

Étude ethnobotanique, activité antifongique *in vitro* sur *Candida albicans* et toxicité sur les cellules HFF de *Harrisonia abyssinica* Oliv. (Simaroubaceae), une plante de la pharmacopée ivoirienne.

BENE Kouadio^{(1)*}, CAMARA Djeneb⁽¹⁾, FOFIE N'Guessan Bra Yvette⁽²⁾ et ZIRIHI Guédé Noël⁽¹⁾

⁽¹⁾ Laboratoire de Botanique, UFR Biosciences, Université Félix HOUPHOUËT BOIGNY de Cocody Abidjan ; 22 BP 582 Abidjan 22

⁽²⁾ Laboratoire de Pharmacognosie Botanique et Cryptogamie, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, Abidjan ; 22 BP 582 Abidjan 22

* Auteur correspondant, email : kouadio777@gmail.com / cel : (+225) 45 20 20 63

Original submitted in on 6th August 2015. Published online at www.m.elewa.org on 31st October 2015

<http://dx.doi.org/10.4314/jab.v94i1.4>

RÉSUMÉ

Objectif : Connaître les plantes médicinales antimicrobiennes du Département de Transua, évaluer l'activité antifongique et la toxicité de l'espèce la plus sollicitée afin d'aider les populations et surtout les immunodéprimés.

Méthodes et résultats : Une étude ethnobotanique menée dans le Département de Transua à l'aide de questionnaires a permis de recueillir des informations sur les usages thérapeutiques des plantes antimicrobiennes de la région. Elle a permis d'inventorier onze espèces de plantes. Le taxon *Harrisonia abyssinica* Oliv. (Simaroubaceae), est le plus sollicité. La méthode de double dilution en tubes penchés sur gélose Sabouraud a été utilisée pour l'évaluation de l'activité antifongique des extraits de cette plante. Les extraits éthanolique (EE70%) et résiduel aqueux (ERA) de feuilles testés possèdent une activité antifongique. EE70% est le plus actif (la CMI = 0,781 mg/ml, la CI₅₀ = 0,08 mg/ml et la CMF = 50 mg/ml). De plus l'étude de la toxicité sur les cellules HFF de EE70% a révélé qu'il n'est pas cytotoxique.

Conclusion et application : Ces résultats révèlent que le Département de Transua renferme des plantes antimicrobiennes. *Harrisonia abyssinica* possèdent une activité antifongique et n'est pas toxiques sur les cellules humaines. Cela suggère une certaine sécurité d'emploi de ces substances végétales dans le traitement traditionnel des mycoses.

Mots-clés : Mycoses, *Harrisonia abyssinica*, *Candida albicans*, Cellules HFF, Transua.

Ethnobotanical survey, *in vitro* antifungal activity on *Candida albicans* and toxicity on HFF cells of *Harrisonia abyssinica* Oliv. (Simaroubaceae), Ivoirian pharmacopoeia plant.

ABSTRACT

Objective: To know the antimicrobial medicinal plants used in Transua Department, to evaluate antifungal activity and the toxicity of the most appropriate specie in order to help people and especially those immunocompromised and suffering from opportunistic diseases.

Methods and Results: An ethnobotanical survey was conducted in Transua Department using a questionnaire revealed eleven species of antimicrobial medicinal plants. The *Harrisonia abyssinica* taxon is most stressed. Antifungal activity was tested using double dilution method in angle sloping tubes on Sabouraud Agar. Ethanolic (EE70%) and residue (ERA) extracts of leaves tested exhibit antifungal activity. EE70% was the most active (MIC = 0.781 mg/ml, IC₅₀ = 0.08 mg/ml and MFC = 50 mg/ml). In addition, the study of toxicity on cells HFF of EE70% revealed that it is not cytotoxic.

Conclusion and application: These results show that Department of Transua contain antimicrobial plants. *Harrisonia abyssinica* has antifungal activity and it not toxic on human cells. This suggests some safety of these vegetable substances in the traditional treatment of mycoses.

Keywords: Mycoses, *Harrisonia abyssinica*, *Candida albicans*, HFF Cells, Transua.

INTRODUCTION

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en développement qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé primaires et leurs subsistances (Salhi et al., 2010). En Afrique de l'Ouest, comme dans le reste du continent, plus de 80% de la population ont recours à la médecine traditionnelle pour leurs soins de santé primaire (Sanogo, 2006). Cela s'explique par le coût de plus en plus élevé des médicaments modernes surtout les antibiotiques (Ouattara et al., 2008). Malheureusement, on constate que ces dernières années les maladies infectieuses ont connu une forte recrudescence. Au niveau des mycoses (infections à champignons microscopiques), les candidoses constituent des affections opportunistes très fréquentes chez des sujets vivant avec le VIH (Dieng, 2005). Ces infections généralisées chez des sujets sévèrement immunodéprimés conduisent souvent à des décès. L'incidence des mycoses invasives se développant chez les patients immunodéprimés s'est modifiée ces dernières années (Pierquin, 2010). Ce sont, essentiellement, des dermatophytoses dues à des dermatophytes ou des candidoses causées par des levures. Les candidoses qui constituent les

