



HAL
open science

**EVALUATION ET ESSAI D'OPTIMISATION DE
L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE DE TERMINALIA
CATAPPA LINNE UNE COMBRETACEAE DE LA
PHARMACOPEE IVOIRIENNE SUR LA
CROISSANCE IN VITRO DE ASPERGILLUS
FUMIGATUS, CANDIDA ALBICANS ET
TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES**

Jacques Auguste Alfred Bognan Ackah

► **To cite this version:**

Jacques Auguste Alfred Bognan Ackah. EVALUATION ET ESSAI D'OPTIMISATION DE L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE DE TERMINALIA CATAPPA LINNE UNE COMBRETACEAE DE LA PHARMACOPEE IVOIRIENNE SUR LA CROISSANCE IN VITRO DE ASPERGILLUS FUMIGATUS, CANDIDA ALBICANS ET TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES. Sciences pharmaceutiques. Université Félix Houphouët Boigny Abidjan (Côte d'Ivoire), 2009. Français. NNT : . tel-02468470

HAL Id: tel-02468470

<https://theses.hal.science/tel-02468470>

Submitted on 5 Feb 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE
Union-Discipline-Travail

Ministère de l'Enseignement supérieur
et de la Recherche Scientifique



Laboratoire de
Pharmacodynamie-
Biochimique

Année Universitaire
2008-2009

THESE

Présentée pour l'obtention du Titre de DOCTEUR
D'UNIVERSITE DE COCODY-ABIDJAN

Spécialité : Pharmacologie des Substances Naturelles

Option : Microbiologie

Numéro d'ordre
625/2009

M. ACKAH JACQUES AUGUSTE ALFRED BOGNAN

EVALUATION ET ESSAI D'OPTIMISATION DE
L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE DE *TERMINALIA CATAPPA*
LINNE UNE COMBRETACEAE DE LA PHARMACOPEE
IVOIRIENNE SUR LA CROISSANCE *IN VITRO* DE
ASPERGILLUS FUMIGATUS, *CANDIDA ALBICANS* ET
TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES

Soutenue publiquement
Le 13 Novembre 2009

Commission du jury

Mme MIREILLE DOSSO	Professeur Titulaire	Université de Cocody	Présidente
M. JOSEPH ALLICO DJAMAN	Maître de Conférences	Université de Cocody	Directeur de Thèse
M. SERAPHIN KATI-COULIBALY	Professeur Titulaire	Université de Cocody	Examineur
M. JEAN DAVID N'GUESSAN	Maître de Conférences	Université de Cocody	Rapporteur
M. ADAMA COULIBALY	Maître de Conférences	Université de Cocody	Examineur
M. NOEL GUEDE ZIRIHI	Maître de Conférences	Université de Cocody	Examineur

« Sur le torrent, sur ses bords, de chaque côté, pousseront toutes sortes d'arbres fruitiers. Leur feuillage ne se flétrira pas, et leurs fruits ne s'épuiseront pas, ils donneront des primeurs tous les mois, parce que ses eaux sortiront du sanctuaire. Leurs fruits serviront de nourriture et leurs feuilles de remède. »

EZECHIEL 47 : 12

*Je dédie cette
thèse à.....*

Jésus-Christ est ma sagesse

Il éclaire mon chemin,

Et je marche en ma faiblesse,

Conduit par sa sûre main.

Jésus-Christ est ma justice,

Son sang a coulé pour moi ;

Je trouve en son sacrifice

Paix et pardon par la foi.

GLOIRE A DIEU n°462

A ma très chère et tendre épouse ALLOYA Affiba Monique Anne.

Merci pour ton aide, pour ton encouragement et ton soutien. Merci de supporter tous mes caprices. Tu as su me comprendre malgré mes entrées tardives à la maison. Que le Roi de gloire, le Saint des Saints Jésus-Christ notre Goel bénisse l'œuvre de tes mains.

A mes enfants chéris Ruth Aimée Syntyche et Esaïe Joël.

Merci pour l'allégresse que vous me donnez chaque jour. Je prie que le dessein de l'Éternel s'accomplisse parfaitement dans votre vie. Je souhaite que vous prospériez à tous égards et que vous soyez en bonne santé, comme prospère l'état de votre âme.

Aux grandes familles Lambert ACKAH et AVIT

Merci pour vos encouragements et soutiens tout au long de mon cursus scolaire et universitaire.

A mes beaux parents

Merci pour vos encouragements et soutiens.

A la famille AKE Victoire.

Merci pour votre encouragement, soutien moral, spirituel et financier. Je demande à Jésus-Christ de vous combler de ses riches bénédictions.

A Mlles Aké Aurélie et Gbeuly Adèle.

Merci pour vos aides oh combien de fois inestimables. Que le bonheur et la grâce de l'Eternel Dieu soient votre partage.

Aux serviteurs de l'Eternel : Pasteur PLO, Pasteur Aké Maxime

Merci pour vos soutiens spirituel et moral. Que le Seigneur bénisse vos ministères et accomplisse vos desseins.

Aux frères et sœurs de Christ en Milieu Rural (CMIR).

Merci pour vos soutiens spirituels et moral. Que l'Eternel vous bénisse.

Aux frères et sœurs de l'Alliance pour la Restauration du Bonheur Conjugal en Christ (ARC-EN-Christ).

Shalom, Merci pour vos soutiens spirituels et moral. Que Jésus-Christ notre Goel soit pour chacun de vous un sujet d'allégresse.

A tous les frères et sœurs en Christ.

Vos conseils m'ont beaucoup aidé. Où que vous soyez, je vous adresse mes remerciements les plus sincères. Que l'Eternel Dieu vous bénisse.

Un merci collectif à toutes les équipes du labo, en particulier aux membres de l'équipe **MISCA**

REMERCIEMENTS

Je tiens particulièrement à remercier mon directeur de thèse, Monsieur **GUEDE-GUINA FREDERIC** Professeur titulaire de Biochimie et de pharmacodynamie, Directeur Honoraire du Laboratoire de Pharmacodynamie Biochimique de l'UFR Biosciences de l'Université de Cocody, pour m'avoir accueilli au sein de votre laboratoire et permis de réaliser cette thèse. Votre dynamisme pour la recherche des produits naturels a été pour moi une source de motivation.

Vous m'avez enseigné non seulement la biochimie mais vous m'avez inculqué l'amour de la recherche et la persévérance, qualités indispensables dans le monde de l'investigation scientifique.

Votre disponibilité, votre sagesse, votre grandeur d'esprit, vos qualités intellectuelles, votre sens du devoir bien accompli et la rigueur m'ont orienté dans ce travail. Vous avez su par votre savoir-faire me donner une motivation supplémentaire à des moments difficiles de ce travail. Vous avez toujours été un modèle de réussite et de compétence. J'en suis très honoré.

J'ai ici l'honneur d'exprimer ma profonde gratitude, pour avoir accepté de participer à ma formation.

Il est indéniable que votre empreinte m'aidera à promouvoir et à réussir ma vie professionnelle.

Merci très cher Maître. Puisse Jésus Christ vous fortifier.

A Monsieur **JOSEPH DJAMAN ALLICO**, Maître de Conférences, Directeur du Laboratoire de Pharmacodynamie Biochimique de l'UFR Biosciences de l'Université de Cocody. Chef de service de l'Unité de Biologie Moléculaire à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire.

Je vous dis sincèrement et respectueusement merci, pour avoir mis à ma disposition vos précieux conseils et un appréciable support moral dans le déroulement de cette étude.

Vous représentez pour chacun des étudiants que nous sommes un modèle à suivre. Merci pour avoir apporté votre expertise dans la finition de ce document.

A Madame **MIREILLE DOSSO**, Professeur titulaire de Bactériologie et de Virologie à l'UFR des Sciences Médicales de l'Université de Cocody, Directeur de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, Chef du Département de Microbiologie, Lauréate du Prix Unesco-Institut Pasteur 2005, Coordinatrice du Doctorat de Biologie Humaine Tropicale.

Vous nous faites l'honneur de présider ce jury de thèse malgré vos nombreuses occupations. Vous donnez ainsi la preuve de votre attachement au progrès scientifique particulièrement en Côte d'Ivoire. Permettez Cher Maître, que dans cet ouvrage, nous vous donnions l'expression de notre profond respect.

A Monsieur **SERAPHIN KATI-COULIBALY**, Professeur titulaire de Physiologie animale et Doyen de l'UFR Biosciences de l'Université de Cocody. Vous avez accepté, prendre de votre temps, pour juger cette thèse. Soyez assuré de notre sincère gratitude.

J'aimerais également remercier Monsieur **JEAN DAVID N'GUESSAN**, et Monsieur **ADAMA COULIBALY** tous deux, Maîtres de Conférences au Laboratoire de Pharmacodynamie Biochimique de l'UFR Biosciences de l'Université de Cocody, pour vos conseils tout le long de mon travail de thèse. Vous avez accepté, de prendre de votre temps, pour juger cette thèse. Nous vous témoignons notre grande reconnaissance.

A Monsieur **NOEL GUEDE ZIRIHI**, Maître de Conférences au Laboratoire de Botanique de l'UFR Biosciences de l'Université de Cocody. Notre Botaniste maison, vous m'avez guidé dans mes différentes extractions tout au long de mes travaux de recherche. Vous m'avez rassuré chaque fois qu'un résultat nous semblait non-conforme. Vous nous faites l'honneur d'accepter de juger et de siéger dans le jury de thèse. En témoignage de ma reconnaissance et respectueuse gratitude.

Je tiens particulièrement à exprimer ma gratitude à Monsieur **MATHIEU ADOU KOFFI KRA** Mon encadreur, Maître-assistant au Laboratoire de Pharmacodynamie Biochimique de l'UFR Biosciences de l'Université de Cocody.

Votre passion pour la recherche, vos hautes qualités humaines et votre encadrement dévoué m'ont donné l'impulsion nécessaire au cours de nos investigations. J'ai bénéficié de vos connaissances scientifiques de votre souci de la perfection et de vos qualités morales. Puisse ce travail que vous avez encadré avec amabilité et disponibilité satisfaire à vos souhaits, alors nous serons comblés. Sachez que comme le déclare la parole de Dieu dans Matthieu 25 : versets 35 à 40 : « ...j'ai eu soif et vous m'avez donné à boire... dans la mesure où vous avez fait cela à l'un de ces plus petits de mes frères, c'est à moi (Jésus-Christ) que vous l'avez fait. ». Que le seigneur Jésus Christ, le Roi des rois, réalise les désires de votre cœur.

Mes remerciements vont également à Monsieur **CALIXTE BAH**I, Maître-assistant au Laboratoire de Pharmacodynamie Biochimique de l'UFR Biosciences de l'Université de Cocody.

Pour votre disponibilité et votre conseil tout le long de mon travail de thèse.

Un grand merci à Monsieur **BERNARD NAZAIRE DJYH**, Assistant au Laboratoire de Pharmacodynamie Biochimique de l'UFR Biosciences de l'Université de Cocody. Pour ses précieux conseils au début de ma thèse.

Je souhaite encore remercier le Professeur **OTOKORE** et Messieurs **TREBISSOU, YAPO, BIDIE, YEO, YAPI, FOUNSEGUE** et **OUATTARA**, Enseignants au Laboratoire de Pharmacodynamie Biochimique de l'UFR Biosciences de l'Université de Cocody. Pour vos soutiens moral et scientifique.

AVANT - PROPOS

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Pharmacodynamie Biochimique de l'Unité de Formation et de Recherche (UFR) Biosciences de l'Université d'Abidjan Cocody. Sous la direction du Professeur GUEDE - GUINA FREDERIC.

Il s'inscrit dans le programme de la valorisation de la pharmacopée ivoirienne pour aider au développement de produits nouveaux, fiables et à la portée de la bourse de nos populations malades.

L'étude a trait à l'évaluation du pouvoir antifongique de *Terminalia catappa* une Combretaceae de peuplement récent en Côte d'Ivoire et dont le pouvoir anti-transcriptase reverse serait soupçonné en matière de traitement anti-VIH.

TABLE DES MATIERES

	PAGES
INTRODUCTION.....	1
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	4
CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES CHAMPIGNONS.....	5
1. CARACTERES GENERAUX.....	6
1. 1. Caractères morphologiques.....	6
1. 2. Nutrition.....	8
1. 3. Reproduction.....	9
1. 3. 1. Reproduction asexuée.....	9
1. 3. 2. Reproduction sexuée.....	11
2. CLASSIFICATION DES CHAMPIGNONS	14
3. DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE.....	16
3. 1. Les prélèvements.....	16
3. 2. L'examen direct.....	17
3. 3. Culture.....	18
3. 3. 1. Les milieux d'isolement	18
3. 3. 2. les techniques d'ensemencement.....	19
3. 3. 3. Incubation.....	20
3. 3. 4. Lecture.....	20
3. 4. Identifications.....	20
3. 4. 1. Examen macroscopique.....	21
3. 4. 2. Examen microscopique.....	21
4. ASPERGILLUS FUMIGATUS.....	22
4. 1. Epidémiologie.....	22
4. 2. Diagnostic mycologique.....	22
4. 2. 1. Examen macroscopique.....	22
4. 2. 2. Examen microscopique.....	22
4. 2. 3. Identifications.....	23
5. CANDIDA ALBICANS.....	23

5. 1. Epidémiologie.....	24
5. 2. Diagnostic mycologique.....	24
5. 2. 1. Examen macroscopique.....	24
5. 2. 2. Examen microscopique.....	24
5. 2. 3. Identifications	25
6. TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES.....	25
6. 1. Epidémiologie.....	25
6. 2. Diagnostic mycologique.....	26
6. 2. 1. Examen macroscopique.....	26
6. 2. 2. Examen microscopique.....	26
6. 2. 3. Identifications.....	27
7. LES ANTIFONGIQUES.....	27
CHAPITRE II : GENERALITES SUR LES MYCOSES.....	30
1. CARACTERES CLINIQUES DES MYCOSES.....	30
2. LES MYCOSES SUPERFICIELLES	31
2. 1. Dermatophytoses.....	31
2. 1. 1. Aspects cliniques.....	31
2. 1. 1. 1. Lésions de la peau glabre.....	31
2. 1. 1. 2. Teignes du cuir chevelu.....	32
2. 1. 1. 3. Onyxis et périonyxis	33
2. 1. 2- Traitement des Dermatophytoses.....	34
2. 2. Candidoses superficielles.....	34
2. 2. 1. Aspects cliniques.....	35
2. 2. 1. 1. Candidoses cutanées.....	35
2. 2. 1. 2. Candidoses buccales.....	35
2. 2. 1. 3. Les candidoses génitales.....	36
2. 2. 1. 4. Onyxis et périonyxis candidosiques.....	36
2. 2. 2. Traitement.....	36
3. MYCOSES PROFONDES.....	37
3. 1. Généralités.....	37
3. 1. 1. L'organisme hôte et les facteurs le modifiant.....	37
3. 1. 2. Le diagnostic mycologique.....	38
3. 1.3. Les stratégies thérapeutiques actuelles.....	38
3. 2. Les candidoses profondes.....	38
3. 2. 1. Aspects cliniques.....	39

3. 2. 2. Traitement	39
3. 3. Les aspergilloses.....	39
3. 3. 1. Aspects cliniques.....	39
3. 3. 1. 1. Les atteintes pulmonaires.....	39
3. 3. 1. 2. Les atteintes extra pulmonaires.....	41
3. 3. 2. Traitement.....	42
CHAPITRE III : GENERALITES SUR LES PLANTES MEDICINALES.....	43
1- LES METABOLITES SECONDAIRES	43
2-LES EFFETS PHARMACOLOGIQUES DE QUELQUES PLANTES MEDICINALES.....	45
3- DESCRIPTION DE LA PLANTE ETUDIEE.....	46
3.1.Présentation des Combretaceae.....	46
3.2.Position dans la systématique.....	47
3.3.Description de <i>Terminalia catappa</i>	47
3.4.. Répartition géographique de <i>Terminalia catappa</i>	48
3. 5. Utilisation de <i>Terminalia catappa</i> dans la médecine traditionnelle.....	48
3. 6. Pharmacologie et phytochimie de <i>Terminalia catappa</i>	49
CHAPITRE IV : METHODES ET TECHNIQUES CHROMATOGRAPHIQUES....	51
4.1. La chromatographie sur couche mince.....	52
4. 2. La chromatographie sur couche mince préparative.....	53
4. 3. Chromatographie d'adsorption sur colonne.....	54
4. 4. Chromatographie liquide à pression atmosphérique.....	54
4. 5. La chromatographie d'exclusion.....	55
MATERIEL ET METHODES.....	57
1 : MATERIEL.....	58
1.1.MATERIEL BIOLOGIQUE.....	58
1.1.1. Substance végétale.....	58
1.1.2. Champignons testés.....	58
1. 2. Milieu de culture	58
1. 3. Produits chimiques.....	58
1. 4. Verrerie et petit matériel	58
2 : METHODES.....	59
2-1. Préparation des extraits totaux.....	59
2. 2. Préparation des milieux de culture.....	63

2.2.1. Préparation de la gélose Sabouraud.....	63
2. 2. 2. Incorporation des extraits végétaux à la gélose.....	63
2. 3. Préparation de l'inoculum.....	64
2. 4. Culture des germes en présence de l'extrait végétal.....	65
2. 5. Dénombrement des germes.....	65
2. 6. Chromatographie sur couche mince.....	66
2. 7. Tri phytochimique.....	66
2. 7. 1. Recherche des polyphénols.....	66
2. 7. 2. Recherche des alcaloïdes.....	67
2. 7. 3. Recherche des flavonoïdes.....	68
2. 7. 4. Recherche des saponosides.....	68
2. 7. 5. Recherche des quinones.....	69
2. 7. 6. Recherche des stérols.....	69
2. 8. Méthode statistique :	70
RESULTATS.....	71
1- Activité antifongique de X_{Aq}	72
2- Activité antifongique de X_0	75
3- Activité antifongique des partitions de X_0.....	78
3- 1. Activité antifongique de $X_{1,1}$	78
3- 2. Activité antifongique de $X_{1,2}$.....	81
3- 3. Activité antifongique de $X_{2,1}$	84
3- 4. Activité antifongique de $X_{2,2}$	87
3- 5. Activité antifongique de $X_{3,1}$	90
3- 6. Activité antifongique de $X_{3,2}$	93
4-Activité des fractions de $TEKAM_3$.....	96
5-Activité antifongique de F_{12}.....	99
6- Récapitulatif de tous les résultats	103
6.1- Sensibilité comparée de <i>Candida albicans</i> aux extraits X_{Aq} , X_0 , $X_{1,1}$, $X_{1,2}$, $X_{2,1}$, $X_{2,2}$, $X_{3,1}$, $X_{3,2}$ et F_{12}	104
6. 2- Sensibilité comparée de <i>Aspergillus fumigatus</i> aux extraits X_{Aq} , X_0 , $X_{1,1}$, $X_{1,2}$, $X_{2,1}$, $X_{2,2}$, $X_{3,1}$, $X_{3,2}$ et F_{12}	105
6. 3- Sensibilité comparée de <i>Trichophyton mentagrophytes</i> aux extraits X_{Aq} , X_0 , $X_{1,1}$, $X_{1,2}$, $X_{2,1}$, $X_{2,2}$, $X_{3,1}$, $X_{3,2}$ et F_{12}	106

7- CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE DE X_{1,2} ET F₁₂.....	108
7. 1 - EXTRAIT X _{1,2} : la phase aqueuse issue de la partition hexane – eau.....	108
7. 2 - Fraction 12 (F ₁₂).....	109
8-TRI PHYTOCHIMIQUE DES EXTRAITS DE TEKAM₃.....	110
DISCUSSION ET CONCLUSION.....	113
1- DISCUSSION	114
2- CONCLUSION	125
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	126
ANNEXE I : PUBLICATIONS	
ANNEXE II : DONNEES STATISTIQUES	

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure d'un eucaryote.....	5
Figure 2 : Quelques aspects de la morphologie des champignons filamenteux.....	8
Figure 3 : schéma du cycle de reproduction asexuée et sexuée d'une levure.....	13
Figure 4 : Classification des champignons.....	15
Figure 5 : Aspect des conidiophores et têtes sporifères de <i>A. fumigatus</i>	23
Figure 6 : Aspect des chlamydoconidies en culture (<i>C. albicans</i>).....	24
Figure 7 : Aspect des macroconidies en forme de cigare à paroi mince (<i>T. mentagrophytes</i>).....	26
Figure 8 : <i>Terminalia catappa</i> et les fruits.....	48
Figure 9 : structures glycosides flavonoïdes.....	50
Figure 10 : (1) acide ursolique; (2) acide 2 α , 3 β , 23-Trihydroxyurs-12-en-28-oïque	50
Figure 11: Schéma d'une chromatographie liquide-liquide ascendante.....	52
Figure 12 : Détermination du rapport frontal.....	53
Figure 13 : Schéma du principe de la chromatographie d'exclusion.....	55
Figure 14 : Méthode de préparation des extraits totaux (Aqueux et éthanolique).....	60
Figure 15 : Méthode de préparation des partitions à partir de l'extrait éthanolique X ₀	61
Figure 16 : Méthode de préparation des fractions à partir de l'extrait X _{1,2}	62
Figure 17 : Schéma de la méthode d'incorporation des extraits à la gélose Sabouraud.....	63
Figure 18 : Schéma de la méthode de préparation de l'inoculum.....	65
Figure 19 : Sensibilité comparée de <i>C. albicans</i> , <i>A. fumigatus</i> et <i>T. mentagrophytes</i> à X _{Aq}	73
Figure 20 : Sensibilité comparée de <i>C. albicans</i> , <i>A. fumigatus</i> et <i>T. mentagrophytes</i> à X ₀	76
Figure 21 : Sensibilité comparée de <i>C. albicans</i> , <i>A. fumigatus</i> et <i>T. mentagrophytes</i> à X _{1,1}	80
Figure 22 : Sensibilité comparée de <i>C. albicans</i> , <i>A. fumigatus</i> et <i>T. mentagrophytes</i> à X _{1,2}	82
Figure 23: Sensibilité comparée de <i>C. albicans</i> , <i>A. fumigatus</i> et <i>T. mentagrophytes</i>	85

	à X _{2.1}	
Figure 24 :	Sensibilité comparée de <i>C. albicans</i> , <i>A. fumigatus</i> et <i>T. mentagrophytes</i> à X _{2.2}	88
Figure 25 :	Sensibilité comparée de <i>C. albicans</i> , <i>A. fumigatus</i> et <i>T. mentagrophytes</i> à X _{3.1}	91
Figure 26 :	Sensibilité comparée de <i>C. albicans</i> , <i>A. fumigatus</i> et <i>T. mentagrophytes</i> à X _{3.2}	94
Figure 27 :	Sensibilité comparée de <i>C. albicans</i> à G ₁ , G ₂ , G ₃ , G ₄ et G ₅	97
Figure 28 :	Sensibilité comparée de <i>C. albicans</i> , <i>A. fumigatus</i> et <i>T. mentagrophytes</i> à F ₁₂	100
Figure 29 :	Sensibilité comparée de <i>Candida albicans</i> aux extraits X _{Aq} , X ₀ , X _{1.1} , X _{1.2} , X _{2.1} , X _{2.2} , X _{3.1} , X _{3.2} et F ₁₂	104
Figure 30 :	Sensibilité comparée de <i>Aspergillus fumigatus</i> aux extraits X _{Aq} , X ₀ , X _{1.1} , X _{1.2} , X _{2.1} , X _{2.2} , X _{3.1} , X _{3.2} et F ₁₂	105
Figure 31 :	Sensibilité comparée de <i>Trichophyton mentagrophytes</i> aux extraits X _{Aq} , X ₀ , X _{1.1} , X _{1.2} , X _{2.1} , X _{2.2} , X _{3.1} , X _{3.2} et F ₁₂	106
Figure 32 :	Chromatogramme de X _{1.2}	108
Figure 33 :	Chromatogramme de F ₁₂	109

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Quelques caractères distinctifs entre mycelium vrai et pseudomycelium..	6
Tableau II : Quelques médications pour le traitement des mycoses.....	38
Tableau III : Quelques médications d'usage courant pour les aspergilloses.....	42
Tableau IV : Valeurs des paramètres antifongiques comparés de X _{Aq}	74
Tableau V : Valeurs des paramètres antifongiques comparés de X ₀	77
Tableau VI : Valeurs des paramètres antifongiques comparés de X _{1.1}	80
Tableau VII : Valeurs des paramètres antifongiques comparés de X _{1.2}	83
Tableau VIII : Valeurs des paramètres antifongiques comparés de X _{2.1}	86
Tableau IX : Valeurs des paramètres antifongiques comparés de X _{2.2}	89
Tableau X : Valeurs des paramètres antifongiques comparés de X _{3.1}	92
Tableau XI : Valeurs des paramètres antifongiques comparés de X _{3.2}	95
Tableau XII : Valeurs des paramètres antifongiques comparés de G ₁ , G ₂ , G ₃ , G ₄ et G ₅	98
Tableau XIII : Valeurs des paramètres antifongiques comparés de F ₁₂	101
Tableau XIV : Valeurs des paramètres antifongiques des différentes fractions de TEKAM ₃	102
Tableau XV : Valeurs des paramètres antifongiques comparés des extraits X _{Aq} , X ₀ , X _{1.1} , X _{1.2} , X _{2.1} , X _{2.2} , X _{3.1} , X _{3.2} et F ₁₂	107
Tableau XVI : Composition chimique de X _{Aq} , X ₀ , X _{1.2} et la F ₁₂	111

LISTE DES ABBREVIATIONS

AB	Aspirations bronchiques
CHU	Centre hospitalier universitaire
CI₅₀	Concentration pour 50% d'Inhibition
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CM	Carrés moyens
CMF	Concentration Minimale Fongicide
CMI	Concentration minimale inhibitrice
D	Dermatophytes
ddl	degré de liberté
F₁, F₂, F₃, F₄, ... F₂₀	Fraction 1, Fraction 2, Fraction 3, Fraction 4, ... Fraction 20
Fcal	F calculé
Ftab	F tableau
H.E	huile essentielle
H.E.S	Hemalum- Eosine-Safran
LCR	Liquide Cephalo-Rachidien
PAS	Acide Périodique de Schiff
PCB	Pomme de terre Carotte Bile
PD	Pomme de terre – carotte
PV	Prélèvements vaginaux
RAT	milieux Rice Agar Tween 80
Rf	rapport frontal
Sc	Somme des carrés
Sdv	Somme des variations
T	Témoin
TEKAM₃	nom de code de la poudre de <i>Terminalia catappa</i>
TS	Témoin Sabouraud
UV	ultra violet
X₀	extrait éthanolique
X_{1.1}	la phase hexanique.
X_{1.2}	la phase aqueuse issue de la partition hexane – eau.
X_{2.1}	la phase acétatique.
X_{2.2}	la phase aqueuse issue de la partition acétate d'éthyle – eau.

XXIII

X_{3,1}	la phase butanolique.
X_{3,2}	la phase aqueuse issue de la partition butanol – eau.
X_{Aq}	extrait aqueux

INTRODUCTION

Les maladies infectieuses sont la première cause de mortalité sur la planète et des millions de personnes en meurent chaque année dans le monde. Si certains micro-organismes comme les bactéries intestinales sont bénéfiques à l'homme, d'autres peuvent au contraire provoquer des maladies parfois mortelles telles que la tuberculose, le paludisme, les hépatites virales, le choléra, la fièvre typhoïde, le tétanos et l'avènement de l'infection à VIH qui engendre diverses infections opportunistes (DUPONT, 1987 ; ROSENHEIM *et al.*, 1989 ; SCHMUTZ *et al.*, 1995).

Parmi ces infections opportunistes, on compte des viroses, des bactérioses et des mycoses. Au niveau des mycoses, les candidoses, la cryptococcose et les aspergilloses constituent le « trio de tête » des infections fréquentes et graves chez les immunodéprimés. Elles sont le fait de champignons opportunistes qui sont des agents pathogènes proliférant sur des terrains immunologiquement fragilisés en induisant des infections cutanées et systémiques.

Cliniquement, le traitement des mycoses est difficile non seulement sur le plan chirurgical, mais également du point de vue chimiothérapeutique, car les molécules susceptibles de tuer ces micro-organismes ou de stopper leur croissance s'avèrent souvent très toxiques pour les cellules humaines (COULIBALY *et al.*, 1982 ; EHOLIE, 1993 ; DROMER *et al.*, 1996).

A ces difficultés, s'ajoutent les résistances aux antibiotiques usuels ainsi que les limites d'outils de diagnostic en mycologie clinique (GARRIGUES *et al.*, 1996 ; SUAREZ, 1997). Sans compter qu'en réalité les molécules efficaces contre les champignons sont en nombre limité.

En d'autre terme, malgré le grand nombre de médicaments existants contre les mycoses, le taux d'échecs thérapeutiques est élevé (DUPONT *et al.*, 1990 ; BELHADJ *et al.*, 1994).

En dehors des problèmes posés au niveau thérapeutique, un autre aspect des difficultés est lié aux conditions socio-économiques des populations africaines. Cette situation de précarité économique fait que ces populations n'ont pas toutes accès aux antifongiques les plus efficaces qui restent très chers pour leur pouvoir d'achat (EBRAHIM, 2003). De ce fait, elles ont de plus en plus recours aux plantes médicinales pour se soigner. Selon les données de l'OMS, plus de 80% des populations rurales vivant dans les pays en développement comptent sur la médecine traditionnelle pour leurs besoins de santé (OMS, 1998). Notons que la médecine traditionnelle est un système de soins de santé basé généralement sur l'utilisation des plantes. Cette médecine est populaire, disponible et acceptée dans beaucoup de communautés africaines (ADJANOHOUN, 1979 ; FERNADEZ DE LA PRADILLA, 1981 ; POUSET, 1989).

Au vu de tout ce qui précède, la majorité des auteurs s'accordent sur le fait que le traitement des mycoses demeure un délicat problème de santé publique. Aussi la recherche de nouvelles molécules actives susceptibles d'être utilisées en thérapeutique humaine est elle devenue une nécessité, en raison des problèmes rencontrés, à savoir le coût de production, les résistances

primaires et secondaires ou de toxicité, avec les antifongiques commerciaux (CADET DE FONTANAY et *al.*, 1996 ; MAESAKI et *al.*, 1994 ; RIBAUD et *al.*, 1996).

Pour répondre à cette importante préoccupation, certains chercheurs se sont basés sur des molécules préexistantes pour faire la synthèse chimique en vue d'améliorer l'activité de ces molécules, soit en leur ajoutant des radicaux, soit en changeant leurs conformations. A l'opposé, d'autres chercheurs se sont appuyés sur les vertus médicinales des plantes de la pharmacopée dont on dénombre 50 000 espèces aux propriétés médicinales avérées selon ADJANOHOUN (1990) qui pourraient être de nouvelles têtes de séries de médicaments pouvant permettre de constituer un « arsenal » thérapeutique nouveau, mieux outillé plus efficace et à moindre coût. Notre laboratoire s'inscrit dans cette dernière logique en ayant pour approche, d'explorer les plantes de la pharmacopée ivoirienne afin de détecter celles pouvant être à l'origine de nouveaux médicaments antimicrobiens. Pour y parvenir, notre laboratoire a mené une enquête ethnobotanique en 1991 qui a abouti à la sélection de nombreuses plantes parmi lesquelles, on compte des espèces à activités anti-infectieuses (GUEDE - GUINA et *al.*, 1990,1991, 1991 et 1997 ; DJAMAN et *al.*, 1997 ; KRA et *al.*, 2002). De nombreuses plantes (*Mitracarpus scaber*, *Mareya micrantha*, *Fagara macrophylla*, *Phyllanthus amarus*, *Alchornea cordifolia*, *Myragyna ciliata*, *Combretum molle*, *Sida acuta*, *Mansonia altissima*, *Olax subscorpioides*, *Morinda morindoides*, *Thoningia sanguinea*, *Cassia alata*....) de cette collection ont été testées en culture *in vitro* sur des souches bactériennes et fongiques.

Cette étude s'inscrit dans cette même lignée et son objectif général est d'établir le spectre antifongique des extraits de *Terminalia catappa*, une *Combretaceae* de la pharmacopée ivoirienne.

Les objectifs spécifiques sont :

- 1- Evaluer l'activité antifongique de ces extraits totaux sur la croissance *in vitro* de trois souches fongiques (*Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton mentagrophytes*).
- 2- Optimiser l'activité antifongique par des partitions bioguidées suivies de chromatographie sur couche mince et de chromatographie sur colonne.
- 3- Mettre en évidence par tri phytochimique, la nature des principes actifs qui seraient dans les fractions les plus actives.

**REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE**

CHAPITRE I : GENERALITE SUR LES CHAMPIGNONS

Les champignons sont des eucaryotes (possédant un noyau bien individualisé, entouré d'une membrane nucléaire) (figure 1). Ce sont des organismes hétérotrophes qui ne possèdent pas de pigment assimilateur. Ils sont hétérotrophes pour le carbone et de ce fait, ils vivent généralement comme saprophytes, parasites ou symbiotes. Ils peuvent être autotrophes pour l'azote, le soufre et divers facteurs de croissance.

Les champignons sont très nombreux et sont répandus dans le milieu extérieur. Plus de 200 000 espèces ont été répertoriées. Parmi elles, 3700 sont couramment rencontrées dans la nature. En mycologie médicale on reconnaît aujourd'hui environ 400 espèces fongiques incriminées en pathologie humaine (THERIZOL-FERLY, 1990 ; CHABASSE, 1999 ; KRA, 2001).

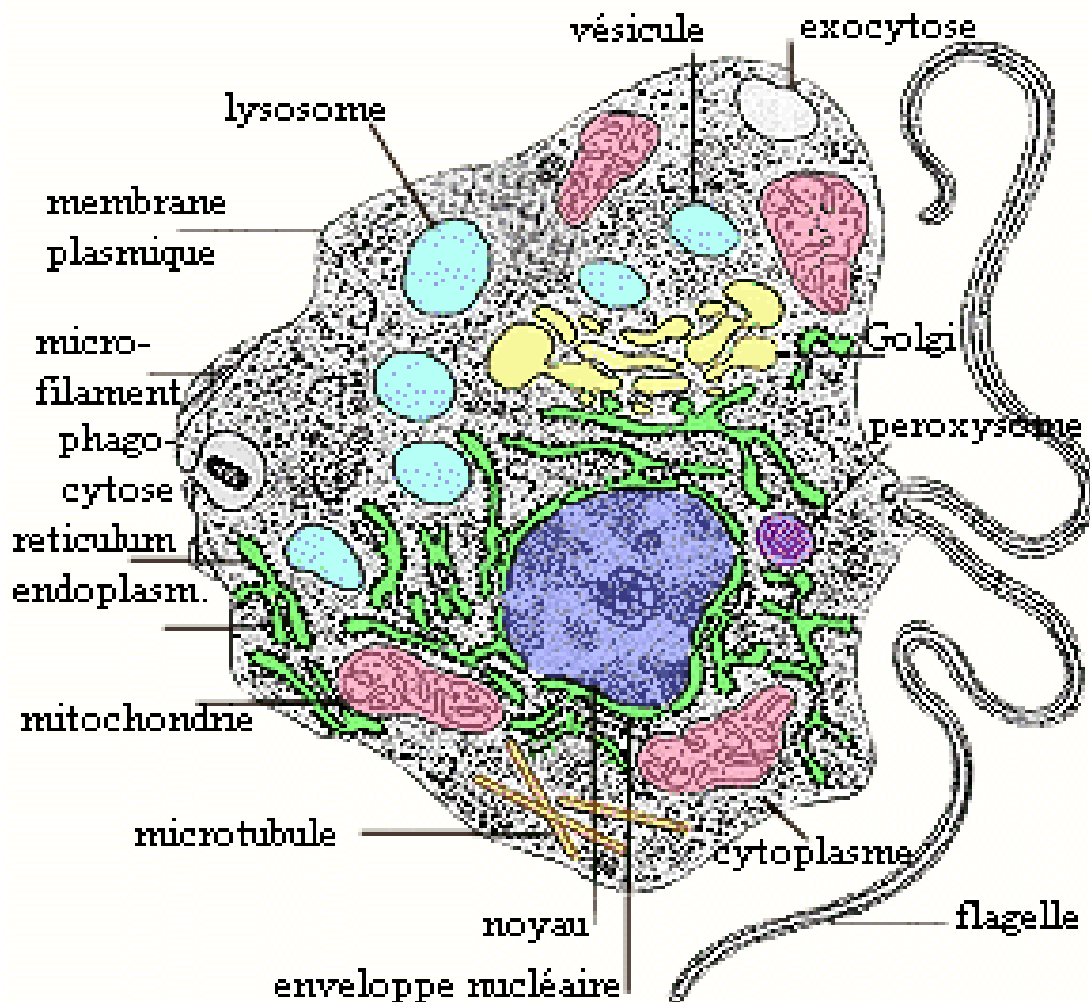


Figure 1 : Structure d'un eucaryote (MARTINE, 2007)

1. CARACTERES GENERAUX

1. 1. Caractères morphologiques

Le thalle est l'appareil végétatif. Le thalle est constitué de cellules isolées et juxtaposées que l'on appelle des levures ou des filaments ou hyphes ou mycélium enchevêtrés. Ainsi on distingue le thalle levuriforme et le thalle filamenteux. Notons que le thalle levuriforme est constitué de cellules arrondies ou ovalaires qui croissent par bourgeonnement. Ceux-ci se détachent de la cellule-mère pour bourgeonner à leur tour. Dans certaines conditions de vie, les bourgeons peuvent ne pas se détacher de la cellule-mère, s'allonger pour former un pseudo-mycélium distinct d'un mycélium vrai par un certain nombre de caractères :

Tableau I : Quelques caractères distinctifs entre mycélium vrai et pseudomycélium (THERIZOL-FERLY, 1990).

	Mycélium vrai	Pseudo-mycélium
la croissance	Elle résulte de l'apex du mycélium par élongation linéaire avec formation ou non ultérieure de cloisons transversales.	Elle résulte d'un processus de bourgeonnement avec une striction au niveau de chaque bourgeon formé sans séparation de sa cellule-mère.
La cellule terminale	Elle est typiquement plus longue que la cellule qui la précède juste avant le premier septum. Elle est habituellement cylindrique.	Elle est typiquement plus longue ou égale à celle qui la précède juste avant la première striction. Elle est ronde ou ovalaire.
Les parois	Elles sont typiquement parallèles, sans invagination au niveau des septa.	Elles contiennent typiquement des constriction marquées au niveau des septa.
Les septa	Ils sont réfringents et droits.	Ils sont habituellement difficile à discerner et sont incurvés.
Les branches latérales	Elles ne sont pas constriquéées à leurs points d'origine et le septum est à quelque distance de l'hyphé initial.	Elles sont rétrécies à leurs points d'origine et il y a un septum à l'origine de la branche.

Quant au thalle filamenteux, il est constitué de filaments. Ceux-ci sont en forme de tube, dont la paroi limite un protoplasme contenant les noyaux. Les tubes mycéliens peuvent être continus ou cloisonnés. Ce sont des tubes ramifiés de 2 à 15 μm de diamètre, de longueur égale à 100 μm environ (THERIZOL-FERLY, 1990 ; KOENIG, 1995).

On distingue principalement 2 sortes de filaments (figure 2) :

- les filaments de diamètre irrégulier (5 à 15 μm) sont non cloisonnés. Des cloisons (sans pores de communication) apparaissent uniquement pour séparer les parties vivantes des parties mortes. Ces filaments sont dits siphonnés ou coenocytiques. Leurs ramifications se font à angle droit. Ils sont caractéristiques de la classe des zygomycètes.

- les filaments de diamètre régulier (3 à 5 μm) sont cloisonnés. Les cloisons ou septa se forment à intervalles plus ou moins réguliers et délimitent des « articles ». Ils possèdent un ou plusieurs pores plus ou moins différenciés, permettant le passage de courant cytoplasmique et de noyaux d'un article à l'autre. Leurs ramifications se font à angle aigu.

La croissance se fait généralement de façon centrifuge dans toutes les directions, à partir d'un point central, donnant des colonies rondes. Elle est toujours apicale ou latérale. On observe à l'apex du filament une accumulation de vésicules, dérivant du réticulum endoplasmique dont le rôle serait la libération d'enzymes intervenant dans la lyse de la paroi ancienne et la synthèse de nouveaux constituants de la paroi.

Toutes sortes de modifications des filaments et de leur paroi peuvent s'observer selon les champignons :

- épaissements terminaux (organes pectinés), ou d'un article (cellules en noisette) ;
- chlamydospores intercalaires avec condensation du cytoplasme (formes de résistance) ;
- vésicules irrégulières qui sont souvent des formes de dégénérescence ;
- formation de rhizoïdes, organes de fixation ;
- boucles permettant la capture de nématodes (THERIZOL-FERLY, 1990 ; KOENIG, 1995).

Les filaments peuvent s'agglomérer entre eux et former soit des cordons soit des tissus (stromas). On distingue :

- des mèches ou cordons : agglomération de filaments parallèles ;
- des corémies ou synémas ou graphium : agglomération de filaments se terminant par des bouquets de spores ;
- des sclérotés : amas sphériques de filaments enchevêtrés, vivants, entourés, d'une couronne de filaments épais, souvent mélanisés ayant un rôle de conservation ;
- des pycnides : véritables nodules formés d'une paroi avec un ostium, renfermant des spores asexuées (coelomycètes) ;
- des périthèces ou cléistothèces : nodules contenant des spores sexuées (ascomycètes) ;
- des carpophores : correspondant au chapeau des macromycètes qui contiennent les basides et basidiospores (basidiomycètes).

Le cytoplasme contient des mitochondries, un réticulum avec des ribosomes, des vésicules protéiques, des microtubules, du glycogène et des granulations lipidiques. Contrairement aux algues et aux végétaux, il n'existe pas de plastes. La membrane cytoplasmique est entourée d'une paroi de structure complexe généralement stratifiée, formée, selon les champignons, de :

- glucides :
 - polyosides simples (mannanes, glucanes, cellulose),
 - disaccharides (glucose, galactose),

- polyosides aminés (chitine, chitosane),
- stérols : le plus important étant l'ergostérol ;
- polyols.

Les champignons noirs possèdent généralement de la mélanine à des concentrations parfois importantes dans la paroi (BOIRON, 1996 ; CHABASSE, 1999 ; KRA, 2001).

