**Article Original**

**Activité Antibactérienne d’Écorces de *Petersianthus Macrocarpus, Vernonia Conferta* et *Carica Papaya,* Traditionnellement Utilisée pour Traiter les Plaies dans la Région du Centre-Cameroun**

***Antibacterial activity of a recipe based on the bark of Petersianthus macrocarpus, Vernonia conferta and Carica papaya, traditionally used to treat wounds in the Central Cameroon region***

Ngono Mballa R1,4, Wokam MN2, Nguidjoe EM3, Gonsu Kamga H5, Wouessidjewe D6

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
| 1. Département de Pharmacologie et de Médecine Traditionnelle, Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales, Université de Yaoundé I, Yaoundé, Cameroun
2. Institut des Sciences de la Santé, Faculté de Pharmacie, Université des Montagnes, Bangangté, Cameroun
3. Département de Pharmacotoxicologie, Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales, Université de Yaoundé I, Cameroun
4. Laboratoire National de Contrôle de Qualité des Médicaments et d’Expertise, Yaoundé, Cameroun
5. Laboratoire de Microbiologie, Centre Hospitalier et Universitaire, Yaoundé-Cameroun
6. Département de Pharmacochimie Moléculaire, Université de Grenoble Alpes, France

**Auteur correspondan**t : Wokam Michèle NoëlMail : michelewokam@gmail.com ; Tél : (+33) 6 05 71 00 53**Mots-clés** : Médecine traditionnelle – plaies incurables – activité antibactérienne**Keywords**: Traditional medicine - incurable wounds - antibacterial activity | **RÉSUMÉ** |
| **Introduction.** Les traitements disponibles des plaies chroniques sont nombreux mais pour la plupart inabordables et de moins en moins efficaces. Notre travail a consisté à étudier une recette traditionnelle utilisée dans le traitement des plaies chroniques. La recette a été obtenue à la suite d’une enquête ethnobotanique effectuée auprès d’une tradipraticienne. Le matériel végétal a été constitué des écorces de tronc de *Petersianthus macrocarpus,* de *Vernonia conferta,*et des écorces de racines de *Carica papaya*. **Matériels et méthodes.** Nous avons procédé à une analyse botanique des plantes ainsi qu’à un screening phytochimique des différents extraits (macérats aqueux et hydro-alcooliques). Ensuite, la détermination de l’activité antibactérienne de ces extraits a consisté en l’évaluation de la propreté microbiologique, la détermination de la sensibilité de trois espèces bactériennes fortement impliquées dans la surinfection des plaies (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Escherichia coli*). La détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) ont été réalisées conformément aux protocoles normatifs. **Résultats.** A l’exception de *Escherichia coli,* les deux autres germes se sont révélés être sensibles à nos extraits. Toutefois, aucune CMI n’a pu être définie avec précision**,** rendant difficile la détermination des valeurs de CMB, pour lesquelles nous avons eu des résultats supérieurs à 200 mg/ml pour la grande majorité. **Conclusion.** La propriété curative de cette recette ne serait donc pas essentiellement liée au pouvoir antibactérien des plantes qui la constituent. |
|  | **ABSTRACT** |
| **Introduction.** The treatments available for chronic wounds are numerous but for the most part inaccessible and less and less effective. Our work consisted in studying a traditional recipe used in the treatment of chronic wounds. The recipe was collected following an ethnobotanical survey carried out with a traditional healer. The plant material consisted of the trunk bark of *Petersianthus macrocarpus, Vernonia conferta,* and *root bark of Carica papaya*. **Materials and methods**. We carried out a botanical analysis of the plants as well as a phytochemical screening of the various extracts (aqueous and hydro-alcoholic macerates). Then, the determination of the antibacterial activity of these extracts consisted in the evaluation of the microbiological cleanliness, the determination of the sensitivity of three bacterial species strongly involved in the superinfection of wounds (*Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, and Escherichia coli*). The determination of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) were finally performed. **Results.** Except Escherichia coli, the other two germs have been shown to be sensitive to our extracts. However, no MIC could be defined precisely, making it difficult to determine CMB values anyway; anyway, we calculate and got results above 200 mg / ml for the vast majority. **Conclusion.** The curative property of this recipe is therefore not essentially linked to the antibacterial power of the plants which constitute it. |