plus fréquentes des infections à levures sont naturellement présentes sur la peau et dans l'intestin. Sur la peau, elles se rencontrent fréquemment dans les plis et aux fesses, surtout chez les jeunes enfants (Tra Bi et al., 2007). *Candida albicans* est l'un des principaux responsables. Ce champignon est un pathogène opportuniste, très virulent en cas de baisse d'immunité, notamment chez le malade atteint du VIH. Il peut induire diverses infections mycosiques telles que les mycoses cutanées, muqueuses, phanériennes, septicémiques ou viscérales. Pour aider les populations et surtout les immunodéprimés à tirer un réel avantage de l'usage des plantes médicinales, nous avons entrepris d'évaluer sur le plan scientifique, l'efficacité des plantes à vertus thérapeutiques anti-infectieuses ainsi que leur toxicité sur les cellules humaines afin de parvenir à la production de nouvelles molécules à base de plantes qui seraient efficaces contre les mycoses, à moindre coût et accessibles à tous. Ainsi, par une enquête ethnobotanique menée dans le Département de Transua, avons-nous répertorié plusieurs plantes médicinales utilisées pour le traitement des maladies de la peau et du cuir chevelu, principalement les mycoses superficielles et qui

sont très employées par les tradithérapeutes. Parmi ces plantes, *Harrisonia abyssinica* Oliv. (Simaroubaceae) est la plus sollicitée. Dans le Département de Transua, on attribue à cette plante diverses propriétés antiparasitaires et anti-infectieuses. Les feuilles sont les plus utilisées dans la préparation des recettes thérapeutiques.

MATÉRIEL

Milieu d'étude : Le Département de Transua, zone de notre investigation est d'une superficie d'environ 1 060 Km². Il est limité au Nord par le Département de Bondoukou, à l'Ouest par celui de Tanda, au Sud par le Département de Koun-Fao et à l'Est par le Ghana (pays voisin). Il compte trois sous-préfectures à savoir Transua, Assueffry et Kouassia Niaguni.

Matériel végétal : Le matériel végétal est constitué de l'ensemble des plantes récoltées au cours de notre enquête ethnobotanique. Pour cette étude, nous nous sommes intéressés aux feuilles de *H. abyssinica*.

Souche fongique : L'évaluation de l'activité antifongique a été faite sur *Candida albicans*. La souche étudiée provient du Laboratoire de Mycologie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI). Fournie par le service de mycologie de l'UFR des Sciences Médicales de l'Université Félix Houphouët-Boigny (Abidjan), la levure a été prélevée sur des malades du SIDA du service des maladies infectieuses du CHU de Treichville. Elle a été isolée et cultivée sur gélose de Sabouraud Agar contenant du chloramphénicol (Ref : M1067-500G, lot : 0000215703) produit par HIMEDIA.

Cellules HFF : Les cellules HFF, Human Foreskin Fibroblasts (ou Fibroblastes de prépuce humain), ont été utilisées pour ce travail. Elles ont la particularité de former un tapis cellulaire après plusieurs jours de culture (4 jours), on dit alors qu'elles sont confluentes, elles arrêtent de se diviser par inhibition de contact. Lorsque ces cellules sont en culture depuis seulement 24 heures, elles sont dans un état de mitose (ou cellules en division). Ces cellules sont utilisées pour apprécier la cytotoxicité de plusieurs types de molécules.

MÉTHODES

Enquête ethnobotanique : L'enquête ethnobotanique a été réalisée à l'aide d'une fiche remplie par interrogation orale en langue locale, le Brong. Le questionnaire a été axé sur les habitudes thérapeutiques de la population Brong de Transua en

Mayaka (2007) confirme que la plante est utilisée pour traiter les maladies de la peau. Notre étude vise donc à évaluer l'activité anticandidosique de trois extraits de feuilles de *Harrisonia abyssinica* sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans* et la toxicité sur les cellules HFF.

matière de lutte contre les maladies de la peau. La fiche d'enquête comportait des questions sur le nom local de l'espèce, les organes ou parties de la plante utilisée, leurs modes de préparation et d'administration des recettes, l'état d'utilisation (frais ou sec), le type d'infection traité. Dans cette étude, la nomenclature des espèces de plantes suit celle de Cronquist (1981).

Préparation des extraits : Les feuilles de *H. abyssinica* récoltées, ont été rincées à l'eau et séchées à l'abri du soleil. Ces organes végétaux séchés ont été ensuite réduits en poudre fine grâce à un broyeur électrique IKA-MAG RTC. On obtient une poudre de couleur verdâtre. Les extraits (total aqueux, éthanolique 70% et résiduel aqueux) ont été préparés selon la méthode décrite par Zirihi et al. (2003).

Extrait total aqueux : Cent grammes (100 g) de poudre de feuilles sont homogénéisés dans 1 litre d'eau distillée dans un Blender (Mixer) de marque Life's Superb (LS-317) pendant trois fois trois minutes à la température ambiante. L'homogénat verdâtre obtenu est filtré successivement sur du coton hydrophile puis sur du papier Wattman (3 mm). A l'aide d'une étuve réglée à 50°C, le solvant d'extraction est éliminé. L'évaporat sec est récupéré sous forme de poudre et constitue l'extrait total aqueux (ETA).

Partition éthanol/eau : Dix grammes (10 g) de l'ETA sont dissouts dans 200 ml d'une solution d'éthanol 70% (70 ml d'éthanol pur 96% pour 30 ml d'eau distillée) puis homogénéisés dans un Blender. Après décantation dans une ampoule à décanter, le surnageant est recueilli, filtré sur du coton pour le débarrasser de tout résidu et séché à l'étuve (50°C). La poudre obtenue constitue l'extrait éthanolique 70% (EE70%).