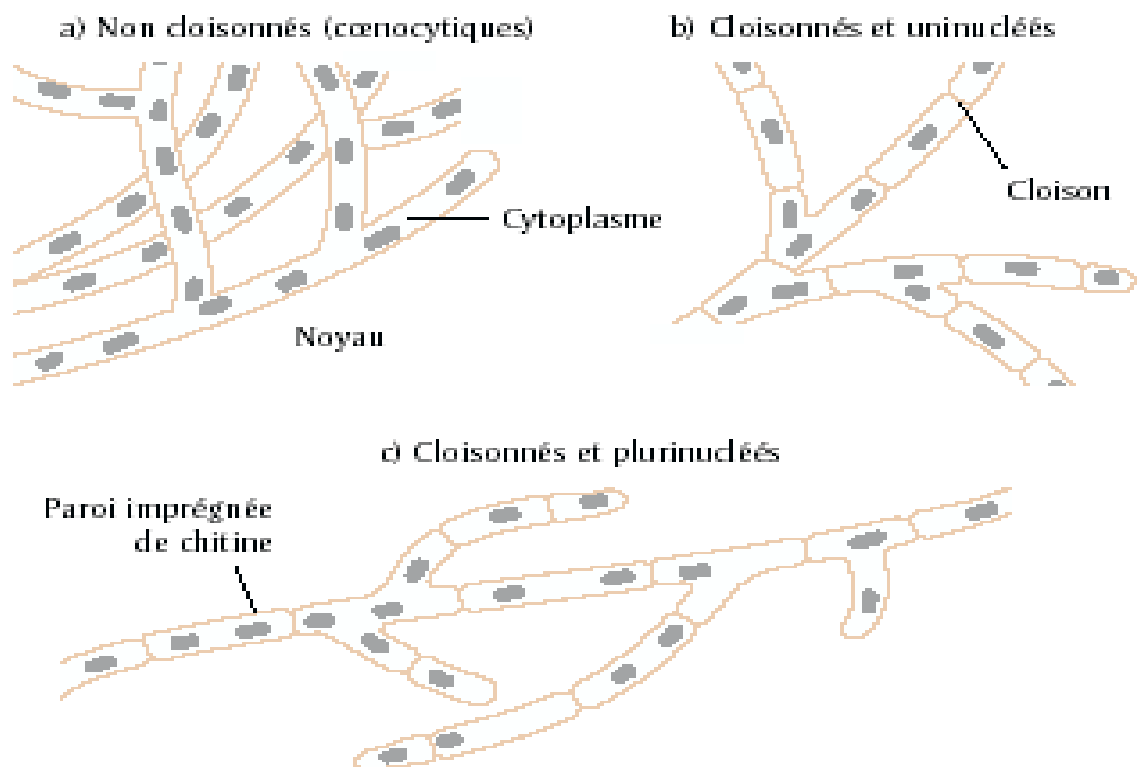


Figure 2 : Quelques aspects de la morphologie des champignons filamenteux (MARTINE, 2007)

1. 2. Nutrition

Les conditions nécessaires au développement des champignons sont différentes selon que l'on veut obtenir la formation de leur mycélium ou de leur sporulation. A la fois hétérotrophes pour le carbone et sans pouvoir de phagocytose (excepté les myxomycètes), les champignons sont réduits à absorber des substances organiques et minérales à l'état dissout. Ils sont incapables de synthétiser leur substance à partir d'éléments simples. Ils ont besoin de matières organiques déjà synthétisées. Quelque soit leur mode de vie, les champignons ont besoin de carbone, d'azote, d'hydrogène, d'oxygène, d'oligo-éléments, parfois des vitamines (THERIZOL-FERLY, 1990).

Ils trouvent le carbone sous forme organique dans les hydrates de carbone (sucres, alcools), les acides organiques, les protéines, les lipides. Les champignons assimilent tous le glucose, parfois d'autres

sucres, ou de l'amidon, ainsi que de l'extrait de malt. Pour de nombreuses espèces (*Aspergillus*, *Mucor*), n'importe quelle source de glucide convient. Pour s'approvisionner en azote, certaines espèces assimilent les formes (minérales, nitrates, sels ammoniacaux, etc.) qui sont généralement suffisantes pour couvrir leurs besoins. Mais contrairement aux végétaux supérieurs, les champignons utilisent aussi les peptides, les acides aminés ou certaines molécules azotées telles que l'urée. L'hydrogène leur est fourni par l'eau qu'ils trouvent soit dans l'humidité du milieu extérieur, soit dans les milieux synthétiques qui leur sont proposés. Sans eau, ils se dessèchent et meurent rapidement. Les champignons sont des organismes aérobies. Et l'oxygène leur est fourni par l'air ambiant. Ils peuvent provisoirement survivre en micro-aérobiose. C'est cette faculté qui explique leur capacité à envahir les tissus animaux oxygénés uniquement par voie sanguine, donc leur parasitisme. Les éléments minéraux parfois nécessaire à la sporulation de certaines espèces sont le soufre (SO_4^{2-}), le phosphore (PO_4^{3-}), le manganèse, le calcium et divers oligo-éléments (Fe, Cu, etc.). La plupart des champignons synthétisent leurs vitamines à partir des constituants organiques aminés. Généralement les espèces parasites ont besoin de thiamine. La température permettant la croissance des champignons, varie selon les espèces. Certaines peuvent croître à des températures extrêmes de 0 à 57°C. Les températures optimum pour les champignons habituellement saprophytes se situent entre 20 et 27°C. Celle des espèces isolées de la peau ou des annexes se situe entre 25 et 30°C. Pour les espèces capables de se développer en parasites dans des tissus ou des organes profonds, la température optimale est de 37°C. Précisons que chez de nombreuses espèces, la thermo-tolérance est un caractère d'adaptation parasitaire. Le pH n'est pas un critère déterminant pour la croissance des champignons. Cependant, ils se cultivent mieux et plus rapidement sur les milieux acides. Les besoins nutritionnels des champignons constituent parfois des caractères spécifiques utilisés pour les identifier (BOUCHET et *al.*, 1989; BOTTON et *al.*, 1990 ; BOIRON, 1996).

1. 3. Reproduction

La multiplication et la reproduction des champignons se font sous forme de spores selon 2 mécanismes : sexué et asexué (figure 3). Un champignon peut se reproduire :

- sous forme asexuée : c'est l'anamorphe ;
- sous forme sexuée : c'est la téléomorphe ;
- sous les 2 formes en même temps : c'est l'holomorphe.

Enfin, il existe des espèces qui ne produisent pas de spores. On les dénomme '*mycelium serilum*' (KOENIG, 1995).

1. 3. 1. Reproduction asexuée

C'est la plus fréquente et la plus simple. Elle fait intervenir une division du noyau par simple mitose. On distingue les spores endogènes et les spores exogènes.

- Spores endogènes : appelées endospores. Elles sont caractéristiques des zygomycètes. Les spores se forment à l'intérieur d'un sac, le sporocyste, porté par un filament spécialisé : le sporocystophore. Le cytoplasme du sporocyste se divise en particules nucléées qui vont donner des spores. A maturité, la paroi du sporocyste se déchire, libérant les spores dans le milieu extérieur.

- Spores exogènes : appelées spores ou conidies ou conidiospores. Elles se forment librement sur le substrat et sont caractéristiques des hyphomycètes. La formation se fait selon 2 modes particuliers :

- le mode thalique, dont il existe 2 types :
 - ✓ thalique arthritique : le filament cesse de croître ; puis apparaissent des cloisons très rapprochées à partir de l'extrémité, délimitant les articles. Enfin, le filament se fragmente à chaque cloison, libérant les spores : ce sont des arthrospores ou arthroconidies (*Geotrichum*).
 - ✓ Thalique solitaire : c'est le dernier article du filament qui se modifie et se transforme en spores (dermatophytes).
- le mode blastique : la conidie se forme par « bourgeonnement » du cytoplasme à partir d'une cellule du filament dite cellule conidiogène. Une cloison apparaît qui sépare la cellule fille de la cellule mère : c'est une blastoconidie ou blastospore.

L'exemple type est la levure qui, à quelques exceptions près, se reproduit par simple bourgeonnement. Le pseudofilament est formé d'une succession de bourgeons qui s'allongent tous d'une même longueur sans se séparer (THERIZOL-FERLY, 1990 ; CHABASSE, 1994 ; BOIRON, 1996).

Parmi les champignons filamenteux, on distingue plusieurs types de conidiogénèse blastique :

- blastique solitaire : une seule spore est produite isolement par la cellule conidiogène.
- Blastique acropète : chaque conidie bourgeonne une ou plusieurs conidies filles qui, à leur tour, en bourgeonnent d'autres ; on obtient une chaîne ramifiée de spores ; la spore la plus âgée étant à la base de la chaîne, la plus jeune à l'extrémité (*Cladosporium sp.*).
- Blastique synchrone : la cellule conidiogène bourgeonne de façon synchrone ; des conidies formées sur un renflement de la cellule (*Botrytis sp.*).
- Blastique sympodiale : après avoir formé une conidie, la cellule conidiogène reprend sa croissance latéralement, reforme une deuxième conidie et ainsi de suite (*Ceratocystis sp.*).
- Blastique régressive : c'est l'inverse du mode précédent ; les conidies se forment l'une après l'autre à partir de l'extrémité, entraînant le raccourcissement du filament (*Trichothecium sp.*).
- Blastique annellidique : après avoir formé une conidie terminale, la cellule conidiogène reprend sa croissance à travers l'orifice initial et forme une deuxième conidie qui repousse

la première. On obtient ainsi une chaîne non ramifiée de spores. La cellule conidiogène s'allonge en formant un anneau chaque fois qu'elle produit une spore (*Scopulariospsis sp.*).

- Blastique phialidique : la cellule conidiogène se différencie sous forme d'une phialide, élément spécialisé qui produit un nombre illimité de spores les unes après les autres. Les spores formées restent agglomérées en amas ou « balle » ou « fausse tête » au sommet de la phialide (*Acremonium sp.*) ou sont produites en chaînes (*Penicillium sp.*) ; ces chaînes ne sont pas ramifiées et sont dites basipètes : la spore la plus âgée est à l'extrémité de la chaîne et la plus jeune, à la base.

La conidiogénèse est très importante à observer. Elle permet de se rapporter à des « groupes » définis de champignons et ainsi de les identifier (CHABASSE, 1994 ; BOIRON, 1996 ; BOUCHET et al., 1999).

1. 3. 2. Reproduction sexuée

Elle fait intervenir la rencontre de filaments spécialisés, la conjugaison des noyaux et enfin une réduction chromatique. Elle se déroule en 3 phases successives :

- la plasmogamie : fusion des protoplasmes de 2 cellules fongiques ;
- la caryogamie : fusion des 2 noyaux ;
- la réduction chromatique ou méiose suivie d'une ou plusieurs mitoses.

Chez un grand nombre de champignons, la plasmogamie et la caryogamie sont séparées dans le temps. Il existe donc une dicaryophase pendant laquelle les 2 noyaux génétiquement différents coexistent et peuvent se diviser indépendamment. Cette dicaryophase est généralement très courte ou absente chez les zygomycètes, très longue chez les basidiomycètes.

Si la reproduction sexuée a lieu dans le thalle issu d'une seule spore, le champignon est dit homothallique et les dicaryons sont appelés homocaryons. Si elle nécessite la rencontre de 2 thalles différents compatibles, le champignon est dit hétérothallique et les dicaryons sont des hétérocaryons (BADILLET et al., 1987 ; THERIZOL-FERLY, 1990).

Les thalles génétiquement différents sont parfois reconnaissables par une morphologie, une couleur ou une vitesse de croissance différente. Le plus souvent, on ne peut les distinguer et on leur attribue arbitrairement un signe + ou -.

En fonction des champignons, il existe 3 types de spores sexuées produites :

- les zygosporés : elles sont produites par les zygomycètes. La zygosporé ou zygote est une spore unique, de grande taille, avec une paroi épaisse souvent très verruqueuse, formée par la fusion de 2 gamétocystes, portés par des filaments appelés suspenseurs.
- les ascospores : elles se forment selon un mécanisme plus complexe. Après fusion des protoplasmes d'éléments spécialisés, l'anthéridie (élément mâle) et l'ascogone (élément femelle), le

noyau de l'anthéridie migre dans l'ascogone. Après un stade de dicaryophase pendant lequel la cellule se divise plusieurs fois, survient la fusion des noyaux dans chaque cellule formée ou asque. La réduction chromatique suivie habituellement d'une mitose aboutit à la production de 8 ascospores dans chaque asque. Soit les asques sont « nues » : c'est le cas des levures telles *Saccharomyces cerevisiae* où les levures se transforment directement en asques après conjugaison. Soit elles sont formées à l'intérieur d'un stroma protecteur appelé ascocarpe, formé à partir des filaments entourant les gamétocystes. On reconnaît 5 types d'ascocarpes qui sont utilisés dans la classification des champignons :

- le cleistothèce : c'est une structure complètement fermée dont la paroi est formée d'une ou plusieurs couches parenchymateuses de filaments modifiés. A maturité, la paroi se lyse pour libérer les asques;
 - le gymnothèce : la structure parenchymateuse formée est beaucoup moins compacte et les asques peuvent s'en échapper librement ;
 - le périthèce : il ressemble au cleistothèce, mais il possède une ouverture (ostium ou ostiole) par laquelle sont libérés les asques à maturité ;
 - l'apothécie : elle a la forme d'une coupe ouverte au fond de laquelle se trouvent les asques ;
- le pseudo-ascocarpe : les compartiments ou locules dans lesquels se trouvent les asques, comportent un petit ostiole et sont creusés directement dans un stroma compact, déjà formé avant la reproduction sexuée (KOENIG, 1995 ; CHABASSE, 1999).

Dans certains cas, les ascocarpes sont pourvus d'appendices flagelliformes ou filaments de tailles et de formes très variées appelés fulcres ou hyphes péridiaux.

- les basidiospores : caractéristique des basidiomycètes, le stade dicaryotique aboutit à la formation d'une baside. Après réduction chromatique, les 4 basidiospores formées migrent à l'extérieur de la baside.

La reproduction sexuée est très importante à reconnaître car elle est à la base de la classification des champignons.

Selon les types de spores produites, on divise les champignons en 4 sous-divisions ou phylum :

- 1) Zygomycotina : présence de zygospores.
- 2) Ascomycotina : présence d'ascospores.
- 3) Basidiomycotina : présence de basidiospores.
- 4) Deuteromycotina : absence de spores sexuées.

Ce dernier phylum est très artificiel puisqu'il regroupe tous les champignons pour lesquels on ne connaît pas la reproduction sexuée : soit qu'elle ait disparu au cours des temps, soit que les

conditions de cultures ne permettent pas de l'obtenir. Cela entraîne plusieurs conséquences pratiques :

- la classification est en constante évolution. Dès que l'on découvre la reproduction sexuée téléomorphe d'un champignon, on reclasse ce dernier dans le phylum adéquat en lui donnant un nouveau nom.
- les champignons holomorphes qui possèdent les formes sexuées et asexuées ont deux noms différents. La priorité étant donnée à la forme sexuée dite parfaite. L'usage actuel voudrait que l'on nomme le champignon d'après la forme obtenue en culture. Par exemple, dans le cas de *Aspergillus nidulans*, si l'on observe dans la culture uniquement des têtes aspergillaires, on répond : présence de *Aspergillus nidulans*. S'il existe, en plus, des cleistothèces avec des asques, il faudrait répondre : présence de *Emericella nidulans* (KOENIG, 1995 ; BOIRON, 1996 ; CHABASSE, 1999).

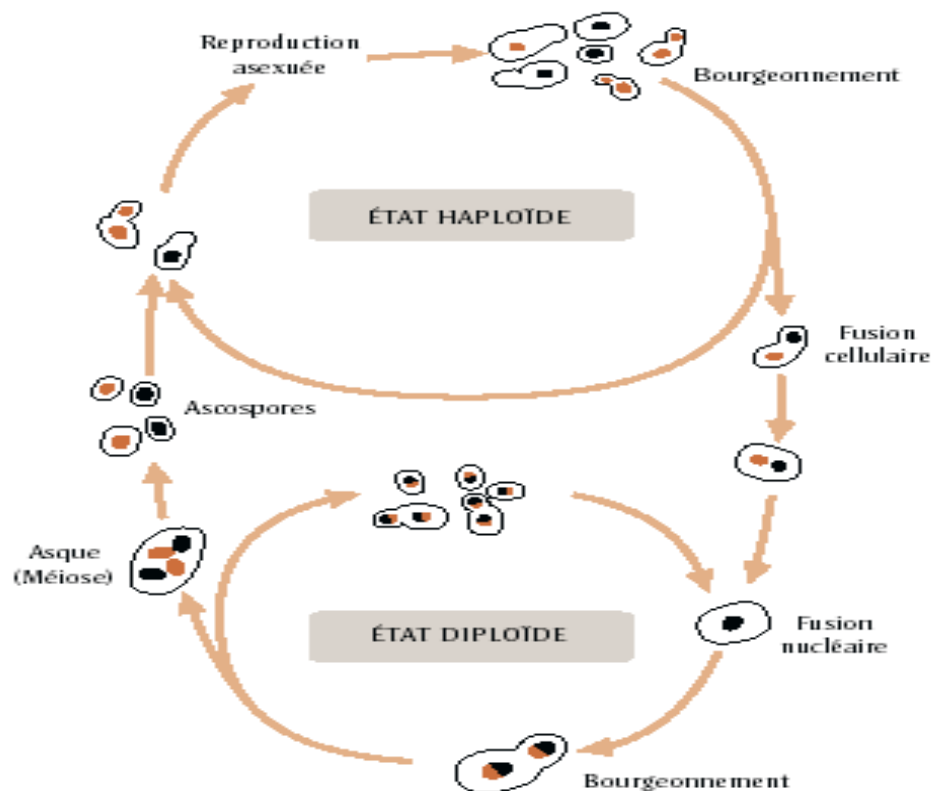


Figure 3 : Schéma du cycle de reproduction asexuée et sexuée d'une levure (MARTINE, 2007)

2. CLASSIFICATION DES CHAMPIGNONS

De très nombreuses classifications ont vu le jour. Elles ont été modifiées avec l'évolution des connaissances et l'application récente à la mycologie des techniques de biologie moléculaire.

Pour des raisons de simplicité, nous en avons retenu 2 dans lesquelles ne figurent que les genres ayant un intérêt en mycologie médicale.

La classification de Hawksworth, Sutton et Ainsworth, modifiée, présentée dans le Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi (1971 – 1983). Elle est basée sur des caractères morphologiques simples et est encore la plus utilisée. Elle reconnaît une sous division (*Mastigomycotina*), qui comprend des champignons à spores flagellées (Zoïdes) contenues dans des zoosporocystes. Dans le phylum des Ascomycètes, les classes sont basées sur la morphologie des ascocarpes et l'arrangement des asques.

La classification de Kwon-Chung et Bennet est plus récente (1992). La sous division des *Mastigomycotina* a été supprimée. En effet, les études ultrastructurales, biochimiques, génétiques ont montré des différences importantes avec les vrais champignons. Ces organismes sont actuellement transférés dans le règne des protistes, regroupant les protozoaires et d'autres organismes. Par ailleurs dans le phylum des *Ascomycotina*, la classe des Ascomycètes tient compte, non seulement de la nature de l'ascocarpe, mais également du type d'asques, de la nature de sa paroi et du mécanisme d'éjection des ascospores.

La classification (partielle) proposée par Hawksworth et *al.* (1983) et Kwon-Chung et *al.*, (1992) (Citée par CHABASSE, 1994 et KRA, 2001) peut se résumer comme suit :

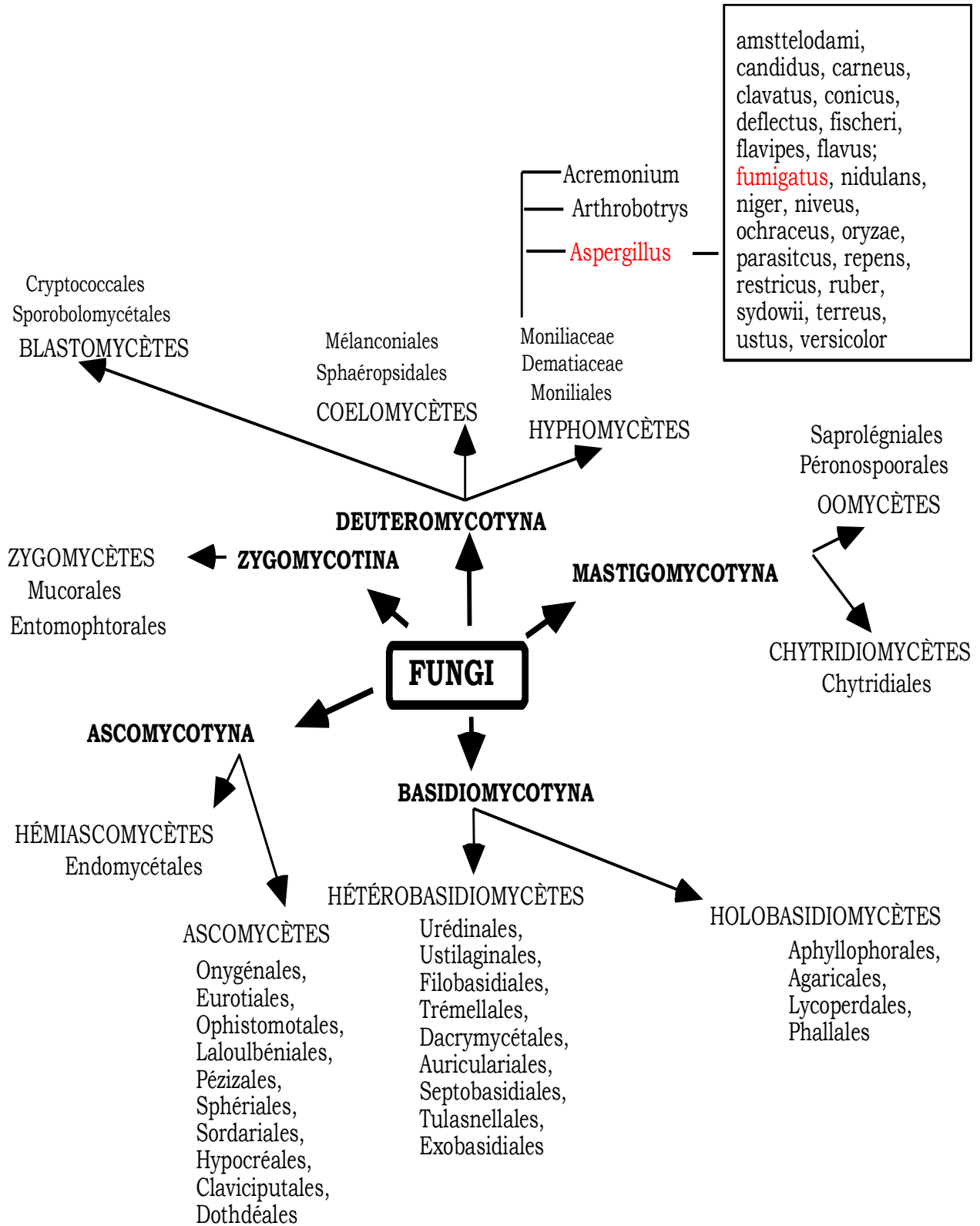


Figure 4 : Classification des champignons d’après HAWKSWORTH et al. (1983), KWONG CHUNG et al. (1992).

(Source : CHABASSE, 1994 ; KRA, 2001)

3. DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE

Le diagnostic d'une mycose, suspectée par le médecin, sera confirmé, dans la mesure du possible, par l'isolement au laboratoire d'analyses du champignon responsable. Le diagnostic mycologique comprend 4 étapes importantes. Ces étapes sont :

- le prélèvement,
- l'examen direct,
- la culture sur milieux appropriés,
- l'identification des champignons isolés.

3. 1. Les prélèvements

Le diagnostic d'une mycose dépend beaucoup de la façon dont la récolte du matériel pathologique suspect est effectuée. Il ne peut y avoir de bon diagnostic réalisé sur du mauvais matériel. Aussi, les prélèvements doivent-ils être faits au bon endroit de la lésion, en quantité suffisante et dans de bonnes conditions.

Au niveau de la peau et des phanères, il est nécessaire de s'assurer qu'aucun traitement antifongique n'a été entrepris ; sinon, il faut effectuer le prélèvement une semaine après l'interruption du traitement. Dans le cas de lésions squameuses, on gratte fortement les squames à la périphérie des lésions à l'aide d'une curette de Brocq, un grattoir de Vidal, ou éventuellement un vaccinostyle stérile, qui sont recueillies dans une boîte de Pétri en verre. Pour des lésions suintantes, on gratte aussi en bord de lésion, ou l'on utilisera un écouvillon. En cas de suspicion de *Pityriasis versicolor*, le scotch-test permet de faire le diagnostic dès l'examen direct (BADILLET, 1991 ; VIGUE-VALLANET, 1996 ; BARAN *et al*, 2001).

Pour les teignes du cuir chevelu et des poils, il est préférable de faire un examen préalable des lésions sous une lampe de Wood, pour ne prélever que les cheveux fluorescents à l'aide d'une pince à épiler. A défaut, on recueille les cheveux cassés. Les squames et les croûtes sont raclées avec une curette, le pus des lésions suppurées est prélevé avec un écouvillon (BOIRON, 1996 ; VIGUE-VALLANET, 1996 ; JOFFIN, 2003).

Enfin, en cas d'onxyxis, il est recommandé de couper, avec des ciseaux ou une pince stérile, toute la partie de l'ongle atteint jusqu'à la limite de la partie saine (THERIZOL-FERLY, 1990).

Dans le cas des plaies cutanées, le prélèvement est réalisé par écouvillonnage des lésions ou par ponction à l'aide d'une aiguille stérile après avoir désinfecté la surface avec un antiseptique (BADILLET, 1991).

Pour les muqueuses et orifices naturels, on utilise un écouvillon stérile. On frotte bien les lésions apparentes. Si l'examen ne peut pas être réalisé immédiatement, on ajoute un peu d'eau physiologique stérile dans le tube. Il existe des cas particuliers :

- ✓ la bouche : si la lésion est végétante ou ulcéreuse, on fait une biopsie ;
- ✓ l'anus : les lésions étant souvent squameuses, on racle les squames en périphérie ;
- ✓ le vagin : on fait le prélèvement sous spéculum ;
- ✓ l'oreille : s'il existe un bouchon noirâtre, on le prélève à la pince (KOENIG, 1995).

Prélèvements pulmonaires : les expectorations sont recueillies dans un récipient stérile après rinçage de la bouche avec un antiseptique. Mais il est préférable de réaliser des aspirations trachéales ou bronchiques sous fibroscopie, ou des lavages broncho-alvéolaires (BADILLET et *al.*, 1987).

Urines : les urines sont recueillies après désinfection soignée des organes.

Selles : elles sont recueillies dans un récipient stérile.

Liquide céphalo-rachidien et autres liquides : ils sont recueillis dans un tube stérile.

Sang : le prélèvement de 5 à 10 ml de sang se fait sur anticoagulant ou directement sur milieu de culture approprié.

Biopsies de tissus ou d'organes, pièces opératoires : ces prélèvements sont séparés en deux parties dont l'une est fixée dans du liquide de Bouin ou du formol et sert à l'examen anatomo-pathologique tandis que l'autre est placée dans de l'eau physiologique stérile en vue de la culture (VIGUE-VALLANET, 1996 ; BARAN et *al.*, 2001 ; JOFFIN, 2003).

3. 2. L'examen direct

Tout matériel d'analyse (liquide céphalo-rachidien, expectoration, lavage broncho-alvéolaire, écouvillonnage des muqueuses, selles, urines, sondage gastrique et autres biopsies, etc.) transmis au laboratoire pour un diagnostic mycologique doit faire l'objet d'un examen microscopique direct. L'examen direct, peut se faire à l'état frais, avec ou sans coloration, ou après préparation de l'échantillon. Il a pour but d'observer le champignon responsable non modifié et d'évaluer la quantité d'éléments fongiques dans le prélèvement. L'examen direct peut se faire sans coloration, mais dans certains cas, la coloration peut faciliter l'observation : la coloration au bleu lactophénol convient à tous les types de prélèvements ; la coloration de Gram convient également pour la plupart des types de matériel et est positive pour tous les champignons en bon état physiologique (BADILLET et *al.*, 1987 ; THERIZOL-FERLY, 1990).

Les prélèvements, tels que les cheveux, les ongles, les poils (quelquefois aussi certains échantillons de pus ou d'expectoration), doivent faire l'objet d'un éclaircissement pour rendre visible les éléments fongiques (KOH, chlorolactophénol). Ce type de préparation trouve un intérêt particulier dans le cas de la recherche de dermatophytes (BADILLET, 1991 ; GENTILINI et *al.*, 1993).

Les frottis (pus, expectoration) doivent faire l'objet de coloration (Gram, bleu de méthylène, Giemsa, Hotchkiss-Mc Manus), ainsi que les coupes anatomo-pathologiques (Hotchkiss-McManus, Gomori-Grocott) (BARAN et *al.*, 1996 ; JOFFIN, 2003).

3. 3. Culture

Elle est absolument nécessaire pour l'isolement et l'identification des champignons.

3. 3. 1. Les milieux d'isolement

Le milieu de Sabouraud est le milieu le plus simple. Il contient du glucose (2 à 4 %), de la peptone et de l'agar. Il convient à pratiquement tous les champignons responsables de mycoses (BADILLET et *al.*, 1987 ; THERIZOL-FERLY, 1990).

Le milieu de Sabouraud-chloramphénicol et/ou gentamycine est utilisé de préférence en raison de la présence très fréquente des bactéries qui gênent l'isolement et l'identification (KOENIG, 1995).

Le milieu de Sabouraud-chloramphénicol-actidione : l'actidione ou le cycloheximide est un inhibiteur des moisissures saprophytes. Il est conseillé d'associer ce milieu au précédent en particulier pour les prélèvements de la peau et des phanères. L'actidione inhibe également la croissance de certaines levures tout en laissant pousser la plupart des pathogènes (sauf *C. neoformans* et le genre *Mucor*) et sert alors de caractère d'identification. Les hémocultures doivent êtreensemencées, dans la mesure du possible, sur des milieux spécifiques des champignons. En effet, les milieux bactériologiques usuels ne sont pas suffisamment performants pour l'isolement des levures et tout particulièrement de *Cryptococcus neoformans* et de *Candida glabrata* (BOIRON, 1996 ; BARAN et *al.*, 2001 ; JOFFIN, 2003). Dans quelques cas précis, on utilise d'autres milieux en complément du milieu de Sabouraud :

- milieu de Sabouraud + huile d'olive ou milieu de Dixon pour l'isolement de *Malassezia furfur* ;
- milieu Brain heart agar pour l'isolement des dermatophytes exigeants ;
- milieu Guizzotia abyssinica pour l'isolement spécifique de *Cryptococcus neoformans*.

Les milieux peuvent être coulés en boîtes de Pétri ou en tubes à essai :

- Les boîtes de Pétri, en raison de la surface, ont l'avantage d'un meilleur isolement en cas d'association de champignons ou d'autres germes. Par contre, la contamination de la boîte de Pétri est plus facile et le milieu dessèche plus rapidement à l'étuve (BERCHES *et al.*, 1989).
- Les tubes à essai se conservent mieux, se contaminent moins ; mais la surface d'ensemencement est beaucoup plus réduite (THERIZOL-FERLY, 1990).

En pratique, on peut utiliser les boîtes de Pétri pour le diagnostic courant. Par contre, pour les prélèvements cutanés, les biopsies, les LCR, les suspicions de mycoses exotiques, il est préférable d'utiliser des tubes (BARAN *et al.*, 1990 ; GRILLOT, 1996 ; JOFFIN, 2003).

3. 3. 2. les techniques d'ensemencement

Dans les prélèvements, les champignons sont habituellement peu nombreux et poussent lentement. Il faut donc ensemer en abondance et stérilement. L'idéal est de disposer d'une hotte à flux laminaire. Sinon, le travail doit être effectué entre 2 becs bunsen. On ensemencera d'abord le milieu de Sabouraud-chloramphénicol puis le milieu de Sabouraud-actidione puis on fera l'examen direct avec le reste du produit (THERIZOL-FERLY, 1990).

- S'il s'agit des liquides, il faut centrifuger ou laisser sédimenter pendant une demie heure. Ensuite le culot est prélevé avec une pipette Pasteur. On l'étale sur la boîte ou sur le tube qui restera incliné 5 à 10 minutes (BADILLET, 1991).
- En ce qui concerne l'écouvillon, il faut frotter fortement l'écouvillon en le roulant sur toute la surface du milieu.
- Dans le cas des expectorations et des selles, il faut prélever avec une pipette Pasteur et ensemer largement sur toute la surface
- Pour les biopsies, produits de curetage, etc., il faut découper dans une boîte de Pétri stérile avec un bistouri, le produit en petits fragments ; ou broyer avec un peu d'eau physiologique stérile ; ensemer plusieurs fragments sur la surface du milieu et sur les bords du tube (KOENIG, 1995).
- S'il s'agit de fragment de cathéters, embouts d'appareillages, avec une pipette, il faut faire couler de l'eau physiologique stérile dans le cathéter et ensemer l'eau ; ou mettre le fragment dans un flacon de Sabouraud-chloramphénicol liquide (GRILLOT, 1996).

Pour le sang, il faut ensemer 5 à 10 mL de sang recueilli sur un anticoagulant dans un milieu de Sabouraud-chloramphenicol (BADILLET *et al.*, 1987 ; JOFFIN, 2003).

3. 3. 3. Incubation

Il est préférable de mettre tous les prélèvements (à l'exception du sang et du LCR qui seront incubés à 37°C), dans une étuve à 27°C (25 à 30°C). En effet, à 37°C, les bactéries, souvent présentes malgré les antibiotiques, poussent bien plus vite que les champignons et gênent l'isolement mais aussi l'identification de ces derniers (GENTILINI et *al.*, 1993).

3. 3. 4. Lecture

La lecture des cultures se fait après 24 heures et tous les jours pendant 8 jours pour le sang et le LCR, 48 heures pour tous les prélèvements sauf la peau et les phanères où la lecture se fait après 5 jours voire 10 à 15 jours.

On conserve tous les tubes ou boîtes de culture quelques jours (après traitement, les levures poussent avec un retard), mais au minimum 8 jours pour les prélèvements d'origine pulmonaire, 15 jours pour les hémocultures et 1 mois pour les LCR, les biopsies, la peau, les phanères et la recherche de mycoses.

On regarde attentivement dans un endroit bien éclairé, les tubes ou boîtes de culture. On note après l'aspect des colonies. Ces colonies peuvent être crémeuses, lisses ou rigueuses, de couleur blanche, beige ou rouge pour les levures. Elles peuvent être des colonies duveteuses, cotonneuses ou poudreuses pour les champignons filamenteux (THERIZOL-FERLY, 1990; JOFFIN, 2003).

3. 4. Identifications

Les techniques d'identification dépendent des champignons isolés.

- S'il s'agit des levures, Les critères d'identification sont d'une part morphologiques et d'autre part physiologiques. La première étape consiste à l'identification. Elle est basée sur les caractères morphologiques. Cette étape repose sur :
 - l'examen macroscopique de la souche : couleur (beige : *Cryptococcus*, rouge saumon : *Rhodotorula*, blanc : *Candida* ou autre), texture de la colonie ;
 - la recherche d'une filamentation sur milieux Rice Agar Tween 80 (RAT) ou Pomme de terre Carotte Bile (PCB). Une pseudofilamentation est caractéristique des espèces du genre *Candida*, la présence supplémentaire de chlamydo-spores signant la présence de *C. albicans*. Une vraie filamentation correspond au genre *Trichosporon*. L'absence de filamentation devra conduire à observer d'autres aspects morphologiques : levures de petites tailles : *Candida ex Torulopsis*, levures de tailles variables non jointives (capsule) : *Cryptococcus*, levures de grandes tailles, ovoïdes : *Saccharomyces*. On recherchera également une filamentation en sérum (blastèse), positive en moins de 4 heures pour *C. albicans*, ou la présence d'une capsule (test à l'encre de Chine) caractéristique du genre *Cryptococcus*.

- Recherche d'une reproduction sexuée (asques et ascospores, comme chez *Saccharomyces cerevisiae*).

La deuxième étape est l'identification de l'espèce. On utilise les caractères physiologiques. Cette identification est principalement basée sur les caractères d'assimilation des sucres (auxanogramme) et de fermentation des sucres (zymogramme), et les tests enzymatiques, à l'aide de galeries commerciales.

Enfin, des critères immunologiques, peuvent fournir des renseignements épidémiologiques intéressants: ils permettent en particulier de préciser les sérotypes A ou B de *C. albicans* et les sérotypes A, B, C ou D de *C. neoformans*. Les espèces majeures identifiées au laboratoire sont : *C. albicans* représentant à elle seule plus de 75 % des levures isolées de l'homme toute origine et condition confondue. Les autres espèces importantes du genre sont notamment *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *C. famata*, *C. guilliermondii*, *C. kefyri*, *C. krusei*, *C. tropicalis* (KOENIG, 1995 ; LARONE, 1995).

- S'il s'agit des champignons filamenteux, le diagnostic est uniquement morphologique et est posé sur l'examen macroscopique et microscopique du champignon (THERIZOL-FERLY, 1990).

3. 4. 1. Examen macroscopique

On notera :

- la consistance de la colonie : glabre, duveteuse, poudreuse, plâtreuse, soyeuse, laineuse, floconneuse, etc. ;
- la surface : plane, en dôme, plissée, cérébriforme;
- la présence de rayons fins ou larges, courts ou longs, s'enfonçant dans la gélose, etc. ;
- la couleur du recto et du verso ;
- la présence d'un pigment diffusible dans la gélose (THERIZOL-FERLY, 1990 ; KOENIG, 1995 ; LARONE, 1995).

3. 4. 2. Examen microscopique

Il faut observer les spores, leur taille, leur morphologie, mais surtout la façon dont elles sont rattachées aux filaments (conidiogénèse) : isolées, en chaînes ramifiées ou non, en amas, portées par des conidiophores isolés ou ramifiés, produites par des phialides ou non etc. En cas de difficulté d'identification, un réensemencement sur milieu à l'extrait de malt ou sur milieu de Czapek (milieu de référence pour ces champignons) ou sur Pomme de terre - Carotte (PC), Pomme de terre - Glucose-Agar (PGA), Corn - Meal - Agar (CMA), etc. peut s'avérer nécessaire (LARONE, 1995).

Dans cette étude, nous nous intéresserons particulièrement aux germes suivants : *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* et *Trichophyton mentagrophytes*.

4. ASPERGILLUS FUMIGATUS

4. 1. Epidémiologie

C'est en 1729 que MICHELI donne le nom de *Aspergillus* aux moisissures qu'il observe, par similitude de son aspect microscopique avec le goupillon (*Aspergillum* en grec) (LECLERCQ et al., 1969). Les *Aspergillus* sont des champignons appartenant à la famille des Aspergillacées (ou Moniliacées). Ils sont cosmopolites, extrêmement répandus dans l'environnement. Ils vivent aux dépens de matières organiques en décomposition et se développent dans les silos, les composts, les balles de foin mais aussi les céréales et diverses plantes. *Aspergillus fumigatus* est particulièrement abondant dans tous les sols et dans les matériaux organiques en décomposition. Sa thermotolérance fait qu'il se développe avec prédilection dans toutes les plantes, en décomposition rapide avec augmentation de chaleur. Les spores sont produites en très grand nombre. Leur taille et leur morphologie (ronde, rugueuse de 2 à 3 µm de diamètre) favorisent leur dissémination par moindre mouvement d'air, mais aussi, leur passage par le tractus respiratoire jusqu'aux alvéoles pulmonaires. *Aspergillus fumigatus* survit jusqu'à 55°C. Plusieurs antibiotiques ont été extraits de ce champignon dont la fumagilline qui aurait une réelle action amoebicide. C'est l'*Aspergillus* le plus fréquemment incriminé en pathologie humaine et animale. Il est responsable de près de 90 % des atteintes pulmonaires aspergillaires, parfois associé à *A. flavus* (GHANIA, 1984 ; KOENIG, 1995).

4. 2. Diagnostic mycologique

4. 2. 1. Examen macroscopique

La croissance est très rapide ; 24 à 48 heures à 37°C, 48 à 72 heures à 27°C. les colonies sont planes, poudreuses, de couleur verte, devenant gris fumé en quelques jours. Le revers est de couleur très variable, d'incolore à rouge foncé en passant par jaune, vert ou brun (KOENIG, 1995).

4. 2. 2. Examen microscopique

- tête aspergillaire en colonne longue ;
- conidiophore long, lisse, incolore ou coloré dans les tons de vert, surtout à la partie terminale ;
- vésicule hémisphérique, aplatie au sommet ;
- une seule rangée de phialides très serrées, régulières, sur la moitié supérieure ou les 3/4 de la vésicule ;

- conidies globuleuses, rugueuses à échinulées ;
- en principe il n'y a pas de reproduction sexuée mais celle-ci peut se voir dans quelques espèces du groupe *fumigatus*, en particulier dans les séries de *A. fisheri* : cleistothèces de couleur blanche, devenant jaune à orange avec le temps. Les ascospores sont incolores avec des crêtes équatoriales et à surface ornementée (KERNBAUM, 1980; KOENIG, 1995).

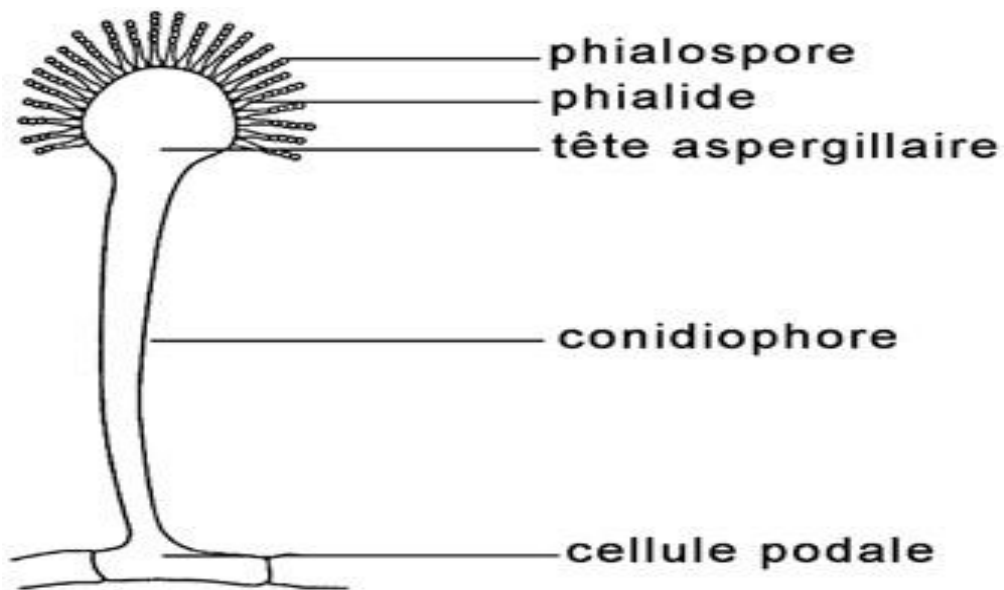


Figure 5 : Aspect des conidiophores et têtes sporifères de *A. fumigatus* (JOFFIN, 2003)

4. 2. 3. Identifications

Elle repose sur des critères tels que: le type de milieu (composition, pH, antibiotique), la durée d'incubation, la température d'incubation, la vitesse de croissance, les aspects macroscopique et microscopique des colonies. Les *Aspergillus* croissent sur les milieux usuels tels que: la gélose Sabouraud, le milieu Pomme de terre-Carotte (P.C.), le milieu Czapeck et le Lowenstein-Jensen. Au mieux cependant, la culture sur le milieu de Sabouraud additionné d'antibiotique (0,5 g / L de Chloramphénicol, ou 500 U/mL de Pénicilline, ou 5 µg / mL de Streptomycine) permet l'obtention de culture homogène. Cependant, l'Actidione est à déconseiller, car le genre *Aspergillus* est un des rares champignons pathogènes sensibles à cet antibiotique.

