

Les résultats des tests antimicrobiens réalisés en utilisant la méthode de dilution en milieu liquide couplée à l'étalement sur gélose ont donné des résultats qui sont consignés dans le tableau 5. Ces résultats expriment le pourcentage d'inhibition des germes par les extraits. Ce pourcentage d'inhibition est calculé à partir de la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = \left(1 - \frac{\text{Nombre de colonies comptées sur la boîte Essai}}{\text{Nombre de colonies comptées sur la boîte témoin}} \right) \times 100$$

Pour évaluer l'activité antimicrobienne, les extraits éthanologique, aqueux et chloroformique ont été choisis. Cette sélection se justifie par le fait que ces solvants n'ont pas d'action sur la croissance des germes testés. Les résultats des tests antimicrobiens montrent que toutes les plantes étudiées sont actives sur les microorganismes testés.

Tableau 2 : Résultats des tests antimicrobiens exprimé en pourcentage d'inhibition.

	Mc-f (%)			Pg-ét(%)			Ps-ét (%)		
	eau	éthanol	chloroforme	eau	Ethanol	chloroforme	eau	éthanol	chloroforme
<i>E. coli</i>	92,64	30,99	00	99,14	9,76	8,21	82,36	98,63	66,27
<i>Salmonella sp.</i>	91,86	93,16	6,51	74,14	79,80	00	68,08	00	94,46
<i>S. aureus</i>	93,57	74,69	37,71	84,30	87,47	25,06	76,59	90,75	88,07
<i>C. albicans</i>	31,50	71,20	27	57,80	62,25	36,70	80,74	50,20	24,60

Mc-f = feuilles de *Momordica charantia* ; Pb-ét = écorces de tige de *Parkia biglobosa* ; pg-ét = écorces de tige de *Psidium guajava* ; Ps-ét = écorces de tronc de *Pteleopsis suberosa*.

L'extrait aqueux de feuilles de *M. charantia* induit une inhibition remarquable de la croissance de *E. coli*, *Salmonella spp.*, *S. aureus* ; l'extrait éthanologique a une action plus marquée sur *C. albicans* que l'extrait aqueux. Ces résultats sont semblables à ceux trouvés par Schmourlo et al. (2005). En effet, ces auteurs ont démontré que *C. albicans* est sensible à l'action de *M. charantia*. Leelaprakash et al. (2011) ont montré par deux méthodes de diffusion (celle des puits et celle par imprégnation de disques) que l'extrait

méthanolique et l'extrait aqueux à 100 mg/ml sont actifs sur *E. coli*. D'autres auteurs confirment ces résultats en utilisant la même méthode avec comme solvants l'éther de pétrole et le méthanol sur d'autres germes comme *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *C. albicans* and *S. typhi* (Mwambete, 2009). L'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux est faible et moins efficace que celui de l'extrait éthanolique. Cela peut être attribué à la présence de phénols solubles et de composés polyphénoliques qui sont aisément extraits à partir de solvants non polaires comme l'éthanol en comparaison avec les solvants polaires comme l'eau. L'effet inhibiteur de l'extrait de feuilles de *M. charantia* contre les souches de bactéries pathogènes peut permettre d'introduire la plante comme un candidat potentiel pour le développement de médicaments pour le traitement d'affections causées par ces bactéries pathogènes (Mada et al., 2013).

L'étude phytochimique de feuilles de *M. charantia* a révélé la présence des alcaloïdes et flavonoïdes mais pas de tanins. Selon d'autres études, *M. charantia* contiendrait des alcaloïdes, des flavonoïdes, des saponines et même des tanins. Il s'agit d'une plante qui possède une grande diversité de composés actifs (Taylor, 2007 ; Mada et al., 2013). Ces composés chimiques pourraient être à l'origine des activités antimicrobiennes des extraits de cette plante. Les composés n'ont pas été observés dans l'extrait chloroformique de feuilles de *M. charantia*. Ceci pourrait expliquer le faible pourcentage d'inhibition de croissance induit par cet extrait comparativement aux extraits obtenus à partir des deux autres solvants. L'étude de la toxicité aiguë et sub-chronique de l'extrait méthanolique des feuilles de *M. charantia* a été entreprise sur des souris utilisant la voie orale. Les résultats suggèrent que les feuilles de *M. charantia* certes sauvent mais doivent être utilisées avec précaution dans le traitement des maladies qui demandent une thérapie à long terme (Salawu et al., 2005).