Extrait résiduel aqueux : De l'expérience précédente, la phase inférieure (résiduelle aqueuse) est recueillie et séchée à l'étuve (50°C). La poudre obtenue constitue l'extrait résiduel aqueux (ERA).

Calcul du rendement : Le rendement est la quantité d'extrait obtenue à partir de la poudre végétale. Il est

exprimé en pourcentage ou est sans unité. En pratique, il est déterminé par le rapport du poids de l'extrait sec après évaporation sur le poids de la poudre de matière végétale sèche utilisée pour l'extraction, multiplié par 100. Ceci se traduit par la formule suivante : $Rd = (m \times 100) / M$. (Rd : rendement d'extraction en pourcentage, m : masse en gramme de l'extrait sec, M : masse en gramme de la poudre de drogue).

Activité antifongique

Préparation des milieux de culture : L'incorporation des extraits végétaux à la gélose Sabouraud a été faite selon la méthode de la double dilution en tubes penchés (Kra, 2001). Tous les extraits ont été testés séparément. Chaque série comporte 12 tubes à essai dont 10 tubes tests (contenant l'extrait végétal) et 2 tubes témoins (un sans extrait végétal, sert de témoin de contrôle de croissance du germe ; l'autre sans germe et sans extrait sert de témoin de contrôle de stérilité du milieu de culture). Pour les dix tubes tests, les concentrations des extraits variaient de 50 à 0,098 mg/ml selon une liaison géométrique de raison 1/2.

Stérilisation : Les 12 tubes de chaque série ont été stérilisés à l'autoclave (PBI STEMATIC III) à 121°C pendant 15 minutes et ensuite inclinés avec petit culot à la température de la salle pour permettre le refroidissement et la solidification de la gélose (Kporou et al., 2009).

Évaluation de l'activité Antifongique : L'inoculum est préparé à partir de cultures de germes de 48 heures sur gélose en pente. Ces germes sont prélevés à l'aide d'une anse de platine, puis homogénéisés dans 10 ml d'eau distillée stérilisée. On obtient ainsi une suspension 10^0 de germes, à partir de laquelle est préparée la suspension 10^{-1} , par dilution au dixième, en transférant 1 ml de la suspension 10^0 dans 9 ml d'eau distillée stérile pour avoir un volume final de 10 ml. La culture des germes sur les milieux précédemment préparés a été faite par l'ensemencement en stries transversales serrées jusqu'à épuisement de 1000 levures de la souche de *C. albicans* équivalent à 10^6 de la suspension 10^{-1} contenant 10^5 germes/ml (Holt, 1975). Les cultures ainsi réalisées ont été incubées à la température de la salle pendant 72 heures.

Dénombrement des colonies : Après le temps d'incubation, les colonies de germes fongiques ont été dénombrées par comptage direct grâce à un stylo compteur de colonies de type Geiger. La croissance dans les 10 tubes expérimentaux a été évaluée en pourcentage de survivance, calculé par rapport à 100%

de survivance dans le tube témoin de contrôle de la croissance (Zirih et al., 2003). La méthode de calcul du pourcentage de survivance s'est faite selon la formule suivante :

$$S = (n/N) \times 100$$

(S = Survivance de *Candida albicans* en pourcentage, n = nombre de colonies dans le tube témoin, N = Nombre de colonies dans le tube expérimental).

Paramètres antifongiques recherchés : Le traitement des données a permis de déterminer les paramètres antifongiques suivants :

- **La CMI** (Concentration Minimale Inhibitrice) : c'est la concentration d'extrait dans le tube pour lequel il n'y a aucune croissance visible à l'œil nu.

- **La CI_{50}** (Concentration pour cinquante pour cent d'Inhibition) : c'est la concentration qui donne 50% d'inhibition. Elle est déterminée graphiquement à partir du tracé de courbe de sensibilité de chaque extrait sur *C. albicans*.

- **La Fongicidie (CMF ou CFS) :** après les 72h d'incubation, la surface de la gélose contenue dans les tubes tests ayant résisté à *C. albicans* est légèrement prélevée,ensemencée à l'aide d'une anse de platine sur gélose neutre puis incubée pendant 72h à la température de la salle. Deux cas peuvent se présenter :

- présence de colonies de *C. albicans*, l'extrait est dit **fongistatique**. On détermine ainsi **la CFS** (Concentration Fongistatique).

- absence de colonies de *C. albicans*, l'extrait est dit **fongicide**. Cette dernière observation permet de déterminer **la CMF** (Concentration Minimale Fongicide qui donne 99,99 % d'inhibition comparativement au tube témoin de contrôle de croissance).

- **La courbe de sensibilité :** elle représente l'évolution de la sensibilité de *C. albicans* en fonction des variations de la concentration de l'extrait.