5. CANDIDA ALBICANS

ROBIN décrit en 1853, un organisme responsable de muguet chez les nourrissons et les adultes et le dénomme *Oidium albicans*. En 1923, BERKHOUT transfère cette espèce dans le genre *Candida*. Cette levure a été décrite sous 111 synonymes différents, répertoriés dans le livre

« The yeasts » publié en 1984. Jusqu'à cette date, *Candida stellatoidea* était considéré comme une espèce différente en raison de la non fermentation du galactose et l'absence d'assimilation du saccharose. Actuellement, il est admis que *C. stellatoidea* n'est qu'une variété de *C. albicans* (KOENIG, 1995).

5. 1. Epidémiologie

Les levures du genre *Candida*, sont les plus fréquentes en pathologie humaine. Elles représentent près de 83 % de toutes les levures isolées de l'homme. L'espèce *C. albicans* est la plus fréquente, car elle est saprophyte du tube digestif de l'homme, des mammifères et des oiseaux. Sa découverte dans le milieu extérieur résulte d'une contamination par l'homme ou l'animal. Sa dissémination est généralement d'origine endogène et se fait à partir du tube digestif par contiguïté vers les voies génitales, respiratoires, la peau ou par voie hématogène vers tous les organes. Il a un tropisme particulier pour les reins et l'oeil. La contamination peut également se faire par voie sexuelle (KOENIG, 1995).

5. 2. Diagnostic mycologique

5. 2. 1. Examen macroscopique

Les colonies sont blanches, crémeuses, lisses. Certaines souches sont plus rugueuses. Après quelques jours de culture, on observe des filaments qui s'enfoncent dans la gélose.

5. 2. 2. Examen microscopique

Il y a la présence de levures ovoïdes à bourgeonnement multilatéral mesurant de (3-6) X (6-10) μm . Après 8 à 15 jours, Il y a la présence de pseudofilamentation et de vraie filamentation.



Figure 6 : Aspect des chlamydoconidies en culture (*C. albicans*) (MARTINE, 2007)

Grossissement : 400 X

5. 2. 3. *Identifications*

Sur le milieu Rice Agar Tween 80 (RAT) ou Pomme de terre Carotte Bile (PCB), on observe la présence en 24 à 48 heures d'une pseudofilamentation bien développée. Cette identification est aussi basée sur les caractères d'assimilation des sucres (auxanogramme) et de fermentation des sucres (zymogramme) à l'aide de galeries commerciales.

- Au niveau de l'assimilation des sucres, la réaction est positive pour le galactose, le saccharose, le maltose et le tréhalose. Elle est négative pour le cellobiose, le lactose et le raffinose.
- Au niveau de la fermentation des sucres, la réaction est positive pour le galactose et le maltose. Elle est négative pour le saccharose et le lactose.
- Pour le nitrate de potassium, la réaction est négative. Elle est également négative pour la réduction du tétrazolium (KOENIG, 1995).

6. *TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES*

C'est REMARK, qui le premier, en 1837 soupçonne la nature cryptogamique du favus connu depuis l'antiquité. En 1842, GRUBY affirme l'origine mycosique de toutes les teignes. Il faudra attendre 1959 pour connaître avec certitude la forme sexuée de quelques dermatophytes (KOENIG, 1995).

6. 1. *Epidémiologie*

Les dermatophytes sont des champignons qui parasitent la peau et les phanères de l'homme et des animaux. D'après leur origine, on distingue des espèces :

- anthropophiles : Celles-ci sont strictement d'origine humaine et la transmission directe ou indirecte se fait toujours d'homme à homme par l'intermédiaire d'objets de toilette ou la fréquentation de lieux publics contaminés tels que les piscines, les bains publics, les douches communes, etc. Les agents sont : *Trichophyton rubrum* agent cosmopolite, *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton violaceum*, *T. rosaceum*, *T. tonsurans*, *T. soudanensae*, *T. schoenleinii*, *Epidermophyton floccosum* et *Microsporum audouinii* (LARREGUE, 1980; ACHA *et al.*, 1989 ; PILLY, 2004).
- zoophiles : Elles sont transmises à l'homme par des animaux. Les agents responsables sont : *Microsporum canis* (transmis le plus souvent par le chat, mais aussi par le chien, le lapin, le hamster...), *Trichophyton mentagrophytes* (transmis par le cheval et la souris blanche), *Trichophyton ochraceum* (transmis par les bovidés) (ANN, 1982 ; CHOUVALOVA, 1984 ; MARTINE, 2007).

- géophiles : Celles-ci sont transmises à l'homme par le sol. Le principal agent est *Microsporium gypseum* (BOUCHET et al., 1989; THERIZOL-FERLY, 1990).

Trichophyton mentagrophytes est un dermatophyte zoophile cosmopolite appartenant à la famille des *Gymnoascaceae*. Il représente environ 20 % des espèces de dermatophytes et occupe la 2^{ème} place après *T. rubrum*. Il est surtout fréquent chez le cheval et les rongeurs sauvages et domestiques (lapins, cobayes, souris) (THERIZOL-FERLY, 1990).

6. 2. Diagnostic mycologique

6. 2. 1. Examen macroscopique

La croissance est rapide. Les colonies sont planes, poudreuses à granuleuses voire plâtreuses avec des rayons courts en périphérie. La couleur blanche à crème au recto, jaune, rouge ou brune au verso.

6. 2. 2. Examen microscopique

On observe la présence de filaments en raquette avec de nombreuses ramifications courtes à angle droit donnant un aspect en « croix de Lorraine ». En plus de cela, il y a de très nombreuses microconidies rondes qui sont disposées en accladium sur les ramifications, réalisant en quelques jours de véritables buissons de spores (MARTINE, 2007).

On observe aussi des macroconidies inconstantes. Elles sont plus fréquentes dans les souches zoophiles. Elles sont en forme de massue, à paroi mince et lisse et contiennent en moyenne 5 à 6 logettes. Elles mesurent (20-25) x (6-8) μm (THERIZOL-FERLY, 1990 ; MARTINE, 2007).

- Il y a des ornements particuliers à savoir :
 - les vrilles apparaissent vers le 8^e jour ; en spires très serrées, elles forment de véritables « tire-bouchons ». Elles peuvent manquer dans certaines souches.
 - Les organes pectinés en « bois de cerf » se voient dans les souches zoophiles.

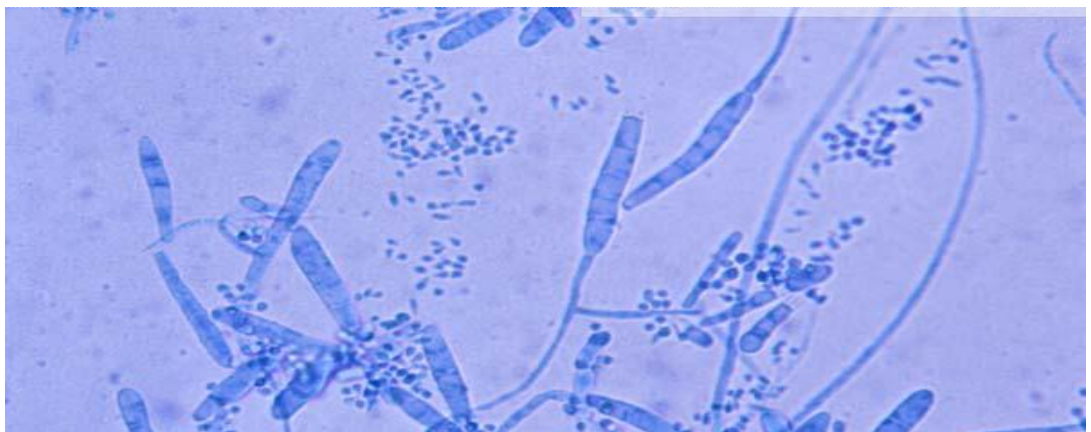


Figure 7 : Aspect des macroconidies en forme de cigare à paroi mince (*T. mentagrophytes*) (MARTINE, 2007) Grossissement : 400 X

6. 2. 3. *Identifications*

Trichophyton mentagrophytes croît sur les milieux usuels tels que: la gélose Sabouraud, le milieu Pomme de terre-Carotte (P.C.), le Com-Meal-Agar (CMA). Au mieux cependant, la culture sur le milieu Sabouraud additionné d'antibiotique (0,5 g/L de Chloramphénicol) permet l'obtention de culture homogène.

Trichophyton mentagrophytes est uréase positive et fait virer le milieu gélosé au rouge fuchsia en 3 à 5 jours. Il donne des organes perforateurs. Ce sont des formations grossièrement triangulaires qui pénètrent dans le cheveu perpendiculairement à celui-ci, de la cuticule vers la moelle. Ils continuent à progresser et finissent par couper le cheveu (THERIZOL-FERLY, 1990 ; KOENIG, 1995).

7. LES ANTIFONGIQUES

La conception de la triade classique de l'infection : parasite – hôte - antifongique est d'une importance particulière dans la chimiothérapie des mycoses. La constitution anatomique et la physiologie des champignons sont bien particulières, différentes de celles des bactéries ; de ce fait, la plupart des antibactériens ne sont pas des antifongiques. La composition de la paroi cellulaire, du matériel qui l'entoure et de la membrane cytoplasmique joue un rôle considérable dans la perméabilité de la cellule. Pour cela, non seulement l'hydrosolubilité mais aussi la liposolubilité des substances antifongiques méritent une attention particulière.

La thérapeutique antifongique reste cantonnée à un petit nombre de produits, en particulier pour les mycoses profondes. L'amphotéricine B par voie intraveineuse, chef de file chronologique des antifongiques systémiques, est souvent le plus efficace.

La flucytosine, la griséofulvine, puis les dérivés azolés : miconazole, kétoconazole, fluconazole, itraconazole, ont constitué de grandes étapes dans la découverte des molécules antifongiques. Aucun produit actuellement disponible n'est fongicide *in vivo*, qualité essentielle dans le traitement des mycoses chez l'immunodéprimé. De nombreux progrès ont été réalisés ces dix dernières années, soit par le recours à de nouvelles formes galéniques, tels les liposomes d'amphotéricine B, soit par la découverte de nouvelles molécules aux propriétés microbiologiques ou pharmaceutiques originales : fluconazole, itraconazole, dérivés allylamines et morpholines. Les efforts portent sur la découverte de nouvelles familles, sur la prévention des mycoses et sur l'utilisation d'immunomodulateurs (cytokines) (DUCOL, 1993 ; MUNK et *al.*, 1993 ; KOENIG, 1995).

Les polyènes (nystatine, amphotéricine B) : ces antifongiques sont produits par des actinomycètes du genre *Streptomyces*. Ils possèdent une grande affinité pour l'ergostérol, principal

constituant de la membrane fongique, et forment des complexes insolubles responsables d'une altération de la perméabilité cellulaire. *In vivo*, ils ne possèdent qu'une action fongistatique.

La nystatine est active sur de nombreuses espèces fongiques, levuriformes ou filamenteuses. N'étant pas absorbée par la muqueuse digestive, ses indications concernent les candidoses digestives et les candidoses cutané-muqueuses.

L'amphotéricine B est efficace contre la plupart des champignons pathogènes, pour lesquels les concentrations minimales inhibitrices (CMI) varient de 0,01 à 3,2 mg/mL, sans apparition de résistance secondaire. Une des rares exceptions concerne *Pseudallescheria boydii*. L'amphotéricine B s'administre par voie orale, avec une absorption digestive très faible, et par perfusion intraveineuse à la dose de 0,1 à 1 mg/kg. Il s'agit de l'un des meilleurs antifongiques utilisables par voie systémique dans les mycoses profondes, mais la principale limite à l'utilisation de ce produit est sa toxicité importante, avec des réactions immédiates dès les premières perfusions (frissons, fièvre, malaise, troubles digestifs), et des réactions secondaires (principalement une toxicité rénale). Afin de tenter de diminuer ces effets toxiques, de nouvelles formes galéniques ont été mises au point (ampholiposomes, ampholipides) (MUNK et *al.*, 1993 ; KOENIG, 1995 ; STEVENS et *al.*, 1997).

La 5-fluorocytosine (ou flucytosine) : pyrimidine fluorée synthétique, elle pénètre dans la cellule fongique grâce à une cytosine-perméase. Son mode d'action repose sur l'inhibition de la synthèse protéique par incorporation à l'ARN, et inhibition de la synthèse d'ADN. Fongistatique *in vivo*, la fluorocytosine est principalement active sur les levures et les agents de chromoblastomycoses. Son efficacité est limitée par l'existence de résistances primaires fréquentes (70 % des souches de *C. tropicalis* sont résistantes), et par l'apparition de résistances secondaires, interdisant son administration en monothérapie. De plus, elle possède une toxicité hématologique et digestive (KOENIG, 1995).

Les azolés : ces agents synthétiques comprennent les imidazolés et les triazolés. Leur mode d'action est commun, et repose notamment sur l'inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol (inhibition de C14 déméthylase cytochrome P450 dépendante) et la modification de la perméabilité membranaire (STEVENS et *al.*, 1997).

Parmi les imidazolés, deux produits sont utilisables par voie générale pour le traitement des mycoses profondes. A côté du miconazole aux indications systémiques très limitées, il faut citer le kétoconazole qui a révolutionné le traitement des mycoses profondes. Il est actif *per os* sur les levures (à l'exception de *C. glabrata*), sur les champignons dimorphiques, sur les dermatophytes, sur *S. apiospermum*. Sa toxicité modérée est essentiellement hépatique, et présente aussi une inhibition de la synthèse des hormones stéroïdiennes ainsi qu'une interaction avec certains

médicaments (cyclosporine, rifampicine, etc.) (DUCOL, 1993 ; MUNK et *al.*, 1993 ; KOENIG, 1995).

Les triazolés sont représentés par le fluconazole et l'itraconazole. Le fluconazole est actif sur les *Candida* (plus faiblement sur *C. krusei* et *C. glabrata*), sur *C. neoformans*, sur *M. furfur*, et certains agents de mycoses exotiques. Hydrosoluble, il est utilisable par voie intra-veineuse, et présente une faible toxicité hépatique. L'itraconazole possède l'avantage sur les autres azolés d'être actif sur *Aspergillus*. Outre ce champignon, cet antifongique est actif sur les levures, les dermatophytes, les dématiés, les champignons dimorphiques agents de mycoses exotiques. Le voriconazole est un nouvel antifongique proche structurellement du fluconazole, mais qui présente une efficacité thérapeutique supérieure et un spectre d'activité plus large, notamment sur *C. glabrata*, *C. krusei* et *Aspergillus sp.* Le voriconazole est administrable par voie orale et par voie intraveineuse. Sa tolérance semble bonne, à l'exception de quelques troubles visuels transitoires (DUCOL, 1993).

Les allylamines : il s'agit essentiellement de la terbinafine, inhibant la biosynthèse de l'ergostérol (inhibition de la squalène époxydase). Administrable *per os*, cet antifongique peu toxique possède un large spectre d'activité, comprenant les levures, les dermatophytes (C.M.I. de 0,001 à 0,06 mg/mL), les *Aspergillus*, certains champignons dimorphiques.

Les morpholines : le seul dérivé de cette famille utilisé en clinique est l'amorolfine. Elle agit en bloquant aussi la synthèse de l'ergostérol (inhibition de deux enzymes, la delta-4 -réductase et la delta 7-8 isomérase). Son spectre s'étend sur les dermatophytes, les levures, certaines moisissures (à l'exception d'*Aspergillus*).

Les échinocandines : nouvelle classe d'antifongiques, les échinocandines inhibent la synthèse du 1,3 - β - glycane de la paroi fongique, aboutissant à une instabilité osmotique et la mort cellulaire (activité fongicide). La caspofongine présente un spectre d'activité très large sur l'ensemble des levures et sur *Aspergillus sp.* Sa tolérance est excellente. Seule la forme intraveineuse est disponible (MUNK et *al.*, 1993 ; KOENIG, 1995).

CHAPITRE II : GENERALITES SUR LES MYCOSES

Les mycoses sont des maladies infectieuses causées par la présence et le développement dans l'organisme de champignons microscopiques. Les mycoses doivent être distinguées :

- Des intoxications par les champignons vénéneux (champignons supérieurs) responsables de phénomènes toxiques,
- Des mycotoxicoses : pathologies dues à la présence dans l'organisme de toxines fongiques liées ou non à celle du champignon qui la produit ; contractées généralement par voie digestive (exemple l'aflatoxine libérée par une moisissure *Aspergillus flavus*, dans les céréales conservées à l'humidité et à la chaleur). Elles peuvent provoquer une dégénérescence hépatique ou rénale mortelle (THERIZOL-FERLY, 1990).
- Des allergies mycosiques qui sont des manifestations diverses d'hypersensibilités développées vis à vis de champignons microscopiques, que ceux-ci soient ou non présents dans l'organisme. Elles peuvent être déclenchées par un simple contact avec le champignon se trouvant dans le milieu extérieur (crise d'asthme déclenchée à chaque arrivée dans une maison de campagne inhabitée la plupart du temps, fermée et humide, et où se développent des moisissures du genre *Aspergillus*). Elles peuvent également réaliser un syndrome d'hypersensibilisation plus ou moins permanent lié à la présence d'un champignon endosaprophytique (*C. albicans*), ou exosaprophytique, ou même parasite, agent d'une mycose vraie (KOENIG, 1995).

Les allergies mycosiques sont décelables par l'exploration de l'immunité cellulaire, intra-dermo-réactions avec des antigènes fongiques spécifiques, ou des tests *in vitro* tels que le test de dégranulation des basophiles, tests d'inhibition de la migration des macrophages, dosage des IgE spécifiques, etc. (MORAND et *al.*, 2003).

1. CARACTERES CLINIQUES DES MYCOSES

Les mycoses évoluant sur un mode subaigu ou chronique, ne produisent le plus souvent aucun symptôme clinique de maladie infectieuse tel qu'on en observe lorsque les bactéries ou les virus sont en cause, en particulier :

- absence de réaction fébrile, sauf lorsque l'envahissement est disséminé, systémique ou lorsque se surajoute au développement fongique l'action d'une mycotoxine.
- absence de douleur, du fait de la rareté des phénomènes inflammatoires. Elle n'apparaît qu'en cas de destruction d'organes fonctionnels ou vitaux (les mycétomes),
- absence de manifestation d'altération de l'état général avant une dissémination viscérale ou systémique,

- absence de modifications des constantes biologiques, qui n'apparaissent que très tardivement au cours d'une évolution fâcheuse,
- formes inapparentes et primo-infections bénignes rapidement, résolutive contrastent, heureusement les plus fréquentes, avec la gravité des formes évolutives qui peuvent être mortelles, même traitées (THERIZOL-FERLY, 1990 ; KOENIG, 1995).

Afin de mieux cerner les caractères spécifiques des mycoses, une classification médicale en a été établie selon la localisation des lésions en même temps que selon le type de champignon en cause. Cette localisation des mycoses dans l'organisme dépend de leur voie de pénétration et de leur mode de propagation. Ainsi, on distingue :

- Les mycoses superficielles ou cutanées. Ce sont des infections de l'épiderme, de l'épithélium, des muqueuses malpighiennes (cavité buccale, vagin, gland) et des phanères (cheveux, poils, ongles), induites par des champignons (FEUILHADE, 1998).
- Les mycoses semi profondes. Elles ont un site d'inoculation qui est souvent cutané. Leur extension et leur dissémination ne touchent habituellement pas les organes internes (CROMBERG et al., 1998).
- Les mycoses profondes ont souvent une voie de contamination aérienne et se caractérisent par des envahissements viscéraux divers aboutissant à des tableaux cliniques sévères (PECHERE et al., 1970; PIERARD et al., 1993 ; POULAIN et FEUILLADE, 1995).

Dans cette étude, nous nous intéresserons particulièrement aux cas d'aspergilloses, de candidoses et de dermatophyties à *trichophyton*.

2. LES MYCOSES SUPERFICIELLES

Elles concernent l'atteinte primitive de couches superficielles de la peau, des muqueuses et l'atteinte des phanères. Les métastases cutanées des mycoses profondes ne sont pas classées dans les mycoses superficielles.

2. 1. Dermatophytoses

Ce sont des mycoses d'abord épidermiques, extensives, prurigineuses et contagieuses, dues exclusivement à des champignons filamenteux dermatophytes. Selon la localisation des lésions sur le revêtement cutané, on distingue : les lésions de la peau glabre, les teignes du cuir chevelu et les onyxis (LEVEZIEL, 2000 ; MARTY et al., 2000).

2. 1. 1. Aspects cliniques

2. 1. 1. 1. Lésions de la peau glabre

- L'herpès circiné siège en un point quelconque du revêtement cutané et se présente comme une tache érythémato-squameuse. Il s'étend de façon excentrique pour former

un placard arrondi au centre, bordé de petites vésicules se guérissant au centre. Il y a présence de prurit. Les dermatophyties de la peau glabre sont le plus souvent dues à *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes* et *Trichophyton rubrum*.

- Les plis inguino-cruraux, le pli inter-fessier et les plis axillaires peuvent être atteints. Les agents en cause sont des dermatophytes anthropophiles : *Trichophyton rubrum*, *Epidermophyton floccosum* et *Trichophyton interdigitale* (KOENIG, 1995).
- L'eczéma marginé de Hébra est la plus fréquente. Elle se localise à la racine des cuisses d'un ou des deux côtés, parfois elle déborde sur le périnée et le pli inter-fessier et même les fesses. Elle se manifeste par une plaque prurigineuse, qui part du fond du pli s'étend de façon excentrique sur la face interne des cuisses alors que le centre a tendance à guérir, la périphérie reste active polycyclique, squameuse et vésiculeuse (BADILLET, 1991 ; CHABASSE, 1994 ; KOENIG, 1995).
- Les pieds sont les plus souvent atteints que les mains. Le pli prend un aspect macéré blanchâtre avec une fissure centrale. Le 3^{ème} espace inter-orteil est le plus fréquemment atteint. Les lésions débordent souvent sur la face plantaire et la face dorsale du pied et des orteils sous forme d'un processus vésiculeux et desquamatif représentant ce qu'on appelle « pied d'athlète ». Il est favorisé par la macération, la transpiration, l'humidité, le port de chaussures en caoutchouc (BOUCHET et *al.*, 1989 ; DATRY et *al.*, 1989).

2. 1. 1. 2. Teignes du cuir chevelu

On distingue classiquement 3 types de teignes : les teignes tondantes, la teigne favique et les teignes inflammatoires ou kériens (THERIZOL-FERLY, 1990).

- les teignes tondantes

Elles se voient habituellement chez les enfants d'âge scolaire et guérissent spontanément à la puberté. On peut observer néanmoins des teignes chez les adultes en cas d'immunodépression ou de traitement par corticoïdes. Chez des mères d'enfants teigneux, peut exister un portage asymptomatique. Les véritables lésions cliniques sont rares. Dans ce cas, c'est plus souvent *M. canis* qui est en cause. On distingue :

- les teignes microscopiques : dues à un champignon du genre *Microsporum*. Elles sont caractérisées cliniquement par une ou plusieurs grandes plaques d'alopécie, peu squameuses. Les cheveux parasités sont cassés et courts (3 à 6 mm). Ils présentent un aspect « givré ». L'atteinte parasitaire des cheveux est de type microsporique (DATRY et INGIBJORG, 1993).

- Les teignes trichophytiques : dues à un champignon du genre *Trichophyton*. Elles sont caractérisées par de petites plaques d'alopécie disséminées et très squameuses. Elles peuvent, parfois se résumer à un état pityriasique du cuir chevelu sans alopécie vraie. Les cheveux parasités, cassés à ras cuir chevelu sont englués dans les squames. Leur atteinte parasitaire est de type endothrix (KOENIG, 1995 ; THES, 2008).

- **La teigne favique :**

Elle est due à *Trichophyton schoenleinii*. Elle se voit chez l'adulte jeune. Rare actuellement, elle se rencontre dans quelques régions du bassin méditerranéen. Elle est caractérisée par la présence du « godet favique » : croûte friable, jaune à odeur de souris. Les cheveux sont fins, décolorés, très rares. L'atteinte parasitaire est de type favique. L'alopécie est définitive en l'absence de traitement. (GENTILINI et al., 1993 ; JOFFIN, 2003).

- **Les teignes inflammatoires ou kériions**

Elles se voient à tout âge. Chez l'adulte, elles touchent plus volontiers les poils de la barbe, de la moustache ou des sourcils. Elles se présentent sous forme de « macaron » en relief, suppurée. Les poils atteints sont éliminés spontanément. Leur atteinte parasitaire est de type microïde ou mégaspore. Elles sont en général transmises par les animaux. Les espèces responsables sont surtout *T. mentagrophytes* ou *T. verrucosum* (NORMAND, 1991 ; 1993 ; VIGUE-VALLAMET, 1996).

En Côte d'Ivoire, les teignes restent un problème d'actualité car les teignes sévissent à l'état endémique. *Trichophyton soudanense* et *Microsporum langeronii* partagent les étiologies de façon équivalente (ATTOH-TOURE, 2003). Les sujets les plus exposés aux teignes habitent dans un logement de moins de quatre pièces, utilisent le savon pour le lavage des cheveux, se font couper les cheveux avec une même lame et ont de faibles ressources économiques. *T. soudanense* est l'espèce la plus fréquente avec 70% des cas (ASSOUMOU et al., 1993 ; TESTA et al., 1994 ; ADOU-BRYN, et al., 2004).

Les teignes sont des maladies dues aux manques d'hygiène (le principal facteur d'installation) (RASSNER, 1983 ; BOUCHET et al., 1989). Des études épidémiologiques ont montré que la malnutrition et la carence protéique sont d'autres facteurs d'installation des teignes (VANBREUSEGHEN et al., 1978). L'humidité et la chaleur favorisent aussi leur installation.

2. 1. 1. 3. Onyxis

Les mycoses des ongles sont des infections provoquées par des champignons qui parasitent l'ongle. *Trichophyton rubrum* est le plus souvent en cause. Les ongles des orteils sont plus fréquemment atteints que les ongles des doigts. L'ongle devient épais, jaunâtre, friable, ailleurs, il est rongé et détruit. Cette atteinte commence toujours par son bord libre et ne s'accompagne pas de

périorionyx. Les champignons qui sont en cause sont : *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes var interdigitale*. En fait, dans ces cas, l'infection est la conséquence d'habitudes néfastes dont l'interruption est indispensable à la guérison. Ces infections touchent environ une personne sur dix, les adultes sont plus souvent atteints que les enfants. La prévalence des atteintes cutanées superficielles ou unguéales à dermatophytes est plus importante chez l'homme que chez la femme. Les hommes trop souvent en contact avec l'humidité (lavages excessifs des mains, professionnels de l'alimentation, professionnels de santé, personnels des crèches) sont touchés en grand nombre. La fréquence des mycoses des ongles augmente avec l'âge, du fait du ralentissement de la vitesse de pousse de l'ongle mais aussi à cause des troubles de la circulation sanguine (BARAN et al., 1996; BARAN et al., 2001; ABIMELEC, 2002).

2. 1. 2- Traitement des Dermatophytoses

Les traitements locaux par application de topiques antifongiques sont suffisants dans les dermatophytoses peu étendues. Dans les formes étendues et en cas de résistance au traitement local, l'adjonction des antifongiques oraux s'impose. Les antifongiques locaux sont très nombreux mais les dérivés imidazolés sont les plus utilisés (le Pévaryl[®], le Trosyd[®], le Myk[®] 1 %, le Ketoderm[®] et le Daktarin[®]). La Ciclopiroxolamine (Mycoster[®]) est également très efficace. Les applications doivent être biquotidiennes et le traitement doit être poursuivi pendant 4 à 6 semaines pour bien éradiquer la mycose (VIGUE-VALLANET, 2001). Les antifongiques par voie orale tels que la Griséofulvine est toujours active et reste un traitement classique. Le kétoconazole (Nizoral[®]) à la dose de 200 mg/j chez l'adulte est également actif, mais il est toxique pour le foie. La Terbinafine, le Fluconazole et l'Itraconazole, produits modernes ont fait la preuve d'une efficacité remarquable. Leurs effets secondaires sont mineurs et réversibles mais le coût élevé limite leur utilisation. La dermatophytose des ongles impose un traitement par voie générale : la Terbinafine (Lamisil[®]) à raison de 250 mg par jour donne d'excellents résultats. La durée du traitement varie en fonction du degré de l'atteinte de l'ongle, elle est de 2 à 6 mois. L'Itraconazole et le Fluconazole sont également très actifs (BARAN et al., 1990; BACK, 1992 ; BARAN et al., 2001).

2. 2. Candidoses superficielles

Les candidoses sont les mycoses humaines les plus fréquentes. L'espèce la plus fréquente, *C. albicans*, est un saprophyte du tube digestif, alors qu'une dizaine d'autres espèces de *Candida* (*C. tropicalis*, *C. kefyr*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, etc.) peuvent se retrouver sur la peau ou dans le tube digestif. Devenant pathogènes sous l'influence de divers facteurs favorisants, leur dissémination est généralement d'origine endogène et se fait à partir du tube digestif par contiguïté vers les voies génitales, respiratoires, ou la peau, ou par voie hématogène vers les organes profonds (DATRY, 1989; PLANTIN, 1997). Selon les statistiques et les études menées dans le monde entier,

l'infection par *Candida* frappe entre 70% à 80% de la population mondiale (DEVELOUX et *al.*, 2005). *Candida albicans*, levure saprophyte normal du tube digestif devient pathogène dans des conditions de défaillance du système immunitaire et provoque des manifestations cutanéomuqueuses, mais rarement des septicémies (BOUVENOT et *al.*, 1995). Les candidoses sont favorisées par l'obésité, la macération, l'humidité, le contact de substances chimiques. Les facteurs généraux peuvent être physiologiques (grossesse) pathologiques (diabète) ou iatrogènes (corticoïdes, antibiotiques, immunosuppresseurs, traitements hormonaux, contraceptions orales). Les candidoses apparaissent à tout âge, les nouveau-nés (en particulier les prématurés) et les personnes âgées sont vulnérables (CALLOT et *al.*, 1970 ; BORDAIS et BOURRAT, 1999).

2. 2. 1. Aspects cliniques

Les *Candida* sont des levures filamenteuses responsables de mycoses cutanées, mais aussi des mycoses des muqueuses, des mycoses unguéales, des mycoses digestives (candidoses oropharyngées et oesophagiennes au cours du SIDA), des mycoses broncho-pulmonaires, des mycoses viscérales (abcès, cérébraux, rénaux, pleuraux, etc.). On observe depuis quelques années un accroissement des infections à *Candida*, notamment des infections candidosiques profondes d'origine nosocomiale (SCHWAB, 1995 ; JOFFIN, 2003).

2. 2. 1. 1. Candidoses cutanées

Elles se localisent essentiellement au niveau des plis du corps qui sont favorisés par la macération (excès d'humidité ou insuffisance d'assèchement de la peau). Les candidoses cutanées se traduisent par la présence d'un intertrigo c'est à dire d'une lésion qui débute au fond des plis cutanés. L'atteinte intéresse aussi bien les grands plis : plis axillaires, sous mammaires, inguinaux, interfessier, que les petits plis : interdigitaux, inter-orteils. L'intertrigo devient érythémateux (coloration rouge) et finit par suinter et entraîner un prurit (démangeaisons). L'intertrigo finit par s'étendre symétriquement de part et d'autres du pli cutané et est délimité par une petite collerette blanche. Les candidoses cutanées peuvent se rencontrer également au niveau des ongles, à leur base. Elles provoquent ce qu'on appelle une tourniole, autrement dit un panaris superficiel (LECLERCQ et SUEUR, 1969; LEBEAU, 1995 ; DEVELOUX et *al.*, 2005).

2. 2. 1. 2. Candidoses buccales

Elles entraînent un muguet qui se caractérise par une coloration blanchâtre et rouge vif sur la face interne des joues qui apparaissent luisantes et sèches comme si un vernis était appliqué à leur surface. On constate la présence d'un dépôt blanchâtre crémeux qui peut être retiré avec un abaisse-langue. Le plus souvent, ce dépôt blanchâtre noircit avec le temps. Les candidoses buccales

apparaissent essentiellement chez les personnes souffrant d'une absence de salive (asialie) (DUPONT *et al.*, 1997; TALLA, 2001 ; HERBAUD *et al.*, 2007).

2. 2. 1. 3. Les candidoses génitales

Elles sont à l'origine chez la femme de vulvo-vaginites et chez l'homme de balanite (inflammation du prépuce).

- La vulvo-vaginite est très fréquente chez la femme enceinte. Elle se manifeste par un prurit, des brûlures et des leucorrhées. L'aspect est celui de nappes érosives avec une muqueuse rouge, macérée, recouverte de dépôts blanchâtres. Les lésions débordent le carrefour vulvo-vaginal pour intéresser les plis inguinaux, le périnée et le pli interfessier. Ces vulvo-vaginites sont à distinguer des vulvo-vaginites gonococciques et parasitaires (JACQUEMIN LE VERN, 1999 ; SALVAT *et al.*, 1999 ; GUELZIM *et al.*, 2004).
- Chez l'homme, la balanite s'accompagne d'un enduit crémeux de coloration blanche et située dans le sillon entre le gland et le prépuce. Les candidoses génitales masculines sont à l'origine d'un prurit et d'un écoulement urétral assez fréquent (CAUMES *et al.*, 1993 ; PERBET, 1999).

2. 2. 1. 4. Onyxis et périonyxis candidosiques

Le périonyxis et l'onyxis secondaires sont des lésions subaiguës ou chroniques siégeant presque exclusivement à la main de la femme. Un doigt est d'abord touché, puis tous les autres, de proche en proche. Il s'agit, là encore, d'affections tenaces et difficiles à guérir, souvent entretenues par une réinfestation massive à partir d'un foyer vaginal ou anal.

Ils sont fréquents dans certaines professions : ménagères, pâtisseries, boulangers, favorisés par l'humidité, le contact des détergents, des sucres, des farines, de la vanille...

Le début se fait par un périonyxis douloureux et inflammatoire. La sertissure de l'ongle est marquée par une goutte de pus donnant un aspect jaune verdâtre ou gris verdâtre du bord latéral de l'ongle.

Quant à l'onyxis, elle débute par la partie proximale ou latérale de l'ongle (contrairement à l'onyxis trichophytique qui débute par la partie distale) qui prend un aspect jaune ou jaune verdâtre. La tablette se déforme par des sillons transversaux ou de petites dépressions ; la lame devient molle, se détache du lit et peut s'éliminer spontanément. Les ongles des mains sont beaucoup plus fréquemment atteints que les ongles des pieds (GENTILINI *et al.*, 1993 ; JOFFIN, 2003).

2. 2. 2. Traitement

La mycostatine (Nystatine), l'amphotéricine B (Fungizone[®]) et les imidazolés sont les produits utilisés dans le traitement des différentes formes de candidoses cutanéomuqueuses. Il

existe plusieurs formes galéniques : Les suspensions (Mycostatine[®], Fungizone[®]) sont prescrites pour le muguet buccal ; Les gels et les crèmes (Pévaryl[®], Daktarin[®], Myl[®] 1%, Trosyd[®]...) pour les intertrigos ;

Les vaginites bénéficient des formes ovules (Gyno-Pévaryl[®], Gyno-Daktarin[®], Mycostatine[®]) mais le fluconazole (Diflucan[®] 150 mg) en prise unique est aussi actif. Les onyxis bénéficient des traitements locaux crèmes et gel mais l'adjonction d'un triazolé (Itraconazole, Fluconazole) semble actuellement indispensable. Notons que la Mycostatine[®] est un produit qui ne traverse pas la barrière intestinale ; donnée par voie orale, elle ne s'adresse qu'aux candidoses digestives. Le kétoconazole est utilisé pour le traitement de *Candida* des patients atteints de SIDA (DATRY, 1989; LOREN et al., 1992 ; JOFFIN, 2003).

3. MYCOSES PROFONDES

3. 1. Généralités

Ce terme est utilisé par opposition au terme superficiel et concerne l'invasion des organes ou viscères profonds (synonymes : mycoses viscérales profondes, mycoses systémiques). La terminologie suivante devrait être utilisée : mycose septicémique, lorsqu'une ou plusieurs hémocultures sont positives ; mycose viscérale profonde, lorsqu'un viscère ou un organe profond est atteint ; mycose disséminée, lorsqu'au moins deux organes profonds sont atteints (MASLIN et al., 2001). Une mycose disséminée peut être ou non septicémique (par exemple, les aspergilloses invasives sont souvent disséminées sans hémoculture positive). Les mycoses profondes occupent une place de plus en plus importante dans la pathologie infectieuse. On distingue :

- les mycoses profondes cosmopolites, infections opportunistes : il s'agit de candidoses, cryptococcoses, aspergilloses et de pneumocystoses (DENDIEVEL, et al., 2006).
- les mycoses profondes tropicales avec les formes de dissémination. Ce sont : les histoplasmoses, coccidioidomycoses, paracoccidioidomycose, blastomycose, sporotrichose, penicilliose sous-cutanées (chromomycoses, mycétomes fongiques, rhinophycomycose et rhinosporidiose) (ESTERRE et al., 1997 ; MASLIN et al., 2002 ; DEVELOUX, et al., 2003).

3. 1. 1. *L'organisme hôte et les facteurs le modifiant*

Le tableau clinique des mycoses profondes diffère selon l'immunité du sujet. Le rôle de l'immunodépression a été reconnu d'abord dans les leucémies et les transplantations d'organes, puis chez les héroïnomanes (syndrome de candidose grave en 1980 – 1985) et depuis 1981 dans l'infection à VIH/SIDA, cause d'infections opportunistes fongiques (DEVELOUX, et al., 2001 ; MASLIN et al., 2004 ; CHARLES, et al., 2007).

3. 1. 2. *Le diagnostic mycologique*

A côté du diagnostic direct classique (isolement, coloration spéciale [H.E.S, P.A.S, Gomori-Grocott], culture sur milieu de Sabouraud), il faut insister sur le diagnostic indirect (immunologique : recherche d'anticorps, détection d'antigènes solubles polysaccharidiques « en particulier pour les cryptococcoses ») (MARTY *et al.*, 2000 ; MASLIN *et al.*, 2003).

3. 1. 3. *Les stratégies thérapeutiques actuelles*

Si l' amphotéricine B [AmB] reste le médicament de référence (inconvenient majeur : toxicité rénale), les azolés : kétoconazole, fluconazole, itraconazole, voriconazole et posaconazole ont modifié les indications thérapeutiques des mycoses profondes. La 5-fluorocytosine [5FC] n'est pas utilisée en monothérapie. L'association AmB +5FC est synergique. Le coût élevé de l'amphotéricine B liposomiale rend ce médicament inaccessible aux pays pauvres et fait limiter ailleurs son utilisation aux insuffisants rénaux (SAYAG *et al.*, 1995 ; SAYAG *et al.*, 1996 ; DEVELOUX *et al.*, 2005).

Tableau II : Quelques médications pour le traitement des mycoses (AUBRY PIERRE, 2008).

Dénomination commune internationale	Nom commercial	Formes galéniques	Posologie /jour (adulte)
Amphotéricine B	Fungizone [®]	Poudre injectable 50mg	1 mg/kg
Amphotéricine B liposomiale	Ambisome [®]	Flacon 50 mg	3 mg/kg
Flucytosine	Ancotil [®]	Comprimé 500 mg	150 mg/kg
Ketoconazole	Nizoral [®]	Comprimé 200 mg Suspension buvable	100 a 400 mg
Itraconazole	Sporanox [®]	Comprimés 100 mg Solution orale	200 a 600 mg
Fluconazole	Triflucan [®]	Gélules 100 et 200 mg Solution orale Flacon IV 100 et 200 mg	50 a 800 mg
Vorioconazole	VFEND [®]	Comprimés à 50 et 200 mg Suspension buvable Solution pour perfusion 200 mg	400 mg a J1, 200 mg ensuite
Terbunafine	Lamisil [®]	Comprimés 250 mg	500 mg

3. 2. *Les candidoses profondes*

Elles sont parfois secondaires à une candidose superficielle qui s'étend par contiguïté (atteinte digestive ou respiratoire à point de départ buccal ; atteinte urinaire à point de départ génital) ou par

voie hémotogène (les levures traversent la muqueuse, pénètrent dans un capillaire et sont embolisées à distance) (GENTILINI *et al.*, 1993 ; KETANI *et al.*, 2006).

3. 2. 1. Aspects cliniques

Selon les localisations, on distingue :

- La candidose biliaire : cholécystite alithiasique, cholangite,
- La candidose urinaire : candidurie,
- Les candidoses septicémiques : syndrome septique non spécifique avec manifestations cutanées (maculo-papules), oculaire (nodules rétinien blanchâtres au fond d'œil), neurologiques (méningites), ostéoarticulaires, hépatosplénique, chez des malades de réanimation, d'onco-hématologie (aplasies), transplantations d'organes, grands brûlés...
- Aspects particuliers dans l'infection à VIH/SIDA : candidoses oropharyngée et oesophagienne (; DUPONT *et al.*, 1996 ; DUPONT, 2002 ; KETANI *et al.*, 2006).

3. 2. 2. Traitement

Les candidoses profondes requièrent une hospitalisation. Un traitement par amphotéricine B par voie intraveineuse peut être proposé. A coté de cette molécule, on peut associer la 5-fluorocytosine. Le relais peut être pris entre 15 jours et 6 semaines par les azolés. Au choix et éventuellement guidé par l'antifongogramme, on utilisera le fluconazole, le kétoconazole ou l'itraconazole. En cas d'insuffisance rénale, on peut avoir recours à l'amphotéricine B liposomale. En cas d'intolérance à l'amphotéricine B, le fluconazole en IV d'emblée est une autre alternative (DATRY, 1992; CHABASSE *et al.*, 1999).

3. 3. Les aspergilloses

Les aspergilloses sont des mycoses de l'appareil respiratoire essentiellement de l'homme et des animaux. Elles sont dues à la présence et au développement dans l'organisme de champignons appartenant à la famille des Aspergillacées et du genre *Aspergillus* (TOMLINSON *et al.*, 1987 ; LAURENT *et al.*, 1992; ZIRIHI *et al.*, 2000).

3. 3. 1. Aspects cliniques

Il existe deux grandes formes cliniques : les atteintes pulmonaires et les atteintes extra pulmonaires.

3. 3. 1. 1. Les atteintes pulmonaires

On observe l'aspergillome et les aspergilloses bronchiques.

