

## Etudes pharmacocinétiques de *Gladiolus gregasius* Baker et *Newbouldia laevis* Seem, plantes médicinales à propriétés antimicrobiennes

J. C. ASSOBO NGUEDIA<sup>a</sup>; V. Penlap BENG<sup>a</sup> ; F-X. ETOA<sup>a</sup> ; V. KUETE<sup>a</sup>; R. MANFOUO<sup>b</sup>; D. LONTSI<sup>b</sup>; R. SOMO MOYOU<sup>c</sup>.

<sup>a</sup>Laboratoire de Microbiologie Appliquée et de Pharmacologie Moléculaire; Faculté des Sciences; Université de Yaoundé I. BP: 812 Yaoundé. Cameroun.

<sup>b</sup>Laboratoire de Chimie Organique. Faculté des Sciences; Université de Yaoundé I. BP: 812 Yaoundé. Cameroun.

<sup>c</sup>Laboratoire de Parasitologie, Faculté de Médecine, Université de Yaoundé I.

BP : 8445. Yaoundé. Cameroon.

### RÉSUMÉ

*Gladiolus gregasius* Baker et *Newbouldia laevis* Seem sont des plantes médicinales de la pharmacopée camerounaise couramment utilisées par les populations et les tradithérapeutes dans le traitement des infections urogénitales (IUG). L'extrait hydro-éthanolique de ces deux plantes a été testé pour leurs propriétés antimicrobiennes sur douze souches (levures et bactéries) responsables des IUG. Les études pharmacocinétiques ont permis d'apprécier la biodisponibilité de ces extraits après administration par voie orale chez les rats. Les résultats ont révélé que l'extrait de *N. laevis* a présenté une activité antimicrobienne *in vitro* très importante sur l'ensemble de ces souches au regard des paramètres d'inhibition obtenus (CMI compris entre 40 et 125 µg/ml) comparés à la gentamicine et à la nystatine testées dans les mêmes conditions. L'activité de *G. gregasius* est toutefois limitée aux souches de levures (*C. krusei* et *C. albicans*) avec une CMI (12,5 µg/ml) identique obtenue pour chacune de ces 2 souches. Les études pharmacocinétiques ont indiqué une activité optimale à 800 mg/kg et à 600 mg/kg de poids corporel respectivement pour *N. laevis* et *G. gregasius* 40 minutes après administration. Cette étude justifie l'usage de *N. laevis* et *G. gregasius* dans la médecine traditionnelle pour le traitement des infections urogénitales.

**Mots clés :** Pharmacocinétique ; *Gladiolus gregasius* Baker ; *Iridaceae*; *Newbouldia laevis* Seem; *Bignoniaceae*; infections urogénitales

### ABSTRACT

*Gladiolus gregasius* Baker and *Newbouldia laevis* Seem are medicinal plants of the Cameroonian pharmacopoea currently used by populations and herbalists to treat urogenital tract infections (UTI). The hydro-ethanolic extract of these two plants was tested for their antimicrobial properties on twelve microbial strains (yeasts and bacteria strains) involved in UTI's. Pharmacokinetic studies permitted us to appreciate the bioavailability of these extracts after oral administration to rats. The result revealed that *N. laevis* extract exhibited a significant antimicrobial property on the whole tested strains (MIC varying between 40 and 125 µg/ml) compared to gentamicine (MIC varying between 0.4 and 0.8 µg/ml) and nystatine (MIC of 3.2 µg/ml) tested in the same conditions. However *G. gregasius* extract yielded a restricted antimicrobial activities on yeasts (*C. albicans* and *C. krusei*), with an identical MIC value (12.5 µg/ml) obtained with these two yeasts strains. Pharmacokinetic studies indicated an optimal activity at 800 mg/kg and at 600 mg/kg body respectively for *N. laevis* and *G. gregasius* 40 minutes after administration. This study justifies the use of *N. laevis* and *G. gregasius* in traditional medicine for the treatment of UTIs.