Toxicité sur les cellules HFF : Les tests de cytotoxicité ont été réalisés au LAPM (Laboratoire Adaptation et Pathogénie des Microorganismes) à Grenoble en France. Seul la toxicité de l'extrait éthanolique 70% (extrait le plus actif) a été évaluée. Ces tests sont inspirés de la méthode de Mossman (1983). Les cellules HFF sont cultivées à 37°C, sous 5 % de CO_2 dans un milieu D10 (Dulbecco Minimum Essential Medium, Gibco, additionné de sérum de veau fœtal 10 % ; glutamine 1 % ; pénicilline 50 U.ml⁻¹ et streptomycine 50 µg/µl). Pour mesurer la toxicité de

Bene et al. J. Appl. Biosci. 2015 Étude ethnobotanique, activité antifongique *in vitro* sur *Candida albicans* et toxicité sur les cellules HFF de *Harrisonia abyssinica* Oliv. (Simaroubaceae), une plante de la pharmacopée ivoirienne.

EE70%, les cellules HFF (Human Foreskin Fibroblasts) ont été ensemencées dans des plaques de 96 puits (*CellStar*) à raison de 3000 à 5000 cellules par puits dans 100 µl de milieu D10. Ces cellules sont maintenues en culture pendant 24 heures (cellules en division) ou 96 heures (cellules confluentes). Par la suite elles ont été exposées pendant 24 heures à différentes concentrations (125 à 1000 µg/ml) en extrait de plante solubilisé dans du tampon PBS. Cela a été fait en triplicate. La viabilité a été déterminée à l'aide du bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium (MTT). L'anneau de tétrazolium qu'il contient est réduit en formazan par la succinate déshydrogénase mitochondriale des cellules métaboliquement actives, qui précipite et donne une

couleur violette. La quantité du précipité formé est proportionnelle au nombre de cellules vivantes. Dans chaque puits, le MTT est ajouté à une concentration de 500 µg/ml et incubé pendant 3h à 37°C. Les cristaux de formazan sont solubilisés dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) 10 mM. La mesure de la densité optique à 544 nm a été faite à l'aide d'un spectrophotomètre Safir (Tecan); cette mesure de l'absorbance permettra de déterminer la quantité relative de cellules vivantes et actives métaboliquement. Les résultats ont été exprimés en pourcentage de viabilité par rapport au contrôle sans extrait de plante.

$$\text{Taux viabilité} = (\text{Abs}_{544 \text{ nm}} \text{ extrait} / \text{Abs}_{544 \text{ nm}} \text{ témoin}) \times 100.$$

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Données ethnobotaniques

Analyse floristique : L'enquête dans le Département de Transua a permis de répertorier onze (11) espèces de plantes utilisées dans le traitement des maladies de la peau. Elles sont réparties en onze (11) genres et sept (07) familles botaniques (Tableau 1).

La famille des Euphorbiaceae est la plus représentée avec quatre (04) espèces soit 36,36%. Cette représentativité a également été observée au cours des

enquêtes ethnobotaniques réalisées dans d'autres régions du pays par Zirih (1991) chez les Bété d'Issia 4,76% et N'Guessan (2008) 6,27% chez les peuples Abbey et Krobou d'Agboville. Cela s'expliquerait par le fait que, dans la flore ivoirienne, les Euphorbiaceae sont les plus représentées numériquement (Aké-Assi, 1984).

Tableau 1 : Données ethnobotaniques sur l'ensemble des plantes recensées

Taxons	Familles	Parties utilisées	Mode de préparation	Voie d'administration
<i>Ageratum conyzoides</i> L.	Asteraceae	Feuilles	Expression	Voie cutanée
<i>Alchornea cordifolia</i> Mull. Arg.	Euphorbiaceae	Feuilles	Expression	Voie cutanée
<i>Boerhavia diffusa</i> L.	Rubiaceae	Rameaux feuillés	Broyage	Voie cutanée
<i>Borreria verticillata</i>	Euphorbiaceae	Rameaux feuillés	Broyage	Voie cutanée
<i>Cassia alata</i> L.	Caesalpiniaceae	Feuilles	Broyage	Voie cutanée
<i>Euphorbia hirta</i> L.	Euphorbiaceae	Rameaux feuillés	Broyage	Voie cutanée
<i>Harrisonia abyssinica</i> Oliv.	Simaroubaceae	Feuilles	Décoction Broyage	Voie cutanée
<i>Mitracarpus scaber</i> Zucc.	Rubiaceae	Feuilles	Broyage	Voie cutanée
<i>Ricinus communis</i> L.	Euphorbiaceae	Graines	Expression	Voie cutanée
<i>Terminalia ivorensis</i> A. Chev.	Combretaceae	Ecorces de tige	Broyage	Voie cutanée
<i>Zanthoxylum parvifolium</i> A. Chev. ex Keay A	Rutaceae	Ecorces de tige	Broyage	Voie cutanée

Parties de la plante utilisée : Les feuilles (y compris rameaux feuillés) avec 72,73% sont les parties les plus utilisées. Les études ethnobotaniques menées par les auteurs comme Diatta et al. (2013) 46% et Béné (2014)

64% ont montré également que les feuilles sont les parties majoritairement utilisées dans les différentes préparations thérapeutiques. Le prélèvement intense des feuilles ne présente pas de danger pour la plante.

Bene et al. J. Appl. Biosci. 2015 Étude ethnobotanique, activité antifongique *in vitro* sur *Candida albicans* et toxicité sur les cellules HFF de *Harrisonia abyssinica* Oliv. (Simaroubaceae), une plante de la pharmacopée ivoirienne.

