

EVALUATION DES PROPRIETES ANTIMICROBIENNES DES EXTRAITS AQUEUX TOTAUX DE QUELQUES PLANTES MEDICINALES

de SOUZA, C.⁽¹⁾, KOUMAGLO, K.⁽²⁾ et GBEASSOR, M.⁽³⁾
UNIVERSITE DU BENIN, LOME - TOGO

-) Département d'Analyses Médicales et Biologiques
Ecole Supérieure des Techniques Biologiques et
Alimentaires (ESTBA).
-) Département de Chimie, Faculté des Sciences.
-) Département de Physiologie Animale, Faculté des Sciences.

RESUME

Les extraits aqueux totaux de 38 plantes couramment utilisées en Afrique dans le traitement traditionnel de certaines maladies infectieuses ont été soumis à des tests en vue de mettre en évidence les propriétés antibactériennes et antifongiques. Les méthodes de dilution en milieu liquide, de dilution en milieu solide et de dilution en milieu liquide couplée à étalement sur milieu solide ont été utilisées pour les essais microbiens.

Nos résultats indiquent que les extraits testés inhibent à des degrés divers la croissance *in vitro* des germes sélectionnés. 43% des plantes étudiées exercent leurs effets à la fois sur des cocci à Gram positif (*S. aureus*, *S. pyogenes*, Streptocoques du groupe D) et des bacilles Gram négatifs (*P. aeruginosa*, *S. typhi*, *S. enteritidis*, *Sh. flexneri*, *Sh. sonnei*, *Sh. dysenteriae* et *E. coli*) ; 91% inhibent la croissance des levures (*C. albicans*) et 100% agissent sur les dermatophytes (*Microsporum ferrugineum* et *Tricophyton rubrum*). *Paullinia pinnata* agit à la fois sur les quatre types de microorganismes (Bactéries Gram positives, Bactéries Gram négatives, Levures et Moisissures). La méthode de dilution en milieu liquide couplée à étalement sur milieu solide gélosé ne contenant pas d'extrait semble plus sensible et plus spécifique.

Mots clés : Plante médicinale - Antimicrobien - Antifongique -Maladie infectieuse.

INTRODUCTION

Nos travaux portent sur 38 plantes (tableau 1) souvent utilisées pour la préparation de remèdes efficaces dans le traitement traditionnel de diverses maladies et particulièrement des maladies infectieuses (ADJANOHOON, E.J. et coll., 1986 ; 1989 ; AKE ASSI, L. et GUINKO, S., 1991 ; GBEASSOR et coll. 1988 ; de SOUZA et coll. 1993 ; 1994 ; VANGA-MANDAH et coll., 1994).

Nous avons étudié les effets des extraits aqueux totaux de ces plantes (selon la méthode traditionnelle de préparation) sur la croissance *in vitro* des germes les plus impliqués dans les pathologies concernées : *S. aureus*, *S. pyogenes*, une souche de Streptocoque du groupe D, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. enteritidis*, *S. typhi*, *Sh. flexneri*, *Sh. dysenteriae*, *Sh. sonnei*, *C. albican*, *T. rubrum*, *M. ferrugineum*, *M. rhizopus*, *Penicillium sp*, *A. fumigatus* et *Trichoderma sp*. A cette première phase de nos recherches sur les plantes médicinales, notre objectif est d'identifier parmi les plantes étudiées celles qui possèdent des propriétés antibactériennes ou antifongiques avant d'envisager d'extraire, d'isoler, de caractériser les principes actifs et de produire des remèdes à base de ces plantes.