- L'aspergillome

Dans cette affection, les spores de *Aspergillus* colonisent une cavité broncho-pulmonaire ou pleurale, séquellaire, détergée (caverne tuberculeuse et d'autres lésions pulmonaires telles que : abcès, kyste, cavités néoplasiques excavées etc.). Le champignon envahit toute la cavité en laissant un espace clair au sommet (signe radiologique du grelot). Il secrète une toxine nécrosante qui desquame et fait saigner la paroi : l'hémoptysie en est donc un signe très fréquent. Cette pathologie est devenue plus rare actuellement avec les traitements antituberculeux ((LEOPHONTE, 1994 ; YAO et *al.*, 2002 ; CHARLES et *al.*, 2007).

- L'aspergillose bronchique

On distingue la bronchite aspergillaires muco-membraneuse, l'aspergillose broncho-pulmonaire allergique, l'alvéolite allergique extrinsèque, l'aspergillose broncho-pulmonaire diffuse et l'aspergillose pariétale.

- La bronchite aspergillaire muco-membraneuse : relativement rare, cette affection se produit par un développement du champignon dans une bronche, pouvant aller jusqu'à l'obstruction totale (JEWKES et *al.*, 1983; PAULI et *al.*, 1995).
- L'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (APBA) : elle survient chez des sujets atopiques et se greffe sur un asthme préexistant. Connue aussi sous le nom de maladie de Hinson-Pepys, elle se traduit par la formation dans les bronches, de véritables moules bronchiques, muqueux, contenant des filaments aspergillaires. Elle s'accompagne d'une éosinophilie, d'une augmentation des IgE totaux et spécifiques. L'APBA se rencontre également chez les enfants atteints de mucoviscidose (LONGBOTTMON, 1986 ; LEUNG et *al.*, 1988 ; MORAND et *al.*, 1996).
- L'alvéolite allergique extrinsèque ou maladie du poumon de fermier: elle se voit chez des sujets non atopiques, soumis à une contamination massive par inhalation de spores de *Aspergillus*. Elle réalise une broncho-pneumopathie d'aspect grippal, apparaissant de façon retardée par rapport à l'inhalation des spores. D'abord aigu puis chronique, s'installe un tableau d'insuffisance respiratoire chronique avec une fibrose pulmonaire progressive (JEWKES et *al.*, 1983 ; SMITH et *al.*, 1987 ; MOUTET et *al.*, 1988).
- L'aspergillose broncho-pulmonaire diffuse ou aspergillose pulmonaire invasive (API) : infection nosocomiale, l'API est une affection redoutable dont la fréquence est en augmentation. Elle touche principalement les immunodéprimés en phase de neutropénie prolongée (greffé de moelle ou d'organes, patients des services d'hématologie), mais aussi après corticothérapie au long cours ou plus rarement après une grippe. Le *Aspergillus* se développe dans le parenchyme pulmonaire, les bronches et les vaisseaux. Il peut se disséminer à tout l'organisme et provoquer une

atteinte cérébrale, cardiaque ou cutanée. L'API est mortelle dans plus de 80 % des cas (VOISIN, 1970 ; ANDERSON et al., 1980 ; HARVERY et al., 1986).

- L'aspergillose pariétale : le champignon se greffe sur une plèvre pathologique, après intervention sur le thorax ou dans une poche résiduelle d'un pyopneumothorax tuberculeux. (LATGE et al., 1991 ; MILESI-LECAT et al., 1994 ; PATTERSON et al., 1995).

3. 3. 1. 2. Les atteintes extra pulmonaires

On distingue : la sinusite aspergillaire, l'otite du conduit auditif externe, la kératite, l'endocardite, l'onyxis et les surinfections de plaies ouvertes.

- sinusite aspergillaire : les aspergilloses naso-sinusiennes localisées non invasives sont les plus fréquentes. Elles touchent plus volontiers le sinus maxillaire et sont en majorité d'étiologie dentaire : granulome apical, suites d'extraction dentaire, fistule bucco-sinusienne et surtout dépassement apical. C'est *Aspergillus fumigatus* qui est le plus souvent responsable, mais aussi *A. flavus*, *A. nidulans* ou *A. niger* (KERNBAUM, 1985 ; BOTTON et al., 1990; DENNING, 1995).

Les aspergilloses naso-sinusiennes invasives touchent volontiers les sinus de la face chez les immunodéprimés. Le pronostic en est défavorable par destruction osseuse et extension vers l'orbite ou la base du crâne.

Les aspergilloses naso-sinusiennes allergiques, de description plus récente, surviennent sur un terrain atopique et touchent surtout les sinus maxillaire et ethmoïde.

L'atteinte des sinus para nasaux avec atteinte osseuse de l'orbite, provoquant une exophtalmie, est fréquente au Soudan et en Inde. Elle est due le plus souvent à *A. flavus*.

- otite du conduit auditif externe : elle conduit à une obstruction du conduit par un amas de filaments. Ce sont surtout *A. niger* et *A. flavus* qui sont en cause.
- Kératite : elle se voit plus volontier chez les porteurs de lentilles de contact ou après traumatisme de la cornée.
- Endocardite : après chirurgie cardiaque
- Onyxis : en dehors des dermatophytes et des *Candida*, de nombreuses moisissures peuvent être responsables d'onyxis des orteils. Parmi les *Aspergillus*, les espèces les plus souvent en cause sont *A. versicolor* et *A. candidus*.
- surinfections de plaies ouvertes : *Aspergillus fumigatus*, le plus souvent, peut se développer sur des brûlures ou sur des plaies traumatiques avec délabrement important du revêtement cutané. Si le champignon reste en principe superficiel, il peut retarder ou empêcher la prise de greffe de lambeaux cutanés (THERIZOL-FERLY, 1990).

3. 3. 2. Traitement

Tableau III : Quelques médicaments d'usage courant pour les aspergilloses (Source : KRA, 2001).

Types d'aspergilloses		Traitements	
Aspergilloses des cavités de la face	Sinus Para nasaux et cavités orbitaires	Curetage sinusien ou curetage cavitaires .Produits Iodés (Traitement local)	
		Itraconazole 400 mg/ml	
	Conduit auditif externe	Amphotericine-B (applications topiques) Fungizone (suspension, pommades, aérosols)	
ASPERGILLOSES PULMONAIRES	ASPERGILLOSES BRONCHO-PULMONAIRES	Exérèses chirurgicales	Pneumectomie
			Lobectomie
			Segmentectomie
		Chimiothérapie	Amphotericine-B (injection intra-thoracique et intra-cavitaires)
			Fungizone (perfusions lentes intraveineuses)
			5-Fluoro-cytosine (Per os)
			Ketoconazole (Per os 200 a 400 mg/ml)
		Autres	Itraconazole (Per os 200 mg/ml)
			Hémostatiques et Transfusions
			Embolisation artérielle
	Drainage aspiratif endocavitaires Spéléotomie et Myoplastie		
	ASPERGILLOSES BRONCHO-PULMONAIRES ALLERGIQUES	Chimio-thérapie	Amphotericine-B (10 a 75mg/ml/jour, dans 250 ml de glucose 5% avec comme dose totale 1,5 a 2 g)
			Nystatine (Per os)
			Corticoïdes (1,25mg/kg/jour)
	ASPERGILLOSES SEMI-INVASIVES	Chimio-thérapie	Itraconazole (200mg/jour per- os pendant 6 mois ou 400mg/jour pendant 15 jours)
Amphotericine-B			
5-Fluoro-cytosine (150 mg/kg/jour)			

CHAPITRE III : GENERALITES SUR LES PLANTES MEDICINALES

1- LES METABOLITES SECONDAIRES

On distingue classiquement plusieurs catégories de métabolites secondaires en fonction de leur nature biochimique et de leur origine biosynthétique.

- **Alcaloïdes (-ine).** Ce sont des substances toxiques et parfois à faibles doses et qui ont des effets thérapeutiques connues. Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, à caractère alcalin, de structure complexe. On trouve des alcaloïdes dans plusieurs familles de plantes et on en connaît plus de mille. La morphine (1805), la strychnine (1818), la caféine, la quinine, la colchicine, le curare et l'atropine. Ils passent très facilement dans les percolations. Ils agissent directement sur le système nerveux avec des effets sur la conscience et la motricité. L'action sur le système nerveux peut aller jusqu'à une action antispasmodique, et mydriatique, anesthésique locale ou analgésique et narcotique. Les alcaloïdes sont aujourd'hui nommés d'après la plante qui les a fournis, toujours avec une terminaison en "ine". D'une façon générale, les alcaloïdes sont amers et utilisés comme apéritifs (ECOVIE, 2007).

- **Hétérosides (ou glucosides).** Ce sont des molécules de sucres qui sont liées soit à une fonction phénol (hétérosides phénoliques dans *Salix alba* et *Pyrola rotundifolia*) soit à un dérivé nitré (hétérosides cyanogénétiques dans *Prunus amygdalus*) ou soufré (hétérosides sulfurés dans *Allium sativum*) qui entraînera des propriétés particulières de la molécule (ECOVIE, 2007).

a) Saponines (ou saponosides). On entend par saponosides (lat. sapon, savon -saponaire, l'herbe à savon ; le réglisse ; le bouillon blanc ; le modène), des hétérosides naturels dont la matière est un composé soluble à l'eau qui la rend moussante comme une eau de savon. Ils modifient la tension superficielle de l'eau. On les emploie pour la fabrication d'émulsions, dans lesquelles une substance insoluble est mise en dispersion. Ces plantes à saponines auront plus d'effets sur le vivant :

- Elles facilitent la pénétration des autres substances au niveau de la peau et au niveau de l'intestin et aussi au niveau de toutes les muqueuses.
- Elles dissolvent les graisses et par voie de conséquence, elles sont irritantes pour les muqueuses. Toutes les membranes des cellules sont constituées de graisses. Pour éviter l'action irritante des savons, on rajoute des corps gras. Quand, une plante est riche en saponines, son action sera plus rapide que d'autres plantes (ECOVIE, 2007).
- Elles ont également la propriété d'affecter la stabilité membranaire et ces composés sont impliqués dans la résistance à des pathogènes (exemple de l'avécanine de l'avoine).

On emploie en shampoing, les plantes riches en saponines dans les séborrhées (augmentation de la sécrétion des glandes sébacées) du cuir chevelu. On les emploie aussi comme expectorantes. Elles rendent un peu moussante la muqueuse des bronches inflammatoires et facilitent l'expectoration (ECOVIE, 2007).

b) Flavonoïdes. (lat. *flavus*, jaune) Ils entrent dans la composition de nombreux pigments végétaux et en particulier les pigments jaunes et oranges (*calendula*) et aussi dans les pigments bleus (le bleuet, grand antispasmodique de la face et surtout des yeux). Les plantes qui contiennent des flavonoïdes sont souvent liées à la fonction antispasmodique (ECOVIE, 2007).

c) Anthocyanes (ou anthocyaniques). A forte dose, les anthocyanes sont des poisons apparentés au cyanure. Ce sont des dérivés de l'acide cyanhydrique (produit de la combinaison de l'hydrogène avec le cyanogène). Des anthocyanes, à dose modeste, dans une plante donneront des vertus antiseptiques à celle-ci. On les trouve dans les fleurs bleues (bleuet, violette, mauve) (ECOVIE, 2007).

d) Mucilages. Ils sont encore des hétérosides. Ce sont des grosses molécules liées à des gommages qui sont d'énormes concrétions de sucres. Ils vont se déposer spontanément sur les tissus et vont agir comme protecteur. Quand on fait ingérer les mucilages à un patient, on aura comme visée la protection de ces muqueuses. Ce sont des adoucissants des calmants de l'inflammation (calme les irritations du tube digestif et des voies respiratoires). On peut les utiliser sur la peau, sur les muqueuses et ce sont des freinateurs de l'absorption des produits à cause du film qu'ils déposent sur les muqueuses (antagonistes des saponines). On emploie beaucoup les mucilages dans les systèmes respiratoire et digestif. Les graines de lin sont riches en mucilages (ECOVIE, 2007).

e) Tanins. Le tanin c'est un phénol qui est associé à un sucre. Un des tanins de base est l'acide gallique. Ils précipitent (agglutinent, coagulent) les protéines et la gélatine ce qui est beaucoup plus rare. On peut en outre les utiliser en cas d'empoisonnement par des alcaloïdes, car ils les précipitent et les rendent inoffensifs (sauf pour la morphine, la cocaïne et la nicotine, pas interaction). Mais si on force la dose, l'excès de tanin libère à nouveau la substance toxique et cause une deuxième inflammation. Ils emprisonnent aussi les sels des métaux lourds (plomb, mercure). Les familles de plantes riches en tanin sont les éricacées, les rosacées, dans l'écorce de certains arbres (chêne). Les tanins ont des effets astringents (très proche d'assécher), très utiles quand il y a trop de sécrétions (les bronchites, les diarrhées, les leucorrhées, les plaies saigneuses, très grand antihémorragique antiseptique). Les plantes à tanins sont utilisées en tant que vulnéraire (blessure), pour les plaies ouvertes (pas pour des bleus, des coups) car elles permettent aux plaies de se refermer. Les effets secondaires des tanins, au minimum ils dessèchent et au maximum, ils peuvent entraîner des lésions de la muqueuse gastrique et intestinale mais aussi ils peuvent blesser les reins

(période de disette). Ils gardent en eux les principes actifs des plantes. Les plantes riches en tanins auront une action plus lente, passeront moins vite dans la circulation générale et la barrière intestinale (ECOVIE, 2007).

f) les plantes à amers. Les peuples primitifs considéraient que l'amertume donnait de la force et que l'on pouvait guérir d'une maladie en buvant une boisson amère. Les plantes à amers ont une activité stimulante sur la sécrétion de toutes glandes (de la digestion, endocrine). La plupart des apéritifs d'autrefois contenaient une amertume (gentiane) que l'on pouvait marier avec un goût sucré. Elles facilitent la digestion. Comme plantes à amers, il y a la gentiane, le chardon béni, etc., en amers astringent, la chicorée sauvage, en amers aromatique (très souvent liés à la présence d'H.E.), l'absinthe, les écorces des agrumes (orange, citron). Il faut éviter l'utilisation des plantes à amers en cas d'inflammation aiguë de l'estomac (gastrite, ulcère de l'estomac), car ces plantes peuvent être un peu corrosif (ECOVIE, 2007).

2- LES EFFETS PHARMACOLOGIQUES DE QUELQUES PLANTES MEDICINALES

Presque tous les produits utilisés par les Hommes pour soulager leurs maux ont trouvé leur origine dans le règne végétal (FERNANDEZ DE LA PRADILLA, 1985). Sans doute aussi ancienne que la conscience humaine, la correspondance entre les plantes et la vertu des éléments naturels, à des fins thérapeutiques, est illustrée par cette citation d'HIPPOCRATE (vers 460- 377 av. J.-C.), « La nature est le médecin des malades » (IV^e siècle av.-J.-C. Les épidémies) (AQUARON, 2005).

On considère à l'heure actuelle que près de 80 % de la population africaine n'a recours qu'aux plantes qui l'entourent pour se soigner et n'a pas accès aux médicaments dits « modernes ». Cette pharmacopée traditionnelle découverte par les premiers explorateurs de l'Afrique a déjà été introduite dans de nombreux médicaments en Europe (POUSSET, 2006). De nombreuses plantes utilisées en Afrique ont été étudiées sur le plan botanique, chimique et pharmacologique. La recherche de nouveaux principes actifs menée par les laboratoires pharmaceutiques et universitaires a permis d'expliquer certaines utilisations traditionnelles. En effet, au Cameroun, un sirop préparé à partir des racines de *Pentadiplandra brazzeana* agit dans les crises hémorroïdaires. Au Nigeria, un extrait lyophilisé à partir des graines de *Piper guineense*, des tiges de *Pterocarpus osun*, des fruits de *Eugenia caryophyllum* et des feuilles de *Sorghum bicolor* est utilisé pour diminuer l'apparition de crises dues à la drépanocytose (POUSSET, 2004 ; POUSSET, 2006). Plusieurs enquêtes ethnobotaniques ont montré qu'il existe dans la pharmacopée ouest- africaine des plantes utilisées pour soigner les infections cutanées (BOUQUET et DEBRAY, 1974 ; LOROUGNON, 1995).

Parmi les espèces végétales sollicitées, *Microglossa pyrifolia* (*Asteraceae*) codé PYMI est une espèce végétale que l'on trouve en Afrique intertropicale, passe pour être la plus utilisée dans le traitement des candidoses buccales et génitales qui sont des infections fréquentes et graves chez les immunodéprimés (ZIRIHI et KRA, 2003). *Microglossa pyrifolia* est une plante médicinale qui possède de nombreuses vertus thérapeutiques : En Côte d'Ivoire, les peuples Krobou l'utilisent contre les oedèmes testiculaires et les affections fébriles (N'GUESSAN, 1995). Au Ghana, cette plante est utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement d'infections cutanées et de blessures (CHENEI et AKE-ASSI., 1987; TESSILIMI, 2008). *Euphorbia hirta* est une plante entière riche en flavonoïdes utilisée en Afrique dans le traitement des désordres gastrointestinaux tels que les vomissements, les diarrhées, les constipations. En Afrique de l'Ouest, la plante est surtout connue comme un galactogène et un antidysentérique. On peut l'utiliser pour soigner les crevasses au niveau des pieds (POUSSET, 1989).

La rencontre des biologistes et des chimistes à la fin du XIX^e siècle, permet à la thérapie scientifique de voir le jour et de se développer grâce à la découverte des principes actifs (Les principes actifs sont des composants naturels contenus dans une plante médicinale lui conférant son activité thérapeutique).

3- DESCRIPTION DE LA PLANTE ETUDIEE

3.1. Présentation des Combretaceae

Terminalia catappa appartient à la famille des Combretaceae. Les Combretaceae sont soit des plantes ligneuses, des arbres, des arbustes ou des lianes. Les feuilles sont soit simples, entières, alternes, opposées, rarement verticillées non stipulées (KERHARO et BOUQUET, 1950 ; THIOMBIANO et al., 2006). Les inflorescences sont des épis, des racèmes, des panicules ou des capitules. Les fleurs, grandes ou petites, sont généralement très colorées. Elles sont hermaphrodites rarement unisexuées, épigynes, actinomorphes légèrement zygomorphes, tétramères ou pentamères. Le calice, tubulaire, soudé à l'ovaire comporte 4 à 8 lobes valvaires (ADJANOHOOUN, 1979). Les pétales au nombre de 4 à 5 ou quelquefois absents, grands ou petits, libres ou plus ou moins longuement coudés en tube, sont imbriqués ou valvaires. Les étamines de 4 à 10 sont généralement insérées sur la coupe calicinale. Les filets staminaux sont infléchis dans le bouton floral, portent des anthères médifixes à déhiscence longitudinale (AKE ASSI et al., 1980 ; ADJANOHOOUN et al., 1992 ; VANGAH-MANDA, 1983).

Les ovaires sont infères, rarement semi infères, uniloculaires portant un à six ovules pendants. Le style est unique libre ou partiel et soudé au tube du calice. Les fruits, drupacés ou samaroides, ont une seule loge contenant une graine à cotylédons enroulés (AKE ASSI, 1984 ; WOME, 1985 ; VANGAH-MANDA, 1986).

La famille des *Combretaceae*, pantropicale, comprend 400 espèces et 20 genres. Elle est représentée en Afrique par une centaine d'espèces réparties en 9 genres. Ce sont : *Anogeissus*, *Combretum*, *Conocarpus*, *Guiera*, *Languncularia*, *Pteleopsis*, *Quisqualis*, *Strephonema* et *Terminalia* (AUBRÉVILLE, 1959 ; ADJANOHOON et AKE ASSI, 1979).

En Côte d'Ivoire, nous avons 8 genres et 19 espèces (ADJANOHOON et *al.*, 1984 ; AKE ASSI, 2001).

3.2. Position dans la systématique

Règne	: Végétal
Sous règne	: Eucaryote
Embranchement	: Spermaphyte
Sous embranchement	: Angiosperme
Classe	: Dicotyledones: Dialypetales
Sous-classe	: Magnoliopsida (<i>Rosidae</i>)
Ordre	: Myrtale
Famille	: Combretaceae
Genre	: <i>Terminalia</i>
Espèce	: <i>catappa</i>

3.3. Description de *Terminalia catappa*

Terminalia catappa est un arbre de 5 à 25 mètres de hauteur avec des rameaux étagés portant de grandes feuilles lisses (figure 8). C'est une plante ligneuse. Les branches sont généralement subverticillées et plagiotropes. Les feuilles, entières, non stipulées sont obovales ou cuspidées au sommet, atteignant jusqu'à 30 cm de long et 16 cm de large. Elles sont glabres au-dessus et glabrescentes en dessous. Les feuilles prennent une couleur rouge pourpre en pleine maturité et virent au jaune à la sénescence. Le pétiole est court et épais. Les nervures sont très marquées et peu nombreuses (ADJANOHOON et AKE ASSI, 1979 ; AKE ASSI et GUINKO, 1991).

L'inflorescence, en épis serrés porte de nombreuses petites fleurs duveteuses. Elle est axillaire, mince et atteignant près de 25 cm de long. Les fleurs sont épigynes, blanchâtres, cessibles et bisexuées. Elles comportent un ovaire uniloculaire renfermant 2 à 6 ovules, un androcée et un calice à 5 divisions et 10 étamines. La fleur est pentamère. Les fruits, charnus et bombés sont ellipsoïdes, drupacés atteignent 5 à 7 cm de long. A maturité le fruit est jaune verdâtre. La graine renferme un embryon à cotylédons (BOUQUET, 1972 ; FOFANA, 2004).



Figure 8 : *Terminalia catappa*

les fruits de *Terminalia catappa*

3. 4. Répartition géographique de *Terminalia catappa*

Terminalia catappa est une plante pantropicale. Elle est originaire de l'ancien monde (Asie du Sud- Est). Elle a été décrite pour la première fois en 1767 par le botaniste français d'origine Ecossaise MICHEL ADANSON. Cette plante est connue sous les appellations de Cocoma en Côte d'Ivoire, de Badamier en Europe, de M'handaya aux Comores, d'Amandier des indes en Inde. Elle se trouve en Côte d'Ivoire surtout sur le littoral. Elle est principalement utilisée en ornementation (ADJANOHOUN et AKE ASSI, 1979 ; AKE ASSI et GUINKO, 1991).

3. 5. Utilisation de *Terminalia catappa* dans la médecine traditionnelle

En médecine traditionnelle, on attribue à cette plante des propriétés antibiotiques, antiparasitaires, anti infectieuses, antihypertensives et antidiabétiques (BURKILL, 1997). Les feuilles sont la partie de la plante la plus utilisée. Ainsi:

- Dans l'île de la Réunion, l'infusion des feuilles mûres soigne la dysenterie et l'hypertension. Tandis que la décoction des feuilles traite l'asthme.
- A l'île Maurice, le décocté des feuilles est employé comme un antidiabétique et celui de l'écorce comme un antidiarrhéique (ADJANOHOUN et *al.*, 1983).
- En Côte d' Ivoire et au Congo Brazzaville, les feuilles et l'écorce sont utilisées pour traiter le diabète et l'hypertension artérielle (DIAFOUKA et LEJOLY, 1993 ; AHOUSSOU et *al.*, 1995).
- Au Nigeria, le macéré des feuilles dans l'huile de palme est utilisé comme remède dans les amygdalites (AMENNOUDJI et AKE, 1990).

- Aux Philippines et au sud de l'Inde, la sève des jeunes feuilles est utilisée dans une pommade contre les scarifications de la peau et la lèpre (BURKILL, 1997).
- En médecine asiatique, l'écorce est utilisée comme astringent dans la dysenterie. Le décocté est utilisé contre la blennorragie, les leucorrhées, la fièvre bilieuse et les crampes d'estomac (BURKILL, 1997 ; FOFANA, 2004).

3. 6. Pharmacologie et phytochimie de *Terminalia catappa*

Ta-Chen et *al.*, ont isolé en 1999 des feuilles de *Terminalia catappa*, 19 molécules qui sont des tanins et composés apparentés. Ce sont : l'acide gallique, l'acide ellagique, le 2,3-(S)-HHDP-D-glucose, la punicalagine, la corilagine, la tercataine, la casuarinine, la castalagine, la grandinine, la castaline, le 3-methoxy-4-hydroxyphenol-1-O-D-(6-O-galloyl)-glucoside, le 3,5-dimethoxy-4-hydroxyphenol-1-O-D-(6-O-galloyl)-glucoside, l'epicatechine-3-O-gallate, l'epigallocatechine-3-O-gallate, la procyanidine B-1, le 3-O-galloyl procyanidine B-2, l'acutissimine A, l'eugenigrandine A et la catappanine A.

Le fruit contient la cyanidine 3- glucoside, la corilagine qui est un inhibiteur de la topoisomérase I et II (HECHT et Coll., 1992; KASHIWADA et *al.*, 1993) et la xanthine oxydase (HATANO et *al.*, 1990).

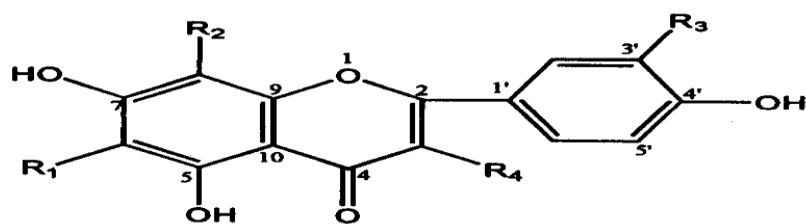
Terminalia catappa a plusieurs activités pharmacologiques :

- La punicaline et la punicalagine sont deux composés extraits des feuilles de cette plante. (LIN et *al.*, 1997 ; 1999 ; CHEN et *al.*, 2006) ont montré que ces deux composés ont une activité hepato-protectrice à travers son action antioxydante.

- Les feuilles de la plante ont une activité anti-cancérogène (MASUDA et *al.*, 1999). Elles ont également une action sur la transcriptase reverse. Cela est dû à l'acide ellagique (MASUDA et *al.*, 1999). Elle a aussi une activité anti-inflammatoire, anti-asthmatique, anticataracte, un effet aphrodisiaque et contre l'hépatite (SHIMIZU et Coll., 1989 ; DORSH et WAGNER, 1991 ; PAWAR et *al.*, 1997 ; CHEN et *al.*, 2000 ; RATHNASOORIYA et DHAMASIRI, 2000).

- FAN et *al.* en 2003 ainsi que WANG et *al.* (2004) ont isolé des feuilles de *Terminalia catappa* l'acide ursolique et l'acide 2 α , 3 β , 23-trihydroxyurs-12-en-28-oïque qui sont responsables de l'activité anti-inflammatoire.

- Les travaux de NAGAPPA et *al.* en (2003) et SYED et *al.*, en (2005) ont montré que les extraits aqueux, méthanolique et éther de pétrole des feuilles et des fruits de la plante ont une activité Antidiabétique. En effet ces auteurs ont induit un diabète expérimental chez des rats. Leurs études ont démontré que ces différents extraits améliorent le poids corporel, le profil des lipides et régénèrent les cellules β du pancréas.



- 1** $R_1 = C\text{-}\beta\text{-}D\text{-glucosyl}(2''\text{-galloyl})$, $R_2 = R_3 = R_4 = H$
2 $R_1 = R_3 = R_4 = H$, $R_2 = C\text{-}\beta\text{-}D\text{-glucosyl}(2''\text{-galloyl})$
3 $R_1 = C\text{-}\beta\text{-}D\text{-glucosyl}$, $R_2 = R_3 = R_4 = H$
4 $R_1 = R_3 = R_4 = H$, $R_2 = C\text{-}\beta\text{-}D\text{-glucosyl}$
5 $R_1 = C\text{-}\beta\text{-}D\text{-glucosyl}$, $R_2 = R_4 = H$, $R_3 = OH$
6 $R_1 = R_2 = H$, $R_3 = OH$, $R_4 = O\text{-}\alpha\text{-}L\text{-rhamno}(1'''\text{-}\rightarrow 6'')\text{glucosyl}$

Figure 9 : structures glycosides flavonoides

Apigenine 6- $C\text{-}(2''\text{-galloyl})\text{-}\beta\text{-}D\text{-glucoside}$ (1)

Apigenine 8- $C\text{-}(2''\text{-galloyl})\text{-}\beta\text{-}D\text{-glucoside}$ (2)

Isovitexine (3), Vitexine (4), Isoorientine (5), Rutine (6) (YUN-LIAN et al., 2000).

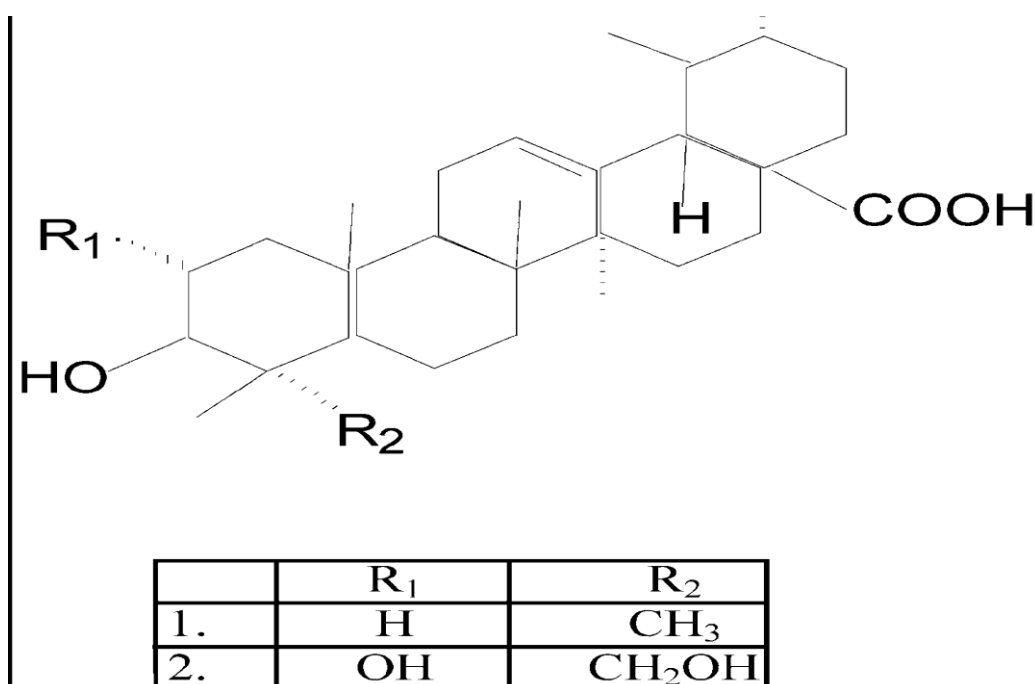


Figure 10 :(1) acide ursolique; (2) acide 2α , 3β , $23\text{-Trihydroxyurs-12-en-28-oïque}$ (FAN et al., 2003).

CHAPITRE IV : METHODES ET TECHNIQUES CHROMATOGRAPHIQUES

La chromatographie est aujourd'hui, une méthode analytique largement utilisée pour la séparation, l'identification et éventuellement le dosage des constituants chimiques dans des mélanges complexes. Les facteurs qui interviennent dans le partage des molécules à séparer entre la phase stationnaire et la phase mobile sont : la solubilité dans un solvant liquide, la taille (la forme), la polarité, la charge électrique, la présence de groupements d'atomes formant des sites particuliers. Les différents types de chromatographie résultent du fait que l'on a privilégié l'effet de l'un de ces facteurs par rapport à l'autre, mais il faut noter que l'exclusivité d'un mécanisme n'est jamais totale au cours d'une séparation chromatographique (CHAAIB-KOURI, 2004 ; DIALLO et *al.*, 2005 ; LAGNIKA, 2005).

Il existe différentes sortes de chromatographies parmi lesquelles on peut citer :

- La chromatographie de partage : C'est une chromatographie liquide-liquide. Cette chromatographie est ainsi dénommée car elle est basée sur le partage du soluté dans les deux phases liquides.
- La chromatographie d'exclusion : elle est encore appelée chromatographie d'exclusion-diffusion, tamisage moléculaire, gel filtration, perméation de gel. La phase stationnaire est un solide poreux. Les grosses particules sont exclues de la phase fixe, en revanche les petites particules incluses diffusent plus lentement dans les pores du gel.
- La chromatographie d'adsorption : c'est une chromatographie liquide-solide. La phase stationnaire est un adsorbant solide polaire.
- La chromatographie d'adsorption en phase inverse : c'est une chromatographie liquide-solide dans laquelle la phase stationnaire est apolaire.
- La chromatographie sur échangeurs d'ions ou la phase stationnaire est constituée par une résine porteuse de groupements ionisés négativement ou positivement, exerçant des interactions de type électrostatique avec les solutés ioniques du milieu.
- La chromatographie d'affinité ou la phase stationnaire est un support macromoléculaire chimiquement inerte, sur lequel est greffé un effecteur qui présente une affinité biologique (bio-affinité) pour un soluté de l'échantillon à analyser (affinité enzyme-substrat, ligand-récepteur, antigène-anticorps).

En résumé, les différents principes de chromatographie résultent du fait que l'on a privilégié l'effet de l'un des facteurs suivants, afin de séparer des composés constituant un mélange:

- la solubilité dans un solvant liquide dans la chromatographie de partage
- la taille, la forme dans la chromatographie d'exclusion
- la polarité dans la chromatographie d'adsorption, et d'adsorption en phase inverse

- la charge électrique dans la chromatographie par échange d'ions
- la présence de groupements d'atomes formant des sites particuliers dans la chromatographie d'affinité (ROSSET *et al.*, 1982 ; DIALLO *et al.*, 2005 ; LAFONT, 2005).

4.1. La chromatographie sur couche mince

La Chromatographie sur Couche Mince (CCM) est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse, utilisée au cours de la séparation et de l'identification des métabolites. Elle repose principalement sur le phénomène d'adsorption. Elle s'applique aux molécules pures, aux extraits (mélange complexe de métabolites) et aux échantillons biologiques. Elle permet d'avoir une idée globale des métabolites présents dans un extrait ou une fraction, permet un contrôle aisé et rapide de la pureté d'un composé lorsque les conditions opératoires sont bien déterminées. Elle permet également de suivre la progression d'une réaction étant donné qu'elle indique le nombre de composants dans un mélange réactionnel (DIALLO, 2005 ; LAFONT, 2005 ; LAGNIKA, 2005).

La mise en oeuvre d'une CCM nécessite plusieurs matériels tels que :

- Une cuve chromatographique : c'est un récipient en verre, de forme variable (selon les manipulations à effectuer) fermé par un couvercle maintenu étanche.
- Une phase stationnaire : c'est une couche d'absorbant étalé uniformément sur un support en aluminium ou en verre de dimensions variables (généralement 20 x 20 cm, 10 x 10 cm ou 5 x 10 cm) avec une épaisseur comprise entre 0,5 et 2 mm.
- La phase mobile : c'est l'éluant, il est composé d'un solvant unique ou d'un mélange de solvants qui migrent lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon déposé.
- Les échantillons : ils sont le plus souvent solubilisés dans un solvant volatil qui n'est pas forcément le même que l'éluant. Les échantillons à analyser sont appliqués en petits spots sous forme de points ou de bandes sur l'absorbant. La plaque est déposée verticalement dans la phase mobile constituée, comme on a préalablement indiqué, par un ou plusieurs solvants organiques. Pour une bonne élution, la cuve contenant le solvant d'élution doit être saturée.

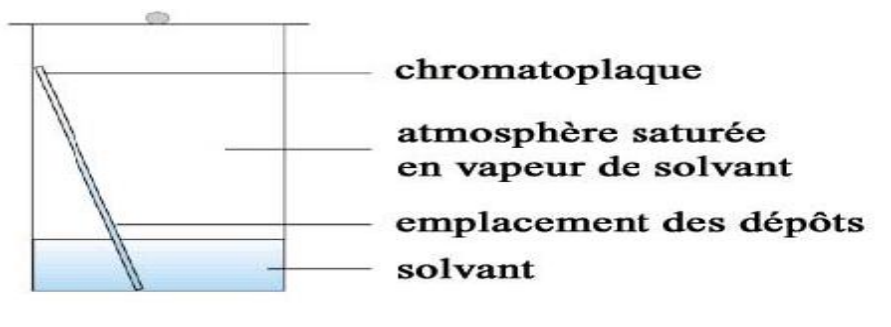


Figure 11: Schéma d'une chromatographie liquide-liquide ascendante

Une fois le développement du chromatogramme effectué, la plaque est séchée à température ambiante puis examinée à l'UV (longueurs d'ondes $\lambda = 254 \text{ nm}$ et 365 nm). Si nécessaire, les taches du chromatogramme sont révélées par pulvérisation de réactifs appropriés. On détermine alors, pour chaque constituant, le Rapport frontal :

$$\text{Rf} = \frac{\text{Distance parcourue par le constituant (X)}}{\text{Distance parcourue par le front de l'éluant (Y)}}$$

- Le Rf est caractéristique d'une substance donnée pour un éluant déterminé sur un support «phase stationnaire» donné.
- Le Rf est le même, que le constituant soit pur ou dans un mélange.
- Le Rf ne dépend pas de la concentration du constituant dans le mélange (LAFONT, 2005 ; LAGNIKA, 2005).

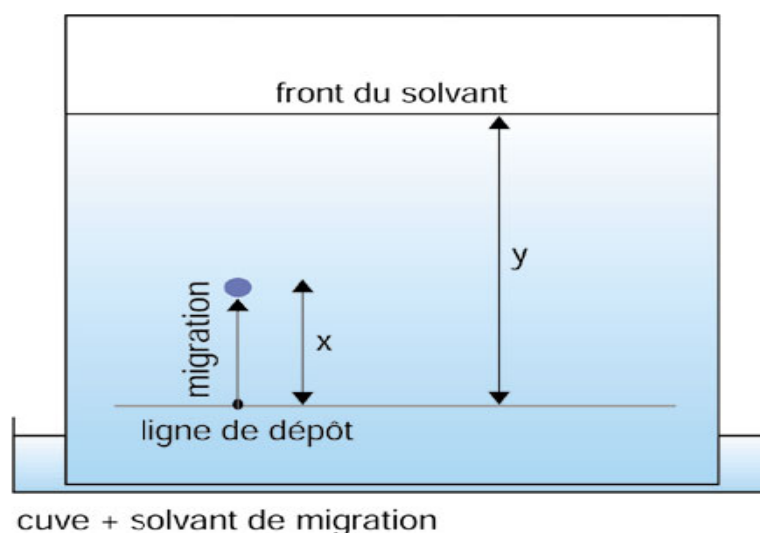


Figure 12 : Détermination du rapport frontal.

4. 2. La chromatographie sur couche mince préparative

La CCM préparative est une technique chromatographique utilisée dans la séparation et l'isolement de divers métabolites présents dans un mélange peu ou pas complexe. Elle dérive de la chromatographie sur couche mince mais dans ce cas, les zones de silice correspondante aux taches sont récupérées de la plaque contrairement à la CCM analytique. A cette différence s'ajoute la quantité d'échantillons appliquée sur la plaque chromatographique (20 mg à 40 mg) ainsi que l'épaisseur de la couche du gel de silice sur la plaque.

L'échantillon à séparer est solubilisé dans un solvant adéquat de manière à obtenir la dissolution totale. Il est ensuite déposé sur la plaque à l'aide d'une micro-seringue. La plaque est développée dans une cuve saturée contenant l'éluant adéquat. Comme dans la CCM analytique, la plaque est séchée à température ambiante ou avec un sèche-cheveux. On examine les taches des

constituants sous lumière UV ou bien on révèle une frange de la plaque par pulvérisation avec le réactif adéquat. A l'aide d'un scalpel ou une spatule on récupère les composés d'intérêt fixés sur la silice. Cette dernière est ensuite dispersée dans une petite quantité de solvant, puis filtrée sous vide, pour permettre la récupération des composés d'intérêt (LAFONT, 2005).

4. 3. Chromatographie d'adsorption sur colonne

L'adsorption est la fixation des molécules dissoutes, par une phase stationnaire. Cette fixation est due à l'établissement de liaisons secondaires de surface (liaison dipôle-ion, ou dipôle-dipôle ou liaison de Van der Waals) entre l'adsorbant et la molécule adsorbée. Dans cette forme de chromatographie, la phase stationnaire est contenue dans une colonne. L'éluant qui peut-être sous la pression d'une pompe ou non, entre par une extrémité et sort par l'autre. Il peut-être un solvant unique ou un mélange de solvants. Sous l'action de l'éluant et des liaisons qu'elles établissent avec l'adsorbant, les molécules vont se déplacer différemment dans la colonne et prendre un certain retard les unes par rapport aux autres pendant la migration. Elles vont donc se présenter avec un certain retard en sortie de colonne. L'élution peut se faire sous forme isocratique ou sous forme d'un gradient. En principe, la phase mobile est composée des mêmes solvants que ceux utilisés pour la CCM analytique. Toutefois, l'élution peut-être accélérée grâce à l'addition progressive de solvant de plus en plus polaire par rapport à la phase initiale. Les différentes fractions sont collectées dans des erlenmeyers ou dans des piluliers. Ces fractions sont ensuite analysées comme décrit précédemment (LAFONT, 2005).

4. 4. Chromatographie liquide à pression atmosphérique

C'est une méthode qui permet la séparation des constituants d'un mélange de substances en utilisant les propriétés qui les relient à un substrat déterminé. C'est une technique classique basée sur l'absorption sélective des composants d'un mélange sur une phase stationnaire solide, en offrant une grande surface d'adsorption. Dans ce cas, la phase mobile composée par un ou plusieurs solvants va permettre une élution différentielle en fonction de la polarité des composés, en éluant en premier les composés moins polaires. Pendant tout le processus d'élution, un phénomène constant d'échange se produit entre l'adsorbant et la phase mobile.

Nous avons utilisé au cours de nos travaux le gel de silice (Merck) phase normale pour chromatographie liquide. Cette technique n'est pas sans inconvénient. Un des inconvénients majeurs est la lenteur de la phase mobile. En outre, les bandes des différents composés peuvent diffuser et s'élargir sur la colonne pendant leur séparation, ce qui diminue la capacité de séparation. Il existe une vitesse optimale d'élution pour obtenir une bonne résolution. Lorsque le débit de la phase mobile est élevé, l'équilibre n'est pas atteint et la séparation des composés n'est pas correctement menée (LAFONT, 2005)

4. 5. La chromatographie d'exclusion

La chromatographie d'exclusion est aussi appelée filtration sur gel ou tamisage moléculaire. Cette technique est apparue en 1959 avec un produit nouveau : le Sephadex. Le Sephadex est un gel de dextrane (polymère de glucose α -1-6 produit par *Leuconostoc mesenteroides*), auquel on fait subir une réticulation. Il se présente sous forme de billes poreuses, dont la porosité dépend du degré de réticulation. Ces billes sont très hydrophiles et gonflent dans l'eau. Il en existe différents types en fonction de la taille des billes et de leur porosité.