Mode de préparation : Trois modes de préparation sont employés dans le traitement des maladies de la peau dans cette étude : la décoction (8,33%), l'expression (25%) et le broyage (66,67%). Le broyage des organes frais est le plus sollicitée dans le Département pour le traitement des mycoses.

Mode d'administration : La voie cutanée est le mode d'administration principalement utilisé (100%). Diatta et al. (2013) et Béné (2014) ont dans leur étude respective montré que la percutanée ou la voie cutanée est la voie la plus employée. Cela pourrait se justifier par le fait que les mycoses sont des affections généralement externes. De l'enquête ethnobotanique, *Harrisonia abyssinica* est la plante la plus sollicitée. Tous les tradipraticiens rencontrés ont cité la plante.

Étude botanique de *Harrisonia abyssinica*

Synonyme : *Harrisonia occidentalis* Engl. (1895).

Phytogéographie : Les Simaroubaceae sont représentées en Côte d'Ivoire par six espèces, réparties en cinq genres dont un seul africain (*Gymnostemon*) et quatre pluricontinentaux dont le genre *Harrisonia*. *H. abyssinica* est un taxon microphanérophyte répandu dans toute la région guinéo-congolaise (forêt dense humide). Échantillons

comparés au Centre National de Floristique : Route de Grand-Lahou, forêt du Bandaman, 02 avril 1968, Aké-Assi, 12112 ; Lamto, 30 mai 1989, Gautier 1333.

Morphologie externe de *H. abyssinica* : Description selon Kokwaro (1993), *H. abyssinica* est un arbuste ou petit arbre sempervirent, fortement ramifié, parfois grimpant, atteignant 6-13 m de haut ; fût et grandes branches garnis d'épines atteignant 2 cm de long sur des excroissances liégeuses coniques ; écorce brun pâle à grise ; branches longues et souples. Feuilles alternes, composées imparipennées à 2-7 paires de folioles, atteignant 25 cm de long, glabres ou poilues ; stipules absentes ; pétiole atteignant 3 cm de long, à 2 épines recourbées à la base, pétiole et rachis à ailes larges de 1-3 mm ; pétiolules de 0-2 mm de long ; folioles elliptiques ou largement obovales à presque circulaires, base asymétrique, cunéiforme à arrondie, apex arrondi à acuminé, bords variablement dentés ou entiers. Inflorescence : panicule axillaire ou terminale, érigée, glabre à poilue. Fleurs bisexuées, régulières, 4-5(-6) mères ; pédicelle de longueur variable. Fruit : baie globuleuse déprimée 4-8lobée, rouge à noire à maturité, glabre, charnue, à 4-8 graines (Figure 2).



A. : 1, rameau en fleurs ; 2, détail de rameau et de feuille ; 3, fruit. (Emongor, 2008)



B. : Rameau fructifère (Photo BENE, 2015)

Figure 2 : A et B : *Harrisonia abyssinica* Oliv.

Bene et al. J. Appl. Biosci. 2015 Étude ethnobotanique, activité antifongique *in vitro* sur *Candida albicans* et toxicité sur les cellules HFF de *Harrisonia abyssinica* Oliv. (Simaroubaceae), une plante de la pharmacopée ivoirienne.

Ecologie : *Harrisonia abyssinica* est présent dans les forêts sempervirentes sèches, en lisière de forêts, dans les savanes arborées, les ripisylves et les régions côtières, depuis le niveau de la mer jusqu'à 1700 m

d'altitude. Il peut former d'épais fourrés sur les sols érodés (Kokwaro, 1993).

Quelques travaux antérieurs sur *H. abyssinica* :

Plante	Organes utilisées	Indications thérapeutiques
<i>H. abyssinica</i> Oliv.	Feuilles, racines, écorces de tiges	Fongicide, anthelminthique (De Souza, 1988) ; diarrhée-dysenterie (Abbiw, 1990) ; morsures de serpent (Balde et al., 1995), gale, varicelle, mal de ventre (Tra-Bi, 1997) ; maux de tête (.Schmelzer et al., 2010) ; ...

Extraction

Rendement de l'extrait total aqueux (ETA) : Pour deux cent (200) grammes de poudre de *H. abyssinica*, nous avons obtenu 50 grammes d'extraits totaux aqueux soit Rd = 25%.

Rendement de la partition éthanol/eau : Pour dix (10) grammes de ETA fractionnés, on obtient : 8,60 grammes de EE70% (Rd = 86%) et 1,10 g de ERA (Rd = 11%).

Effet des extraits de *H. abyssinica* sur *Candida albicans* : Après 72h d'incubation, on observe comparativement au tube témoin, une baisse progressive du nombre de colonies de *C. albicans* au fur et à mesure que les concentrations des extraits

EE70% et ERA augmentent dans les tubes expérimentaux. L'ETA a été inactif sur *C. albicans* aux différentes concentrations de cette étude. Les courbes des deux extraits (EE70% et ERA) présentent une allure décroissante avec des pentes fortes (Figure 3). Néanmoins, la pente de EE70% est plus forte que celle de ERA parce que plus proche de l'axe des ordonnées. Les deux courbes coupent l'axe des abscisses à différentes concentrations (respectivement à 0,781 et 3,125 mg/ml pour EE70% et ERA). Cela illustre bien la sensibilité dose dépendante de *C. albicans*. Les paramètres antifongiques (CMI, CI₅₀ et CMF) des extraits sont consignés dans le Tableau 2.