Tableau N°1 : Liste des plantes étudiées

| N° | Noms | Familles | Organe |
|----|--------------------------------------|-----------------|--------|
| 1 | <i>Azadirachta indica</i> | Meliaceae | F |
| 2 | <i>Nauclea latifolia</i> | Rubiaceae | ER |
| 3 | <i>Morinda Lucida</i> | Rubiaceae | F |
| 4 | <i>Cassia siamea</i> | Caesalpiniaceae | F |
| 5 | <i>Dialium guineense</i> | Caesalpiniaceae | F |
| 6 | <i>Dichapetalium madagascariense</i> | Dichapetalaceae | F |
| 7 | <i>Gomphrena celosioides</i> | Amaranthaceae | F |
| 8 | <i>Jatropha gossipiifolia</i> | Euphorbiaceae | F |
| 9 | <i>Paullina pinnata</i> | Sapindaceae | F |
| 10 | <i>Securinega virosa</i> | Euphorbiaceae | F |
| 11 | <i>Heliotropium indicum</i> | Boraginaceae | Tf |
| 12 | <i>Alchornea cordifolia</i> | Euphorbiaceae | Tf |
| 13 | <i>Spondias mombin</i> | Anacardiaceae | F |
| 14 | <i>Hyptis suaveolens</i> | Lamiaceae | Tf |
| 15 | <i>Eupatorium odoratum</i> | Asteraceae | F |
| 16 | <i>Xylopi aethiopica</i> | Annonaceae | g |
| 17 | <i>Spathodea campanulata</i> | Bignoniaceae | F |
| 18 | <i>Pteleopsis suberosa</i> | Combretaceae | ET |
| 19 | <i>Gossypium barbadense</i> | Maloaceae | F |
| 20 | <i>Psidium guajava</i> | Myrtaceae | F |
| 21 | <i>Tagetes patula</i> | Asteraceae | F |
| 22 | <i>Mangifera indica</i> | Anacardiaceae | F |
| 23 | <i>Khaya senegalensis</i> | Meliaceae | ET |
| 24 | <i>Bridelia ferruginea</i> | Euphorbiaceae | F |
| 25 | <i>Zea mays</i> | Poaceae | Epi |
| 26 | <i>Allium sativum</i> | Liliaceae | Rh |
| 27 | <i>Zingiber officinale</i> | Zingiberaceae | Rh |
| 28 | <i>Allium cepa</i> | Liliaceae | Rh |
| 29 | <i>Eugenia aromatica</i> | Myrtaceae | F |
| 30 | <i>Capsicum frutescens</i> | Solanaceae | FR |
| 31 | <i>Aframomum melegueta</i> | Zingiberaceae | g |
| 32 | <i>Ocimum gratissimum</i> | Lamiaceae | Tf |
| 33 | <i>Thonningii sanguinea</i> | Balanophraceae | F |
| 34 | <i>Alstonia boonei</i> | Apocyanaceae | F |
| 35 | <i>Guiera senegalensis</i> | Combretaceae | F |
| 36 | <i>Momordica charantia</i> | Cucurbitaceae | F |
| 37 | <i>Piper guineense</i> | Piperaceae | g |
| 38 | <i>Securidaca longepedunculata</i> | Polygalaceae | ER |

Note : F = feuilles ; Tf = Tige feuillée ; FR = Fruit
ER = Ecorce de racine ; Rh = Rhizome ; g = graines
ET = Ecorce de tronc

MATERIEL ET METHODES

Matière végétale

Nos analyses ont porté sur divers organes (feuilles, tiges feuillées et écorce de racines) de 38 plantes récoltés de 1987 à 1993 dans différentes localités du Togo (Tableau 1).

Préparation des extraits aqueux totaux des plantes

Après authentification des plantes par le laboratoire de botanique de l'Université du Bénin, les organes sont séchés à la température ambiante à l'abri du soleil avant d'être réduits en poudre fine. Une suspension de 20g de poudre de chaque plante dans 400 ml d'eau physiologique est agitée à la température ambiante pendant 24 H. Le mélange est décanté et le surnageant filtré successivement sur du coton hydrophile et du papier filtre Whatman N°1, le filtrat est stérilisé sous vide à l'aide d'une membrane millipore de 0,45 μm . Les extraits aqueux stériles ainsi obtenus sont utilisés pour les essais antimicrobiens. La concentration de ces extraits est exprimée en milligramme d'équivalent de matière végétale sèche (mg. eq. mv.) par ml d'extrait soit 50 mg. eq. mv/ml.