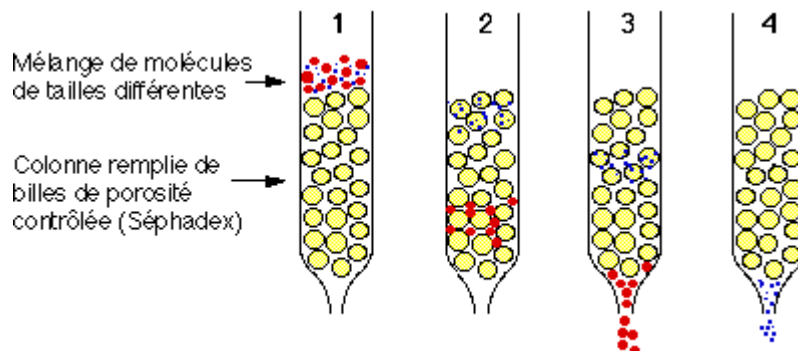


Figure 13 : Schéma du principe de la chromatographie d'exclusion

1 : Dépôt d'un mélange de deux molécules (des grosses et des petites) sur une colonne remplie d'un gel de Sephadex.

2 : Les petites molécules peuvent pénétrer dans les billes de Sephadex car leur diamètre est inférieur à celui des pores du gel. Les grosses molécules ne le peuvent pas en raison de leur grande taille; elles sont donc exclues du gel (d'où le nom de chromatographie d'exclusion).

3 : Les grosses molécules ont donc un trajet plus court à parcourir pour arriver en bas de la colonne; elles sont donc éluées les premières.

4 : Les petites molécules sont éluées ensuite car elles ont une plus grande distance à parcourir pour arriver en bas de la colonne.

D'une façon plus générale :

- Les molécules de taille supérieure à celle des pores des billes de Sephadex sont totalement exclues du gel et ne se répartissent que dans le volume extérieur aux billes, c'est-à-dire dans la phase mobile (éluant). Elles sortent les premières, à un volume d'élution V_0 appelé volume mort de la colonne.
- Les molécules de taille inférieure à celle des pores des billes de Sephadex peuvent pénétrer librement dans les billes et se répartissent dans l'ensemble des liquides de la colonne (volume de liquide à l'intérieur des billes ou phase stationnaire + volume de liquide à l'extérieur des billes ou phase mobile). Elles sortent donc les dernières, à un volume d'élution V_t ou volume total des liquides de la colonne.

- Les molécules de taille intermédiaire pénètrent partiellement dans les billes, en fonction de leur taille et de leur forme; elles pénètrent d'autant moins qu'elles sont plus grosses, et elles sont éluées dans l'ordre des masses molaires décroissantes (LAFONT, 2005).

**MATERIEL
ET
METHODES**

I - MATERIEL

1. 1. Matériel biologique

1.1. 1. Substance végétale

Le matériel végétal est une poudre obtenue à partir des écorces séchées de *Terminalia catappa*. C'est une espèce arborescente pouvant atteindre 5 à 25 m de haut. Dans cette étude, le nom de code donné à cette plante est TEKAM₃. Elle est connue en milieu traditionnel pour ses vertus anti-infectieuses.

1. 1. 2. Champignons testés

- Nous avons travaillé avec trois isolats de champignons à savoir : *Aspergillus fumigatus* (n° 896/AB du 18. 01. 2000) prélevés par aspirations bronchiques chez des patients souffrant de mycoses profondes ;
- *Candida albicans* (n° 3076/PV du 06. 04. 2000), et *Trichophyton mentagrophytes* (n° 13801/D du 19. 06. 1999) isolées chez des patients atteints de mycoses superficielles.

. Ces isolats nous ont été fournis par le laboratoire de mycologie de l'UFR des Sciences Médicales de l'Université de Cocody Abidjan (Côte d'Ivoire).

1. 2. Milieu de culture

Nous avons utilisé la gélose Sabouraud (BIOMERIEUX/ Réf : 51078 : 777666501) pour la culture des germes fongiques. La composition en g/L d'eau distillée de ce milieu est la suivante :

- Bio thione.....3	- Glucose.....19	- Phosphate monosodique : 0.5
- Phosphate dissodique : 0 .5	- Bio-trypcase.....3	- Agar.....13
- Extrait de levure.....2	- Extrait de malt.....1	- Bio-soyase.....3

Le pH du milieu est 6,4

1. 3. Produits chimiques

Pour l'incorporation des extraits de TEKAM₃ dans les milieux de culture, les produits chimiques suivants ont été utilisés pour les extractions, le tri phytochimique, la chromatographie dans les conditions d'asepsie: acétate d'éthyle provenant du laboratoire Labosi[®](Paris, France), acétate de sodium, acide chlorhydrique, acide sulfurique, anhydrique acétique, chlorure ferrique, chlorure mercurique, chloroforme, copeaux de magnésium, éthanol pur, hexane, iodure de potassium, iodure mercurique, méthanol, nitrate de Bismuth, perchlorure de fer, soude, vanilline provenant du laboratoire Prolabo[®] (Toulouse, France), vert d'iode provenant du laboratoire Chimix[®] (Chassieu, France) , butanol provenant du laboratoire Quimicen[®] (Madrid, Espagne).

1. 4. Verrerie et petit matériel

Pour les manipulations, nous avons utilisé du petit matériel et de la verrerie d'usage courant en laboratoire ainsi que du gel de sephadex[®] G₂₅ provenant du laboratoire Pharmacia (Uppsala, Suisse), de eau de Javel et de l' eau distillée.

II - METHODES

2-1. Préparation des extraits totaux

L'écorce de *Terminalia catappa* a été récoltée, découpée et séchée à l'abri du soleil. Après leur séchage, les éléments végétaux ont été finement broyés dans un broyeur électrique pour obtenir une poudre.

Cette plante a été identifiée par le Professeur Aké Assi au jardin botanique de l'Université de Cocody (Abidjan, Côte d'Ivoire) où des spécimens ont été déposés.

Pour obtenir les extraits totaux aqueux et éthanoliques, la poudre de TEKAM₃ a été extraite comme suit:

Cent grammes de poudre de TEKAM₃ ont été extraits dans un litre de solvants (eau distillée ou éthanol 70%) par homogénéisation dans un blender (mixer). L'homogénat obtenu est d'abord essoré dans un carré de tissu, puis filtré successivement deux fois sur du coton hydrophile et une fois sur du papier filtre Whatman 3 mm. Le filtrat obtenu est concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif de type Büchi à la température de 60° C.

L'extrait éthanolique est évaporé à sec, par contre l'extrait aqueux est seulement concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif pour avoir une pâte qui est lyophilisée. L'extrait éthanolique est appelé X₀ et l'extrait aqueux X_{Aq}.

Trois portions de 10 grammes de X₀ sont constituées et soumises séparément à des partitions dans 300 ml de trois différents mélanges de solvants (hexane - eau ; acétate d'éthyle - eau ; Butanol - eau 50/50 ; v/v) (figure 15). Après décantation, les différentes phases ont été séparées et concentrées à l'aide d'un évaporateur rotatif. On obtient respectivement les extraits suivants :

X_{1,1} : la phase hexanique.

X_{1,2} : la phase aqueuse issue de la partition hexane – eau.

X_{2,1} : la phase acétatique.

X_{2,2} : la phase aqueuse issue de la partition acétate d'éthyle – eau.

X_{3,1} : la phase butanolique.

X_{3,2} : la phase aqueuse issue de la partition butanol – eau.

X_{1,2} a été ensuite chromatographié sur une colonne de filtration de sephadex G₂₅ dont les caractéristiques de la colonne sont : diamètre=1cm ; hauteur du gel = 55 cm ; débit = 0,22 mL/mn.

Nous avons obtenu 20 fractions (F₁ à F₂₀).

Tous les vingt huit extraits ont été testés séparément sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton mentagrophytes*.

L'ensemble des processus d'extraction est présenté dans les figures 15, 16 et 17.

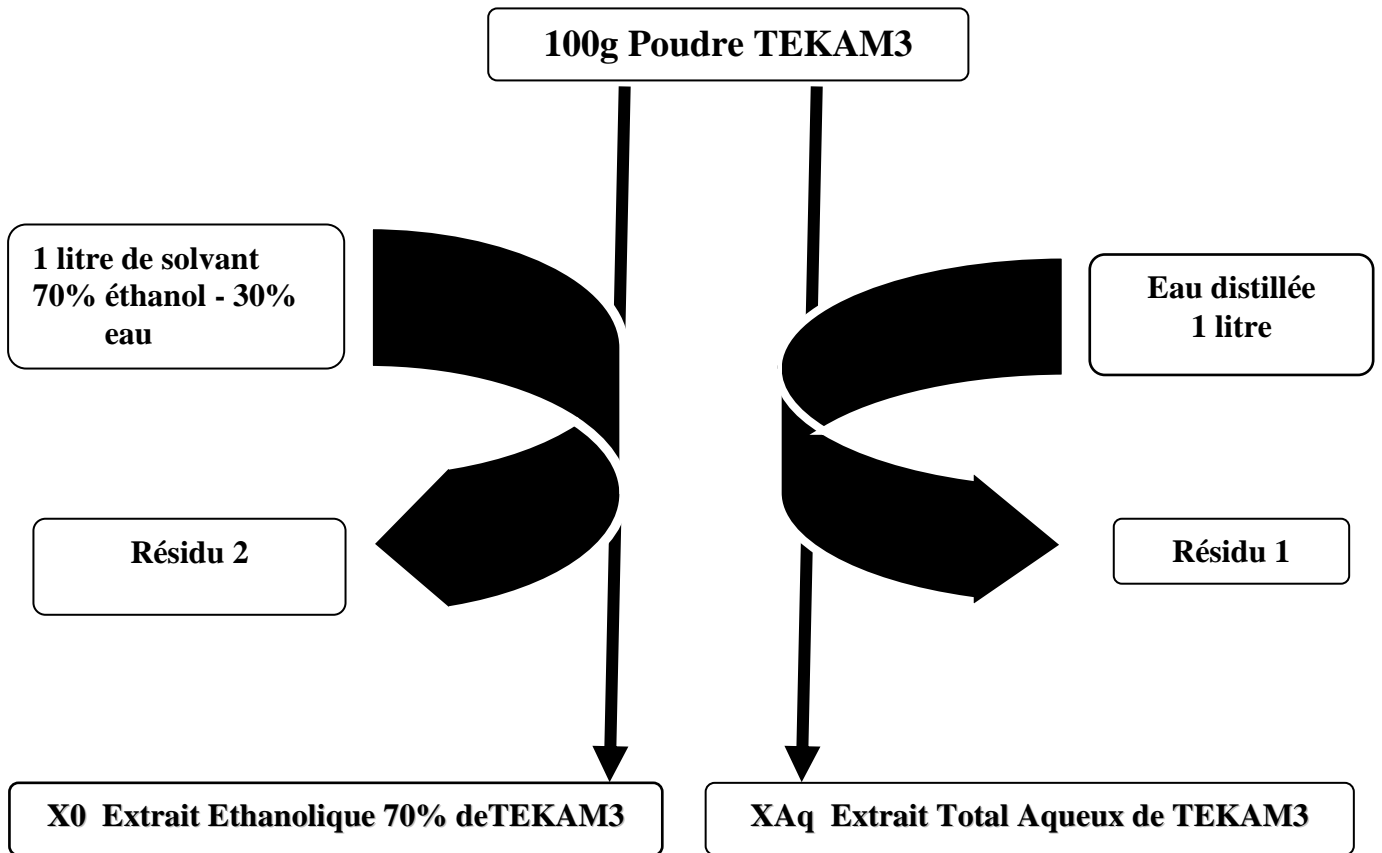


Figure 14 : Méthode de préparation des extraits totaux (Aqueux et Ethanologique).

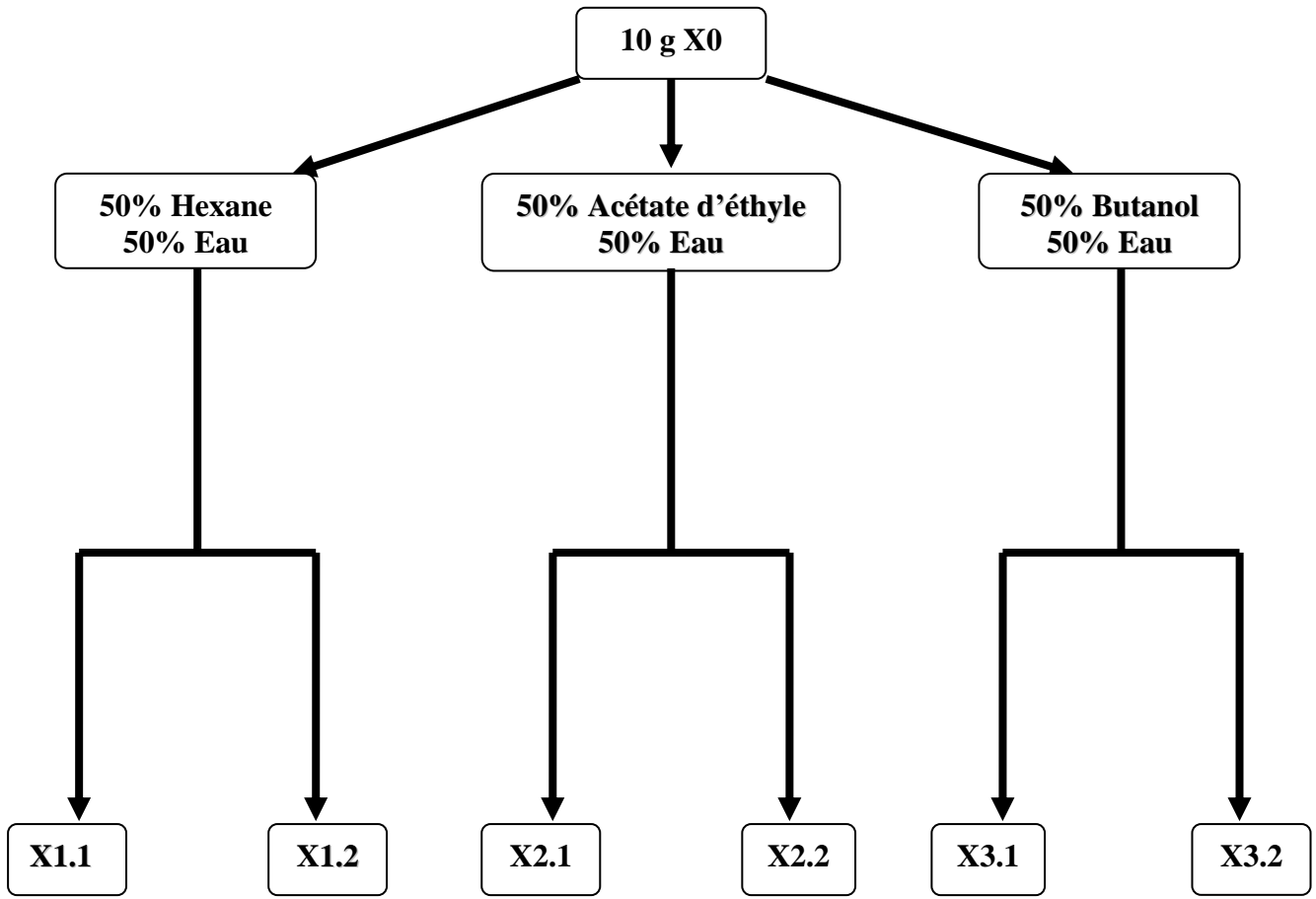


Figure 15 : Méthode de préparation des partitions à partir de l'extrait éthanologique X₀

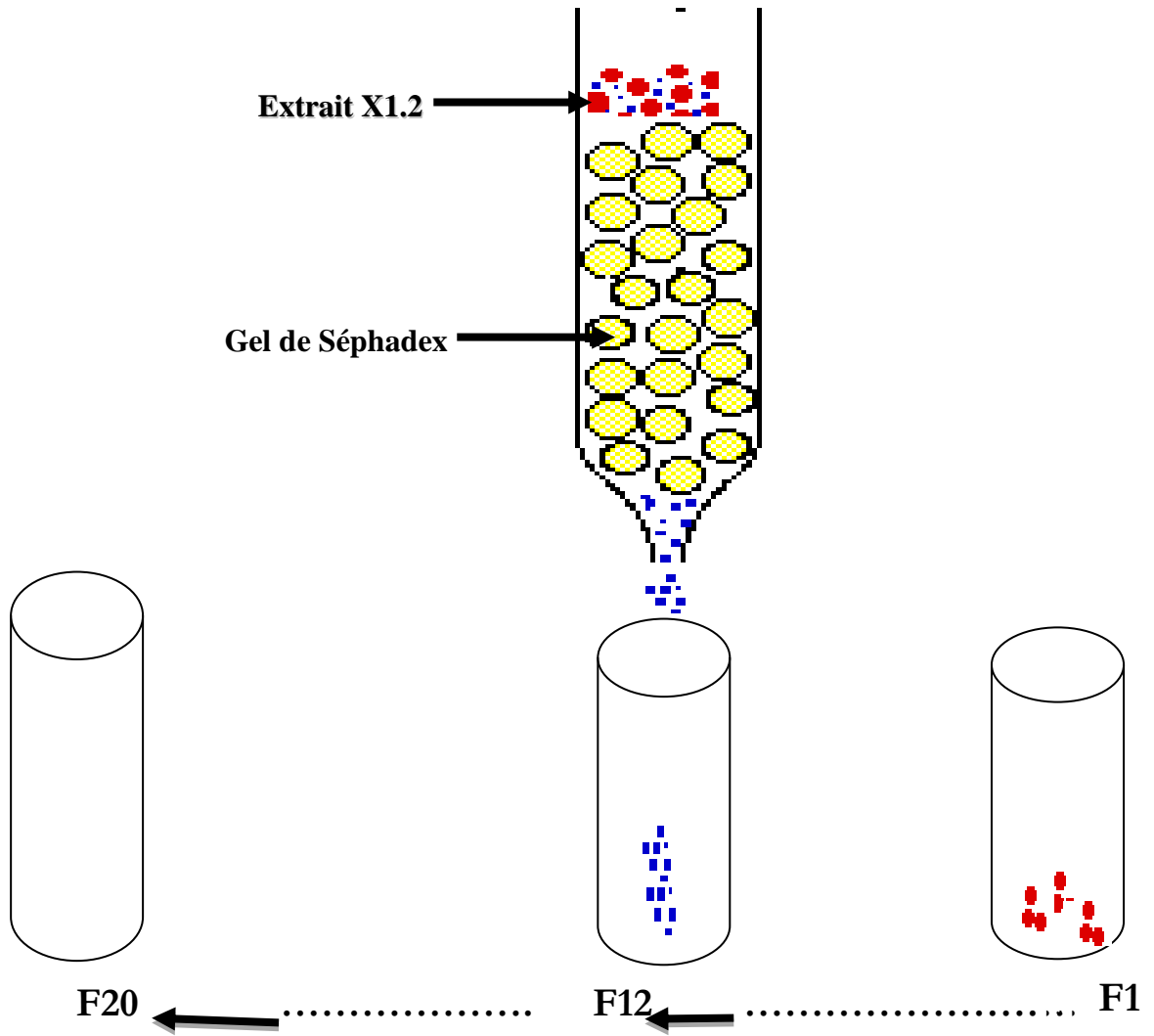


Figure 16 : Méthode de préparation des fractions à partir de l'extrait $X_{1,2}$.

2. 2. Préparation des milieux de culture

2. 2. 1. Préparation de la gélose Sabouraud.

Le milieu de Sabouraud a été préparé en homogénéisant dans 150 mL d'eau distillée, 6,3 g de gélose en poudre. Ce mélange est chauffé et agité jusqu'à homogénéité complète, sur un agitateur magnétique chauffant (IKA-MAG- RCT).

Pour réaliser les tests *in vitro*, le milieu a été coulé dans différents tubes à essai auxquels on incorpore les différents extraits de TEKAM₃.

2. 2. 2. Incorporation des extraits végétaux à la gélose.

Nous avons utilisé la méthode de la double dilution, en tubes penchés pour incorporer l'extrait végétal (TEKAM₃) à la gélose. Notre série comporte 12 tubes numérotés de 1 à 12. Le milieu précédemment préparé a été réparti dans les 12 tubes à raison de 20 mL dans le premier tube et 10 mL dans les autres tubes allant du n°2 au n°12. Le milieu de Sabouraud a été préparé en homogénéisant dans le tube n°1, 1g de X_{Aq} dans 20 mL de milieu de Sabouraud. La moitié du volume de ce mélange homogène est transférée dans 10mL de gélose du tube n°2 et homogénéisée. Cette opération est reprise pour le tube n°3 et ainsi de suite par double dilution jusqu'au tube n°10 ; donnant une gamme de concentration décroissante allant de 50 mg/mL à 0,09mg/mL avec une liaison géométrique de raison 1/2.

Cette série comporte aussi deux tubes témoins n°11 et 12, contenant chacun 10 mL d'Agar ; dont le tube n°11 pour le contrôle de croissance des germes sans X_{Aq} et le tube n°12 pour le contrôle de la stérilité de l'Agar sans germes et sans extrait. Les 12 tubes de cette série ont été stérilisés à l'autoclave de marque PBI STEMATIC III à 121°C pendant 15 minutes et inclinés (avec petit culot) à la température de la salle pour permettre à la gélose de se solidifier (KRA, 1997 ; KRA, 2001 ; ACKAH, 2004).

Cette méthode peut être schématisée comme suit :

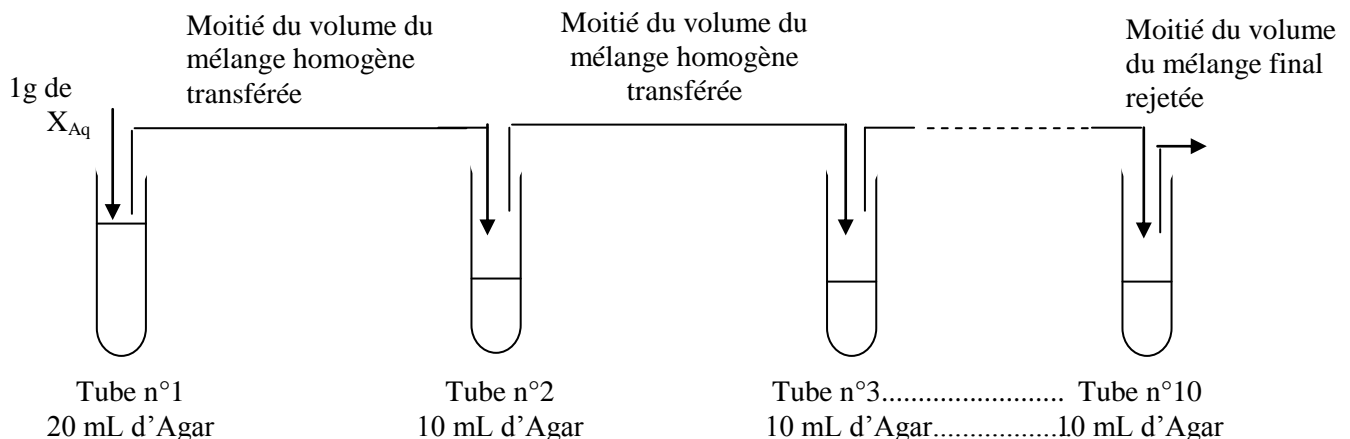


Figure 17 : Schéma de la méthode d'incorporation des extraits à la gélose Sabouraud

2. 3. Préparation de l'inoculum

Les inocula ont été préparés séparément à partir de cultures jeunes des 3 souches sur gélose en pente. Les cultures étaient âgées de 48 heures pour *Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans* ; celles de *Trichophyton mentagrophytes* étaient âgées de 5 jours. Pour chaque souche, une colonie a été prélevée à l'aide d'une anse puis homogénéisée dans 10 mL d'eau distillée stérilisée. Cette suspension a donné une solution mère notée 10^0 , de concentration équivalent à 10^6 cellules/mL. A partir de la suspension 10^0 , a été préparée la suspension 10^{-1} , par dilution au $1/10^{\text{ième}}$ en transférant 1 mL de la suspension 10^0 dans 9 mL d'eau distillée stérilisée pour avoir un volume final de 10 mL, contenant 10^5 cellules par mL (GUEDE-GUINA *et al.*, 1997 ; KRA, 1997 et 2001).

Afin de vérifier la charge de l'inoculum, nous avons procédé secondairement à des dilutions de ce dernier : 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4} . Toutes ces suspensions ont été ensemencées sur gélose en boîte de pétri incubées en même temps que les cultures expérimentales : après 48 heures d'incubation, le dénombrement du nombre de colonies de la dilution 10^{-4} , rapporté au volume prélevé (10 μ L) et au facteur de dilution donne pour l'inoculum une charge de 10^5 cellules/mL ce qui est conforme aux normes standard de culture. Dans cette vérification, on tient aussi compte du nombre de colonies dénombré dans les suspensions (10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1}).

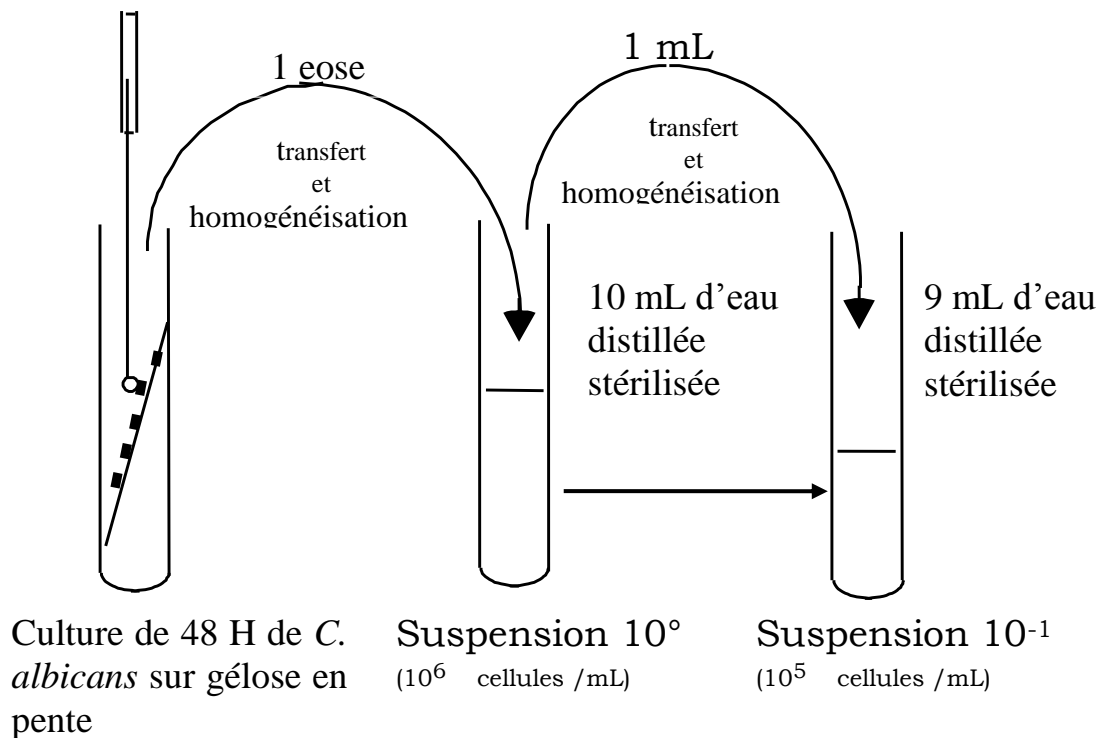


Figure 18 : Schéma de la méthode préparation de l'inoculum

2. 4. Culture des germes en présence de l'extrait végétal

Pour chacun des tubes à essai de chaque série, la culture des différents germes fongiques a été faite sur les milieux précédemment préparés, par l'ensemencement en stries transversales (jusqu'à épuisement) de 10 µL de la suspension 10^{-1} (de concentration 10^5 cellules/mL) prélevés avec une micropipette. Ce qui donne 1000 cellulesensemencées. A part le témoin de contrôle de stérilité, les ensemencements ont été faits dans le tube témoin de contrôle de croissance et les tubes contenant l'extrait végétal. Les cultures ainsi réalisées ont été incubées à l'étuve de type MEMMERT 30079 à 30°C pendant 48 heures pour *Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans* et 5 jours pour *Trichophyton mentagrophytes*.

2. 5. Dénombrement des germes

Après 48 heures et 5 jours d'incubation, les colonies des différents germes fongiques ont été dénombrées selon la méthode de GUEDE-GUINA et Coll., 1996 par comptage direct grâce à un stylo compteur de colonies (CEINCEWARE numéro de série 23382). Et la croissance (des germes) dans les 10 tubes expérimentaux de chaque série a été évaluée en pourcentage de survivance, calculé par rapport à 100% de survivance dans le tube témoin de contrôle de croissance.

La méthode de calcul du pourcentage de survivance des germes dans les tubes expérimentaux peut se résumer par la formule suivante :

$$S = \frac{n}{N} \times 100$$

S = Survivance des germes (exprimée en pourcentage)

N = Nombre de colonies dans le tube témoin

n = Nombre de colonies dans le tube expérimental.

L'analyse des résultats a permis, non seulement de tracer les antifongigrammes mais aussi de déterminer les paramètres antifongiques suivants :

- la Concentration Minimale Fongicide (CMF) : C'est la plus petite concentration de TEKAM₃ qui donne 99,99% d'inhibition comparativement au témoin de contrôle de croissance.
- la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) : C'est la plus petite concentration de TEKAM₃ dans le tube où il n'y a aucune croissance visible à l'œil nu.
- La concentration pour 50% d'inhibition (CI₅₀). CI₅₀ donne 50% d'inhibition, estimé par rapport au nombre de germes ayant poussé dans le tube témoin. C'est un paramètre déterminé graphiquement à partir d'un antifongigramme. Il représente la dose de TEKAM₃ pour laquelle 50% de la croissance des germes fongiques (*Candida albicans*, *Aspergillus*

fumigatus, *Trichophyton mentagrophytes*) sont inhibés (AJELLO et al., 1963; HOLT, 1975; HALEY, et al., 1978; ACKAH, 2004).

2. 6. La chromatographie sur couche mince (CCM)

Nous avons fait la CCM afin de déterminer le nombre de constituants chimiques composant certains de nos extraits ($X_{1,2}$ et F_{12}). La CCM a été réalisée comme suit :

Une goutte de $X_{1,2}$ est déposée sur une plaque de verre recouverte d'une mince couche de gel de silice. La goutte est séchée à la température ambiante. La plaque est ensuite plongée dans le solvant d'éluion qui est composé du butanol, de l'acide acétique et d'eau dans les proportions (60/25/15). La plaque est maintenue dans la cuve jusqu'à ce que le solvant atteigne le bord supérieur de la plaque. Plusieurs heures après, la plaque est ensuite retirée de la cuve. Le verre est séché et pulvérisé avec le réactif de GODIN (Mélange de deux solutions au moment de l'emploi : Solution A à 1% de Vanilline dans l'éthanol à 95 %, et Solution B d'acide perchlorique à 3% dans l'eau distillée. On pulvérise ensuite la plaque avec une solution de H_2SO_4 à 10%). Après pulvérisation, la plaque est chauffée à 105 °C pendant une dizaine de minutes avant l'observation des taches obtenues. La même opération a été répétée pour la fraction 12 (F_{12}).

Notons que les saponosides donnent des taches roses ou violettes après la pulvérisation avec le Réactif de Godin et après chauffage. Les flavonoïdes donnent des taches jaunes avec le même réactif.

2. 7. Tri phytochimique

Afin de mettre en évidence les principaux groupes chimiques contenus dans les extraits testés (X_{Aq} , X_0 , $X_{1,2}$ et F_{12}), nous avons réalisé différents essais de caractérisations.

2. 7. 1. Recherche des polyphénols

Les polyphénols sont des composés qui possèdent plusieurs groupements phénols et hydroxyles.

Principe : La colorimétrie des phénols met à profit la formation de précipité coloré avec une solution de chlorure ferrique ($FeCl_3$). L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte, indique la présence de composés polyphénoliques. L'appréciation de cette coloration est faite par rapport à un essai témoin qui est une solution de phénol. En outre, en solution aqueuse, les tanins sont précipités par les sels de métaux lourds (Cu, Zn, Sn, Pb, Hg).

La réaction au formol chlorhydrique (réactif de STIASNY) nous permet de distinguer les tanins cathéchiques des tanins galliques par saturation à l'acétate de sodium.

Les tanins cathéchiques sous forme condensée (non hydrolysable) sont précipités par chauffage au bain-marie à 80°C, suivi de refroidissement.

Les tanins galliques qui sont sous forme d'hétérosides hydrolysables sont hydrolysés après addition d'acétate de sodium. L'addition de quelques gouttes de perchlorure de fer, va donner une coloration spécifique aux polyphénols indiquant la présence des tanins galliques.

Protocole expérimental

- Pour les polyphénols de TEKAM₃ :

A 2 mL d'extrait de X_{Aq} est ajoutée une goutte d'une solution alcoolique de chlorure ferrique à 2% (BONGA et *al.*, 1995).

- Pour les tanins cathéchiques de TEKAM₃

Un échantillon de 5 mL d'extrait de X_{Aq}, est évaporé à sec dans une capsule en porcelaine chauffée sur du sable, à ce résidu sont ajoutés 15 mL du réactif de STIASNY. L'ensemble a été porté au bain-marie à 80° C pendant 30 minutes.

- Pour les tanins galliques de TEKAM₃

Un échantillon de 5 mL d'extrait de X_{Aq}, a été filtré et saturé à l'acétate de sodium. On ajoute 3 gouttes de FeCl₃ à 2%

2. 7. 2. Recherche des alcaloïdes

Les méthodes classiques d'extraction des alcaloïdes qui précipitent avec les réactifs de MAYER et de DRAGENDORFF, ont été utilisées pour mettre en évidence ces composés.

Principe :

Les alcaloïdes sont caractérisés par le fait qu'ils ont la propriété de se combiner avec les métaux lourds (bismuth, iode, mercure, tungstène...) et de précipiter sous forme de sels.

Ainsi les métaux lourds utilisés dans les réactifs servant pour leur détermination sont :

- Réactif de BOUCHARDAT (Iode) qui entraîne la formation de précipité brunâtre;
- Réactif de DRAGENDORFF (iode, Bismuth) qui engendre la formation de précipité orangé ;
- Réactif de VALSER-MAYER (Iode, Mercure) qui forme un précipité blanc laiteux.

Protocole expérimental

Un échantillon de 6 mL d'extrait de TEKAM₃, est évaporé à sec dans une capsule en porcelaine au bain de sable. Le résidu est repris dans 6 mL d'éthanol (60°). La solution ainsi obtenue est répartie dans trois tubes à essai.

Dans le premier tube, deux gouttes de réactif de DRAGENDORFF ont été ajoutées.

Dans le deuxième tube, deux gouttes de réactif de VALSER-MAYER ont été additionnées.

Dans le troisième tube, deux gouttes de réactif de BOUCHARDAT ont été aussi additionnées.

2.7. 3. Recherche des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments jaunes très répandus chez les végétaux supérieurs ; ils existent sous forme d'hétérosides dont la génine dérive du noyau benzo- γ -pyrone.

Principe :

Les flavonoïdes sont caractérisés par la réaction à la cyanidrine dont le principe est que les hétérosides flavoniques en solution alcoolique et en présence d'hydrogène naissant donnent des dérivés diversement colorés en fonction de la structure chimique du flavonoïde. Ainsi,

Les flavones vont donner une coloration orange ;

Les flavonols vont donner une coloration rouge ;

Les flavonones vont donner une coloration rouge-violacée.

Protocole expérimental

Un échantillon de 2 mL d'extrait de TEKAM₃, est évaporé à sec dans une capsule en porcelaine au bain de sable. Le résidu est repris après refroidissement dans 5 mL d'alcool chlorhydrique au demi. La solution obtenue est renversée dans un tube à essai.

2. 7. 4. Recherche des saponosides

Les saponosides sont des hétérosides à génine stéroïdique ou triterpénique, doués de propriétés tensioactives.

Principe :

En solution aqueuse les saponosides ont un indice de mousse très élevé. Cette propriété est donc mise à profit dans ce test, par agitation d'un échantillon de volume d'extrait. La hauteur de la mousse formée est mesurée et doit être supérieure à 1 cm. Cela indique la présence de saponine (LEBEAU et Coll., 1956 ; BONGA et *al.*, 1995).

Protocole expérimental

Un échantillon de 2 mL d'extrait de TEKAM₃ est repris à l'eau bouillante, refroidi et filtré. Dix millilitres (10 mL) du filtrat sont ensuite introduits dans un tube à essai. Le tube est ensuite agité verticalement pendant environ 15 secondes et laissé au repos pendant 15 minutes.

2. 7. 5. Recherche des quinones

Tout comme les tanins, les quinones existent sous deux formes (libre et combinée). Les premières sont mises en évidence par le réactif de BORNTAEGER tandis que les secondes doivent être hydrolysée avant leur mise en évidence.

Principe :

La caractérisation des quinones est fondée sur le fait qu'ils donnent sous l'action d'une lessive alcaline ajoutée en faible quantité (ammoniaque, soude, eau de chaux) une coloration rouge cérise.

Protocole expérimental

Dans une capsule en porcelaine, un échantillon de 2 mL d'extrait de TEKAM₃, est évaporé à sec au bain de sable puis trituré avec 5 mL d'acide chlorhydrique dilué au 1/5. L'ensemble est porté au bain-marie bouillant dans un tube à essai pendant 30 minutes.

Après refroidissement, l'hydrolysât est extrait avec 20 mL de chloroforme dans un tube à essai. Il est ensuite saturé avec 0,5 mL d'ammoniac dilué au demi.

2. 7. 6. Recherche des stérols

Les composés stéroïdiques et terpéniques sont extraits par macération dans un solvant organique. La recherche des stérols et terpénoïdes a été faite par la réaction de LIEBERMAN-BUCHARD.

Ces composés ont une origine commune. En effet, ils sont tous issus d'un même motif de base qui est l'isoprène. C'est la condensation des unités isopréniques qui abouti, selon la voie de synthèse, soit à un dérivé terpénique soit à un stérol. L'unité isoprénique est lui même construit dans une première étape, à partir d'un motif comportant deux carbones, fournis par l'acétylcoenzyme-A.

Les processus de condensation et de transfert des unités carbonées sont liés à une activité mitochondriale intermédiaire de synthèse d'acéto-acétylCoA, d'acide β -hydroxy- β -méthylglucarique et d'acide mévalonique (BOWMAN *et al*, 1980). C'est cette origine commune qui explique pourquoi la réaction de LIEBERMAN-BUCHARD, met en évidence à la fois les deux familles de composé.

Principe :

L'apport de l'anhydride acétique acidifie l'homogénat de l'extrait végétal. Les stérols et les terpènes sont mis en évidence par l'addition de l'acide sulfurique.

L'apparition d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert, indique une réaction positive. La lecture est faite comparativement à un essai témoin avec le cholestérol ou le sitostérol.

Protocole expérimental

Un échantillon de 5 mL d'extrait de TEKAM₃, est évaporé à sec dans une capsule en porcelaine au bain de sable. Le résidu est dissout à chaud dans 1 mL d'anhydride acétique. L'ensemble est renversé dans un tube à essai auquel on ajoute 0,5 mL d'acide sulfurique concentré. La réaction est positive s'il y a l'apparition d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert.

2. 8. Methode statistique : Dispositif Complettement Aléatoires (D. C. A)

Les tests d'hypothèses sont des tests de comparaison basée sur l'idée de l'existence d'une variation aléatoire lors des expérimentations. C'est le dispositif le plus simple utilisé qui est utilisé quand les unités expérimentales sont essentiellement homogènes. Le D. C. A est adapté aux expériences avec moins de traitements. Les traitements sont affectés aux unités expérimentales de façon aléatoire. Chaque unité expérimentale a la même chance de recevoir n'importe quel traitement. Le dispositif est flexible. Le nombre de traitement est limité par le nombre d'unités expérimentales. L'analyse statistique est simple comparée à d'autres dispositifs car le degré de liberté (ddl) de la résiduelle est très élevé.

Le test statistique a été adapté par un logiciel d'analyse statistique nommé GRAPHPAD PRISM 5. Ce test pose pour chaque extrait testé au cours de nos investigations les hypothèses « H » suivantes :

Hypothèse :

H_0 : il n'existe pas de différence significative entre les concentrations sur la croissance *in vitro* de chaque souche testée.

H_C : il existe une différence significative entre les concentrations sur la croissance *in vitro* de chaque souche testée.

RESULTATS

1- Activité antifongique de X_{Aq} (extrait aqueux)

L'étude de l'action de X_{Aq} sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton mentagrophytes* a montré qu'à 48 heures d'incubation pour *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus* et 5 jours d'incubation pour *Trichophyton mentagrophytes*, il y a eu comparativement au témoin, une diminution progressive du nombre de colonies dans les tubes expérimentaux, au fur et à mesure que la concentration de X_{Aq} augmentait dans les tubes.

Les résultats ont montré que X_{Aq} inhibe la croissance *in vitro* des trois souches, selon une relation dose-effet permettant de déterminer les concentrations minimales fongicides (CMF) et la concentration minimale inhibitrice (CMI).

CMI= CMF = 780 µg/mL pour *Candida albicans*.

CMI= CMF = 390 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus*.

CMI= CMF = 190 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*.

On constate que pour toutes ces trois souches, on a CMI= CMF.

La figure 19 présente les trois antifongigrammes obtenus à partir des données du dénombrement des colonies dans les 10 tubes expérimentaux pour lesquels la croissance des germes a été évaluée en pourcentage de survivance calculé par rapport à 100% de survivance dans le tube témoin de contrôle de croissance. Toutes les trois courbes de sensibilité ont une allure décroissante. Ces trois antifongigrammes ont permis de déterminer les concentrations inhibitrices pour 50 % de survivance des germes (CI₅₀).

CI₅₀ = 538 µg/mL pour *Candida albicans*.

CI₅₀ = 8 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus*.

CI₅₀ = 14 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*.

Les valeurs de concentrations minimales fongicides ainsi que celles des CI₅₀ sont résumées dans le tableau IV.

Les résultats de l'analyse statistique de X_{Aq} sur chacune des souches ont montré que pour une concentration donnée, il n'y a pas de différence significative entre les différents tests.