**Key words:** Pharmacokinetic ; *Gladiolus gregasius* Baker ; *Iridaceae*; *Newbouldia laevis* Seem; *Bignoniaceae*; Urogenital Tract Infections

\*Corresponding author.

<sup>1</sup> J. C. ASSOBO NGUEDIA ; Université de Yaoundé I. Faculté des Sciences ; Département de Biochimie ; BP : 812 Yaoundé.

Tél. : (237) 962 94 52 ; E-mail : [juleclement@yahoo.fr](mailto:juleclement@yahoo.fr)

## INTRODUCTION

*Gladiolus gregasius* Baker et *Newbouldia laevis* Seem sont des plantes médicinales de la pharmacopée camerounaise couramment utilisées par les populations et les tradithérapeutes dans le traitement des infections digestives, pulmonaires et urogénitales (IUG) (Gill, 1990 ; Adjanohoun et al., 1996 ; Gafner et al., 1996). *Gladiolus gregasius* Baker est une plante de la famille des *Iridaceae*. Les tiges sont fleuries aux feuilles bien développées : les feuilles mesurent d'un demi à un centimètre de large, et ont une inflorescence d'environ un mètre de haut. C'est une herbe mince et élancée aux fleurs pourpres ou blanches avec une gorge pourpre. Au Cameroun (province de l'Ouest), la plante a des fleurs blanches à la gorge pourpre, les autres espèces ont des fleurs pourpres (Hutchinson et Dalziel, 1968).

*Newbouldia laevis* Seem appartient à la famille des *Bignoniaceae*. C'est une espèce des forêts sémi-décidues, de formations secondaires des savanes boisées, souvent rencontrée un peu partout, même en pleine forêt dense humide. Elle est remarquable par ses feuilles imparipennées à bords dentées ou par ses fleurs mauves ou roses (Thirakul, 1990).

Pour toutes ces pathologies, les extraits de ces plantes sont généralement administrés par voie orale aux patients dans le traitement des infections diverses y compris les IUG. En effet, après administration par voie orale d'un extrait, le passage des principes actifs du tube gastro-intestinal vers le sang, est mis en évidence par la capacité du sérum à induire *in vitro*, l'inhibition de la croissance microbienne de l'agent infectant (Berche et al., 1984). Dans le présent travail, il a été envisagé la recherche des propriétés antimicrobiennes *in vitro*, ainsi que la biodisponibilité des extraits hydro-éthanolique de *Gladiolus gregasius* Baker et de *Newbouldia laevis* Seem afin de s'assurer de leur résorption effective en vue de leur transfert au niveau des organes cibles des germes responsables des infections urogénitales (NCCLS, 1991).

## 2-MATÉRIELS ET MÉTHODES

### 2-1 Matériel végétal

Les écorces du tronc de *Newbouldia laevis* Seem et les bulbes de *Gladiolus gregasius* Baker ont été récoltées à Bafou (Ouest Cameroun) au mois de juin 2002. L'identification botanique a été réalisée au Département de Biologie Végétale de l'Université de Yaoundé I et à l'Herbier National du Cameroun où a été déposé des

spécimens conservés sous la référence 64195/HNC pour *N. laevis* et 52405/HNC pour *G. gregasius*.

### 2-2 Préparation des extraits

Mille cinq cent gramme (1500 g) d'écorces de *N. laevis* ont été séchées à l'étuve (à ventilation thermostatée) à 40°C jusqu'à l'obtention d'un poids sec constant. La poudre obtenue après broyage a été extraite dans une solution hydro-éthanolique (HE) 80% pendant 48 heures. L'extrait filtré et concentré (à l'étuve à ventilation thermostatée à 40°C jusqu'à l'obtention d'un poids sec constant) a donné une masse de 250 g (rendement : 16,66%). Cinq cent gramme (500 g) de bulbes de *G. gregasius* séchées à l'étuve à 40°C ont été extraites au système solvant HE 80%. Après filtration l'extrait a été concentré à l'étuve à ventilation à 40°C jusqu'à l'obtention d'un extrait de poids sec constant de 60 g (rendement : 12%).