Les différents microorganismes testés

Les germes testés sont ceux impliqués dans les pathologies traitées par ces plantes. Il s'agit de *S. aureus* ATCC 25923, des souches hospitalières de *S. aureus*, *S. pyogenes*, une souche de Streptocoque du groupe D, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. enteritidis*, *S. typhi*, *Salmonella sp.*, *Sh. flexneri*, *Sh. dysenteriae*, *Sh. sonnei*, *C. albicans*, *T. rubrum*, *M. ferrugineum*, *M. rhizopus*, *Penicillium sp.*, *A. fumigatus*, *Trichoterma sp.*

Ces germes ont été obtenus des laboratoires de la ville de Lomé et du Prof. VANDEPITTE de l'Université Zickenhuis St Raphaël (Leuven Belgium). Ils sont maintenus en culture sur des milieux gélosés sélectifs appropriés : les milieux Drigalski, Salmonella/Shigella (SS) Chapman, Gélose au sang frais, Pyocyanosel, Sabouraud Chloramphénicol, Sabouraud Chloramphénicol avec actidione et du Bouillon Eugon.

Essai antimicrobien

Les méthodes de dilution en milieu liquide (KAMBU et coll. 1989) de dilution en milieu solide gélosé (HMAMOUCI et coll. 1992 ; MURENGEZI 1993 ; N'DOUNGA et coll 1991) et celle combinant la dilution en milieu liquide et l'étalement sur milieu solide gélosé ne contenant pas d'extrait de plante (de SOUZA et coll. 1993) ont été utilisées.

RESULTATS

Croissance in vitro des germes en présence des extraits totaux des plantes

Les résultats sont consignés dans les tableaux 2 et 3.

Sensibilité des souches de bactéries à Gram positif

S. aureus

La sensibilité de la souche de référence *S. aureus* ATCC 25923 et de 19 souches isolées de divers prélèvements pathologiques (de SOUZA et coll., 1988) a été vérifiée. Des 38 plantes testées, 34 inhibent la croissance des souches. Seules *Spondias mombin*, *Guiera senegalensis*, *Cassia siamea* et *Gomphrena celosioïdes* n'ont pas d'effet sur ces germes.

Streptococcus pyogenes

Des 11 plantes testées, 8 n'exercent aucun effet sur la croissance de ces germes. Les souches sont par contre sensibles à l'action de *Azadirachta indica*, de *Nauclea latifolia* et de *Zingiber officinale*.

Une souche de Streptocoque du groupe D de Lancefield isolée de la viande de mouton

La souche étudiée est sensible à l'action des deux plantes testées : *Dialium guineense* et *Guiera senegalensis*.

Sensibilité des souches de bactéries à Gram négatif

Pseudomonas aeruginosa

Les souches testées sont sensibles à l'action de *Dialium guineense*, de *Alstonia boonei* et de *Guiera senegalensis*. Aucun effet n'a été observé avec les autres plantes testées.

Escherichia coli

Des 31 plantes testées sur ce germe, 18 en inhibent la croissance. Les souches résistent par contre à l'action de 13 plantes.

Les souches de Salmonella

Les espèces *S. enteritidis* et *S. typhi* et une souche dont l'espèce n'a pas été déterminée, ont été testées. *S. enteritidis* est sensible à l'action de *Dialium guineense*, *Spathodea campanulata*, *Bridelia ferruginea*, *Allium sativum*, *Allium cepa*, *Eugenia aromatica*, *Ocimum gratissimum*, *Guiera senegalensis* et *Piper guineense*.

Salmonella typhi est sensible à l'action de *Dialium guineense* et de *Guiera senegalensis* alors que la sensibilité de *Salmonella* sp. s'est manifestée à l'égard de *Nauclea latifolia* et *Momordica charantia*.

Les souches de Shigella

Les espèces de *Sh. flexneri*, *Sh. dysenteriae* et *Sh. sonnei* ont été testées. La croissance de ces germes est inhibée par *Dialium guineense*, *Spathodea campanulata*, *Pteleopsis suberosa*, *Gossypium barbadense*, *Psidium guajava*, *Tagetes patula*, *Guiera senegalensis*, *Alstonia boonei* *Thonningia sanguinea*, *Securinega virosa*, *Nauclea latifolia* et *Azadirachta indica*.

Sensibilité des Champignons : Levures et Moisissures

Les souches de *Candida albicans*, *Microsporium ferrugineum* *Tricophyton rubrum*, *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., *Aspergillus fumigatus* et *Mucor rhizopus* ont été testées. Les quatre dernières souches résistent à l'action de *Dialium guineense* et *Guiera senegalensis*.

Candida albicans résiste à *Securidaca longepedunculata* et *Guiera senegalensis*.