**INTRODUCTION**

L’activité antibactérienne est la capacité à tuer ou inhiber la croissance des bactéries. L’antibiogramme standard est l’une des plus anciennes approches de détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques, et demeure l’une des méthodes les plus utilisées en routine. Le paramètre le plus souvent utilisé pour évaluer l’effet d’un antibiotique est la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI). Elle correspond à la concentration minimale d’antibiotique qui inhibe la croissance visible du germe en 24 heures. La CMI explore donc l’effet bactériostatique seulement, ce qui n’est pas limitatif sachant qu’en bactériologie clinique, le but le plus souvent recherché est l’inhibition de la prolifération bactérienne, dans la mesure où l’organisme est capable de se défendre contre les bactéries. La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) désigne la concentration d’une substance permettant d’obtenir, après 24h d’incubation à 37°C, 0.01% de bactéries viables ou moins[[1](#_ENREF_1)]. Près de 70% des plaies chroniques sont dues à des escarres ou des ulcères variés, d’’autres facteurs peuvent également être à l’origine de leur constitution: un processus inflammatoire prolongé, des agents physiques, des cancers [[2](#_ENREF_2)]. Leur diagnostic est surtout clinique (persistance de la plaie et échec des traitements), mais également microbiologique (biopsie) [[3](#_ENREF_3)]. Ces blessures préoccupent la communauté médicale depuis des siècles. Malgré la large gamme de thérapeutiques disponibles (antibiotiques, antiseptiques, pansements, agents actifs sur les biofilms bactériens, thérapie par pression négative, oxygénothérapie hyperbare), celles-ci peuvent s’avérer inefficaces ou matériellement inabordables. A cause des taux de mortalité non négligeables (7 à 8% dans le cas des escarres) liés aux septicémies qui peuvent en résulter, une gestion optimale des plaies chroniques est essentielle [[3](#_ENREF_3)]. Dans un contexte de faible pouvoir d’achat limitant l’accès à des soins onéreux, conjugué aux phénomènes de résistance des microorganismes aux anti-infectieux insuffisamment utilisés ou mal adaptés, il convient d’initier des approches thérapeutiques accessibles et efficaces pour la prise en charge de patients indigents. Aussi, nous référant sur les travaux antérieurs de l’équipe Abondo Ngono et *al*. (2015) sur la cartographie des tradipraticiens de la région du Centre, nous avons sélectionné opportunément une recette traditionnelle destinée au traitement des plaies chroniques et nous sommes proposés d’étudier son pouvoir antimicrobien. La recette est constituée d’écorces de trois plantes : *Petersianthus macrocarpus* (Lecythidaceae)*, Vernonia conferta* (Asteraceae), et *Carica papaya* (Caricaceae). Plus concrètement, notre étude a consisté dans un premier temps à collecter toutes les informations ancestrales sur cette recette et à les analyser, puis dans un deuxième temps à étudier l’efficacité de la préparation par le biais de tests d’activité adéquats, notamment l’évaluation de l’activité antibactérienne.

**MATÉRIELS ET MÉTHODES**

**Matériel végétal**

Il a été récolté en Février 2017 dans la région du Centre à Mbankomo, dans le département de la Méfou-et-Akono. L’identification s’est faite à l’Herbier National du Cameroun. Les écorces de tronc de *Petersianthus macrocarpus* ont été identifiées par comparaison avec l’échantillon de Endengle Elias N° 187 (19089/HNC), collecté le 07/03/1996. Les écorces de tronc de *Vernonia conferta* ont été identifiées par comparaison avec l’échantillon de Duncan W. Thomas N° 6847 (55447/HNC), collecté le 25/03/1987. Les écorces de racines de *Carica papaya* ont été identifiées par comparaison avec l’échantillon de ECOFAC N° 999 (66220/HNC), collecté le 08/09/1995.

Les écorces ont été séchées à l’ombre pendant une semaine puis réduites en poudre à l’aide d’un moulin à écraser électrique. L’analyse macroscopique et microscopique, de même que le screening phytochimique, ne seront pas développés dans cette étude.