L'extrait aqueux des écorces de *P. guajava* a une action très marquée sur *E. coli* alors que la sensibilité des autres germes testés est moins remarquable. Cette observation est confirmée par les travaux de plusieurs auteurs qui ont utilisé divers organes et composés extraits de cette plante. En effet, il a été montré *in vitro* l'activité antibactérienne significative des extraits de *P. guajava* sur *E. coli*, *Salmonella typhi*, *Salmonella enteritidis*, *Proteus mirabilis*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus spp*, *Pseudomonas spp*, *Shigella sp*, *Bacillus cereus*, *Bacillus spp*, *C. albicans* (Gnan et Demello, 1999 ; Arima et Danno, 2002 ; Taylor, 2007). Par ailleurs la plante possède des activités antiplasmodiale, antidiarrhéique liée aux tanins astringents et au quercétol (flavonoïdes) et une action antiseptique liée à des acides et des phénols. Le quercétol diminue les contractions de l'intestin par inhibition de la sécrétion de l'acétylcholine (Pousset, 1992 ; Taylor, 2007). Les travaux de Biswas et al. (2013) sur les

extraits de feuilles de la même plante montrent une activité faible voire nulle sur *S. aureus*, *Salmonella enteritidis* et *E. coli*. On peut en déduire que ce ne sont pas tous les organes de la plante qui peuvent servir pour traiter les affections microbiennes. Il faut néanmoins remarquer que les organes qui ne présentent pas une inhibition forte des microorganismes peuvent contenir des composés ayant des activités antimicrobiennes remarquables comme les deux nouveaux flavonoïdes (morin-3-O-alpha-L-lyxopyranoside et morin-3-O-alpha-L-arabopyranoside) isolés des feuilles de *P. guajava*. morin-3-O-alpha-L-lyxopyranoside a montré une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 200 µ/ml contre *S. enteritidis* et 250 µ/ml contre *Bacillus cereus* alors que morin-3-O-alpha-L-arabopyranoside est actif avec une CMI de 200 µg/ml et 300 µ/ml respectivement contre *S. enteritidis* et *B. cereus* (Arima et Danno, 2002). Sanches et al. (2005) ont évalué l'activité antibactérienne de *P. guajava* contre des bactéries Gram positif et Gram négatifs. En testant des extraits éthanoliques et aqueux des feuilles, écorces de tige et racine de *P. guajava* contre *S. aureus*, ils ont montré que les extraits de la plante induisaient une activité plus remarquable quand on utilise l'éthanol ou un mélange éthanol eau comme solvant que l'eau seule.

L'étude phytochimique d'écorces de tige de *P. guajava* montre la présence des trois composés chimiques recherchés (Alcaloïdes, Flavonoïdes et Tanins). La présence de ces composés chimiques dans les organes de la plante est corroborée par les études de Biswas et al. (2013) qui ont montré que l'extrait aqueux de feuilles de *P. guajava* pouvait contenir des Phénols, des tanins, des saponines, des terpénoïdes, des flavonoïdes et des glycosides. Ces composés ne peuvent pas être extraits tous ensemble dans un des solvants du système d'extraction par solvants de polarité croissante. La présence de ces composés chimiques pourrait être à l'origine de l'activité antimicrobienne de cette plante car ils sont connus pour leurs propriétés antimicrobiennes (Cowan, 1999 ; Akiyama et al. 2001 ; Min et al., 2008)

L'extrait éthanolique d'écorces de tronc de *P. suberosa* a inhibé presque totalement la croissance de *E. coli* et *S. aureus*. L'extrait chloroformique de *P. suberosa* est le seul qui a induit une inhibition remarquable sur *Salmonella sp.* Ces résultats sont proches de ceux de Lagnika et al. (2012) qui ont obtenu avec l'écorce de la même plante des CMI de 0,15 et 0,63 mg.ml⁻¹ respectivement sur *S. aureus* et *E. coli* en utilisant le méthanol comme solvant. En comparant les solvants, on remarque que c'est le chloroforme qui produit les extraits les moins actifs à l'exception de l'extrait chloroformique de *P. suberosa* sur *Salmonella sp.*