Microsporium ferrugineum est sensible à l'action de *Thonningia sanguinea*. *Paullina pinnata*, *Heliotropium indicum*, *Alchornea cordifolia*, *Spondia mombin*, *Hyptis suaveolens*, *Eupatorium odoratum*, *Thonningia sanguinea* et *Guiera senegalensis* inhibent la croissance de *Tricophyton rubrum*.

Les extraits totaux aqueux des plantes testées exercent des effets bactéricide et/ou fongicide sur la croissance des germes étudiés. L'intensité de ces effets varie en fonction de la plante et des germes. Une relation dose-effet a été observée dans tous les cas (de SOUZA et al. 1987 ; GBEASSOR et al. 1988 ; de SOUZA et al. 1993 ; 1994 ; VANGA-MANDAH et al. 1994).

Tableau N°2 : Sensibilité des genres aux extraits tataux des plantes étudiées.

| Germes | Nombre de souches | Actives | Non actives |
|---------------------------------|--------------------------|---|--|
| S. aureus | 20 | 1, 2, 3, 5, 6, 8, 9, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 36, 37, 38 | 4, 7, 13, 35 |
| S. pyogenes | 10 | 1, 2, 27 | 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 |
| P. aeruginosa | 5 | 5, 34, 35, | 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10 |
| E. coli | 20 | 2, 3, 5, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 28, 29, 32, 33, 36, 37 | 1, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 16, 25, 27, 30, 31 |
| S. enteritidis | 5 | 5, 17, 24, 26, 28, 29, 37, 32, 35 | 16, 25, 27, 30, 31 |
| S. typhi | 2 | 5, 35 | 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10 |
| Salmonella sp. | 5 | 2, 36 | |
| Sh. flexneri | 2 | 5, 17, 18, 19, 20, 21, 35 | 2, 16 |
| Sh dysenteriae | 2 | 1, 2, 5, 10, 34 | 3, 4, 6, 7, 8, 9 |
| Sh. sonnei | 2 | 33 | |
| C. albicans | 10 | 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 12, 13, 14, 15, 27, 28, 29, 30, 37, 31, 33 | 33, 35 |
| T. rubum | 1 | 9, 11, 12, 13, 14, 15, 33, 35 | |
| Streptocoque du groupe D | 5 | 5, 35 | |
| Microsporium ferrugineum | 1 | 33 | 3 |
| Mucor rhizopus | 1 | 0 | 5, 35 |
| Penicillium sp. | 1 | 0 | 5, 35 |
| Aspergillus fumigatus | 1 | 0 | 5, 35 |
| Trichoderma sp. | 1 | 0 | 5, 35 |

Remarque : Les chiffres correspondent aux numéros des plantes du tableau N° 1.

Tableau N°3 : Efficacité des plantes par rapport au gram des germes testés.

| N° | Noms des plantes | Action sur les germes à | | |
|----|--------------------------------------|-------------------------|--------|------------|
| | | Gram + | Gram - | Gram + & - |
| 1 | <i>Azadirachta indica</i> | + | + | + |
| 2 | <i>Nauclea latifolia</i> | + | + | + |
| 3 | <i>Morinda lucida</i> | + | + | + |
| 4 | <i>Cassia siamea</i> | + | - | - |
| 5 | <i>Dialium guineense</i> | + | + | + |
| 6 | <i>Dichapetalium madagascariense</i> | + | - | - |
| 7 | <i>Gomphrena celosoides</i> | + | - | - |
| 8 | <i>Jatropha gossypifolia</i> | + | - | - |
| 9 | <i>Paullinia pinnata</i> | + | - | - |
| 10 | <i>Securinega virosa</i> | + | + | + |
| 11 | <i>Heliotropium indicum</i> | + | - | - |
| 12 | <i>Alchornea cordifolia</i> | + | - | - |
| 13 | <i>Spondia mombin</i> | + | - | - |
| 14 | <i>Hyptis suaveolens</i> | + | + | - |
| 15 | <i>Eupatorium odoratum</i> | + | - | + |
| 16 | <i>Xylopiya aethiopica</i> | + | - | - |
| 17 | <i>Spathodea campanulata</i> | + | + | + |
| 18 | <i>Pteleopsis suberosa</i> | + | - | - |
| 19 | <i>Gossypium barbadense</i> | + | - | - |
| 20 | <i>Psidium guajava</i> | + | - | - |
| 21 | <i>Tagetes patula</i> | + | + | + |
| 22 | <i>Mangifera indica</i> | + | - | - |
| 23 | <i>Khaya senegalensis</i> | + | - | - |
| 24 | <i>Bridelia ferruginea</i> | + | + | + |
| 25 | <i>Zea mays</i> | + | - | - |
| 26 | <i>Allium sativum</i> | + | + | + |
| 27 | <i>Zingiber officinale</i> | + | - | - |
| 28 | <i>Allium cepa</i> | + | + | + |
| 29 | <i>Eugenia aromatica</i> | + | + | + |
| 30 | <i>Capsicum frutescens</i> | + | - | - |
| 31 | <i>Aframomum melegueta</i> | + | - | - |
| 32 | <i>Ocimum gratissimum</i> | + | + | + |
| 33 | <i>Thonningia sanguinea</i> | + | + | + |
| 34 | <i>Altonia boonei</i> | + | + | + |
| 35 | <i>Guiera senegalensis</i> | + | + | + |
| 36 | <i>Momordica charantia</i> | - | + | - |
| 37 | <i>Piper guineense</i> | - | + | - |
| 38 | <i>Securidaca longepedunculata</i> | - | - | - |