### 2-3 Etudes des propriétés antimicrobiennes

Les souches microbiennes testées, ont été isolées des voies urogénitales des patients reçus au Centre Pasteur du Cameroun (Yaoundé) comprennent : *Candida albicans* ((*C. albicans*) LMP 0204U), *Candida krusei* ((*C. krusei*) (LMP 0311U)), *Staphylococcus aureus* ((*S. aureus*) LMP 0106U)), *Klebsiella pneumoniae* ((*K. pneumoniae*) LMP 0105U)), *Escherichia coli* ((*E. coli*) LMP 0201U)), *Salmonella typhi* ((*S. typhi*) LMP 0210U)), *Pseudomonas aeruginosa* ((*P. aeruginosa*) (LMP 0102U)), *Proteus vulgaris* ((*P. vulgaris*) (LMP 0103 U)), *Streptococcus faecalis* ((*S. faecalis*) (LMP 0207U)), *Shigella dysenteriae* ((*S. dysenteriae*) (LMP 0208U)), *Streptococcus pneumoniae* ((*S. pneumoniae*) (LMP 0210U)), *Neisseria gonorrhoeae*  $\beta$  - lactamase + ((*N. gonorrhoeae*) (LMP 0412U)).

Ces souches ont été cultivées à 37°C sur gélose nutritive (bactéries) ou sur gélose sabouraud (*C. albicans*) pendant 24 heures, puis à partir de 2 à 3 colonies isolées, une suspension turbide en solution saline stérile isotonique correspondant à l'échelle 0,5 de Mac Farland (1,5 10<sup>8</sup> Unité Formant Colonies (UFC) / ml) a été effectuée et 100 fois diluée pour donner les concentrations d'environ 10<sup>6</sup> UFC/ml en suspensions cellulaires utilisées pour les tests d'activité antimicrobiennes. Deux méthodes ont été utilisées pour ces tests: la méthode de diffusion en milieu solide par puits (Berghe et Vlietnick, 1991) et la méthode de dilution en milieu liquide (Carbonelle et al., 1987). Pour ce qui est de la méthode de diffusion en milieu solide ; Après un temps de prédiffusion des substances antimicrobiennes pendant 45 minutes effectuée à température ambiante pour les bactéries et à 4°C pour

les levures (Carbonelle et al., 1987), l'ensemencement de l'inoculum, sur milieu solidifié de Mueller-Hinton coulé en boîte de pétri, est réalisé par inondation et étalement à l'aide d'une pipette pasteur coudée stérilisée. Les boîtes ensemencées sont séchées pendant 15 minutes sous une hotte à flux laminaire. Pour l'analyse qualitative de l'extrait brut, des puits d'environ 6 mm de diamètre sont réalisés sur gélose Mueller-Hinton ou sur Gélrose chocolat (*N. gonorrhoeae*) préalablement ensemencé et séché avec l'extrémité large d'un embout jaune stérilisé. Ensuite au fond des puits, est introduit un volume de 200 µl de suspension de chaque échantillon d'extrait. Au centre de chaque boîte de Pétri, un puits est réalisé dans lequel est introduit une préparation d'antibiotique standard de gentamicine ou de nystatine.

La CMI est considérée comme étant la plus petite concentration de l'antibiotique inhibant toute croissance visible du germe (Carbonelle et al., 1987). Dans cette expérience, 0,4 ml d'une suspension cellulaire ( $10^6$  à  $4.10^6$  UFC/ml) est ajoutée dans les conditions d'asepsie stricte (sous la hotte et autour de la flamme) à 3,6 ml de milieu liquide contenant une dilution en progression géométrique de raison 2 de l'extrait ou des antibiotiques de référence (nystatine ou gentamicine) dans 8 tubes à essais en verre de 5 ml puis bouchés au coton. La CMI est

déterminée après 24 heures de culture à 37°C. Celle-ci est détectée en observant les tubes ne présentant aucune turbidité comparée au tube témoin, puis confirmée par repiquage et dénombrement des cellules vivantes sur milieu solide qui doit être sensiblement égale à celle de l'inoculum (Mims et al., 1993 ; Avril, 1997).