**Matériel biologique**

***Souches bactériennes***

* *Staphylococcus aureus* ATCC 25922,
* *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853,
* *Escherichia coli* ATCC 25922,

Les souches nous ont été fournies par le Laboratoire National de Contrôle des Médicaments et d’Expertise (LANACOME).

***Milieux de culture***

* Trypticase Soy Agar (TSA)
* Trypticase Soy Broth (TSB)
* Baird Parker Agar (BPA)
* Mac Conkey Agar (MCA)
* Cétrimide Agar
* Mueller Hinton Agar (MHA)

***Solvants***

* Eau distillée,
* Eau salée 85%,
* Eau peptonée.

**Préparation des extraits**

Les poudres ont été extraites à l’aide de deux solvants : l’eau distillée et un mélange hydro-alcoolique 70/30, v/v avec de l’éthanol à 95°. 100g de poudre ont été mélangés dans 0.5L de solvant. Pendant trois jours, trois extractions successives ont été réalisées par macération, avec renouvellement du solvant toutes les 24h. Les trois extraits ont été réunis et filtrés à l’aide du papier Whatman® N°3. Les macérats hydro-alcooliques ont été passés à l’évaporateur rotatif (BÜCHI R-200®) puis tous les extraits ont été portés à l’étuve (GNP-9080®).

**Test de sensibilité des extraits**

***Propreté microbiologique des extraits*** *[*[*4*](#_ENREF_4)*]*

L’analyse du risque microbiologique dépend de plusieurs paramètres tels que : l’altération potentielle du produit, le site d’application, la catégorie d’utilisateurs et le caractère pathogène des microorganismes. Ce contrôle microbiologique concerne donc le dénombrement de la Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT), le dénombrement des levures/moisissures et la détection des pathogènes. Pour un produit à usage topique par exemple, les microorganismes recherchés seront essentiellement les pathogènes de la peau, à savoir *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans*. On pourra également rechercher un indicateur de contamination fécale tel qu’*Escherichia coli*, pour détecter une défaillance de l’hygiène au cours du processus de fabrication de ce produit.

***Préparation des suspensions bactériennes***

Les souches ont été cultivées sur TSA et 18 à 24 heures après, une colonie de chaque germe a été prélevée et mise en suspension dans de l’eau salée à 85%[[5](#_ENREF_5)]. Le mélange a été standardisé au spectrophotomètre afin d’avoir la même turbidité qu’un McFarland 0.5, soit une densité optique comprise entre 0.08 et 0.1[[6](#_ENREF_6)]. L’ajustement s’est fait par ajout de solution salée ou de bactéries selon le cas.

***Dépôt des extraits***

Les extraits ont été préparés avec de l’eau distillée stérile, à une concentration de 100 mg/ml. Chaque suspension bactérienne a été écouvillonnée sur la totalité d’une gélose TSA. Dix minutes plus tard, des disques de 8 mm de diamètre, imprégnés soit d’un extrait soit d’un témoin antibiotique (gentamicine, 40 mg/ml), ont été déposés à la surface. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 35±1°C en aérobiose pendant 16 à 20h, puis les diamètres d‘inhibition ont été mesurés.

***Détermination des CMI et CMB[***[***5***](#_ENREF_5)***]***

***Préparation de la gamme de concentration***

Des solutions d’extraits de concentration 200 mg/ml ont été préparées puis des séries de dilutions au demi ont été réalisées, afin d’obtenir des gammes de concentrations allant de 200 à 0,39 mg/ml.

***Préparation de l’inoculum bactérien***

Deux colonies de chaque espèce bactérienne ont été émulsionnées dans un tube à essai contenant 10 ml de TSB stérile et le mélange a été incubé à 37°C pendant 3 heures. 6 ml ont ensuite été prélevés et dilués dans 200 ml de bouillon stérile. Le mélange a été standardisé au spectrophotomètre afin d’avoir la même turbidité qu’un McFarland 0.5.