-Antifongogrammes et paramètres antifongiques comparés

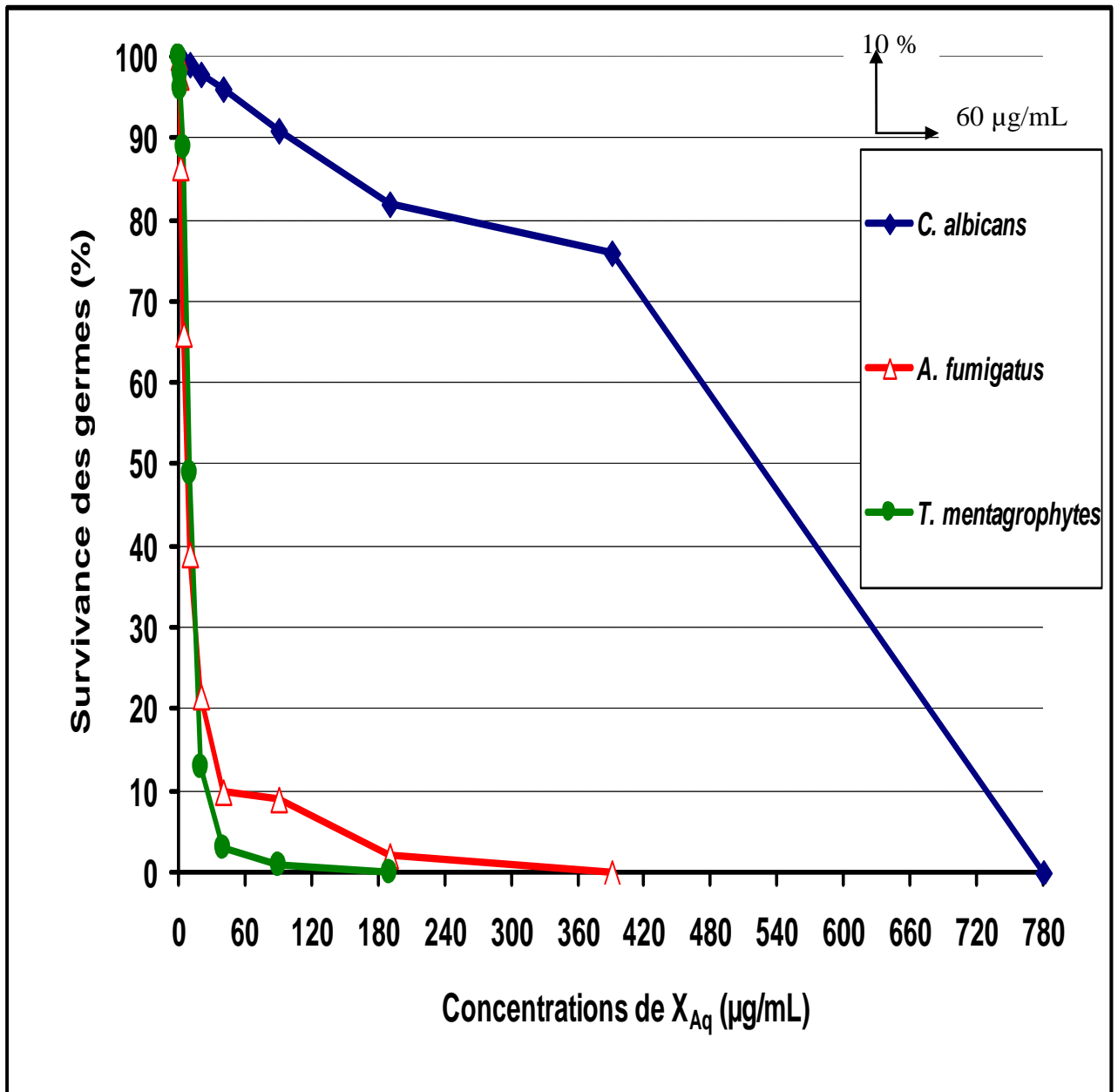


Figure 19 : Sensibilité comparée de *C. albicans*, *A. fumigatus* et *T. mentagrophytes* à X_{Aq}

La figure 19 récapitule toutes les courbes de l'activité de X_{Aq} . Elle permet de comparer l'activité de X_{Aq} sur la sensibilité des trois souches. Notons que plus la pente d'une courbe de sensibilité est forte, plus l'extrait est actif. Sur cette figure, on constate que de façon générale toutes les courbes ont une allure décroissante avec des pentes plus ou moins fortes. La courbe de sensibilité de *T. mentagrophytes* à l'extrait X_{Aq} possède une forte pente. Par contre celle qui illustre la sensibilité de *C. albicans* possède une faible pente. Enfin celle de *A. fumigatus* présente une pente moyenne.

Tableau IV : Valeurs des paramètres antifongiques comparés de X_{Aq}

Extraits	<i>Candida albicans</i>		<i>Aspergillus fumigatus</i>		<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	
	CI₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	CMF ($\mu\text{g/mL}$)	CI₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	CMF ($\mu\text{g/mL}$)	CI₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	CMF ($\mu\text{g/mL}$)
X_{Aq}	538	780	8	390	14	190

Au regard des performances de l'extrait X_{Aq} contre les trois souches et sur la base des valeurs des paramètres antifongiques, le classement des souches de la moins sensible à la plus sensible donne l'ordre suivant : *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Trichophyton mentagrophytes*.

Conclusion partielle

La comparaison des isolats entre eux, montre que :

Candida albicans est 4 fois moins sensible que *Trichophyton mentagrophytes* et 2 fois moins sensible que *Aspergillus fumigatus* lequel est 2 fois moins sensible que *Trichophyton mentagrophytes*.

Les résultats obtenus avec l'extrait aqueux (X_{Aq}) révèlent que X_{Aq} est très actif sur les trois isolats fongiques. Vu les résultats intéressants, nous avons voulu savoir si des extraits préparés avec des solvants organiques pourraient être plus actifs. Au regard des travaux de ZIRIHI et KRA en 2003, nous avons choisi le mélange éthanol – eau comme solvant d'extraction. C'est à partir de ce solvant que nous avons préparé l'extrait éthanolique X_0 .

2- Activité antifongique de X₀ (extrait 70% éthanol)

L'étude de l'activité antifongique de X₀ sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton mentagrophytes* a donné les résultats suivants :

Avec les trois souches testées, nous avons observé, comparativement au témoin, une diminution progressive du nombre de colonies dans les tubes expérimentaux, au fur et à mesure que la concentration de X₀ augmentait dans les tubes.

Les résultats ont montré que X₀ inhibe la croissance *in vitro* des trois germes, selon une relation dose-effet permettant de déterminer les concentrations minimales fongicides (CMF) et la concentration minimale inhibitrice (CMI).

CMI = CMF = 190 µg/mL pour *Candida albicans*.

CMI = CMF = 90 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus*.

CMI = CMF = 10 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*.

La figure 20 présente les antifongigrammes obtenus à partir des données du dénombrement des colonies dans les 10 tubes expérimentaux pour lesquels la croissance des germes a été évaluée en pourcentage de survivance calculé par rapport à 100% de survivance dans le tube témoin de contrôle de croissance. Toutes les trois courbes de sensibilité ont une allure décroissante. Ces trois antifongigrammes ont permis de déterminer les concentrations inhibitrices pour 50 % de survivance des germes (CI₅₀).

CI₅₀ = 139 µg/mL pour *Candida albicans*.

CI₅₀ = 14 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus*.

CI₅₀ = 3,8 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*.

Les valeurs des concentrations minimales fongicides ainsi que celles des CI₅₀ sont résumées dans le tableau V.

Les résultats de l'analyse statistique de X₀ sur chacune des souches ont montré que pour une concentration donnée, il n'y a pas de différence significative entre les différents tests.

- Antifongigrammes et paramètres antifongiques comparés

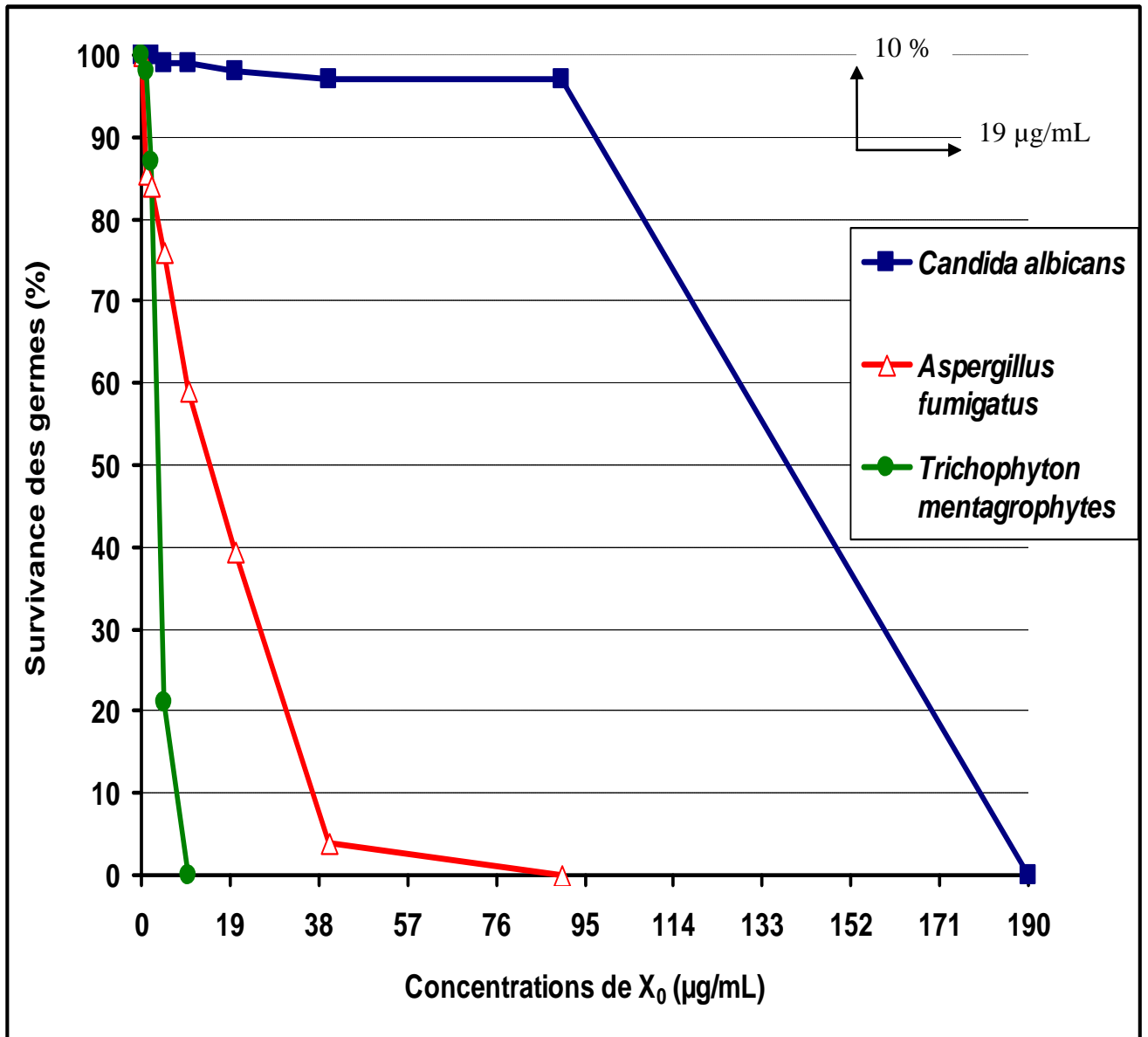


Figure 20 : Sensibilité comparée de *C. albicans*, *A. fumigatus* et *T. mentagrophytes* à X_0

Cette figure 20 permet de comparer l'activité de X_0 sur la sensibilité des trois isolats. Sur cette figure, on constate que de façon générale toutes les courbes ont une allure décroissante avec des pentes plus ou moins fortes. Cela illustre l'effet dose-dépendant entre la sensibilité des isolats et l'activité de l'extrait. La courbe de *T. mentagrophytes* à l'extrait X_0 possède une forte pente. C'est donc l'isolat le plus sensible. Par contre celle qui illustre la sensibilité de *C. albicans* possède une faible pente. Enfin celle de *A. fumigatus* présente une pente moyenne.

Tableau V : Valeurs des paramètres antifongiques comparés de X₀

Extraits	<i>Candida albicans</i>		<i>Aspergillus fumigatus</i>		<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	
	CI ₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)	CI ₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)	CI ₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)
X₀	139	190	14	90	3,8	10

Au regard des performances de l'extrait X₀ contre les trois isolats et sur la base des valeurs des paramètres antifongiques, le classement des isolats de le moins sensible au plus sensible donne l'ordre suivant : *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Trichophyton mentagrophytes*.

Conclusion partielle

C. albicans, *A. fumigatus* et *T.mentagrophytes* sont sensibles à X₀. Le rapport établi sur la base des valeurs des CMF donne :

$CMF X_{Aq} / CMF X_0 = 780 / 190 = 4$ en faveur de X₀ pour *C. albicans*

$CMF X_{Aq} / CMF X_0 = 390 / 90 = 4$ en faveur de X₀ pour *A. fumigatus*

$CMF X_{Aq} / CMF X_0 = 190 / 10 = 19$ en faveur de X₀ pour *T. mentagrophytes*

Cela signifie que X₀ est au moins 4 fois plus actif que X_{Aq}. Nous améliorons donc l'activité antifongique de X_{Aq} de 4.

L'extrait X₀ concentre mieux les principes actifs. Il a donc été retenu pour les essais d'amélioration de l'activité antifongique. Pour cela, X₀ a été partitionné dans trois mélanges de solvants organiques différents à savoir, hexane-eau, acétate d'éthyle-eau et butanol-eau.

3- Activité antifongique des partitions de X₀

3-1. Activité antifongique de X_{1,1} (extrait hexanique).

L'étude de l'activité antifongique de X_{1,1} sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton mentagrophytes* a donné les résultats suivants :

Avec les trois souches testées, nous avons observé, comparativement au témoin, une diminution progressive du nombre de colonies dans les tubes expérimentaux, au fur et à mesure que la concentration de X_{1,1} augmente dans les tubes.

Les résultats ont montré que X_{1,1} est actif sur la croissance *in vitro* des trois isolats, selon une relation dose-effet permettant de déterminer les concentrations minimales fongicides (CMF) et la concentration minimale inhibitrice (CMI).

CMI = CMF = 390 µg/mL pour *Candida albicans*.

CMI = CMF = 780 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus*.

CMI = CMF = 10 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*.

La figure 21 présente les antifongigrammes obtenus à partir des données du dénombrement des colonies dans les 10 tubes expérimentaux pour lesquels la croissance des isolats a été évaluée en pourcentage de survivance calculé par rapport à 100% de survivance dans le tube témoin de contrôle de croissance. Toutes les trois courbes de sensibilité ont une allure décroissante. Ces trois antifongigrammes ont permis de déterminer les concentrations inhibitrices pour 50 % de survivance des germes (CI₅₀).

CI₅₀ = 59 µg/mL pour *Candida albicans*.

CI₅₀ = 177 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus*.

CI₅₀ = 1,4 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*.

Les valeurs des concentrations minimales fongicides ainsi que celles des CI₅₀ sont résumées dans le tableau VI.

Les résultats de l'analyse statistique de X_{1,1} sur chacun des isolats ont montré que pour une concentration donnée, il n'y a pas de différence significative entre les différents tests.

- Antifongigrammes et paramètres antifongiques comparés

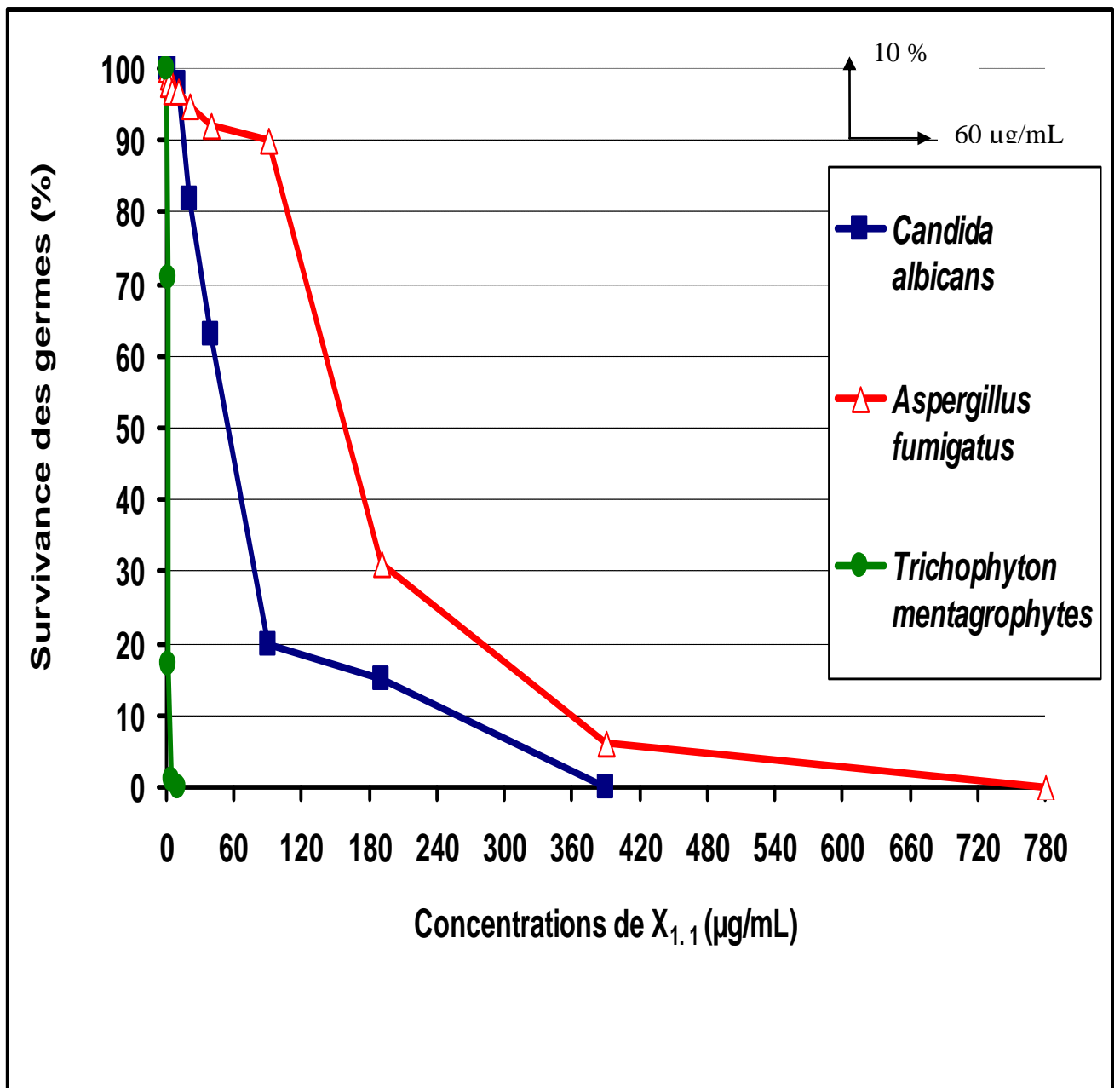


Figure 21 : Sensibilité comparée de *C. albicans*, *A. fumigatus* et *T. mentagrophytes* à $X_{1.1}$

La figure 21 sert à comparer l'activité de $X_{1.1}$ sur la sensibilité des trois isolats. Sur cette figure, on constate que de façon générale toutes les courbes ont une allure décroissante avec des pentes plus ou moins fortes. La courbe de *T. mentagrophytes* à l'extrait $X_{1.1}$ possède une forte pente. L'extrait $X_{1.1}$ est très actif sur *T. mentagrophytes* ensuite vient *A. fumigatus* dont sa courbe possède une faible pente et enfin sur *C. albicans* dont la courbe présente une pente moyenne.

Tableau VI : Valeurs des paramètres antifongiques comparés de X_{1.1}

Extraits	<i>Candida albicans</i>		<i>Aspergillus fumigatus</i>		<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	
	CI₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)	CI₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)	CI₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)
X_{1.1}	59	390	177	780	1,4	10

Au regard des performances de l'extrait X_{1.1} contre les trois isolats et sur la base des valeurs des paramètres antifongiques, le classement des isolats le moins sensible au plus sensible donne l'ordre suivant : *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes*

3.2- Activité antifongique de X_{1,2} (extrait aqueux issu de la partition hexane – eau).

L'étude de l'activité antifongique de X_{1,2} sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton mentagrophytes* a donné les résultats suivants :

Avec les trois isolats testés, nous avons observé, comparativement au témoin, une diminution progressive du nombre de colonies dans les tubes expérimentaux, au fur et à mesure que la concentration de X_{1,2} augmentait dans les tubes.

Les résultats ont montré que X_{1,2} est actif sur la croissance *in vitro* des trois isolats, selon une relation dose-effet permettant de déterminer les concentrations minimales fongicides (CMF).

CMI = CMF = 40 µg/mL pour *Candida albicans*.

CMI = CMF = 40 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus*.

CMI = CMF = 5 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*.

La figure 22 présente les antifongigrammes obtenus à partir des données du dénombrement des colonies dans les 10 tubes expérimentaux pour lesquels la croissance des isolats a été évaluée en pourcentage de survivance calculé par rapport à 100% de survivance dans le tube témoin de contrôle de croissance. Toutes les trois courbes de sensibilité ont une allure décroissante. Ces trois antifongigrammes ont permis de déterminer les concentrations inhibitrices pour 50 % de survivance des germes (CI₅₀).

CI₅₀ = 18 µg/mL pour *Candida albicans*.

CI₅₀ = 6 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus*.

CI₅₀ = 1,3 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*.

Les valeurs des concentrations minimales fongicides ainsi que celles des CI₅₀ sont résumées dans le tableau VII.

Les résultats de l'analyse statistique de X_{1,2} sur chacun des isolats ont montré que pour une concentration donnée, il n'y a pas de différence significative entre les différents tests.

- Antifongigrammes et paramètres antifongiques comparés

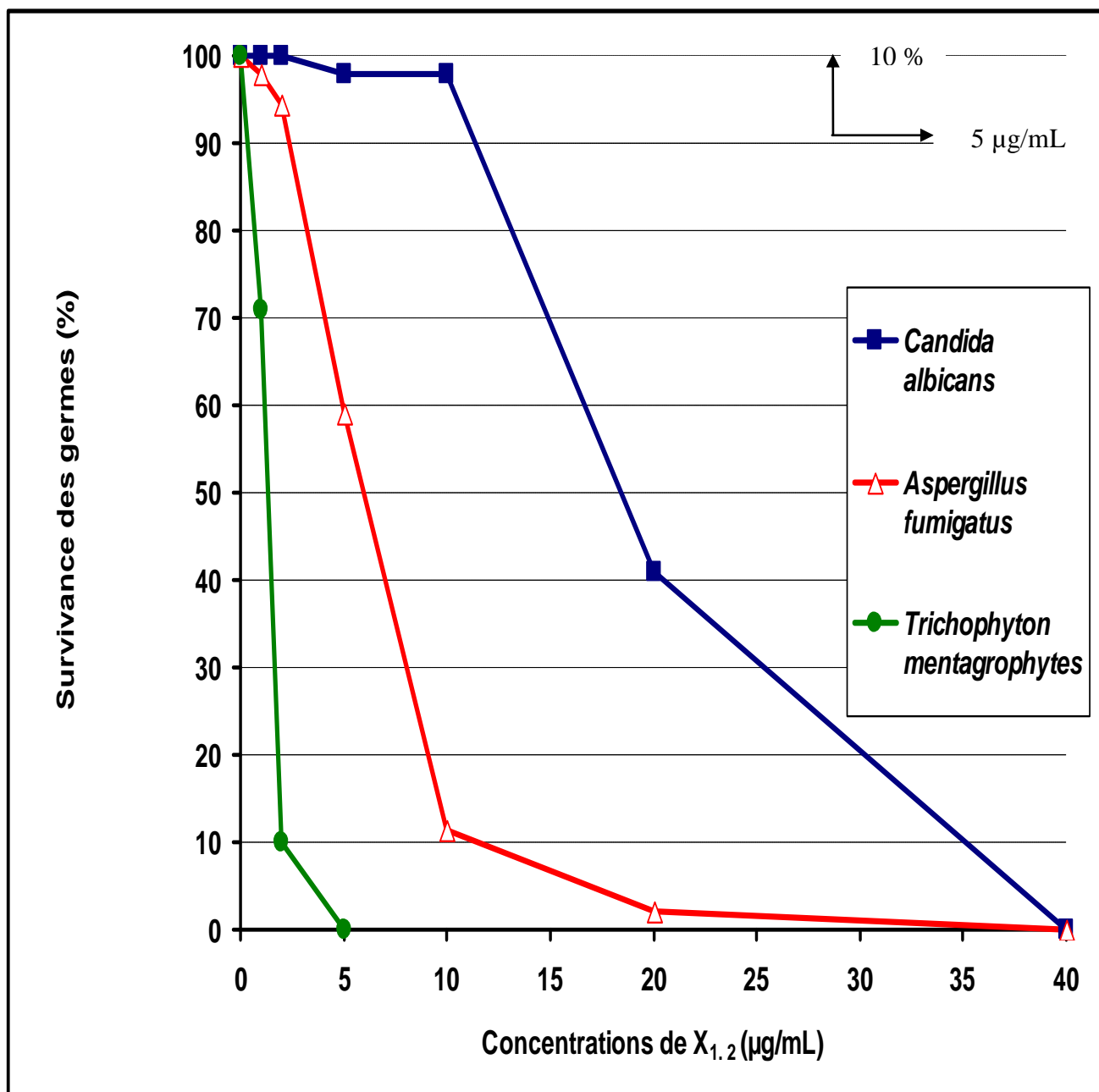


Figure 22 : Sensibilité comparée de *C. albicans*, *A. fumigatus* et *T. mentagrophytes* à X_{1,2}

La figure 22 récapitule toutes les courbes de l'activité de X_{1,2}. Elle permet une comparaison de l'activité de X_{1,2} sur la sensibilité des trois germes. Sur cette figure, on constate que de façon générale toutes les courbes ont une allure décroissante avec des pentes plus ou moins fortes. La courbe de *T. mentagrophytes* à l'extrait X_{1,2} possède une forte pente. Par contre celle de *C. albicans* possède une faible pente. Enfin celle de *A. fumigatus* présente une pente moyenne.

Tableau VII: Valeurs des paramètres antifongiques comparés de X_{1,2}

Extraits	<i>Candida albicans</i>		<i>Aspergillus fumigatus</i>		<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	
	CI ₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)	CI ₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)	CI ₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)
X _{1,2}	18	40	6	40	1,3	5

Au regard des performances de l'extrait X_{2,1} contre les trois isolats et sur la base des valeurs des paramètres antifongiques, le classement des isolats le moins sensible au plus sensible donne l'ordre suivant : *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Trichophyton mentagrophytes*

3-3. Activité antifongique de X_{2,1} (extrait acétatique).

L'étude de l'activité antifongique de X_{2,1} sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton mentagrophytes* a donné les résultats suivants :

Avec les trois souches testées, nous avons observé, comparativement au témoin, une diminution progressive du nombre de colonies dans les tubes expérimentaux, au fur et à mesure que la concentration de X_{2,1} augmente dans les tubes.

Les résultats ont montré que X_{2,1} est actif sur la croissance *in vitro* des trois isolats, selon une relation dose-effet permettant de déterminer les concentrations minimales fongicides (CMF).

CMI = CMF = 190 µg/mL pour *Candida albicans*.

CMI = CMF = 390 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus*.

CMI = CMF = 10 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*.

La figure 23 présente les antifongigrammes obtenus à partir des données du dénombrement des colonies dans les 10 tubes expérimentaux pour lesquels la croissance des germes a été évaluée en pourcentage de survivance calculé par rapport à 100% de survivance dans le tube témoin de contrôle de croissance. Toutes les trois courbes de sensibilité ont une allure décroissante. Ces trois antifongigrammes ont permis de déterminer les concentrations inhibitrices pour 50 % de survivance des germes (CI₅₀).

CI₅₀ = 38 µg/mL pour *Candida albicans*.

CI₅₀ = 28 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus*.

CI₅₀ = 1,8 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*.

Les valeurs des concentrations minimales fongicides ainsi que celles des CI₅₀ sont résumées dans le tableau VIII.

Les résultats de l'analyse statistique de X_{2,1} sur chacun des isolats ont montré que pour une concentration donnée, il n'y a pas de différence significative entre les différents tests.

- Antifongigrammes et paramètres antifongiques comparés

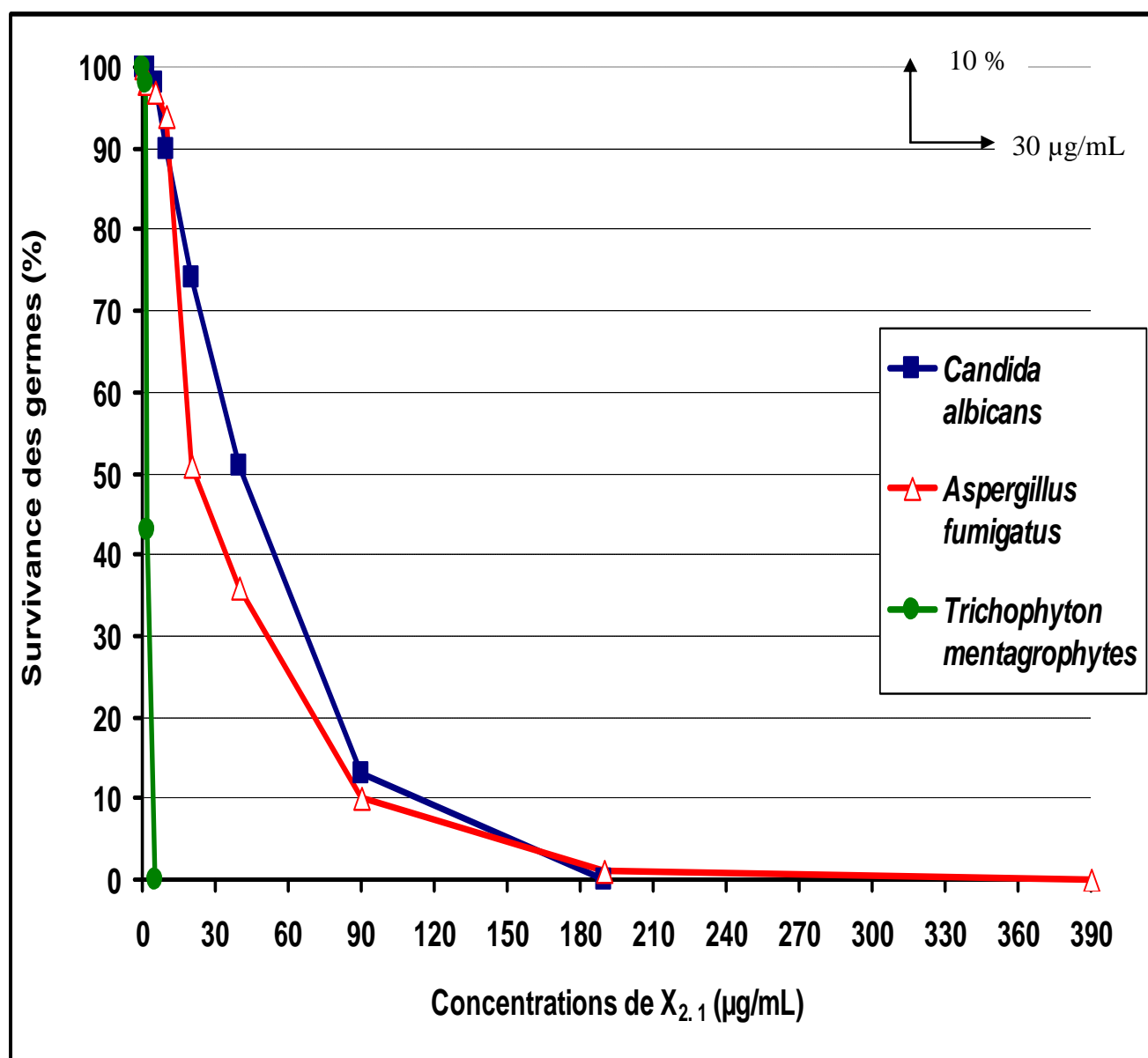


Figure 23 : Sensibilité comparée de *C. albicans*, *A. fumigatus* et *T. mentagrophytes* à $X_{2.1}$

La figure 23 permet de comparer l'activité de X_0 sur la sensibilité des trois isolats. Sur cette figure, on constate que de façon générale toutes les courbes ont une allure décroissante avec des pentes plus ou moins fortes. La courbe de sensibilité de *T. mentagrophytes* à l'extrait $X_{2.1}$ possède une forte pente. Par contre celle qui illustre la sensibilité de *C. albicans* possède une faible pente. Enfin celle de *A. fumigatus* présente une pente moyenne.

Tableau VIII : Valeurs des paramètres antifongiques comparés de X_{2,1}

Extrait	<i>Candida albicans</i>		<i>Aspergillus fumigatus</i>		<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	
	CI₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)	CI₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)	CI₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)
X_{2,1}	38	190	28	390	1,8	5

Au regard des performances de l'extrait X_{2,1} contre les trois souches et sur la base des valeurs des paramètres antifongiques, le classement des souches de la moins sensible à la plus sensible donne l'ordre suivant : *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes*.

3-4. Activité antifongique de X_{2,2} (extrait aqueux issu de la partition acétate d'éthyle – eau).

L'étude de l'activité antifongique de X_{2,2} sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton mentagrophytes* a donné les résultats suivants :

Avec les trois souches testées, nous avons observé, comparativement au témoin, une diminution progressive du nombre de colonies dans les tubes expérimentaux, au fur et à mesure que la concentration de X_{2,2} augmente dans les tubes.

Les résultats montrent que X_{2,2} est actif sur la croissance *in vitro* des trois isolats, selon une relation dose-effet permettant de déterminer les concentrations minimales fongicides (CMF).

CMI = CMF = 90 µg/mL pour *Candida albicans*.

CMI = CMF = 190 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus*.

CMI = CMF = 10 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*.

La figure 24 présente les antifongigrammes obtenus à partir des données du dénombrement des colonies dans les 10 tubes expérimentaux pour lesquels la croissance des isolats a été évaluée en pourcentage de survivance calculé par rapport à 100% de survivance dans le tube témoin de contrôle de croissance. Toutes les trois courbes de sensibilité ont une allure décroissante. Ces trois antifongigrammes ont permis de déterminer les concentrations inhibitrices pour 50 % de survivance des germes (CI₅₀).

CI₅₀ = 32 µg/mL pour *Candida albicans*.

CI₅₀ = 25 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus*.

CI₅₀ = 1 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*.

Les valeurs des concentrations minimales fongicides ainsi que celles des CI₅₀ sont résumées dans le tableau IX.

Les résultats de l'analyse statistique de X_{2,2} sur chacun des isolats ont montré que pour une concentration donnée, il n'y a pas de différence significative entre les différents tests.

- Antifongigrammes et paramètres antifongiques comparés

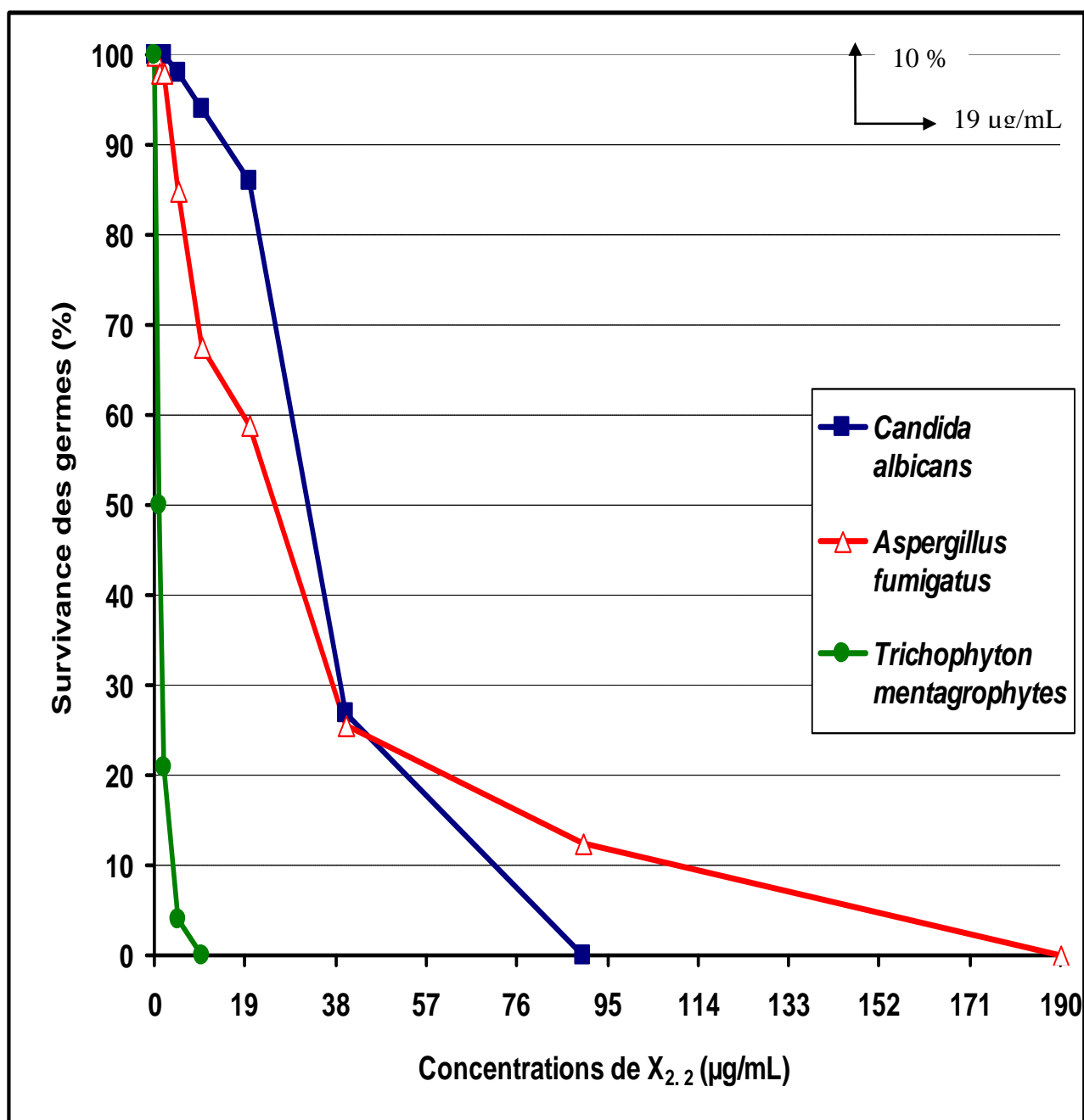


Figure 24 : Sensibilité comparée de *C. albicans*, *A. fumigatus* et *T. mentagrophytes* à X_{2.2}

Cette figure 24 permet de comparer l'activité de X_{2.2} sur la sensibilité des trois isolats. Sur cette figure, on constate que de façon générale toutes les courbes ont une allure décroissante avec des pentes plus ou moins fortes. Cela illustre l'effet dose-dépendant entre la sensibilité des isolats et l'activité de l'extrait. La courbe de sensibilité de *T. mentagrophytes* à l'extrait X_{2.2} possède une forte pente. Par contre celle qui illustre la sensibilité de *C. albicans* possède une faible pente. Enfin celle de *A. fumigatus* présente une pente moyenne.

Tableau IX: Valeurs des paramètres antifongiques comparés de X_{2,2}

Extraits	<i>Candida albicans</i>		<i>Aspergillus fumigatus</i>		<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	
	CI ₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)	CI ₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)	CI ₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)
X _{2,2}	32	90	25	190	1	10

Au regard des performances de l'extrait X_{2,2} contre les trois souches et sur la base des valeurs des paramètres antifongiques, le classement des souches de la moins sensible à la plus sensible donne l'ordre suivant : *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes*.

3-5. Activité antifongique de X_{3,1} (extrait butanolique).

L'étude de l'activité antifongique de X_{3,1} sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton mentagrophytes* a donné les résultats suivants :

Avec les trois isolats testés, nous avons observé, comparativement au témoin, une diminution progressive du nombre de colonies dans les tubes expérimentaux, au fur et à mesure que les concentrations de X_{3,1} augmentaient dans les tubes.

Les résultats ont montré que X_{3,1} est actif sur la croissance *in vitro* des trois isolats fongiques, selon une relation dose-effet permettant de déterminer les concentrations minimales fongicides (CMF).

CMF = 1560 µg/mL pour *Candida albicans*.

CMF = 780 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus*.

CMF = 10 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*.

La figure 25 présente les antifongigrammes obtenus à partir des données du dénombrement des colonies dans les 10 tubes expérimentaux pour lesquels la croissance des isolats a été évaluée en pourcentage de survivance calculé par rapport à 100% de survivance dans le tube témoin de contrôle de croissance. Toutes les trois courbes de sensibilité ont une allure décroissante. Ces trois antifongigrammes ont permis de déterminer les concentrations inhibitrices pour 50 % de survivance des germes (CI₅₀).

CI₅₀ = 500 µg/mL pour *Candida albicans*.

CI₅₀ = 10 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus*.

CI₅₀ = 1,6 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*.

Les valeurs des concentrations minimales fongicides ainsi que celles des CI₅₀ sont résumées dans le tableau X.

Les résultats de l'analyse statistique de X_{3,1} sur chacun des isolats ont montré que pour une concentration donnée, il n'y a pas de différence significative entre les différents tests.