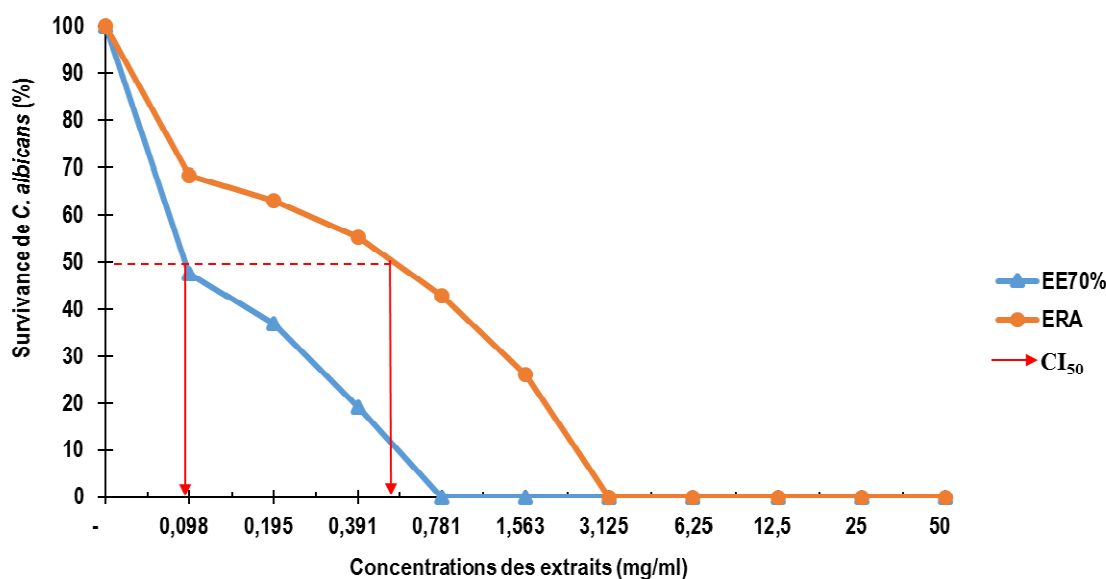


Figure 3 : Courbes de sensibilité de *Candida albicans* aux extraits (ERA et EE70%) de *H. abyssinica*

Bene et al. J. Appl. Biosci. 2015 Étude ethnobotanique, activité antifongique *in vitro* sur *Candida albicans* et toxicité sur les cellules HFF de *Harrisonia abyssinica* Oliv. (Simaroubaceae), une plante de la pharmacopée ivoirienne.

Tableau 2 : Valeurs des paramètres antifongiques des trois extraits de *H. abyssinica* à 72 heures d'incubation.

Extraits de Ha	Paramètres antifongiques			Fongicide
	CMI (mg/ml)	Cl ₅₀ (mg/ml)	CMF (mg/ml)	
ETA	Pas d'inhibition, pas de Cl ₅₀ ni de CMF			
EE70%	0,781	0,08	50	Fongicide
ERA	3,125	0,55	50	Fongicide

L'analyse des résultats montre que hormis ETA, *Candida albicans* est sensible à ERA et EE70% selon une relation dose-reponse. Les valeurs de concentrations inhibitrices obtenues attestent que les extraits ont des activités antifongiques plus ou moins accentuées. Cette étude montre que la partition de ETA par le solvant éthanol / eau (respectivement 70% et 30%) est une méthode qui permet de concentrer mieux les principes actifs. Leurs effets sont ainsi révélés. L'ETA contiendrait un ensemble de molécules de petites, moyennes et de grandes tailles. Cet ensemble masquerait l'activité des molécules actives présentes dans ETA (effet de masse). En effet, l'eau est un solvant qui extrait un grand groupe de composés chimiques. Ainsi, après la partition éthanol/eau, l'EE70% concentre donc beaucoup de principes actifs de faibles et de moyennes tailles (terpénoïdes, les phénols, les polyphénols, les quinones etc.) pouvant mieux exprimer leur potentiel antifongique, d'où l'activité observée. L'activité observée avec ERA pourrait s'expliquer par le fait que les molécules présentent dans cette fraction sont après la partition

plus libres et peuvent révéler leurs activités. Le rapport d'efficacité établi sur la base des Cl₅₀, montre que : $Cl_{50(ERA)} / Cl_{50(EE70\%)} = 0,55 / 0,08 = 6,8$. Ce qui signifie que EE70% de *H. abyssinica* est 6,8 fois plus actif que ERA. Les travaux de Bagré et al. (2014) portant sur l'activité antifongique des feuilles de *Saba comorensis* sur *C. albicans* ont montré que l'extrait butanolique et l'extrait acétalique (Eac) avaient respectivement une Cl₅₀ de 2 et 4,5 mg/ml. Le rapport d'efficacité avec nos résultats donne :

$$Cl_{50(\text{Butanolique})} / Cl_{50(EE70\%)} = 2 / 0,08 = 25$$

$$Cl_{50(\text{Eac})} / Cl_{50(EE70\%)} = 4,5 / 0,08 = 56,25$$

Ce qui signifie que l'extrait éthanolique 70% de *H. abyssinica* est 56,25 fois plus actif que l'extrait acétalique de *Saba comorensis* et 25 fois plus actif que son extrait butanolique.