Note : + = Action antimicrobienne positive
 - = Action antimicrobienne négative

DISCUSSION ET CONCLUSION

Les résultats de nos travaux indiquent que les plantes étudiées possèdent des propriétés bactéricide et/ou fongicide. L'intensité des effets sur la croissance des germes, varie en fonction de la plante, du type de microorganisme et du Gram de ces derniers (Gram positif ou Gram négatif).

La croissance des germes à Gram positif et celle des bactéries à Gram négatif testés sont respectivement inhibées par 92,10% et 47,36% des plantes étudiées. 42,10% de ces plantes exercent leur effet à la fois sur les germes à Gram positif et les bacilles Gram négatifs testés ; 91,66% inhibent la croissance des Levures et 100% agissent sur celle des moisissures.

Une seule plante agit à la fois sur les quatre types de germes testés, il s'agit de *Paullinia pinnata*.

La plupart de nos observations corrobore celles d'autres chercheurs (PATEL et TRIVEDI, 1962 ; SILPASOWON, 1978 ; MACFOY et SAMA, 1983 ; MALCOM et SOFOWORA 1969 ; DELAVER et coll. 1979 ; OGUNLANA et RAMSTAD, 1975).

Les divergences enregistrées par rapport aux résultats de certains chercheurs seraient liées en partie aux méthodes utilisées et aux isolats testés. Par ailleurs, l'origine des germes testés (site d'isolement) peut déterminer leur comportement vis-à-vis des extraits comme ce que l'on observe avec les antibiotiques classiques.

Pour l'étude des propriétés antimicrobiennes des extraits totaux de plante, la méthode de dilution en milieu liquide couplée à l'étalement sur milieu gélosé ne contenant pas d'extrait semble plus sensible et plus spécifique que celles qui utilisent les biodisques, la dilution en milieu solide ou la dilution en milieu liquide (NDOUNGA et coll., 1991 ; MURENGEZ, 1993 ; HMAMOUCHE et coll., 1992 ; KAMBU, K et coll. 1989).

Ce travail de screening a permis de mettre en évidence les propriétés antibactérienne et antifongique des extraits aqueux totaux de quelques plantes couramment utilisées en Afrique dans le traitement traditionnel de certaines maladies d'origine microbienne.

Nos résultats peuvent être exploités pour la purification du ou des principes actifs des plantes utilisées et la préparation des formes améliorées de remèdes efficaces à base de ces plantes.