#### 2-4 Etudes des propriétés pharmacocinétiques

Guidées par les résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne *in vitro*, il a été question dans cette partie du travail de déterminer la concentration d'extrait minimale qui administrée par voie orale, sera responsable de l'activité antimicrobienne *in vivo*. Cette étude vise à rechercher la plus petite dose d'extrait capable d'entraîner une activité microbicide sérique et d'estimer la vitesse d'absorption (Berche et al., 1984).

Cette étude a porté sur des rats albinos (Winstar) mâles âgés de 6 à 7 semaines, de poids variant entre 120 et 130 g.

Les animaux sont mis à jeûne 12 heures avant l'administration des extraits. Les extraits de *N. laevis* et de *G. gregasius* sont administrés chacun à 6 lots de rats à raison de 12 par lot. Pour chaque extrait (*N. laevis* ou *G. gregasius*), les doses suivantes ont été administrées par voie orale : 0 mg/ml (témoin); 200 mg/ml ; 400

**Tableau 1:** Propriétés antimicrobiennes des extraits hydro-éthanolique de *Newbouldia laevis* Seem et de *Gladiolus gregasius* Baker

Concentration des échantillons	<i>N. laevis</i>			<i>G. gregasius</i>			Gentamicine			Nystatine		
	(250 µg/ml) DI	PI (µg/ml)		(250 µg/ml) DI	PI (µg/ml)		(20 µg/ml) DI	PI (µg/ml)		20 µg/ml DI (mm)	PI (µg/ml)	
		CMI	CMB /CMF		CMI	CMF		CMI	CMB		CMI	CMF
<i>C. albicans</i>	25±01	125	250	20±00	12,5	25	/	/	/	25±00	3,2	6,4
<i>C. krusei</i>	22±01	125	250	20±01	12,5	25	/	/	/	25±01	3,2	6,4
<i>S. aureus</i>	17±02	62,5	250	/	/	/	45±01	0,4	0,8	/	/	/
<i>S. faecalis</i>	25±02	125	250	/	/	/	28±01	0,4	0,8	/	/	/
<i>E. coli</i>	23±01	125	250	/	/	/	30±01	0,8	1,6	/	/	/
<i>P. aeruginosa</i>	16±02	125	250	/	/	/	43±01	0,8	1,6	/	/	/
<i>S. pneumoniae</i>	20±01	125	250	/	/	/	43±01	0,8	1,6	/	/	/
<i>P. vulgaris</i>	20±02	125	250	/	/	/	30±01	0,8	1,6	/	/	/
<i>K. pneumoniae</i>	15±01	125	250	/	/	/	32±01	0,8	1,6	/	/	/
<i>S. typhi</i>	21±01	125	250	/	/	/	36±01	0,8	1,6	/	/	/
<i>S. dysenteriae</i>	23±01	125	250	/	/	/	35±01	0,8	1,6	/	/	/
<i>N. gonorrhoeae</i>	20±02	40	/	/	/	/	35±01	0,8	/	/	/	/

DI : Diamètre d'inhibition (en mm ± écarts-type) ; PI : Paramètre d'inhibition ; CMI : Concentration Minimale inhibitrice ; CMB : Concentration Minimale Bactéricide ; CMF : Concentration Minimale Fongicide ; / : non testé

mg/kg; 600 mg/kg ; 800 mg/kg et 1000 mg/kg. A chaque lot correspond une dose. Après administration des extraits, 2 rats sont sacrifiés par dislocation cervicale par lot à chacune des périodes suivantes : 20 min ; 40 min ; 60 min ; 120 min ; 240 min ; 720 min. Le sang de chaque animal est prélevé dans un tube sec et centrifugé à 3000 tr/min pendant 10 min. Le sérum est prélevé et dilué au 1/10<sup>ème</sup> pour les tests d'activité sérique. Les tests d'activité antimicrobienne sérique ont été réalisés par la méthode de diffusion en milieu solide comme décrit dans la section 2-3 sur une souche qui a présenté une bonne sensibilité *in vitro* pour l'extrait considéré après le test *in vitro*. Les sera des rats ayant reçu l'extrait hydro-éthanolique de *N. laevis* ont été testés sur les cultures *S. aureus* et *E. coli*, et ceux des animaux ayant reçu *G. gregasius* sur *C. albicans*.