- Antifongigrammes et paramètres antifongiques comparés

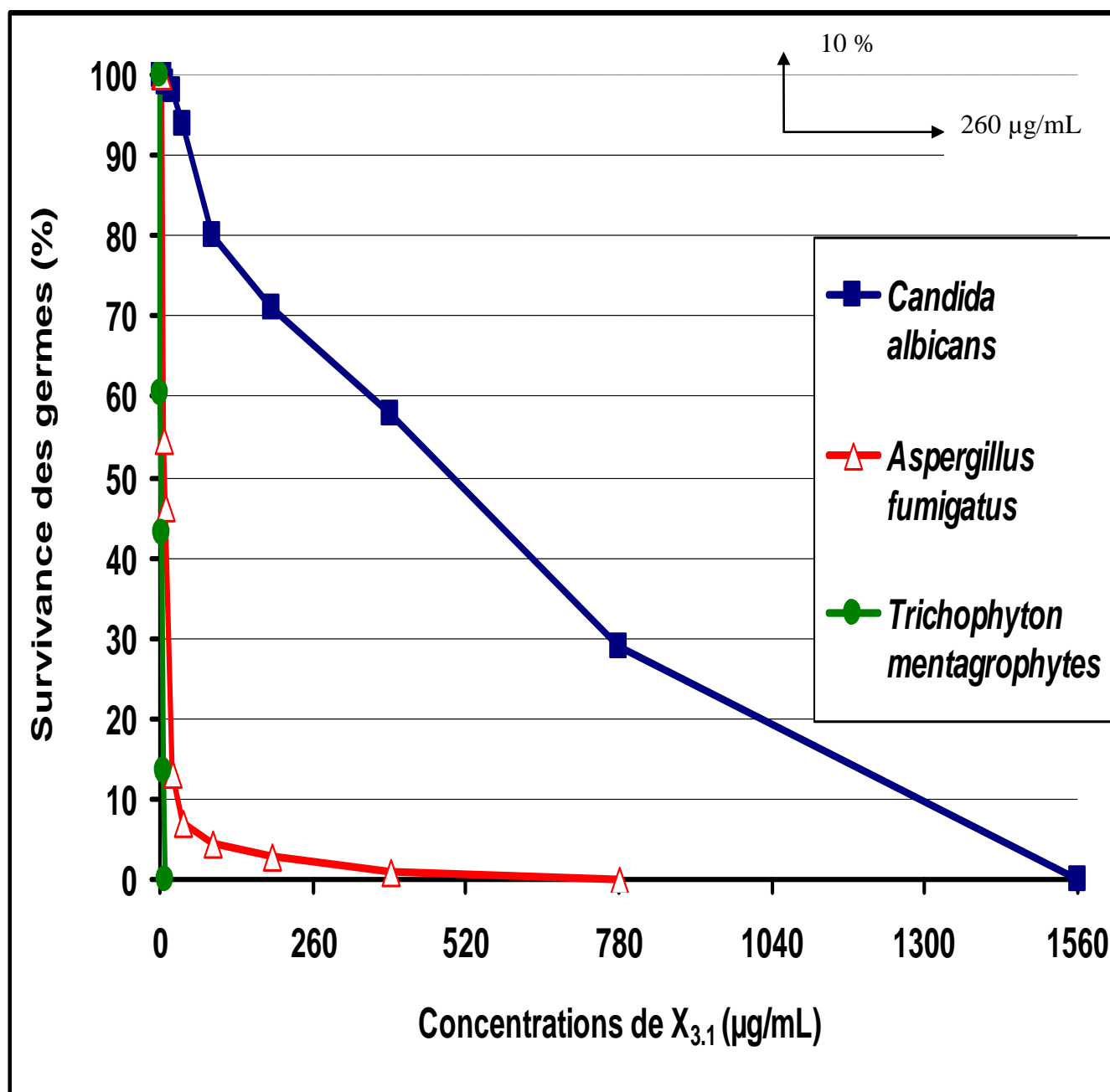


Figure 25 : Sensibilité comparée de *C. albicans*, *A. fumigatus* et *T. mentagrophytes* à X_{3.1}

La figure 25 permet de comparer l'activité de X_{3.1} sur la sensibilité des trois isolats. Sur cette figure, on constate que de façon générale toutes les courbes ont une allure décroissante avec des pentes plus ou moins fortes. Cela illustre l'effet dose-dépendant entre la sensibilité des isolats et l'activité de l'extrait. La courbe de sensibilité de *T. mentagrophytes* à l'extrait X_{3.1} possède une forte pente. Par contre celle qui illustre la sensibilité de *C. albicans* possède une faible pente. Enfin celle de *A. fumigatus* présente une pente moyenne.

Tableau X: Valeurs des paramètres antifongiques comparés de X_{3,1}

Extrait	<i>Candida albicans</i>		<i>Aspergillus fumigatus</i>		<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	
	CI₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)	CI₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)	CI₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)
X_{3,1}	500	1560	10	780	1,6	10

Au regard des performances de l'extrait X_{3,1} contre les trois isolats et sur la base des valeurs des paramètres antifongiques, le classement des isolats le moins sensible au plus sensible donne l'ordre suivant : *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Trichophyton mentagrophytes*.

3-6. Activité antifongique de X_{3,2} (extrait aqueux issu de la partition butanol – eau).

L'étude de l'activité antifongique de X_{3,2} sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton mentagrophytes* a donné les résultats suivants :

Avec les trois isolats testés, nous avons observé, comparativement au témoin, une diminution progressive du nombre de colonies dans les tubes expérimentaux, au fur et à mesure que les concentrations de X_{3,2} augmentent dans les tubes.

Les résultats ont montré que X_{3,2} est actif sur la croissance *in vitro* des trois isolats, selon une relation dose-effet permettant de déterminer les concentrations minimales fongicides (CMF).

CMF = 190 µg/mL pour *Candida albicans*.

CMF = 190 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus*.

CMF = 5 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*.

La figure 26 présente les antifongigrammes obtenus à partir des données du dénombrement des colonies dans les 10 tubes expérimentaux pour lesquels la croissance des germes a été évaluée en pourcentage de survivance calculé par rapport à 100% de survivance dans le tube témoin de contrôle de croissance. Toutes les trois courbes de sensibilité ont une allure décroissante. Ces trois antifongigrammes ont permis de déterminer les concentrations inhibitrices pour 50 % de survivance des germes (CI₅₀).

CI₅₀ = 59 µg/mL pour *Candida albicans*.

CI₅₀ = 32 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus*.

CI₅₀ = 1,27µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*.

Les valeurs des concentrations minimales fongicides ainsi que celles des CI₅₀ sont résumées dans le tableau XI.

Les résultats de l'analyse statistique de X_{3,2} sur chacun des isolats ont montré que pour une concentration donnée, il n'y a pas de différence significative entre les différents tests.

- Antifongigrammes et paramètres antifongiques comparés

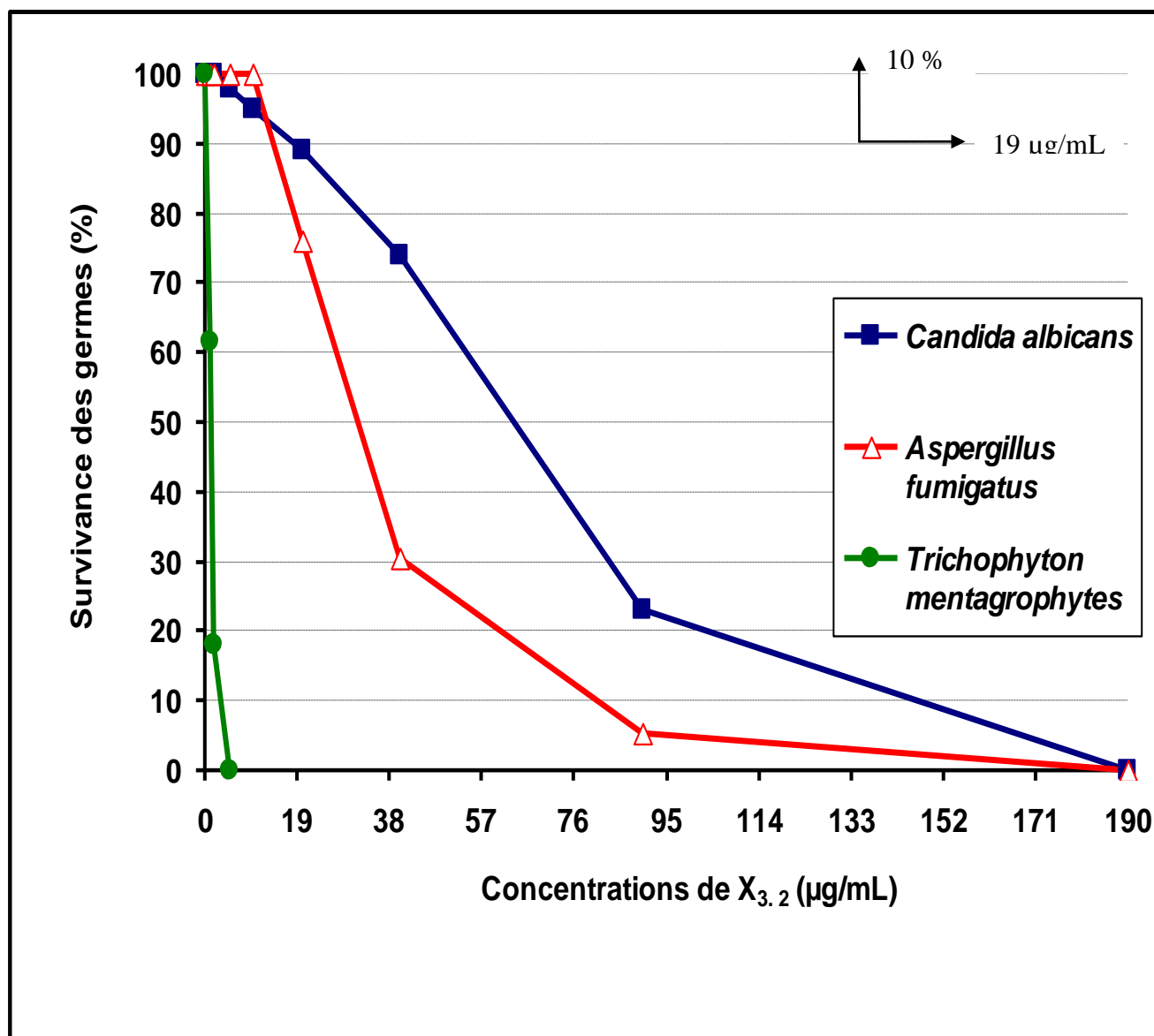


Figure 26 : Sensibilité comparée de *C. albicans*, *A. fumigatus* et *T. mentagrophytes* à X_{3.2}

La figure 26 récapitule toutes les courbes de l'activité de X_{3.2}. Elle permet une comparaison de l'activité de X_{3.2} sur la sensibilité des trois germes. Sur cette figure, on constate que de façon générale toutes les courbes ont une allure décroissante avec des pentes plus ou moins fortes. La courbe de sensibilité de *T. mentagrophytes* à l'extrait X_{3.2} possède une forte pente. Par contre celle qui illustre la sensibilité de *C. albicans* possède une faible pente. Enfin celle de *A. fumigatus* présente une pente moyenne.

Tableau XI : Valeurs des paramètres antifongiques comparés de X_{3,2}

Extrait	<i>Candida albicans</i>		<i>Aspergillus fumigatus</i>		<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	
	CI ₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)	CI ₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)	CI ₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)
X _{3,2}	59	190	32	190	1,27	5

Au regard des performances de l'extrait X_{3,2} contre les trois isolats et sur la base des valeurs des paramètres antifongiques, le classement des isolats le moins sensible au plus sensible donne l'ordre suivant : *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Trichophyton mentagrophytes*.

Conclusion partielle

Concernant la sensibilité de *Candida albicans*, le rapport établi sur la base des CMF donne :

$$\text{CMF}_{X_{1,1}} / \text{CMF}_{X_{1,2}} = 390/40 = 9 \text{ en faveur de } X_{1,2}$$

$$\text{CMF}_{X_{2,1}} / \text{CMF}_{X_{1,2}} = 190/40 = 4 \text{ en faveur de } X_{1,2}$$

$$\text{CMF}_{X_{2,2}} / \text{CMF}_{X_{1,2}} = 90/40 = 2 \text{ en faveur de } X_{1,2}$$

$$\text{CMF}_{X_{3,1}} / \text{CMF}_{X_{1,2}} = 1560/40 = 39 \text{ en faveur de } X_{1,2}$$

$$\text{CMF}_{X_{3,2}} / \text{CMF}_{X_{1,2}} = 190/40 = 4 \text{ en faveur de } X_{1,2}$$

Cela signifie que X_{1,2} est 9 fois plus actif que X_{1,1}; 4 fois plus actif que X_{2,1}. Il est aussi 2 fois plus actif que X_{2,2}; 39 fois plus actif que X_{3,1} et enfin 4 fois plus actif que X_{3,2}.

Concernant la sensibilité de *Aspergillus fumigatus*, la comparaison avec les six extraits issus des différentes partitions de X₀ montre que X_{1,2} est 9 fois plus actif que X_{2,1} et 4 fois plus actif que X_{2,2}. Il est encore 19 fois plus actif que X_{1,1} et X_{3,1} et 8 fois plus actif que X_{3,2}.

Dans le cas de *Trichophyton mentagrophytes*, X_{1,2} est 2 fois plus actif que X_{1,1}; X_{2,1} et X_{2,2}. Il est également 20 fois plus actif que X_{3,1} et 8 fois plus actif que X_{3,2}.

Au regard de tout ce qui précède, nous pouvons dire que parmi les différents extraits issus de la partition de X₀, X_{1,2} (la phase aqueuse issue de la partition hexane – eau) est l'extrait le plus actif. Il concentre le mieux les principes actifs de TEKAM₃. Il a donc servi de base à un fractionnement chromatographique sur gel de filtration sephadex G₂₅.

4- Activité des fractions de TEKAM₃.

L'élution a permis de recueillir 20 fractions. De nombreuses données relatives aux tests antifongiques montrent que de façon générale, les levures sont non seulement moins sensibles que les moisissures mais aussi la plupart des substances qui sont capable de les inhiber en culture *in vitro*, permettent également d'éradiquer les moisissures. Nos résultats préliminaires de cette présente étude, confirment cette assertion. Fort de ce constat, nous avons choisi de continuer les tests *in vitro* pour les 20 fractions avec la seule souche de *Candida albicans*.

L'étude de l'activité antifongique de ces fractions a donné des valeurs de CMF (Tableau XXXXV) dont certaines se répètent et permettent de les classer en 5 groupes :

G₁ : F₁ à F₅ et F₁₅ à F₁₇ dont la valeur de la CMF est de 200 µg/mL.

G₂ : F₆ à F₈ et F₁₃ à F₁₄ dont la valeur de la CMF est de 20 µg/mL.

G₃ : F₉ à F₁₁ dont la valeur de la CMF est de 10 µg/L.

G₄ : ce groupe contient une seule fraction F₁₂ dont la valeur de la CMF est égale à 5 µg/mL.

G₅ : F₁₈ à F₂₀ dont la valeur de la CMF est supérieure à 200 µg/mL.

La figure 27 présente les antifongigrammes obtenus à partir des données du dénombrement des colonies dans les 8 tubes expérimentaux pour lesquels la croissance des germes a été évaluée en pourcentage de survivance calculé par rapport à 100% de survivance dans le tube témoin de contrôle de croissance. Toutes les cinq courbes de sensibilité ont une allure décroissante. Ces cinq antifongigrammes ont permis de déterminer les concentrations inhibitrices pour 50 % de survivance des germes (CI₅₀).

CI₅₀ = 24 µg/mL pour G₁.

CI₅₀ = 10 µg/mL pour G₂.

CI₅₀ = 2,9 µg/mL pour G₃.

CI₅₀ = 1,6 µg/mL pour G₄.

CI₅₀ = 190 µg/mL pour G₅.

Les valeurs des concentrations minimales fongicides ainsi que celles des CI₅₀ sont résumées dans le tableau XII.

Les résultats de l'analyse statistique des groupes de fractions sur *Candida albicans* ont montré que pour une concentration donnée, il n'y a pas de différence significative entre les différents tests.

- Antifongigrammes et paramètres antifongiques comparés

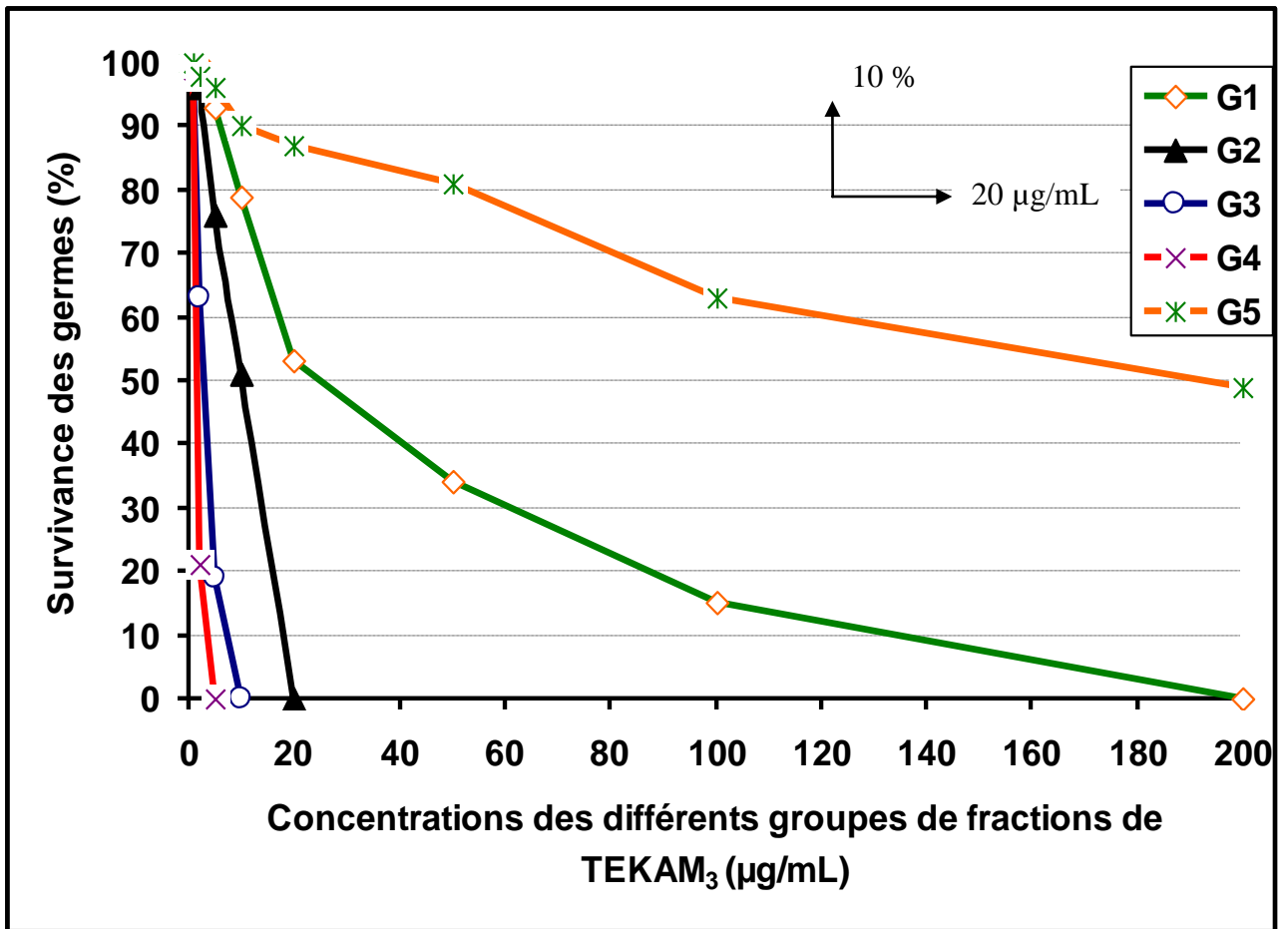


Figure 27 : Sensibilité comparée de *C. albicans* à G₁, G₂, G₃, G₄ et G₅

La figure 27 récapitule toutes les courbes de l'activité des 5 extraits testés sur *C. albicans*. Elle permet une comparaison des performances de ces 5 extraits. Notons que plus la pente d'une courbe est forte et plus l'extrait considéré est actif. Sur cette figure, on constate que de façon générale, toutes les 5 courbes ont une allure décroissante avec des pentes plus ou moins fortes. Sur la base des valeurs relatives de ces pentes, ces courbes peuvent être regroupées en 3 catégories :

- La courbe dont la pente est très faible et qui illustre l'activité des extraits de G₅
- Les courbes ayant des pentes à valeur moyenne G₂ et G₁
- Les courbes ayant des pentes fortes correspondant aux activités de G₃ et G₄. Parmi elles, celle de G₄ possède la plus forte pente.

Tableau XII : Valeur des paramètres antifongiques comparés de **G₁, G₂, G₃, G₄ et G₅**

Extraits	G ₁		G ₂		G ₃		G ₄		G ₅	
	CI ₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)	CI ₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)	CI ₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)	CI ₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)	CI ₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)
<i>Candida albicans</i>	24	200	10	20	2,9	10	1,6	5	190	> 200

Au regard des performances des extraits G₁, G₂, G₃, G₄ et G₅ contre *Candida albicans* et sur la base des valeurs des paramètres antifongiques, le classement des extraits du moins actif au plus actif donne l'ordre suivant : G₅, G₁, G₂, G₃, G₄.

Conclusion partielle

La comparaison des 5 groupes de fractions entre eux révèle que les fractions du groupe 2 sont 10 fois plus actives que celles du groupe 1. Quant aux fractions du groupe 3, elles sont 2 fois plus actives que celles du groupe 2 et 20 fois plus actives que les fractions du groupe 1. Toutes les fractions des groupes 1, 2, 3 et 4 sont plus actives que celles du groupe 5. Le groupe 4 constitué seulement de F₁₂ présente le meilleur potentiel antifongique. Cette fraction est 40 fois plus active que celles du groupe 1 ; 4 fois plus active que celles du groupe 2. Elle est 2 fois plus active que celles du groupe 3.

Le rapport établi sur la base des valeurs des CMF donne :

$$\text{CMF}_{X_{1,2}} / \text{CMF}_{F_{12}} = 40 / 5 = 8 \text{ en faveur de } F_{12}$$

$$\text{CMF}_{X_0} / \text{CMF}_{F_{12}} = 190 / 5 = 32 \text{ en faveur de } F_{12}$$

$$\text{CMF}_{X_{Aq}} / \text{CMF}_{F_{12}} = 780 / 5 = 156 \text{ en faveur de } F_{12}$$

Cela signifie que F₁₂ est 8 fois plus active que X_{1,2}, 32 fois plus active que X₀ et 156 fois plus active que X_{Aq}.

La fraction 12 a été testée sur la sensibilité de *A. fumigatus* et *T. mentagrophytes*. Les résultats de ces tests sont présentés dans les lignes qui suivent.

5- Activité antifongique de F₁₂.

La fraction F₁₂ du groupe G₄ s'est illustrée comme ayant le meilleur potentiel antifongique. C'est extrait a été rétenu pour évaluer la sensibilité de toutes les souches (*Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton mentagrophytes*). Les résultats de ces tests sont décrits dans les lignes qui suivent.

Avec les trois souches testées, nous avons observé, comparativement au témoin, une diminution progressive du nombre de colonies dans les tubes expérimentaux, au fur et à mesure que la concentration de F₁₂ augmentait dans les tubes.

Nos résultats montrent que F₁₂ est actif sur la croissance *in vitro* des trois isolats, selon une relation dose-effet permettant de déterminer les concentrations minimales fongicides (CMF).

CMF = 5 µg/mL pour *Candida albicans*.

CMF = 10 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus*.

CMF = 0,5 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*.

La figure 28 présente les antifongigrammes obtenus à partir des données du dénombrement des colonies dans les 10 tubes expérimentaux pour lesquels la croissance des germes a été évaluée en pourcentage de survivance calculé par rapport à 100% de survivance dans le tube témoin de contrôle de croissance. Toutes les trois courbes de sensibilité ont une allure décroissante. Ces trois antifongigrammes ont permis de déterminer les concentrations inhibitrices pour 50 % de survivance des germes (CI₅₀).

CI₅₀ = 1,6 µg/mL pour *Candida albicans*.

CI₅₀ = 1 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus*.

CI₅₀ = 0,04 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*.

Les valeurs des concentrations minimales fongicides ainsi que celles des CI₅₀ sont résumées dans le tableau XIII.

Les résultats de l'analyse statistique de F₁₂ sur chacun des isolats ont montré que pour une concentration donnée, il n'y a pas de différence significative entre les différents tests.

- Antifongogrammes et paramètres antifongiques comparés

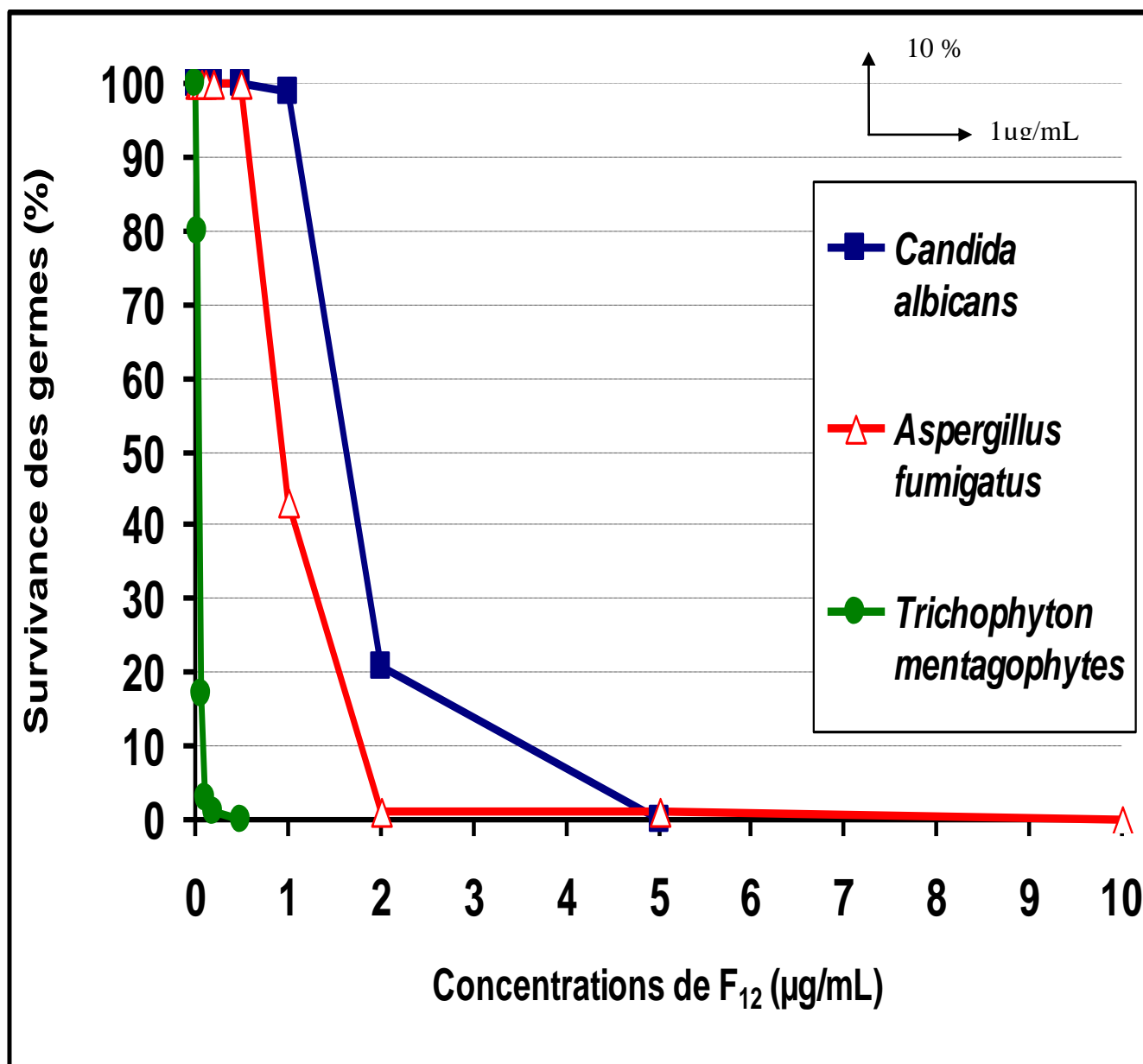


Figure 28 : Sensibilité comparée de *C. albicans*, *A. fumigatus* et *T. mentagophytes* à F₁₂

La figure 28 récapitule toutes les courbes de l'activité de F₁₂ sur la sensibilité des trois isolats. Elle permet de comparer l'activité des trois isolats. Sur cette figure, on constate que de façon générale toutes les courbes ont une allure décroissante avec des pentes plus ou moins fortes. Cela illustre l'effet dose-dépendant entre la sensibilité des isolats et l'activité de l'extrait. La courbe de *T. mentagophytes* à l'extrait F₁₂ possède une forte pente. Par contre celle qui illustre la sensibilité de *C. albicans* possède une faible pente. Enfin celle de *A. fumigatus* présente une pente à valeur moyenne.

Tableau XIII : Valeur des paramètres antifongiques comparés de F₁₂

Extraits	<i>Candida albicans</i>		<i>Aspergillus fumigatus</i>		<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	
	CI₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)	CI₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)	CI₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)
F₁₂	1,6	5	1	10	0,04	0,5

Au regard des performances de l'extrait F₁₂ contre les trois isolats et sur la base des valeurs des paramètres antifongiques, le classement des isolats le moins sensible au plus sensible donne l'ordre suivant : *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes*.

Tableau XIV : Valeur des paramètres antifongiques des différentes fractions de TEKAM à 30°C et à 48 H d' incubation des cultures de *Candida albicans*

PARAMETRES ANTIFONGIQUES		
fractions	CMF en µg/mL	CI₅₀ en µg/mL
F1	200	25
F2	200	30
F3	200	29
F4	200	31
F5	200	27
F6	20	10
F7	20	11,6
F8	20	12,8
F9	10	03,1
F10	10	03,2
F11	10	02,9
F12	05	01,6
F13	20	15,4
F14	20	15,7
F15	200	24
F16	200	25,8
F17	200	30
F18	> 200	190
F19	> 200	192
F20	> 200	197

6- Recapitulatif de tous les résultats

Les figures 29, 30 et 31 présentent les antifongigrammes obtenus à partir des données du dénombrement des colonies dans les 10 tubes expérimentaux pour lesquels la croissance des germes a été évaluée en pourcentage de survivance calculé par rapport à 100% de survivance dans le tube témoin de contrôle de croissance. Toutes les neuf courbes de sensibilité ont une allure décroissante.

Les valeurs des concentrations minimales fongicides ainsi que celles des CI_{50} sont résumées dans le tableau XV.

6.1- Sensibilité comparée de *Candida albicans* aux extraits X_{Aq} , X_0 , $X_{1.1}$, $X_{1.2}$, $X_{2.1}$, $X_{2.2}$, $X_{3.1}$, $X_{3.2}$ et F_{12}

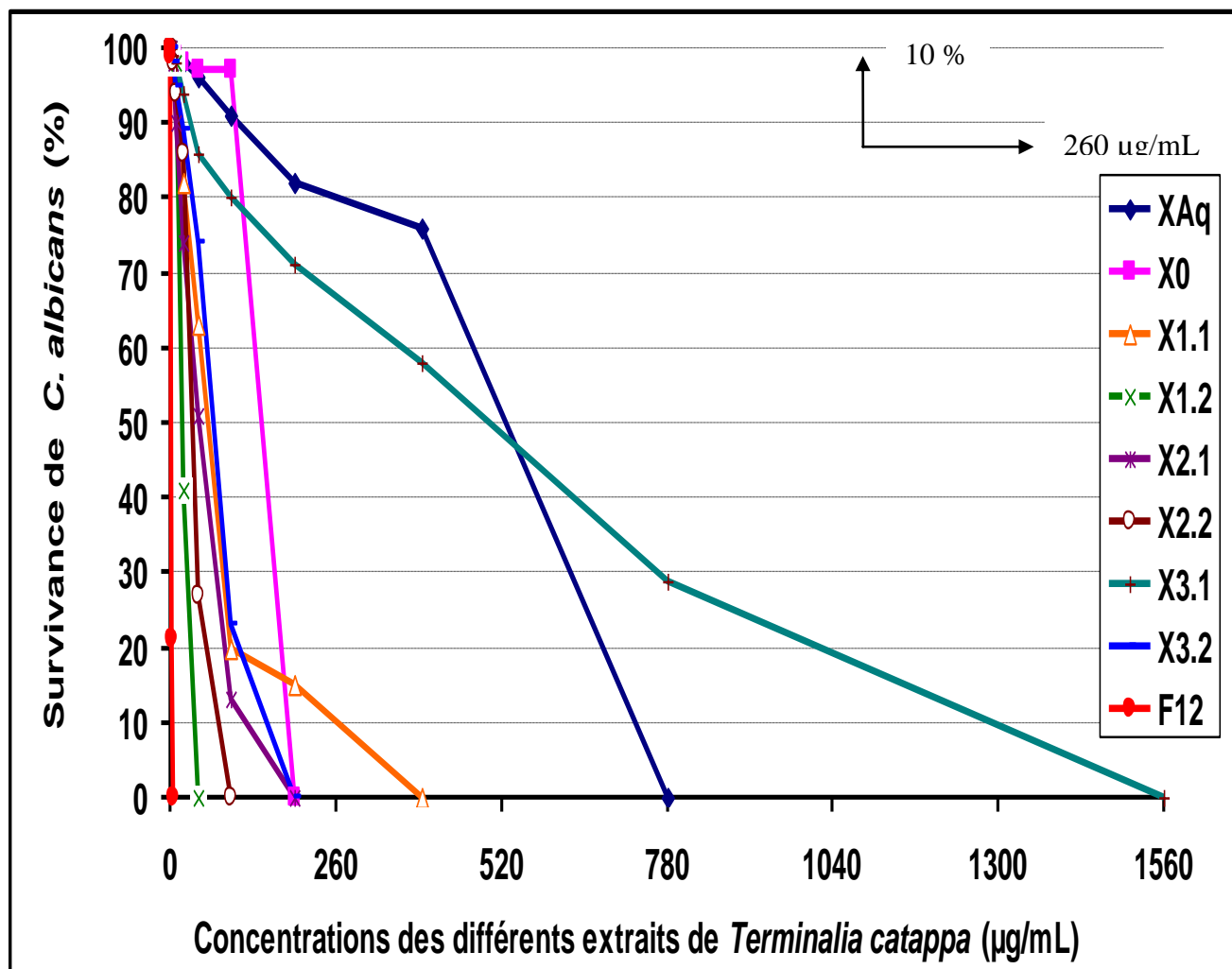


Figure 29 : Sensibilité comparée de *Candida albicans* aux extraits X_{Aq} , X_0 , $X_{1.1}$, $X_{1.2}$, $X_{2.1}$, $X_{2.2}$, $X_{3.1}$, $X_{3.2}$ et F_{12}

La figure 29 récapitule toutes les courbes de l'activité des 9 extraits testés sur *C. albicans*. Elle permet une comparaison des performances de ces 9 extraits. Notons que plus la pente d'une courbe est forte et plus l'extrait considéré est actif. Sur cette figure, on constate que de façon générale, toutes les 9 courbes ont une allure décroissante avec des pentes plus ou moins fortes. Elles coupent toutes l'axe des abscisses. Sur la base des valeurs relatives de ces pentes, nous pouvons retenir ceci :

- La courbe dont la pente est très faible et qui illustre l'activité de l'extrait butanolique $X_{3.1}$
- La courbe dont la pente est très forte correspondant à l'activité de F_{12} .

6. 2- Sensibilité comparée de *Aspergillus fumigatus* aux extraits X_{Aq} , X_0 , $X_{1.1}$, $X_{1.2}$, $X_{2.1}$, $X_{2.2}$, $X_{3.1}$, $X_{3.2}$ et F_{12}

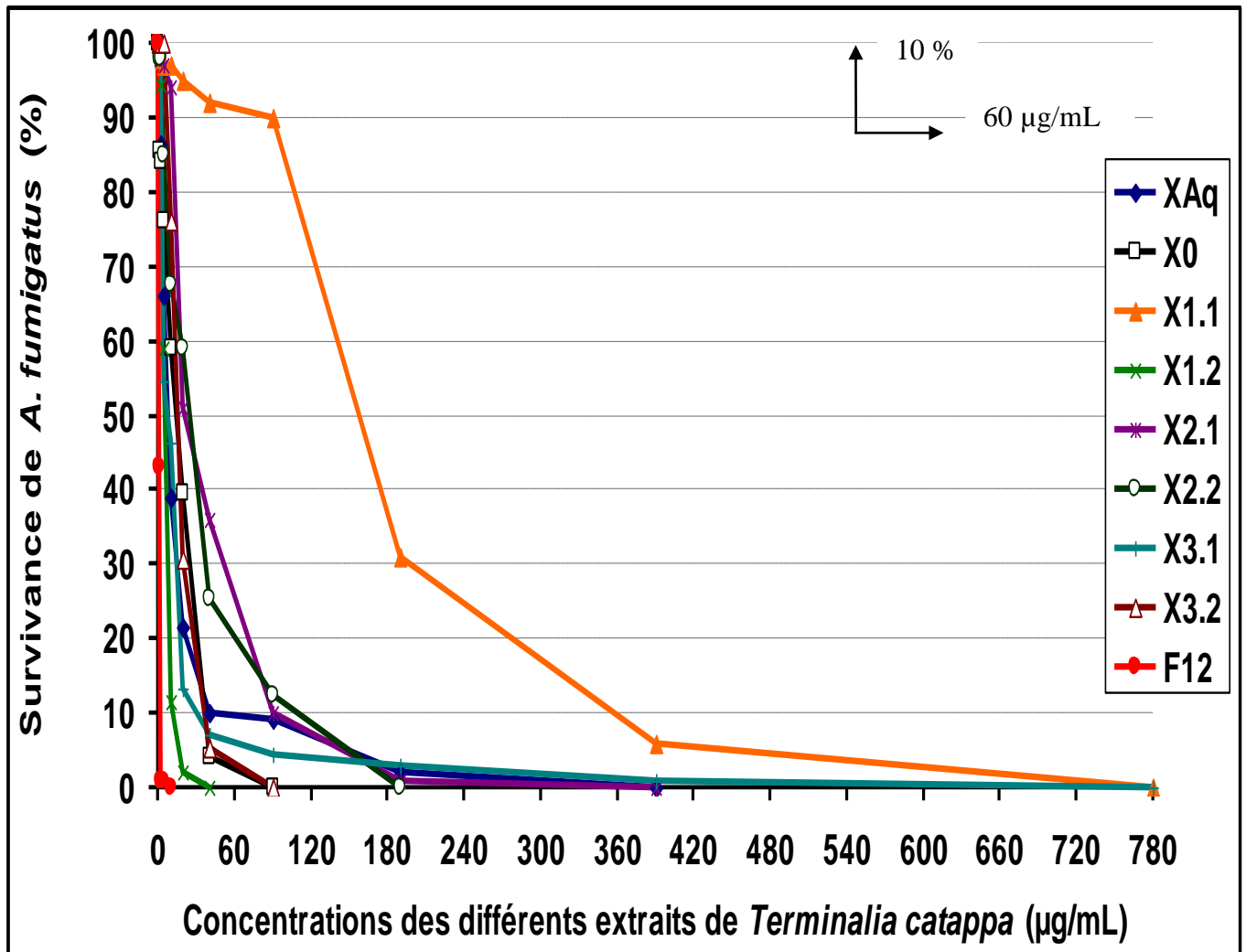


Figure 30 : Sensibilité comparée de *Aspergillus fumigatus* aux extraits X_{Aq} , X_0 , $X_{1.1}$, $X_{1.2}$, $X_{2.1}$, $X_{2.2}$, $X_{3.1}$, $X_{3.2}$ et F_{12}

La figure 30 résume toutes les courbes de l'activité des 9 extraits testés sur *A. fumigatus*. Elle permet une comparaison des performances de ces 9 extraits. Sur cette figure, on constate que de façon générale, toutes les 9 courbes ont une allure décroissante avec des pentes plus ou moins fortes. Elles coupent toutes, l'axe des abscisses. Sur la base des valeurs relatives de ces pentes, nous pouvons retenir ceci :

- La courbe dont la pente est très faible et qui illustre l'activité de l'extrait hexanique $X_{1.1}$
- La courbe dont la pente est très forte correspondant à l'activité de F_{12} .

6. 3- Sensibilité comparée de *Trichophyton mentagrophytes* aux extraits X_{Aq} , X_0 , $X_{1.1}$, $X_{1.2}$, $X_{2.1}$, $X_{2.2}$, $X_{3.1}$, $X_{3.2}$ et F_{12}

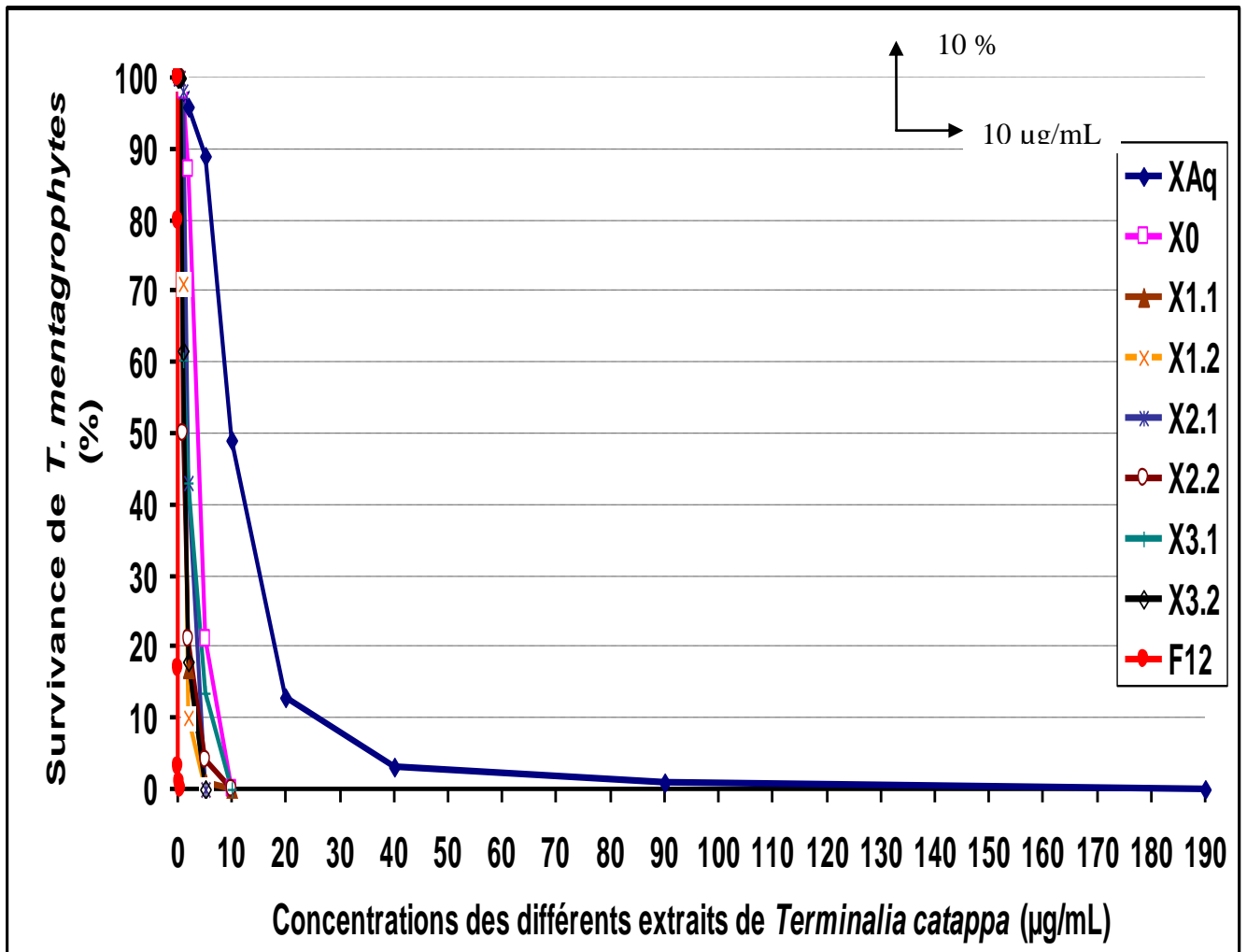


Figure 31 : Sensibilité comparée de *Trichophyton mentagrophytes* aux extraits X_{Aq} , X_0 , $X_{1.1}$, $X_{1.2}$, $X_{2.1}$, $X_{2.2}$, $X_{3.1}$, $X_{3.2}$ et F_{12}

La figure 31 récapitule toutes les courbes de l'activité des 9 extraits testés sur *T. mentagrophytes*. Elle permet une comparaison des performances de ces 9 extraits. Sur cette figure, on constate que de façon générale, toutes les 9 courbes ont une allure décroissante avec des pentes plus ou moins fortes. Elles coupent toutes, l'axe des abscisses. Sur la base des valeurs relatives de ces pentes, nous avons :

- La courbe dont la pente est très faible et qui illustre l'activité de l'extrait aqueux X_{Aq}
- La courbe dont la pente est très forte correspondant à l'activité de F_{12} .