Les résultats des tests antifongiques sur *C. albicans* sont confirmés par ceux des études effectuées par Batawila (2002). Il a montré que les extraits hydroéthanoliques d'écorces de tronc de *P. suberosa* inhibent significativement *C. albicans*, *Microsporium gypseum*, *Epidermophyton*

floccosum, *Trichophyton mentagrophytes* et *Tricophyton rubrum* avec des CMI variant entre 0,25 mg.ml⁻¹ et 4 mg.ml⁻¹. L'étude phytochimique révèle la présence des tanins et l'absence de flavonoïdes et d'alcaloïdes. Les résultats similaires ont été trouvés par d'autres auteurs (De Pasquale et al., 1995 ; Baba-Moussa et al., 1999 ; Lagnika, 2012). Ces derniers ont mis en évidence d'autres composés actifs comme les coumarines et des triterpénoïdes. La présence de ces composés serait à la base des activités antimicrobiennes observées.

Conclusion

La présente étude a permis d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de *Momordica charantia* (Cucurbitaceae), *Psidium guajava* (Myrtaceae) et *Pteleopsis suberosa* (Combretaceae) sur *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella sp.* et *C. albicans*. Les résultats montrent que les différents extraits obtenus induisent toutes des inhibitions de croissance des germes testés. *M. charantia* semble être la plante la plus active sur l'ensemble des bactéries testées. Le chloroforme semble être le solvant le moins actif des trois solvants testés quoique plus actif sur *Salmonella sp.* La présence d'alcaloïdes, flavonoïdes et des tanins révélée dans ces différents extraits de plantes serait à l'origine des activités antimicrobiennes observées. Ces résultats permettent de valider l'utilisation de ces plantes dans le traitement des maladies dues aux microorganismes testés et donnent une justification scientifique aux divers usages précités.

References:

- Adjanohoun E., Ahyi A.M., Ake Assi L., Baniakina J., Chibon P., Cusset G., Doulou V., Enzanza A., Ayné J., Gardoté E., Kéita A., Mbemba C., Mollet J. et col. Médecine traditionnelle et pharmacopée : contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Togo. ACCT éd., Paris, 895 p, 1987.
- Agody K. M. Contribution au recensement des plantes médicinales : Enquête ethnobotaniques dans la région maritime du Togo. Th. doct. Pharm. Univ Lomé, 38p, 2006.
- Akiyama H., Fujii K., Yamasaki O., Oono T. and Iwatsuki K., Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 48 (4), 487–491, 2001.
- Amadou S., Evaluation des activités antimicrobiennes d'extraits de *Momordica charantia* (Cucurbitaceae), *Lannea kerstengii* (Anacardiaceae), *Parkia biglobosa* (Mimosaceae), *Psidium guajava* (Myrtaceae) et *Pteleopsis suberosa* (Combretaceae), Mém. ingénieur des travaux, ESTBA, Univ. Lomé, 55p, 2009.

- Ananya P. and Sarmistha S. R., Medicinal uses and molecular identification of two *Momordica charantia* varieties – a review, *Electronic J. Biol.*, 6(2): 43-51, 2010.
- Arima H. et Danno G., Isolation of antimicrobial compounds from *Guava* (*Psidium guajava* L.) and their structural elucidation. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 66(8):1727-30, 2002.
- Baba-Moussa F., Akpagana K. and Bouchet P., Antifungal activities of seven West African Combretaceae used in traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 66 (3), 335-338, 1999.
- Batawila K., Diversité, écologie et propriétés antifongiques des Combretaceae du Togo. Thèse de Doctorat Univ. Reims et Univ Lomé. 120 p, 2002.
- Biswas B., Rogers K., McLaughlin F., Daniels D. and Yadav A., Antimicrobial Activities of Leaf Extracts of Guava (*Psidium guajava* L.) on Two Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria. *International Journal of Microbiology* Volume 2013, Article ID 746165, 7 pages, 2013,
- Chominot A., Valorisation des plantes médicinales par l'industrie pharmaceutique complémentarités et contradictions, *Courr. Env. INRA*, 39, 19-26, 2000.
- Cowan M. M., Plant products as antimicrobial agents, *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4), 564–582, 1999.
- De Abreu J. R., Santos C. D., de Abreu C. M. P., de Castro E. M., Histochemistry and morphoanatomy study on guava fruit during ripening, *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 32(1): 179-186, 2012.
- De pasquale R., Germano M. P., Keita A., Sanogo R., Lauck L., Antiulcer activity of *Pteleopsis suberosa*. *J Ethnopharmacol.*, 47(1), 55-58, 1995.
- De Souza C., Ameganvi K. K., Koumaglo K., Gbeassor M., Etude de l'activité antimicrobienne des extraits aqueux totaux de dix plantes médicinales. *Revue de Médecines et Pharmacopées Africaines*, 2(7), 107-115, 1993.
- Ekoumou C., Etude phytochimique et pharmacologique de cinq recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. Th. Pharm. Univ. Bamako, 158p, 2003.
- Gbogbo K. A., Dourma M., Akpavi S., Batawila K. et Akpagana K., Evaluation de l'activité antifongique de *Ficus platyphylla* del. (Moraceae), *Euro. Sci. J.*, .9 (33) 252-260, 2013
- Gnan S. O. and Demello M. T., Inhibition of *Staphylococcus aureus* by aqueous Goiaba extracts, *Journal of Ethnopharmacology*, 68 (1–3), 103-108, 1999.
- Hoekou Y. P., Batawila K., Gbogbo K. A., Karou D. S., Ameyapoh Y. et Souza C., Evaluation des propriétés antimicrobiennes de quatre plantes de la