**RÉSULTATS**

Le tableau 1 présente les propriétés antimicrobiennes des extraits hydro-éthanolique 80% de *N. laevis* et de *G. gregasius* testés sur les souches microbiennes responsables des infections urogénitales. L'activité de ces extraits a été comparée à celle de la gentamicine et de la nystatine, molécules de références testées dans les mêmes conditions. On a noté en effet que l'extrait hydro-éthanolique de *N. laevis* (250 µg/ml) a exercé une activité inhibitrice sur l'ensemble des cultures de bactéries et de levures avec des diamètres d'inhibition variant de

15±01 à 25±01mm. Les paramètres d'inhibition sur ces cultures ont révélé une activité très importante (CMI variant de 40 µg/ml à 125 µg/ml ; CMB ou CMF variant de 62,5 à 250 µg/ml). L'activité de *G. gregasius* est toutefois limitée aux souches de levures (*C. krusei* et *C. albicans*) avec des diamètres des zones d'inhibition presque identique de 20±00 et 20±01 mm respectivement . La CMI et la CMF obtenues pour chacune de ces 2 souches sont identiques (12,5 µg/ml et 25 µg/ml respectivement). L'activité de la gentamicine testée sur les bactéries a donné des diamètres des zones d'inhibition allant de 28±01 à 45±01mm à la concentration de 20 µg/ml ; les paramètres d'inhibition ont indiqué une activité plus importante (CMI variant de 0,4 à 0,8 µg/ml ; CMB variant de 0,8 à 1,6 µg/ml) par rapport à l'extrait de *N. laevis*. La nystatine, antifongique de référence a donné sur ces cultures de levures, une zone d'inhibition approximative de 25 mm à la concentration de 20 µg/ml ; les paramètres d'inhibition sont identiques pour ces 2 souches avec des valeurs de CMI de 3,2 µg/ml et une CMF de 6,4 µg/ml.

Les figures 1 et 2 présentent la cinétique d'inhibition sérique de *N. laevis* sur les cultures de *S. aureus* et de *E. coli*. L'activité antimicrobienne sérique est évaluée à différent temps de prélèvement post traitement des rats aux doses croissantes de *N. laevis*. Dans cet essai, on note qu'il n'existe aucune activité sérique aux doses