Effet des extraits sur les cellules humaines HFF :

L'extrait éthanolique de *H. abyssinica* a très peu d'effet toxique sur les cellules humaines (Figure 4), que ce soit les cellules en division ou les cellules confluentes.

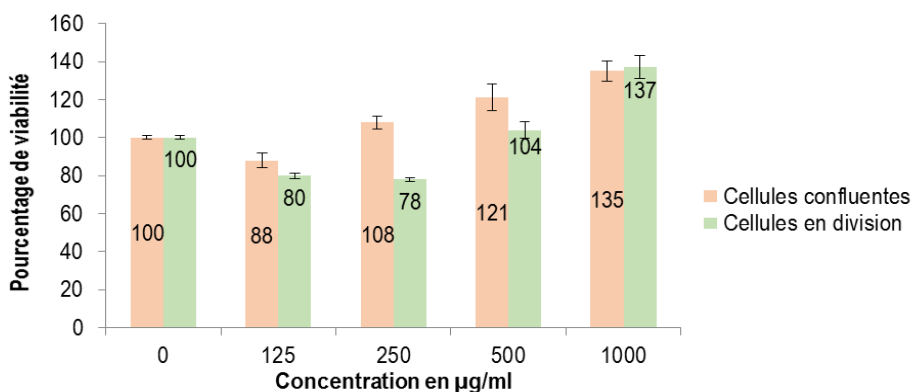


Figure 4 : Taux de viabilité des cellules HFF en présence d'extrait éthanolique de *H. abyssinica*

Bene et al. J. Appl. Biosci. 2015 Étude ethnobotanique, activité antifongique *in vitro* sur *Candida albicans* et toxicité sur les cellules HFF de *Harrisonia abyssinica* Oliv. (Simaroubaceae), une plante de la pharmacopée ivoirienne.

La légère baisse qu'on observe sur le taux de viabilité aux faibles concentrations en extraits de plante (125 µg/ml et 250 µg/ml) pourrait être dû à la présence dans l'extrait d'une molécule qui aurait un petit effet néfaste. Aux concentrations élevées, il y aurait une retro-inhibition de la molécule ; ou alors l'effet néfaste pourrait être masqué par l'effet stimulant d'autres molécules. Lorsque les cellules sont en arrêt de division (cellules confluentes), l'effet de *H. abyssinica* sur la viabilité est moindre par rapport aux cellules en division. A la concentration la plus élevée qui est de 1000 µg/ml, on observe une hausse du taux de viabilité dans les deux conditions : cellules en division et cellules en arrêt de division. Dans le test MTT,

CONCLUSION

Cette étude nous a permis de révéler onze espèces de plantes médicinales antimicrobiennes utilisées par les Brong du Département de Transua. *Harrisonia abyssinica* est le taxon le plus sollicité. Les Euphorbiaceae sont les plus représentées. De l'évaluation des activités biologiques *in vitro*, il ressort

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier le Centre National de Floristique (CNF) de l'Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody-Abidjan pour l'identification et la confirmation des noms des espèces végétales ; le Laboratoire de Biochimie et de microbiologie de École

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbiw DK, 1990. Useful plants of Ghana. West African uses of wild and cultivated plants. Royal Botanic Gardens, Kew, London, 337 p.
- Aké-Assi L, 1984. Flore de la Côte-d'Ivoire. Étude descriptive et biogéographique avec quelques notes ethnobotaniques. Tome I. II. III. Thèse Doct. Ès-Sci. Nat., F.A.S.T. Univ. Abidjan, 1205 p.
- Aké-Assi L, 2001. Flore de la Côte d'Ivoire: catalogue systématique, biogéographie et écologie. Conservatoire et Jardin Botanique, Genève, Switzerland, Boisiera 57; Volume I, 396p.
- Bagré I, Gui PA, Doumbia I, M'Boh GM, N'Guessan J-D, Djaman AJ, and Coulibaly A, 2014. Antifungal activity of *Saba comorensis* (Bojer EX A.DC.) Pichon against *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. The experiment (Int. J. Sc. Tech.) 20(4) : 1415-1420.

lorsqu'un taux de viabilité est important cela suggère que soit la succinate déshydrogénase (SDH) est activée, soit un facteur de croissance booste la mitose. Dans ce cas précis, on suppose que c'est la SDH qui est activée, puisque quand les cellules qui sont en arrêt de division on observe cette augmentation de la viabilité. La SDH est une enzyme qui intervient dans la respiration mitochondriale, lorsque dans une cellule, la SDH est très active, cela implique que la cellule est métaboliquement très active. La CI₅₀ de l'extrait éthanolique de *H. abyssinica* sur *Candida albicans* est de 80 µg/ml, à cette concentration, nous pouvons affirmer que la plante n'est pas toxique pour les cellules humaines.

que deux extraits (EE70% et ERA) sur trois sont actifs avec une meilleure activité de EE70% (CMI = 0,781 mg/ml, CI₅₀ = 0,08 mg/ml et CMF = 50 mg/ml). Cet extrait n'est pas cytotoxique. Cette étude justifie l'utilisation en milieu traditionnel de *Harrisonia abyssinica*.

Normale Supérieur (ENS) pour les activités antifongique et le Laboratoire Adaptation et Pathogénie des Microorganismes (LAPM) à Grenoble en France pour les tests de cytotoxicité.