***Détermination des paramètres antibactériens***

Les CMI ont été déterminées par macrométhode (dilution en milieu liquide). Pour chaque extrait, une série de tubes à essais a été remplie suivant le tableau I ci-après puis ils ont été incubés à 37°C pendant 24h.

|  |
| --- |
| Tableau I : Dilution en milieu liquide |
| Tubes à essais | **Gammes de concentration** | **Inoculum** | **Eau distillée stérile** | **TSB stérile** |
| T1 | 1ml | 1ml | - | - |
| T2 | 1ml | 1ml | - | - |
| T3 | 1ml | 1ml | - | - |
| T4 | 1ml | 1ml | - | - |
| T5 | 1ml | 1ml | - | - |
| T6 | 1ml | 1ml | - | - |
| T7 | 1ml | 1ml | - | - |
| T8 | 1ml | 1ml | - | - |
| T9 | 1ml | 1ml | - | - |
| T10 | 1ml | 1ml | - | - |
| Témoin de croissance | - | 1ml | 1ml | - |
| Témoin de stérilité | - | - | 1ml | 1ml |

Les CMI correspondent aux plus petites concentrations des tubes pour lesquels on n’a pas observé de croissance bactérienne (trouble) à l’œil nu.

Le lendemain, des plaques de gélose Mueller Hinton stériles ont été inoculées séparément avec un échantillon de chacun des tubes à essai ne présentant aucune preuve de croissance. Elles ont été incubées à 37°C pendant 24h. La dilution la plus élevée qui n'a donnée aucune croissance bactérienne a été considérée comme bactéricide[[7](#_ENREF_7)].

**RÉSULTATS**

**Rendements d’extraction**

Ils sont répertoriés dans le tableau II ci-après.

|  |
| --- |
| Tableau II : Rendements d’extraction |
| Extraits | **Rendements (%)** |
| ***Vernonia conferta*** | ***Petersianthus macrocarpus*** | ***Carica papaya*** |
| Eau | 5 | 9.3 | 6 |
| Eau-Ethanol | 4.5 | 11.4 | 4.7 |

Ces rendements sont assez satisfaisants. Ils peuvent largement permettre une exploitation industrielle de la recette.

**Test de sensibilité**

Les valeurs en millimètre des diamètres moyens des zones d’inhibition relevées sur les géloses sont présentées dans le tableau III ci-dessous.

|  |
| --- |
| Tableau III : Diamètres moyens d’inhibition des souches étudiées par les extraits |
|  | **Extraits aqueux** | **Extraits hydro-alcooliques** | **Témoin** |
| ***V.c*** | ***P.m*** | ***C.p*** | **M** | ***V.c*** | ***P.m*** | ***C.p*** | **M** | **Gentam** |
| Concentrations (mg/ml) | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 40 |
| Diamètres (mm) | ***S. a*** | 24 | 13 | 12 | 12 | 11 | 12 | < 8 | < 8 | 43 |
| ***P. a*** | 14 | < 8 | 18 | 12 | 16 | < 8 | 18 | 12 | 51 |
| ***E. c*** | < 8 | 13 | < 8 | 11 | < 8 | < 8 | < 8 | < 8 | 38 |
| *V.c : Vernonia conferta**P.m : Petersianthus macrocarpus**C.p : Carica papaya*S*.a : Staphylococcus aureus**P.a : Pseudomonas aeruginosa**E.c : Escherichia coli*M: MélangeGentam : Gentamicine |

D’après Kouadio et *al.*[[5](#_ENREF_5)], un extrait n’est dit efficace sur un germe que lorsqu’il inhibe sa croissance sur au moins 9 mm de diamètre. En prenant en compte le diamètre des disques (8 mm), nous n’avons donc considéré comme intéressants que ceux supérieurs ou égaux à 17 mm. Ainsi, *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 s’est révélée sensible à l’extrait aqueux de *Vernonia conferta,* et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 aux extraits aqueux et hydro-alcooliques de *Carica papaya*.

*Escherichia coli* ATCC 25922 ne s’est pas révélé particulièrement sensible. Le diamètre moyen d’inhibition le plus important a été noté sur l’extrait aqueux de *Petersianthus macrocarpus*.