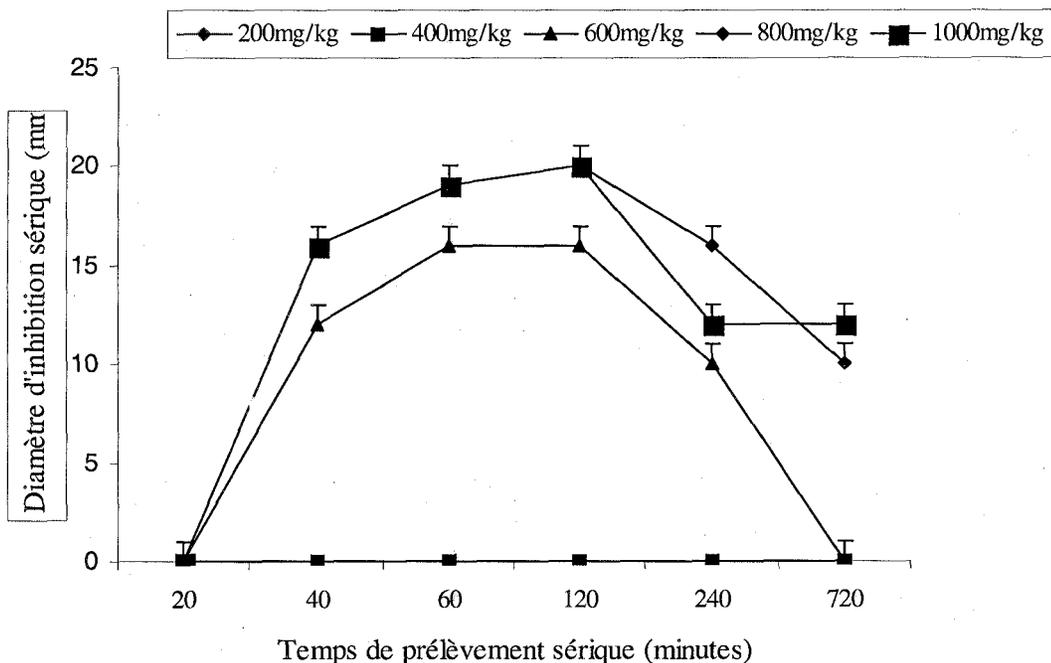


Figure 1 : Cinétique d'inhibition sérique de l'extrait hydro-éthanolique de *N. laevis* sur les cultures de *S. aureus*

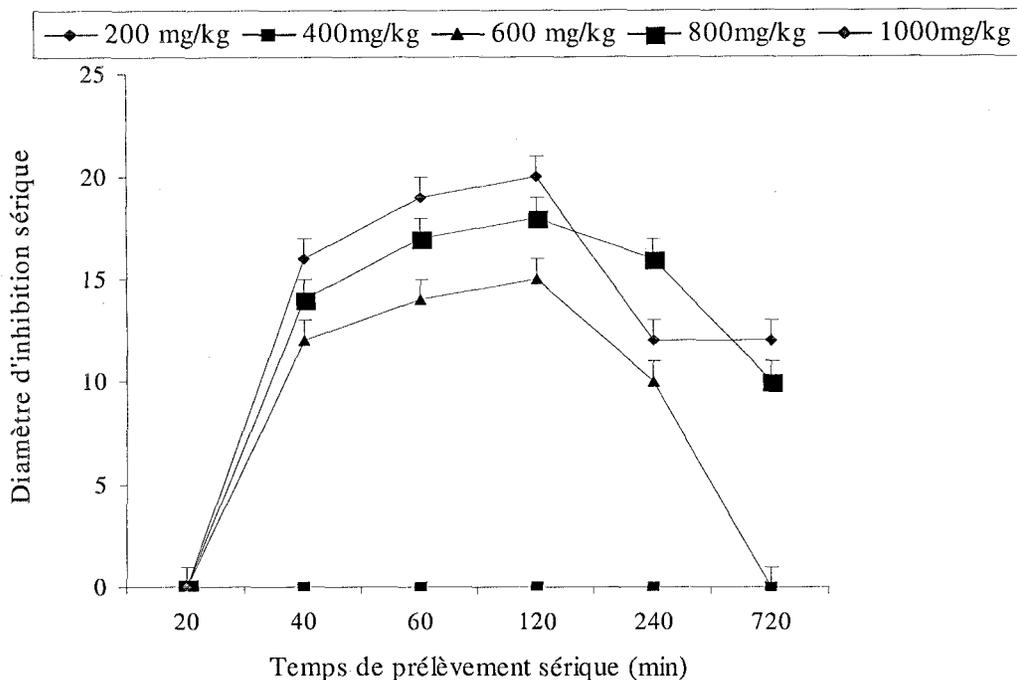


Figure 2 : Cinétique d'inhibition sérique de l'extrait hydro-éthanolique de *N. laevis* sur les cultures de *E. coli*

de 0 ; 200 et 400 mg/kg de poids corporel pendant tout le temps d'observation. A 600 mg/kg, on observe sur ces deux courbes après 40 minutes post traitement, la présence d'une zone d'inhibition dont la valeur augmente en fonction du temps jusqu'à atteindre un pic d'activité entre 60 et 120 minutes et décroît pour s'annuler après 720 minutes. A 800

mg/kg et à 1000 mg/kg de poids corporel, on observe 40 minutes après administration une activité sérique plus importante qu'à 600 mg/kg qui atteint son pic 120 minutes après. A la douzième heure (720 min), l'activité sérique demeure assez importante. L'observation de la figure 3 montre qu'à la dose de 200 mg/kg de poids corporel, on n'observe aucune