REMERCIEMENTS

Nous remercions MM SONCY Kouassi et ANANI Kokou, Techniciens Supérieurs de Laboratoire à l'Ecole Supérieure des Techniques Biologiques et Alimentaires (ESTBA) pour leur collaboration technique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **ADJANOHOUN, E.J. et coll.**, 1986, *Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Togo* - Rapport ACCT.
2. **ADJANOHOUN, E.J. et coll.**, 1989, *Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République Populaire du Bénin* - Rapport ACCT.
3. **AKE ASSI L. et GUINKO, S.**, 1991, *Plantes utilisées dans la Médecine Traditionnelle en Afrique de l'Ouest*. Editions ROCHE, BASEL SWITZERLAND 1991
4. **DELAVER, P. ; DESVIGNES, A. ; ADOUV, E. and TESSIE, A. M.**, 1979. *CHEWING sticks from Occidental Africa: Chemical and Microbiological screening*. Ann. Pharm. Fr 37 : 185-190.
5. **GBEASSOR, M., et coll.** 1990 *Contribution à l'étude des propriétés pharmacologiques de Morinda lucida* Actes des Journées Scientifiques de l'Université du Bénin (UB). Les presses de l'UB (2) : 298-311.
6. **GBEASSOR, M. ; VIHO, G.K.** et coll. 1989, Contribution à l'étude des propriétés pharmacodynamiques de *Azadirachta indica* Ann. Univ. Bénin, Séries Sciences 1988-1989, Vol. 9 : 121-131.
7. **HMAMOUCI, H. et coll.** 1992, *Etudes chimiques et microbiologiques des huiles essentielles de quelques espèces d'Eucalyptus marocaines*, Rev. Med. Pharm. Afr. 1992 Vol. 6, N°2 : 109-117.
8. **KAMBU, K. et coll.** 1989, *Evaluation de l'activité antimicrobienne de quelques* Bull. Méd. Trad. Pharm. 1989, Vol. 3 N°1 : 15-24.
9. **MAC FOY, C.A. and SAMA, A.M.**, 1983, *Medicinal plants in Pujehum district of Sierra Leone* J. Ethnopharmacol. 8(2) : 215 -225.
10. **MALCOM, S.A. and SOFOWORA, F.A.**, 1989 *Antimicrobial activity of selected Nigerian folk remedies and their constituants plants* LLOYDIA, 32 : 512 - 517.

11. **MURENGEZI, Alphonse**, 1993, *Etude de l'activité antibactérienne de quelques plantes utilisées en médecine traditionnelle Rwandaise*, Revue Méd. Pharma. Afr. 1993. Vol.7 N°1 : 3-7.
12. **NDOUNGA, M. et coll.** 1991 *Etude préliminaire de l'activité antimicrobienne de quelques plantes médicinales de la flore congolaise*. Revue Méd. Pharm. Afr. 1991, Vol. 5, N°1 : 33-38.
13. **OGUNLANA, E.O. and RAMSTAD, E.**, 1975, *Investigation into the antibacterial activities of local plants*. Planta Medica, 27 : 354.
14. **PATEL, R.P. and TRIVEDI, B.M.**, 1962, *The in vitro antibacterial activity of some medicinal oils*. Indian. J. Med. Res. 50 : 218.
15. **SILPASOWON, S.**, 1978, *Studies of the effects of some medicinal plants on growth of some bacterial in family Enterobacteriaceae* M.S. Res. Chiang mai Univ. : 2522.
16. **de SOUZA, C., GBEASSOR, M. et KOUMAGLO, K.**, 1987, *Contribution à l'étude des propriétés pharmacologiques de Zingiber officinale roscoe (gingembre) : mise en évidence d'une activité antimicrobienne*. Afr. Méd. 251(26) : 243 - 247.
17. **de SOUZA, C., GBEASSOR, M. et KOUMAGLO, K.**, 1988, *Sensibilité aux antibiotiques des souches de S. aureus isolées à Lomé*, Médecine Tropicale Vol. 4, N°3 : 243 - 246.
18. **de SOUZA, C., AMEGAVI, K.K. et coll.** 1993, *Etude de l'activité microbienne des extraits aqueux totaux de dix plantes médicinales* Revue Méd. Pharm. Afr., 1993. Vol. 7 N°2 : 109-114.
19. **de SOUZA, C. et coll.** 1994 *Contribution à l'étude des procédés de conservation des denrées alimentaires d'origine animale en milieu tropical : Evaluation de l'activité antimicrobienne de quelques plantes aromatiques et épices*. Microb. Hyg. Al. Vol 6, N°16 Juillet 1994 : 3 - 12.
20. **VANGAH-MANDA, M. ; de SOUZA, C. et coll.** 1994, *Evaluation des effets microbien et cytotoxique des extraits aqueux totaux de Thonningia sanguinea Vahl* Revue Méd. Pharm. Afr. 1994 Vol 8, N°2 : 153 - 157.