**Détermination des paramètres antibactériens**

Les valeurs obtenues sont présentées dans le tableau IV.

|  |
| --- |
| Tableau IV : Paramètres antibactériens |
|  | Extraits aqueux (mg/ml) |
| ***V.c.*** | ***P.m.*** | ***C.p.*** | **M** |
| **CMI** | **CMB** | **CMI** | **CMB** | **CMI** | **CMB** | **CMI** | **CMB** |
| *S. aureus* | nd | 100 | nd | >200 | nd | >200 | nd | >200 |
| *P. aeruginosa* | nd | >200 | nd | >200 | nd | >200 | nd | >200 |
| *E. coli* | nd | >200 | nd | >200 | nd | >200 | nd | >200 |
|  | **Extraits hydro-alcooliques (mg/ml)** |
| ***V.c.*** | ***P.m.*** | ***C.p.*** | **M** |
| **CMI** | **CMB** | **CMI** | **CMB** | **CMI** | **CMB** | **CMI** | **CMB** |
| *S. aureus* | nd | >200 | nd | >200 | nd | >200 | nd | >200 |
| *P. aeruginosa* | nd | >200 | nd | >200 | nd | >200 | nd | >200 |
| *E. coli* | nd | >200 | nd | >200 | nd | >200 | nd | >200 |
| *V.c : Vernonia conferta* *P.m : Petersianthus macrocarpus* *C.p : Carica papaya* M : Mélange nd : non déterminé |

Aucune CMI n’a pu être définie avec précision (observation d’un trouble) à cause de la couleur sombre et opaque des solutions d’extraits. La CMB la plus basse (100 mg/mL) correspondait à celle de l’extrait aqueux de *Vernonia conferta* sur *Staphylococcus aureus*.

**DISCUSSION**

Le préalable à la mise en œuvre des tests d’activités sur des extraits est l’évaluation de leur qualité microbiologique. Le dénombrement de la Flore Mésophile Aérobie Totale et des moisissures et levures totales (données non représentées) a donné des valeurs toutes comprises dans les limites préconisées par la Pharmacopée Européenne. En effet, elle tolère un degré de contamination des drogues végétales de 102 à 108 germes/g de plante, sous réserve d’une décontamination ultérieure. Cependant, les germes pathogènes doivent être absents. A l’exception de l’extrait aqueux de *Carica papaya* pour lequel nous avons observé une pousse de *Staphylococcus aureus*, les autres extraits se sont révélés exempts de pathogènes. De ce fait, l’extrait de *Carica papaya* a été décontaminé à l’autoclave avant utilisation.

Les tests d’activité antibactérienne ont ensuite été effectués sur trois microorganismes. Ces germes ont été choisis à cause de leur implication dans la phase de chronicité des ulcères phagédéniques ou ulcères tropicaux, complications liées à la surinfection des plaies.

La souche *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 s’est révélée sensible à l’extrait aqueux de *Vernonia conferta* (24 mm de diamètre d’inhibition). Ati et *al.* et Aliyu et *al.* ont également testé à la même concentration la sensibilité de souches de *Staphylococcus aureus* aux extraits alcooliques de *Vernonia calvoana* et *Vernonia blumeoides* respectivement, et ont obtenu des diamètres d’inhibition proches (22 mm)[[8](#_ENREF_8), [9](#_ENREF_9)].

La souche *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 s’est révélée sensible aux extraits aqueux et hydro-alcooliques de *Carica papaya* avec des diamètres moyens d’inhibition de 18 mm. Alabi et *al.* ont également testé la sensibilité de cette même souche à 100 mg/ml d’extrait éthanolique de feuilles sèches de *Carica papaya* et ont obtenu un diamètre inférieur, soit 12 mm[[10](#_ENREF_10)]. Cette différence pourrait s’expliquer par la nature de l’organe de la plante étudié. En effet, la nature et la quantité des métabolites secondaires peuvent varier selon les parties d’une plante et influencer de façon variable l’activité de celles-ci.

La souche *Escherichia coli* ATCC 25922 ne s’est pas révélée particulièrement sensible. Le diamètre moyen d’inhibition le plus important a été noté sur l’extrait aqueux de *Petersianthus macrocarpus* (13 mm). Mabeku et *al.* n’ont d’ailleurs obtenu qu’un diamètre égal à 6 mm pour le même extrait [[11](#_ENREF_11)].