- Balde AM, Pieters L, De Bruyne T, Geerts S, Vanden Berghe D, Vlietinck A, 1995. Biological investigations on *Harrisonia abyssinica*. Phytomedicine. 14 : 299-302.
- Béné K, 2014. Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le Département de Transua (Côte d'Ivoire). Mémoire de Master de Biodiversité et Valorisation des Écosystèmes (Ecologie Tropicale-Option Végétale), UFR Biosciences, Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire, 50p.
- De Souza C, 1988. Flore du Bénin, tome 3. Noms des plantes dans les langues nationales Béninoises. Université Nationale du Bénin. Cotonou, 424 p.
- Diatta CD, Gueye M, Akpo LE, 2013. Les plantes médicinales utilisées contre les dermatoses dans la pharmacopée Bainouk de Djibonker,

Bene et al. J. Appl. Biosci. 2015 Étude ethnobotanique, activité antifongique *in vitro* sur *Candida albicans* et toxicité sur les cellules HFF de *Harrisonia abyssinica* Oliv. (Simaroubaceae), une plante de la pharmacopée ivoirienne.

- région de Ziguinchor (Sénégal). Journal of Applied Biosciences, 70 : 5599-5607.
- Dieng Y, Faye-Niang MA, Ndour-Diop A, 2005. Sensibilité aux antifongiques des souches de *Candida* responsables de candidoses oropharyngées chez des sujets vivants avec le VIH. Sidanet ; 2(3) : 835-838.
- Emongor VE, 2008. *Harrisonia abyssinica* Oliv. [Internet] Fiche de Protabase. Schmelzer, GH, Gurib-Fakim, A. (Editeurs). PROTA (Plant Resources of Tropical Africa / Ressources végétales de l'Afrique tropicale), Wageningen, Pays-Bas. <http://database.prota.org/recherche.htm>.
- Holt JR, 1975. Laboratory test of antifungal drugs. J. of Clinical Pathology, 1(18) : 767-774.
- Kra AKM, 2001. Évaluation et amélioration par séquençage chromatographique d'une action antifongique de MISCA contre *Aspergillus fumigatus*. Thèse. Pharma, Bioch. Univ. Abidjan, 126 p.
- Kokwaro JO, 1993. Medicinal plants of East Africa, 2nd Edition, Kenya Literature Bureau, Nairobi, Kenya, 401 p.
- Kporou KE, Kra Adou KM, Ouattara S, Guédé-Guina F, Djaman AJ, 2009. Évaluation de l'activité antifongique de *Mitracarpus scaber* sur *Candida tropicalis*. J. sci. pharm. biol., 10(1) : 13-20.
- Mayaka RK, 2007. Isolation and characterization of antimicrobial compounds from berries of *Harrisonia abyssinica* (Simaroubaceae). Thesis of the Department of Chemistry, Egerton University, Kenya, 77p.
- Mossman T, 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival : application to proliferation and cytotoxicity assay. Journal of immunological Methods 65 : 55-63.
- N'Guessan K, 2008. Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles chez les peuples Abbey et Kroubo du département d'Agboville (Côte d'Ivoire). Thèse de Doctorat d'État ès Sciences, Université de Cocody-Abidjan (Côte d'Ivoire), 235 p.
- Ouattara S, Kra KAM, Kporou KE, Guédé-Guina F, 2008. Évaluation de l'activité antifongique des extraits de *Terminalia ivorensis* (TEKAM 2) sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*. Rev. Ivoir. Sci. Technol., 12 : 205-214.
- Pierquin A-L, 2010. Mycoses opportunistes et immunodépression. Thèse de Doctorat de l'Université Henri Poincaré, Nancy 1, France. 96 p.
- Salhi S, Fadli M, Zidane L, Douira A, 2010. Études floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). Lazaroa 31 : 133-146.
- Sanogo R, 2006. Le rôle des plantes en médecine traditionnelle. Développement, Environnement et Santé. 10^e école d'été de l'IEPF et du SIFEE du 06 au 10 Juin 2006.
- Schmelzer GH, Achigan-Dako EG, Bosch CH (eds), 2010. Medicinal Plants of tropical Africa. Conclusions and recommendations based on Plant Resources of Tropical Africa Foundation, Nairobi, Kenya. Pg 121-152.
- Tra Bi FH, 1997. Utilisation des plantes par l'homme, dans les forêts classées du Haut-Sassandra et de Scio, en Côte-d'Ivoire. Thèse de 3^e Cycle, Université de Cocody, Abidjan, 215p
- Tra Bi FH, Kouamé N'GF, Favel A, Fallague K, 2007. Activité antifongique de quelques plantes de la flore ivoirienne. Sciences & Nature, 4(2) : 117 – 122.
- Zirih GN, 1991. Contribution au recensement, à l'identification et à la connaissance de quelques espèces végétales utilisées dans la médecine traditionnelle et la pharmacopée chez les Bété du Département d'Issia, Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat de 3^e Cycle, Université d'Abidjan, 253 p.
- Zirih GN, Kra AKM, Guédé-Guina F, 2003. Évaluation de l'activité Antifongique de *Microglossa pyrifolia* (LAMARCK) O. KUNTZE (ASTERACEAE) « PYMI » sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*. Revue de Médecine et de Pharmacopées Africaines, 17 : 11-18.