- flore togolaise utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement des diarrhées infantiles, *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 6(6): 3089-3097, 2012
- Lagnika L., Fantodji M. H. T. and Sanni A., Phytochemical study and antibacterial, antifungal and antioxidant properties of *Bridelia ferruginea* and *Pteleopsis suberosa*, *IJPSR*, 3 (7), 2130-2136, 2012.
- Leelaprakash G., Caroline Rose J., Gowtham B.M., Javvaji P. K., Shivram P. A., *In vitro* antimicrobial and antioxidant activity of *Momordica charantia* leaves, *Pharmacophore*, 2 (4), 244-252, 2011.
- Mada S. B., Garba A., Mohammed H. A., Muhammad A., Olagunju A. and Muhammad A. B., Antimicrobial activity and phytochemical screening of aqueous and ethanol extracts of *Momordica charantia* L. leaves. *J. Med. Plants Res.* 7(10), 579-586, 2013.
- Marin B. et Chrestin H., La valorisation des plantes médicinales. Fond documentaire ORSTOM, 2007.
- Min B. R., Pinchak W. E., Merkel R., Walker S., Tomita G. and Anderson R. C., Comparative antimicrobial activity of tannin extracts from perennial plants on mastitis pathogens, *Scientific Research and Essays*, 3 (2), 66–73, 2008.
- Mwambete K. D., The *in vitro* antimicrobial activity of fruit and leaf crude extracts of *Momordica charantia*: a tanzania medicinal plant, *Afr. Health Sci.* 9 (1), 34-39, 2009.
- OMS, Stratégie de l’OMS pour la Médecine Traditionnelle pour 2002–2005, OMS/WHO éd. Genève, 65p, 2002.
- Pousset J. L., Plantes médicinales africaines Tome 1 : utilisation pratique, *Ed. Ellipses – ACCT* 156 p, 1992.
- Salawu, O. A., Ezekiel, E. O., Adoudi A. O., Kwanashie H. O., Toxicological evaluation of methanolic extract of *Momordica Charantia*, leaves in Rats. *J. Pharmacology* 20 (1, 2), 15-21, 2005.
- Sanches N. R., Cortez D. A. G., Schiavini M. S., Nakamura C. V. and Filho B. P. D, An evaluation of antibacterial activities of *Psidium guajava* (L.), *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48 (3), 429–436, 2005.
- Schmourlo G., Mendonca-Filho R. R., Salesalviano C., Costa S., Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. *J. ethnopharmacology* 3 (96), 563 – 568, 2005.
- Taylor L., The Healing Power of rainforest herbs a guide to understanding and using herbal medicinal. *Square One Publishers, Inc.* 535p, 2007.
- Tittikpina N. K., Agban A., Gbogbo K. A., Hoekou Y.P, Pereki H., Batawila K. et Akpagana K., Évaluation des propriétés antimicrobiennes de *Pterocarpus erinaceus* Poir (Faboidae) et *Daniellia oliveri* (Rolfe) Hutch. et Dalz (Caesalpinoïdeae), utilisées en médecine traditionnelle au Togo, *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 7(4): 1586-1594, 2013.