En définitive, nos extraits se sont révélés efficaces sur *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, avec toutefois des valeurs de CMB assez élevées (centaines de mg). Celles-ci sont difficilement interprétables du fait que nous ne disposons pas de valeurs de CMI. Les extraits de *Vernonia conferta* semblent avoir un potentiel antibactérien plus intéressant, même si au final, le mélange des trois extraits donne des résultats peu satisfaisants. La propriété curative de cette recette ne serait donc pas essentiellement liée à son pouvoir antibactérien. Par conséquent, des travaux supplémentaires de recherche devront se poursuivre afin de tester et évaluer l’activité cicatrisante, activité ayant déjà été démontrée par Nayak et *al.* pour les feuilles de *Carica papaya* sur des plaies induites chez des rats diabétiques[[12](#_ENREF_12)].

**CONCLUSION**

L’activité antibactérienne des extraits a été testée sur trois germes très souvent isolés des plaies : *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*. Les deux premiers seulement se sont révélés sensibles à certains de nos extraits pris individuellement. Le mélange n’a quant à lui, montré aucune activité synergique. L’efficacité de cette recette traditionnelle ne dépend donc pas de son activité antibactérienne. Comme perspectives, nous envisageons d’évaluer son pouvoir cicatrisant *in vitro* voire *in vivo,* et réaliser ensuite des études pharmacotoxicologiques et de stabilité plus poussées, afin de produire un Médicament Traditionnel Amélioré de catégorie III, voire IV.

**Remerciements**

Nous remercions Pr Denis WOUESSIDJEWE et Pr Hortense GONSU pour la supervision attentive et la révision de ce document.

Nos remerciements vont également au Laboratoire National de Contrôle des Médicaments et d’Expertise (LANACOME) et son personnel, pour le plateau et l’assistance technique dans les analyses.

Nous remercions enfin Dr Evrard Marcel NGUIDJOE pour la contribution technique à la rédaction de ce manuscrit.

**RÉFÉRENCES**

1. Burnichon N, Texier A. L’antibiogramme : la détermination des sensibilités aux antibiotiques. D*ES Bactériologie*. Paris, 2003.
2. Stadelmann WK, Digenis AG, Tobin GR. Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. *American journal of surgery*. 1998;176(2A Suppl):26S-38S.
3. Edwards R, Harding KG. Bacteria and wound healing. *Current Opinion in Infectious Diseases*. 2004;17(2):91-6.
4. Pharmacopée Européenne. 9e Edition. 2016.
5. Kouadio NJ, Guessennd NK, Kone NW, Moussa B, Koffi YM, Guédé KB, et al. Evaluation de l’activité des feuilles de Mallotus oppositifolius (Geisel.) Müll.-Arg (Euphorbiaceae) sur des bactéries multirésistantes et criblage phytochimique. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 2015;9(3):1252-62.
6. Dickinson B. Standard de turbidité préparé *BBL*. Becton Dickinson and Company, 2005.
7. Yusha’u M, Onuorah F, Murtala Y. In vitro sensitivity pattern of some urinary tract isolates to Carica papaya extracts. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*. 2009;2(2):75-8.
8. Ati B, Iwara I, Bassey A, Igile G, Duke E, Ebong P. Antimicrobial Activity of Leaf Extract–Fractions of Vernonia calvoana against Selected Stock Cultures in Microbiology Laboratory, Cross River University of Technology, *Calabar. Int J Curr Microbiol App Sci.*2016;5(5):512-20.
9. Aliyu AB, Musa AM, Abdullahi MS, Ibrahim H, Oyewale AO. Phytochemical screening and antibacterial activities of Vernonia ambigua, Vernonia blumeoides and Vernonia oocephala (Asteraceae). *world*. 2011;10:11.
10. Alabi OA, Haruna MT, Anokwuru CP, Jegede T, Abia H, Okegbe VU, et al. Comparative studies on antimicrobial properties of extracts of fresh and dried leaves of Carica papaya (L) on clinical bacterial and fungal isolates. *Advances in Applied Science Research.*2012;3(5):3107-14.
11. Mabeku LBK, Roger KJ, Louis OEJ. Screening of some plants used in the cameroonian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *International Journal of Biology*. 2011;3(4):13.
12. Nayak BS, Pereira LP, Maharaj D. Wound healing activity of Carica papaya L. in experimentally induced diabetic rats. *Indian Journal of Experimental Biology Vol 45, August* 2007, pp. 739-743.