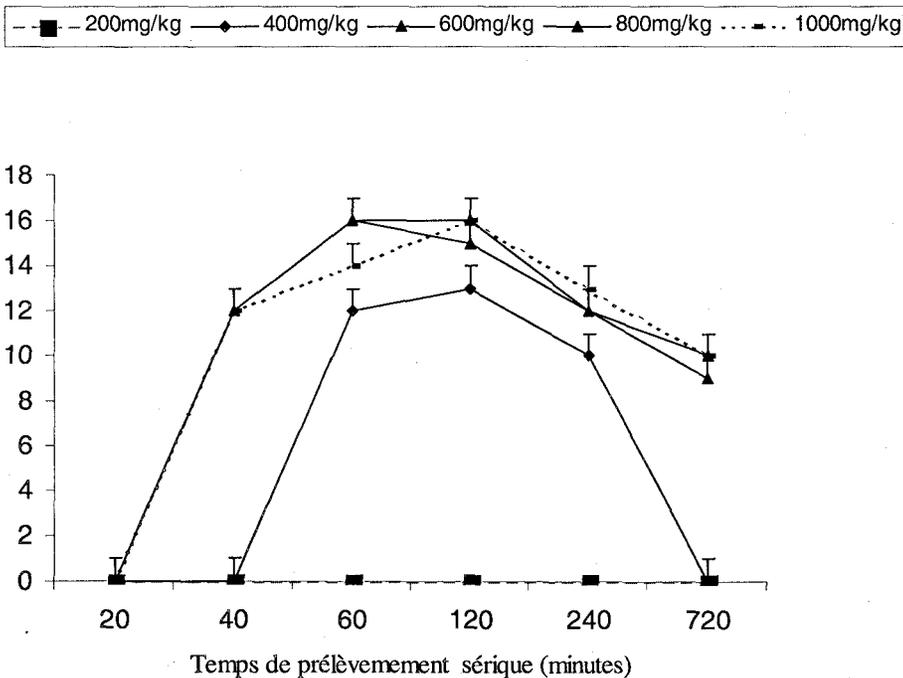


Figure 3: Cinétique d'inhibition sérique de l'extrait hydro-éthanolique de *G. gregasius* sur les cultures de *C. albicans*.

activité inhibitrice sérique sur les cultures de *C. albicans*. A 600 mg/kg de poids corporel, on observe un maximum d'activité qui ne varie pas avec l'augmentation de la dose. Le pic d'activité à cette dose est observé après 120 minutes et diminue pour se maintenir constant après 12 heures. On peut dire qu'à 600 mg/kg de poids corporel *G. gregasius* peut être utilisé dans le traitement des infections systémiques des candidoses.

#### 4- DISCUSSION

*N. laevis*, a induit une activité antimicrobienne *in vitro* d'un spectre très large, ceci justifie l'usage très courant de l'extrait total de cette plante dans le traitement de diverses infections y compris les IUG ; cependant ces résultats montrent que l'extrait hydro-éthanolique de *G. gregasius* a une activité restreinte aux souches de levures (*C. albicans* et *C. krusei*). Cette première partie de l'étude examine la sensibilité de toutes ces souches à ces extraits ; la sensibilité d'un germe à un agent antimicrobien est l'un des critères indispensables à l'usage efficace d'un antibiotique dans le traitement des pathologies qu'il cause (Prescott et al., 1999). Mais en plus de cette sensibilité à l'agent, ce dernier doit être capable d'atteindre *in vivo* le site de l'infection (Mims et al., 1993 ; Prescott et al., 1999). L'extrait de *N. laevis* exerce son activité inhibitrice à la dose maximale dès la quarantième minute et atteint son pic d'activité autour de 120 minutes. Cette activité décroît et ne disparaît pas après douze heures. De même l'extrait *G. gregasius* exerce son activité inhibitrice à la dose maximale (600 mg/kg) dès la quarantième minute, atteint son pic d'activité autour de 60 minutes. Cette activité décroît et ne disparaît pas après douze heures.

L'obtention d'une inhibition *in vivo*, apporte une certaine garantie à l'usage de *G. gregasius* et *N. laevis* en administration orale dans la prise en charge des infections urogénitales, en effet même une concentration sub-inhibitrice sanguine accroît la capacité des polymorphonucléaires humaines à tuer les cellules bactériennes et fongiques (NCCLS, 1991). Les études de toxicité permettront d'évaluer l'indice thérapeutique en vue d'entreprendre la production des phytomédicaments à partir des extraits de ces plantes.

#### REMERCIEMENTS

Notre reconnaissance va tout droit à M. GUIMAPI Charles MOODEM, Guérisseur traditionnel à Bafou. Nos remerciements vont également : au Centre Pasteur du Cameroun à travers le Laboratoire de Bactériologie Médicale ; à l'Herbier National du

Cameroun à travers M. KOUFANI Analectus, ainsi qu'au Dr ZAPFACK Louis du Département de Biologie Végétal pour l'identification botanique des plantes et enfin à la Coopération Chinoise.

#### RÉFÉRENCES

Adjanooun, J. E.; Aboubabakar, N.; Dramane, K.; Ebot, M. E.; Elkpere, J. A.; Enow-Orock, E. G.; Focho, D.; Gbile, Z O.; Kamanyi, A.; Kamsu kom, J.; Keita, A.; Mbenkum, T.; Mbi, C. N.; Mbiele, A. L.; Mbome, H.; Mubiru, N. K.; Nancy, W. L.; Nkonmeneck, B.; Satabie, B.; Sofowara, A.; Tamze, V.; and Wirmum, V. K. (1996). Contribution to ethnomedical and floristic studies in Cameroon. Traditional medicine and pharmacopoeia. CST/OUA. 641 p.

Avril, J. L., (1997). Nouveau dictionnaire de bactériologie clinique. Nouvelle édition entièrement refondue et mis à jour. Ellipses/éditions Marketing S.A. Paris. 156 p.

Berche, P. ; Gaillard, J. L. ; Simonet, M. (1984). Bactériologie des infections humaines. Collection de la biologie clinique. Médecine-Sciences Flammarion. Pp. 500-650.

Berghe, V. A. ; Vlietinck, A. J. (1991). Screening Methods for Antibacterial and Antiviral Agents from Higher plants. Methods of plants Biochemistry. Academic Press Limited. Vol.6, 69 p.

Carbannelle, B. ; Denis, F. ; Marmonier, A. ; Pignon, G ; Vargues, R. (1987). Bactériologie médicale. Techniques usuelles. Ed. SIMEP. Paris. Pp.130-198.

Hutchinson, J. et Dalziel, J. M. (1968). Flora of West tropical Africa. Vol. III part I. Pp 141-144.

Gafner, S. ; Wolfender, J. N. ; Nianga, M. ; Stoekli-Evans, H. ; Hostettmann, K. ; (1996). Antifungal and antibacterial Naphthoquinones from *Newbouldia laevis* roots. Phytochemistry. 42 (5)1315-1320.

Gill, L S. (1990). Enumeration of ethnomedicinal uses. Ethnomedicinal uses of plants in Nigeria. Nigeria. Pp. 174-175.

Mims, C.A. ; Play fair, J.H.L. ; Molt, I. M. ; Wakelin, D. ; Williams, R. (1993). Medical Microbiology. Ed. 35:1-34.

NCCLS. (1990). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Fourth Edition. Approved standard, NCCLS. M2 A4. Villanova. Vol. 20 (7):1-28.

Prescott; Harley; Klein (1999). Microbiologie. 3ème édition traduit de l'anglais par Bacq-Calbert, C. M. ; Cayette, J. ; Hoet, P. et Nguyen-distèche, M. De Boeck Université. Bruxelles. Pp 300- 425.

Thirakul, S. (1990). Manuel de dendrologie des savanes boisées du Cameroun. ONADEF. ED. Poulin Thérault. Québec. 138, 139.

Received: 10/1/2004

Accepted: 11/07/2005