Tableau XV : Valeur des paramètres antifongiques comparés des extraits X_{Aq} , X_0 , $X_{1,1}$, $X_{1,2}$, $X_{2,1}$, $X_{2,2}$, $X_{3,1}$, $X_{3,2}$ et F_{12}

Extraits	<i>Candida albicans</i>		<i>Aspergillus fumigatus</i>		<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	
	CI ₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)	CI ₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)	CI ₅₀ (µg/mL)	CMF (µg/mL)
X_{Aq}	538	780	8	390	14	190
X_0	139	190	14	90	3,8	10
$X_{1,1}$	59	390	177	780	1,4	10
$X_{1,2}$	18	40	6	40	1,3	5
$X_{2,1}$	38	190	28	390	1,8	5
$X_{2,2}$	32	90	25	190	1	10
$X_{3,1}$	500	1560	10	780	1,6	10
$X_{3,2}$	59	190	32	190	1,27	5
F_{12}	1,6	5	1	10	0,04	0,5

Au regard des performances des 9 extraits contre les trois souches et sur la base des valeurs des paramètres antifongiques, le classement des souches de façon générale de la moins sensible à la plus sensible donne l'ordre suivant : *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes*.

Au niveau des extraits, nous avons :

- L'extrait butanolique ($X_{3,1}$) est l'extrait le moins actif.
- L'extrait F_{12} est l'extrait le plus actif.

7- CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE DE $X_{1,2}$ ET F_{12}

7. 1 - EXTRAIT $X_{1,2}$: la phase aqueuse issue de la partition hexane – eau.

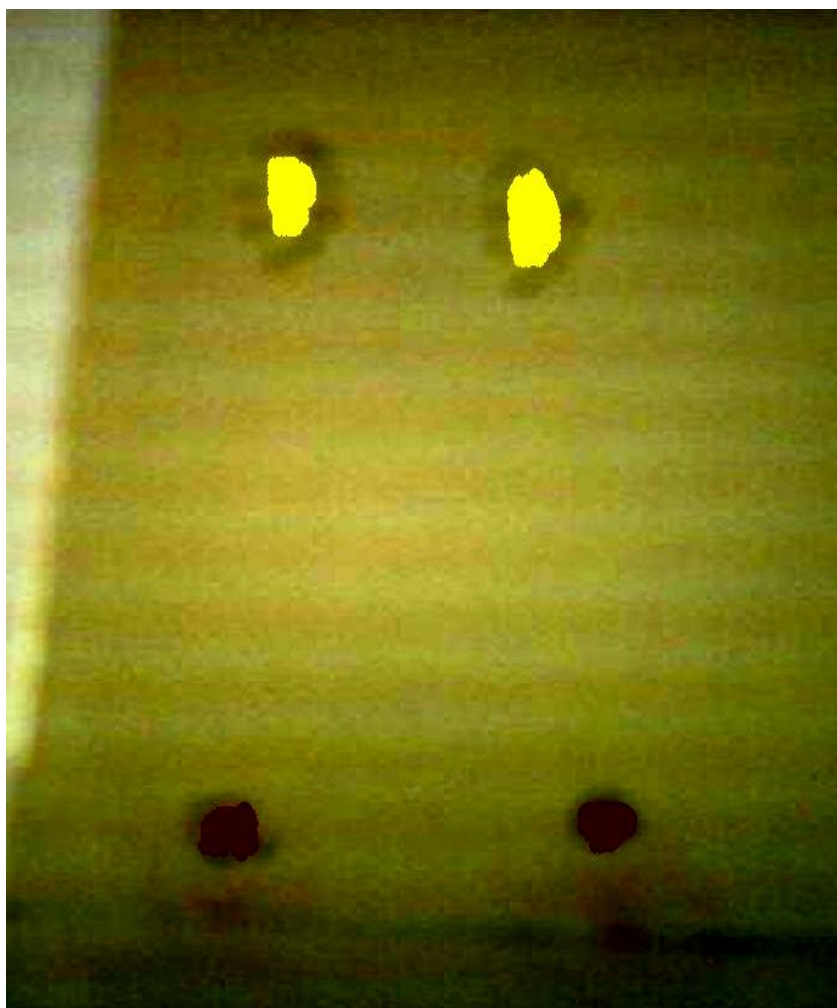


Figure 32 : Chromatogramme de $X_{1,2}$

Sur la ligne de départ, nous avons effectué 2 dépôts. L'éluant est un mélange de butanol, d'acide acétique et d'eau dans les proportions : 60 ; 25 ; 15. Le développement du chromatogramme a duré 1 heure 30 minutes. La révélation a été faite avec le réactif de GODIN qui permet de mettre en évidence les flavonoïdes et les saponosides.

A la fin du développement du chromatogramme, ce réactif a été pulvérisé sur la plaque. Cette dernière a été chauffée à 105°C. On a observé l'apparition de 2 taches :

- ✓ Une tache bleue violacée montrant la présence des saponosides
- ✓ Une tache jaune montrant la présence des flavonoïdes.

$X_{1,2}$ renferme donc 2 types de composés : les saponosides et les flavonoïdes.

Après cette étape, nous avons voulu isoler les 2 types de composés. Pour cela, $X_{1,2}$ a été chromatographié sur gel de sephadex G₂₅. La fraction la plus active F_{12} a été chromatographiée sur CCM. Les résultats sont résumés par la figure 34.

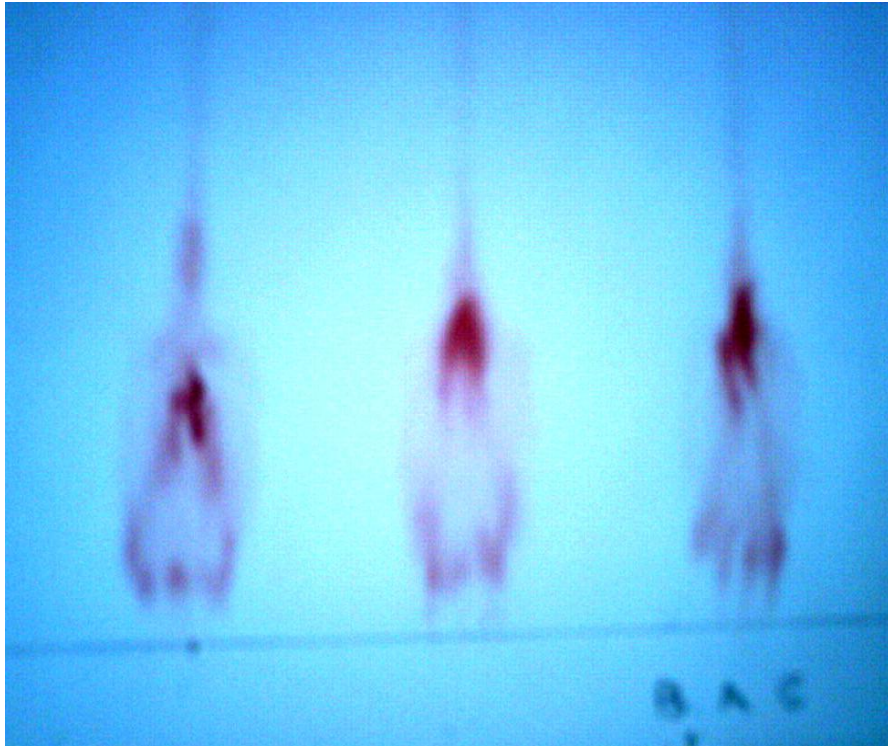
7. 2- Fraction 12 (F₁₂)

Figure 33 : Chromatogramme de F₁₂

La figure 33 représente une photo du chromatogramme de la fraction 12. Sur la ligne de départ, nous avons fait 3 dépôts. La phase mobile est le mélange butanol, acide acétique, eau dans les proportions 60 ; 25 ; 15. La réaction a été faite avec le réactif de Godin. On pulvérise ensuite les plaques avec une solution de H₂SO₄ à 10%). La plaque a été chauffée à 105°C.

La révélation du chromatogramme à la vanilline sulfurique donne une seule tache de coloration rose violette témoignant de la nature triterpénique des saponosides.

8-TRI PHYTOCHIMIQUE DES EXTRAITS DE TEKAM₃

Nos investigations ont porté sur la recherche de huit groupes chimiques (alcaloïdes, polyphénols, tanins catéchiques, tanins galliques, flavonoïdes, saponosides, quinones et stérols).

- Pour les polyphénols de TEKAM₃ :

Le chlorure ferrique provoque en présence de dérivés polyphénoliques l'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte. Donc présence de polyphénols

- Pour les tanins cathéchiques de TEKAM₃

Après refroidissement on n'observe pas la présence de gros flocon. Cela montre qu'il n'y a pas de tanin cathéchique.

- Pour les tanins galliques de TEKAM₃

L'addition de 3 gouttes de FeCl₃ à 2% ne provoque aucune coloration bleu-noire. Donc il n'y a pas de tanins galliques dans le milieu.

- Pour la recherche des alcaloïdes:

Dans le premier tube, deux gouttes de réactif de DRAGENDORFF ont été ajoutées. Pas de précipité orangé ; donc absence d'alcaloïdes.

Dans le deuxième tube, deux gouttes de réactif de VALSER-MAYER ont été additionnées, nous n'avons observé aucun précipité blanc crème. Cela indique une réaction négative.

Dans le troisième tube, deux gouttes de réactif de BOUCHARDAT ont été aussi additionnées, nous n'avons observé aucun précipité brunâtre. Cela indique l'absence des alcaloïdes (BOWMAN et *al.*, 1980).

- Pour la recherche des flavonoïdes:

L'addition successive de trois copeaux de magnésium et de trois gouttes d'alcool isoamylique fait apparaître une coloration rose violacée intense en présence des flavonoïdes (BOWMAN et Coll., 1980).

- Pour la recherche des saponosides:

La hauteur de mousse mesurée est de 2,3 cm. Donc il y a présence de saponine.

- Pour la recherche des quinones:

Il n'y a pas d'apparition d'une coloration allant du rouge au violet. TEKAM₃ ne contient donc pas de quinones.

- Pour la recherche des stérols:

La réaction est positive il y a l'apparition d'un anneau violet, virant au bleu puis au vert.

Le tableau XXXXVIII résume les résultats du tri phytochimique des extraits X_{Aq} , X_0 , $X_{1.2}$ et la F_{12} de TEKAM

Tableau XVI : Composition chimique de X_{Aq} , X_0 , $X_{1.2}$ et la F_{12}

Composés chimiques extraits	stérols	polyphenols	Flavonoïdes	tanins		Substances quinoniques	alcaloïdes			saponosides
	polyterpènes			G a l	c a t		d	b	v m	
X_{aq}	+	+	++	-	-	-	-	-	-	+++
X_0	+	+	++	-	-	-	-	-	-	+++
$X_{1.2}$	+	-	+++	-	-	-	-	-	-	+++
F_{12}	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+++

- : Absence

+ : Présence

++ : Présence accentuée

+++ : Présence très accentuée

L'analyse chimique des extraits (X_{Aq} , X_0 , $X_{1.2}$ et F_{12}) de TEKAM₃, a montré que:

- L'Extrait total aqueux (X_{Aq}) renferme quatre grands groupes chimiques. Les polyterpènes, les polyphénols, les flavonoïdes et les saponosides.
- L'Extrait éthanolique 70% (X_0) contient les mêmes composés chimiques que X_{Aq} .
- L'Extrait $X_{1.2}$ renferme trois groupes chimiques qui sont les polyterpènes, les flavonoïdes et les saponosides.
- La F_{12} est constituée de polyterpènes et de saponosides.

En résumé, on retient que les extraits X_{Aq} et X_0 renferment en petite quantité les polyterpènes et en grande quantité les polyphénols, les flavonoïdes et saponosides.

$X_{1.2}$ renferme trois composés (polyterpènes, flavonoïdes et les saponosides) tandis que F_{12} ne renferme que deux composés les polyterpènes et les saponosides.

Ces résultats font ressortir qu'en passant de X_{Aq} à F_{12} , il y a une réduction du nombre des composantes chimiques (de 4 à 2). Cela permet de confirmer que notre méthode d'extraction et de

fractionnement chromatographique par gel de filtration permet de faire une sélection des molécules actives.

En partant des extraits les plus actifs à la fraction la plus active, on peut retenir un processus d'extraction définitif. Dans ce processus, la drogue obtenue à partir de la plante est extraite avec un litre de solvant hydroalcoolique comportant 70 % d'éthanol pur et 30 % d'eau distillée. Cette extraction est faite par homogénéisation dans un blender en six cycles de mixages. L'homogénat est essoré sur un carré de tissu propre puis filtré successivement sur coton hydrophile et papier filtre. Après concentration, l'extrait X_0 obtenu est partitionné dans 300 mL d'un mélange hexane-eau 50 % (v/v). La phase aqueuse est récupérée puis concentrée à l'évaporateur rotatif pour donner $X_{1,2}$ lequel est enfin chromatographié sur gel de filtration sephadex G_{25} sur une colonne dont les dimensions sont : longueur = 55 cm ; diamètre = 1 cm dont la vitesse est de 0,22 mL/min.

Pour 5 g de $X_{1,2}$ chromatographié, on retiendra la 12^e fraction de 10 mL après élimination de 110 mL des onze premières fractions. F_{12} a été appelée TEKAMINE.

DISCUSSION
ET
CONCLUSION

1-DISCUSSION

Les dégâts causés par la forte progression des maladies infectieuses ces dernières années ont atteint une ampleur telle que la plupart des auteurs s'accordent sur le fait que le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre les mycoses. Parmi les diverses approches utilisées, l'investigation des plantes représente un apport important et indispensable pour la découverte de nouvelles substances. Au nombre des plantes que nous avons sélectionnées et étudiées, *Terminalia catappa* figure parmi celles qui sont les plus sollicitées en milieu traditionnel. On lui accorde des vertus anti-diarrhéiques, anti-hypertensives, anti-diabétiques et enfin elle est utilisée pour traiter diverses affections cutanées.

Dans cette étude, nous voulons vérifier les propriétés anti-infectieuses accordées à cette plante. Notre approche a d'abord été de préparer les extraits totaux et d'évaluer leur activité antifongique. Pour la suite, notre stratégie a été de chercher à améliorer l'activité des extraits totaux par des partitions bio-guidées couplées avec des tri phytochimiques.

Dans cette étude, on peut retenir ce qui suit :

- Au niveau des extraits totaux aqueux (X_{Aq})

Nous avons de prime abord préparé l'extrait aqueux étant donné que l'eau est le solvant le plus utilisé pour la préparation des recettes traditionnelles.

Nos données expérimentales montrent que pour l'extrait aqueux (X_{Aq}) comparativement aux témoins, il y a une diminution progressive du nombre de colonies de ces trois isolats fongiques en fonction de l'augmentation de la concentration de X_{Aq} dans les tubes. Ces isolats sont donc sensibles à l'extrait selon une relation dose-effet (voir la figure 20 et le tableau IV).

Dans toutes nos séries d'expériences, des inhibitions nettes et effectives (CMF) de la croissance des trois isolats de champignons ont été observés à partir des concentrations de 780 $\mu\text{g/mL}$ pour *Candida albicans* ; 390 $\mu\text{g/mL}$ pour *Aspergillus fumigatus* et de 190 $\mu\text{g/mL}$ pour *Trichophyton mentagrophytes*.

En outre, la détermination par le calcul des pourcentages de survivance des isolats par rapport au témoin et en fonction des concentrations de X_{Aq} a servi de base aux tracés des antifongigrammes. Ceux-ci sont tous décroissants et illustrent bien que l'extrait X_{Aq} est actif selon une relation dose-effet. Ils ont permis de déterminer les concentrations inhibitrices pour 50% de survivance des germes (CI_{50}) qui sont égales à 550 $\mu\text{g/mL}$ pour *Candida albicans* ; 25 $\mu\text{g/mL}$ pour *Aspergillus fumigatus* et à 10 $\mu\text{g/mL}$ pour *Trichophyton mentagrophytes*.

Sur la base des valeurs des CMF, la comparaison de la sensibilité des isolats entre eux, montre que *Trichophyton mentagrophytes* est plus sensible que *Aspergillus fumigatus* (2 fois) et *Candida albicans* (4 fois) car la valeur de la CMF (190 $\mu\text{g/mL}$) et de la CI_{50} (10 $\mu\text{g/mL}$) contre

Trichophyton mentagrophytes est plus faible. *Candida albicans* est l'isolat le moins sensible car la valeur de la CMF (780 µg/mL) contre cet isolat est la plus élevée. *Aspergillus fumigatus* a une sensibilité de valeur intermédiaire comprise entre celle de *Candida albicans* et de *Trichophyton mentagrophytes*.

La comparaison des performances de cet extrait avec celles de l'extrait aqueux de MISCA selon les travaux de KRA (2001) ayant une valeur de CMF = 150 000 µg/mL sur *Candida albicans* montre que TEKAM₃ est nettement plus actif (192 fois).

Ces résultats sont meilleurs que ceux de BAGRE (2004), qui a obtenu avec l'extrait total aqueux de *Morinda morindoides* une inhibition de *Candida albicans* avec une valeur de CMF égale à 300 mg/mL soit 300 000 µg/mL pour 48 heures d'incubation. X_{Aq} est donc 364 fois plus actif. X_{Aq} est Aussi 192 fois plus actif que l'extrait aqueux de *Abrus precatorius* (CMF = 150 mg/mL soit 150 000 µg/mL) contre *Candida albicans* (SANOGO, 2007) et 2 fois plus actif que l'extrait aqueux de *Thonningia sanguinea* (CMF = 1,56 mg/mL soit 1560 µg/mL) contre *Candida albicans* (KOUAKOU et al, 2007).

Les travaux de ZIRIHI et KRA (2003) ont porté sur l'évaluation de l'activité antifongique de l'extrait aqueux de *Microglossa pyrifolia* (PYMI₀) sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*. Ces auteurs ont obtenu une inhibition nette et effective avec une valeur de CMF = 50000 µg/mL. En comparant cette donnée à nos résultats, X_{Aq} donne la meilleure activité antifongique (CMF= 780 µg/mL) par rapport à PYMI₀. Le rapport établi sur la base des CMF, montre que PYMI₀ / X_{Aq}= 50000/780= 64 en faveur de X_{Aq}. Ce qui signifie que X_{Aq} est donc 64 fois plus actif que PYMI₀.

De plus, la comparaison des performances de l'extrait aqueux de *Terminalia catappa* (X_{Aq}) avec celles des extraits aqueux de *Mitracarpus villosus* (CMF = 150 000 µg/mL) et de *Spermacoce verticillata* (CMF =75 000 µg/mL) sur *Aspergillus fumigatus* (ZIRIHI et al., 2007) montre que X_{Aq} est le plus actif.

Nos résultats sont meilleurs que ceux de KOUAKOU et al., (2007), qui ont obtenu avec l'extrait total aqueux de *Thonningia sanguinea* une inhibition de *Aspergillus fumigatus* avec une valeur de CMF égale à 12,5 mg/mL soit 12 500 µg/mL pour 48 heures d'incubation. Ici, X_{Aq} est 32 fois plus actif.

En définitive, ces résultats confirment que l'extrait aqueux de *Terminalia catappa* possède effectivement une activité antifongique intéressante. On peut donc retenir que l'utilisation en milieu traditionnel de cette plante par infusion, décoction, cataplasme et frictions comme antimicrobien est fondée.

En plus de ces premières investigations, nous avons voulu savoir si des extraits préparés avec des solvants organiques pourraient être plus actifs. Au regard des travaux de ZIRIHI et KRA en 2003, nous avons choisi le mélange éthanol -eau (70/30 ; v/v) comme solvant d'extraction. C'est à partir de ce solvant que nous avons préparé l'extrait éthanolique codifié X₀.

- Au niveau des extraits totaux éthanoliques (X₀)

L'analyse des résultats des tests antifongiques avec X₀ de TEKAM₃ montre que *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton mentagrophytes* sont sensibles à l'extrait testé. Les valeurs des concentrations inhibitrices obtenues révèlent que X₀ a des activités antifongiques plus ou moins accentuées et la sensibilité de toutes ces souches est dose-dépendante (voir figure 21 et tableau V).

Ces résultats révèlent que les valeurs des CMF de X₀ sont égales à 190 µg/mL pour *Candida albicans* ; 90 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus* et 10 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*

Sur les antifongigrammes qui sont tous décroissants, les valeurs des CI₅₀ relevées sont égales à 140 µg/mL pour *Candida albicans* ; 15 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus* et 3,7 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*.

Ici, l'isolat le plus sensible est *Trichophyton mentagrophytes* (valeur de CMF= 10 µg/mL), le moins sensible est *Candida albicans* (CMF= 190 µg/mL) et celui présentant une sensibilité intermédiaire est *Aspergillus fumigatus* (CMF= 90 µg/mL). Il ressort de l'analyse de ces valeurs des CMF que *Candida albicans* est 19,5 fois moins sensible que *Trichophyton mentagrophytes* et 2 fois moins sensible que *Aspergillus fumigatus* lequel est 9 fois moins sensible que *Trichophyton mentagrophytes*. En clair, ici aussi *Trichophyton mentagrophytes* est l'isolat le plus sensible. Ces résultats concernant la sensibilité des isolats sont similaires à ceux de l'extrait aqueux et confirment que la levure *Candida albicans* est moins sensible que les 2 moisissures *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton mentagrophytes*.

Sur la base des valeurs des CMF, la comparaison des activités de l'extrait aqueux et de l'extrait éthanolique, montre que X₀ (CMF = 190 µg/mL) est 4 fois plus actif que X_{Aq} sur *C. albicans* et 4,33 fois plus actif que X_{Aq} sur *A. fumigatus* (CMF= 90 µg/mL). X₀ (CMF = 10 µg/mL) est 19 fois plus actif que X_{Aq} sur *T. mentagrophytes*.

La comparaison de ces résultats avec ceux de ZIRIHI et KRA en 2003 révèle que contre *Candida albicans*, X₀ est nettement plus actif que l'extrait éthanolique de *Microglossa pyrifolia* (PYMI₁) (CMF= 25000 µg/mL). Le rapport établi sur la base des CMF, montre que $CMF_{PYMI1}/CMF_{X0} = 25000/190 = 131$ en faveur de X₀. Ce qui signifie que X₀ est 131 fois plus actif que PYMI₁.

De plus, la comparaison des performances de l'extrait ethanolic de *Terminalia catappa* (X_0) avec celles des extraits ethanolic de *Mitracarpus villosus* (MV_1) et de *Spermacoce verticillata* (SV_1) selon les travaux de ZIRIHI et al. (2007) ayant une valeur de CMF = 100 000 $\mu\text{g/mL}$ pour MV_0 et CMF = 50 000 $\mu\text{g/mL}$ pour SV_0 sur *Aspergillus fumigatus* montre que X_0 est le plus actif. X_0 est 1111 fois plus actif que MV_1 et 555 fois plus actif que SV_1 .

Au regard de ce qui précède, nous déduisons que lorsque nous passons de X_{Aq} à X_0 , nous améliorons l'activité antifongique de X_{Aq} de 4 fois contre *Candida albicans*, de 2 fois contre *Aspergillus fumigatus* et de 19 fois contre *Trichophyton mentagrophytes*.

On retient de cette analyse que les deux extraits ont de bonnes activités antifongiques. Cependant hormis *T. mentagrophytes*, X_0 est 4 fois plus actif que X_{Aq} contre les deux autres souches (*Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans*). Cet extrait concentre mieux les principes actifs de *Terminalia catappa*. Il a été retenu pour les essais d'amélioration de l'activité antifongique de TEKAM₃. X_0 a été partitionné dans trois mélanges de solvants différents tels que décrit dans le chapitre méthode.

- Extraits issus des partitions

Ces partitions nous ont donné six extraits codifiés $X_{1,1}$, $X_{1,2}$, $X_{2,1}$, $X_{2,2}$, $X_{3,1}$, $X_{3,2}$. L'analyse des résultats obtenus (voir les figures 22 à 27 et les tableaux VI, VII, VIII, IX, X et XI) montre que les trois isolats sont sensibles à tous les six extraits mais cette sensibilité est plus ou moins grande selon l'isolae considéré.

- ✓ L'extrait $X_{1,1}$

L'analyse des résultats des tests antifongiques avec $X_{1,1}$ de TEKAM₃ montre que *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton mentagrophytes* sont sensibles à l'extrait testé. Les valeurs des concentrations inhibitrices obtenues révèlent que $X_{1,1}$ a des activités antifongiques plus ou moins accentuées et la sensibilité de toutes ces souches est dose-dépendante (voir figure 22 et tableau VI).

Ces résultats révèlent que les valeurs des CMF de $X_{1,1}$ sont :

390 $\mu\text{g/mL}$ pour *Candida albicans*

40 $\mu\text{g/mL}$ pour *Aspergillus fumigatus*

10 $\mu\text{g/mL}$ pour *Trichophyton mentagrophytes*

Sur les antifongigrammes qui sont tous décroissants, les valeurs des CI_{50} relevées sont égales à 2270 $\mu\text{g/mL}$ pour *Candida albicans* ; 6 $\mu\text{g/mL}$ pour *Aspergillus fumigatus* et 1,5 $\mu\text{g/mL}$ pour *Trichophyton mentagrophytes*

Au vu de ces résultats, il apparaît que l'isolat le plus sensible est *Trichophyton mentagrophytes* (valeur de CMF= 10 µg/mL), la moins sensible est *Candida albicans* (CMF= 390 µg/mL) et celui présentant une sensibilité intermédiaire est *Aspergillus fumigatus* (CMF= 40 µg/mL). Il ressort de l'analyse de ces valeurs (des CMF) que *Candida albicans* est 39 fois moins sensible que *Trichophyton mentagrophytes* et plus de 6 fois moins sensible que *Aspergillus fumigatus* lequel est 4 fois moins sensible que *Trichophyton mentagrophytes*.

✓ L'extrait X_{1.2}

L'analyse des résultats des tests antifongiques avec X_{1.2} de TEKAM₃ montre que *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton mentagrophytes* sont sensibles à l'extrait testé selon une relation dose - effet. Les valeurs des concentrations inhibitrices obtenues révèlent que X_{1.2} a des activités antifongiques plus ou moins accentuées (voir figure 23 et tableau VII).

Ces résultats révèlent que les valeurs des CMF de X_{1.2} sont :

40 µg/mL pour *Candida albicans*

40 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus*

5 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*

Sur les antifongogrammes qui sont tous décroissants, les valeurs des CI₅₀ relevées sont :

18 µg/mL pour *Candida albicans*

6 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus*

1,3 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*.

Ici, *T. mentagrophytes* est l'isolat le plus sensible car les valeurs de CMF (5 µg/mL) et CI₅₀ (1,3 µg/mL) contre cet isolat sont les plus faibles. *Trichophyton mentagrophytes* est 8 fois plus sensible que *Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans*. Par rapport aux deux souches précitées, la comparaison des valeurs de CI₅₀ situe *Aspergillus fumigatus* (CI₅₀= 6 µg/mL) comme le plus sensible.

✓ L'extrait X_{2.1}

L'analyse des résultats des tests antifongiques avec X_{2.1} de TEKAM₃ montre que *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton mentagrophytes* sont sensibles à l'extrait testé. Les valeurs des concentrations inhibitrices obtenues révèlent que X_{2.1} a des activités antifongiques plus ou moins accentuées et la sensibilité de toutes ces isolats est dose-dépendante (voir figure 24 et tableau VIII).

Ces résultats révèlent que les valeurs des CMF de X_{2.1} sont de 190 µg/mL pour *Candida albicans* ; 390 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus* et de 5 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*.

Sur les antifongigrammes qui sont tous décroissants, les valeurs des CI_{50} relevées sont égales à 42 $\mu\text{g/mL}$ pour *Candida albicans* ; 28 $\mu\text{g/mL}$ pour *Aspergillus fumigatus* et 1,8 $\mu\text{g/mL}$ pour *Trichophyton mentagrophytes*.

Trichophyton mentagrophytes (CMF= 5 $\mu\text{g/mL}$; CI_{50} =1,8 $\mu\text{g/mL}$), apparaît comme étant le plus sensible. Le moins sensible est *Aspergillus fumigatus* (CMF= 390 $\mu\text{g/mL}$) et celui présentant une sensibilité intermédiaire est *Candida albicans* (CMF= 190 $\mu\text{g/mL}$). Il ressort de l'analyse de ces valeurs des CMF que *Aspergillus fumigatus* est 78 fois moins sensible que *Trichophyton mentagrophytes* et 2 fois moins sensible que *Candida albicans* lequel est 38 fois moins sensible que *Trichophyton mentagrophytes*. Ici également *Trichophyton mentagrophytes* est l'isolat le plus sensible.

✓ L'extrait $X_{2,2}$

L'analyse des résultats des tests antifongiques avec $X_{2,2}$ de TEKAM₃ montre que *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton mentagrophytes* sont sensibles à l'extrait testé selon une relation dose – effet. Les valeurs des concentrations inhibitrices obtenues révèlent que $X_{2,2}$ a des activités antifongiques plus ou moins accentuées (voir figure 25 et tableau IX).

Ces résultats révèlent que les valeurs des CMF de $X_{2,2}$ sont de 90 $\mu\text{g/mL}$ pour *Candida albicans* ; 190 $\mu\text{g/mL}$ pour *Aspergillus fumigatus* et de 10 $\mu\text{g/mL}$ pour *Trichophyton mentagrophytes*.

Sur les antifongigrammes qui sont tous décroissants, les valeurs des CI_{50} relevées sont égales à 32 $\mu\text{g/mL}$ pour *Candida albicans* ; 25 $\mu\text{g/mL}$ pour *Aspergillus fumigatus* ; 1 $\mu\text{g/mL}$ pour *Trichophyton mentagrophytes*.

Au vu de ces résultats, il apparaît que l'isolat le plus sensible est *Trichophyton mentagrophytes* car les valeurs de (CMF= 10 $\mu\text{g/mL}$) de CI_{50} (1 $\mu\text{g/mL}$) sont les plus faibles ; le moins sensible est *Candida albicans* (CMF= 90 $\mu\text{g/mL}$) et celui présentant une sensibilité intermédiaire est *Aspergillus fumigatus* (CMF= 190 $\mu\text{g/mL}$). Il ressort de l'analyse de ces valeurs des CMF que *Candida albicans* est 9 fois moins sensible que *Trichophyton mentagrophytes* et plus de 2 fois moins sensible que *Aspergillus fumigatus* lequel est 19 fois moins sensible que *Trichophyton mentagrophytes*. Nous retenons que *Trichophyton mentagrophytes* est donc le plus sensible.

✓ L'extrait $X_{3,1}$

L'analyse des résultats des tests antifongiques avec $X_{3,1}$ de TEKAM₃ montre que *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton mentagrophytes* sont sensibles à l'extrait testé. Les valeurs des concentrations inhibitrices obtenues révèlent que $X_{3,1}$ a des activités antifongiques

plus ou moins accentuées. La sensibilité des trois souches est dose-dépendante (voir figure 26 et tableau X).

Ces résultats révèlent que les valeurs des CMF de X_{3,1} sont de :

1560 µg/mL pour *Candida albicans*

780 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus*

10 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*

Sur les antifongigrammes qui sont tous décroissants, les valeurs des CI₅₀ relevées sont égales à :

580 µg/mL pour *Candida albicans*

10 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus*

1,6 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*.

Les valeurs de la CMF (10 µg/mL) et de la CI₅₀ (1,6 µg/mL) contre *Trichophyton mentagrophytes* sont les plus faibles. *Trichophyton mentagrophytes* est donc le plus sensible. Le moins sensible est *Candida albicans* (CMF= 1560 µg/mL) et celui présentant une sensibilité intermédiaire est *Aspergillus fumigatus* (CMF= 780 µg/mL). Il ressort de l'analyse de ces valeurs des CMF que *Candida albicans* est 156 fois moins sensible que *Trichophyton mentagrophytes* et 2 fois moins sensible que *Aspergillus fumigatus* lequel est 78 fois moins sensible que *Trichophyton mentagrophytes*. *Trichophyton mentagrophytes* est donc l'isolat le plus sensible.

✓ L'extrait X_{3,2}

L'analyse des résultats des tests antifongiques avec X_{3,2} de TEKAM₃ montre que *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton mentagrophytes* sont sensibles à l'extrait testé. Les valeurs des concentrations inhibitrices obtenues révèlent que X_{3,2} a des activités antifongiques plus ou moins accentuées et la sensibilité de toutes ces isolats est dose-dépendante (voir figure 27 et tableau XI).

Ces résultats révèlent que les valeurs des CMF de X_{3,2} sont de 190 µg/mL pour *Candida albicans* ; 190 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus* et de 5 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*

Sur les antifongigrammes qui sont tous décroissants, les valeurs des CI₅₀ relevées sont égales à 60 µg/mL pour *Candida albicans* ; 30 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus* ; 1,27 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*.

Ici, l'isolat le plus sensible est *Trichophyton mentagrophytes* (valeur de CMF= 5 µg/mL), *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus* ont la même sensibilité. La valeur de leur CMF est égale à 190 µg/mL. Il ressort de l'analyse de ces valeurs des CMF que *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus* sont 38 fois moins sensibles que *Trichophyton mentagrophytes*. Ici aussi *Trichophyton mentagrophytes* est le plus sensible.

Par rapport aux extraits totaux aqueux et éthanoliques, la comparaison sur la base de la valeur des CMF montre que X_{1,2} est 4 fois plus actif que l'extrait de base (X₀) ayant servi à sa préparation. Cette même analyse montre que X_{1,2} est 19 fois plus actif que l'extrait total aqueux.

Il ressort de l'analyse de ces résultats que *T. mentagrophytes* est l'isolat le plus sensible. Cette sensibilité est similaire à celle de tous les autres extraits X_{Aq}, X₀ et tous les extraits issus des partitions. Dans tous les cas, les moisissures et plus particulièrement *Trichophyton. mentagrophytes* est plus sensible que la levure *Candida albicans*.

De l'analyse de l'ensemble des résultats, il ressort 6 aspects essentiels :

- Les trois isolats *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton mentagrophytes* sont sensibles à tous ces extraits testés selon une relation dose - effet.
- Il a été possible d'avoir des meilleures performances en préparant l'extrait à partir d'un solvant comportant 70% d'éthanol et 30% d'eau. Ce qui amène à déduire que du point de vue de leur masse que les principes actifs pourraient ne pas être des macromolécules (sucres, protéines et glycoprotéines). Ce sont certainement des molécules de tailles moyennes ou petites, solubles dans un solvant organique (en occurrence l'éthanol) pouvant être classées comme des huiles ou assimilées comme telles.
- Il a été possible d'améliorer la performance de l'extrait éthanolique en procédant à sa partition dans divers solvants. Ce qui a permis d'aboutir à X_{1,2} qui, à ce niveau est l'extrait possédant la meilleure activité antifongique. Ce qui nous amène à déduire que la méthode de partition initiée par ZIRIHI et KRA en 2003 est une bonne voie permettant de mieux sélectionner les principes actifs.
- La bonne performance de X_{1,2} permet de retenir que la combinaison de solvant hexane-eau (v/v) est celle qui convient pour une meilleure concentration du principe actif.
- On constate aussi que de façon générale, les phases aqueuses des différentes partitions sont plus actives que les phases organiques.
- En dehors de l'effet fongicide, tous les extraits exercent des effets fongistatiques sur la croissance *in vitro* des trois isolats testés. Cet effet est obtenu pour des concentrations moyennes des extraits.

Vu ses performances intéressantes par rapport aux autres extraits, $X_{1,2}$ a servi de base à un fractionnement chromatographique sur gel de filtration sephadex G₂₅.

- Extraits issus des fractionnements

L'élution a donné 20 fractions. Les valeurs des CMF sont consignées dans le tableau XIV.

Pour *Candida albicans*, l'analyse des données montre que sur la base des valeurs des CMF, ces fractions peuvent être classées en 5 groupes :

- **Groupe 1** comprenant F_1 à F_5 et F_{15} à F_{17} qui ont une valeur de CMF égale à 200 $\mu\text{g/mL}$ qui sont 5 fois moins actives que $X_{1,2}$ ayant servi de base à leur préparation (CMF=40 $\mu\text{g/mL}$). On note cependant que dans ce groupe, F_{15} ($\text{CI}_{50}= 5,2 \mu\text{g/mL}$) possède la meilleure activité anticandidosique.
- **Groupe 2** renferme les fractions dont la valeur de CMF est égale à 20 $\mu\text{g/mL}$. Elles sont 2 fois plus actives que $X_{1,2}$. Dans ce groupe, on retrouve : F_6 à F_8 et F_{13} à F_{14} . Notons qu'elles sont 10 fois plus actives que les fractions du groupe 1. Parmi elles, F_8 ($\text{CI}_{50}= 2,8 \mu\text{g/mL}$) est la plus active.
- **Groupe 3** regroupant les fractions F_9 à F_{11} . Leur CMF a une valeur de 10 $\mu\text{g/mL}$. Elles sont donc 20 fois plus actives que les fractions de groupe 1 ; 2 fois plus actives que les fractions du groupe 2 et 4 fois plus actives que $X_{1,2}$. Parmi elles, F_{11} ($\text{CI}_{50}= 2,2 \mu\text{g/mL}$) est la plus active.
- **Groupe 4** constitué seulement de F_{12} qui présente le meilleur potentiel antifongique. En effet avec les valeurs de CMF= 5 $\mu\text{g/mL}$ et de $\text{CI}_{50}=1,4 \mu\text{g/mL}$, cette fraction est 40 fois plus active que celles du groupe 1 ; 4 fois plus active que celles du groupe 2. Elle est 2 fois plus active que celles du groupe 3. Enfin, elle est 8 fois plus active que $X_{1,2}$ qui a servi à sa préparation. Notons aussi que $X_{1,2}$ est nettement plus actif que tous les autres extraits issus des partitions. F_{12} est 32 fois plus active que X_0 . Le rapprochement de ces performances avec celles de X_{Aq} révèle que F_{12} est 156 fois plus active que l'extrait total aqueux.
- Enfin le **groupe 5** qui renferme les fractions F_{18} , F_{19} et F_{20} . Pour ces fractions, les valeurs de CMF sont très fortes et supérieures à 200 $\mu\text{g/mL}$. Ce qui les situe comme étant les fractions les moins actives parmi celles étudiées. Elles sont 40 fois moins actives que F_{12} et 50 fois moins actives que $X_{1,2}$

De tout ce qui précède, nous retiendrons que F_{12} est la fraction la plus active obtenue à ce jour dans cette étude. Cette fraction a été testée sur la sensibilité de *A. fumigatus* et *T. mentagrophytes*.

Dans toutes les séries, des inhibitions nettes et effectives de la croissance de *Aspergillus fumigatus* et de *Trichophyton mentagrophytes*, ont été observées à 5 jours d'incubation pour *T. mentagrophytes* et à 48 heures d'incubation à 30°C pour *A. fumigatus*.

Sur ces deux isolats, les valeurs des CMF sont :

10 µg/mL pour *Aspergillus fumigatus*

0,5 µg/mL pour *Trichophyton mentagrophytes*.

L'ensemble de tous les paramètres antifongiques est résumé dans le tableau XV.

L'analyse de ces résultats, fait ressortir que *Trichophyton mentagrophytes* (CMF= 0,5 µg/mL) est l'isolat le plus sensible à F₁₂ et *Aspergillus fumigatus* le moins sensible (CMF= 10 µg/mL). Quant à *Candida albicans* (CMF = 5 µg/mL), il présente une sensibilité intermédiaire, comparée aux deux isolats précités. On retiendra ici que les moisissures sont plus sensibles que les levures. On retiendra aussi que la chromatographie de filtration sur gel de sephadex G₂₅ a permis d'améliorer considérablement les activités anticandidosique, antiaspergillaire et antitrichophytique de l'extrait de base X_{1,2}. Cette stratégie a permis d'obtenir F₁₂ qui est :

- Pour *C. albicans*, 312 fois plus active que X_{3,1} et 156 fois plus active que X_{Aq}. Elle est aussi 78 fois plus active que X_{1,1}, 38 fois plus active que X₀, X_{2,1}, X_{3,2} et enfin 18 fois plus active que X_{2,2},
- Pour *A. fumigatus*, 78 fois plus active que X_{3,1} et 39 fois plus active que X_{Aq}, X_{2,1}. Elle est aussi 19 fois plus active que X_{2,2} et X_{3,2}. Elle est aussi 9 fois plus active X₀ et enfin 4 fois plus active que X_{1,1}.
- Pour *T. mentagrophytes*, 20 fois plus active que X_{Aq}, X₀, X_{1,1}, X_{2,2}, X_{3,1} et 10 fois plus active que X_{2,1} ainsi que X_{3,2}.

Ces résultats font donc ressortir que l'obtention de la fraction la plus active est assurée en utilisant comme solvant de base un mélange d'éthanol-eau dans les proportions 70/30 (v/v). L'extrait obtenu doit être partitionné dans un mélange hexane-eau (v/v). Dans cette opération, seule la phase aqueuse doit être retenue pour être chromatographiée sur gel de filtration sephadex G₂₅ dont les caractéristiques de la colonne sont : diamètre=1cm ; hauteur du gel = 55 cm ; débit = 0,22 mL/mn. Par ce procédé, nous avons donc atteint notre objectif qui est d'optimiser l'activité antifongique des extraits de TEKAM₃.

Afin de déterminer la composition chimique des extraits et fractions, nous avons réalisé un tri phytochimique.

- Tri phytochimique.

L'analyse des résultats de cette étude montre que X_{Aq} et X_0 contiennent les 4 éléments qui sont les polyterpènes, les polyphénols, les flavonoïdes et les saponosides. Il y a une abondance très marquée de saponosides et de flavonoïdes. L'extrait $X_{1,2}$ ne contient que 3 éléments. Mais il renferme les mêmes autres éléments présents dans X_{Aq} et X_0 à savoir les polyterpènes, les flavonoïdes et les saponosides. Pour la fraction F_{12} , les résultats révèlent qu'elle ne contient que 2 éléments à savoir les polyterpènes et les saponosides. Notons aussi que cette fraction est très riche en saponosides. Ces résultats font ressortir qu'en passant de l'extrait total aqueux à la fraction F_{12} , il y a une réduction des composantes chimiques (4 à 2). L'analyse de ces résultats montre que l'activité antifongique n'est donc pas liée aux polyphénols et aux flavonoïdes présents dans X_{Aq} et X_0 . On constate que X_{Aq} et X_0 ont les mêmes composés. Cependant X_0 est plus actif. Cette meilleure activité serait liée à une différence dans la composition de ces molécules. Ces molécules sont de nature chimique identique mais ne sont pas les mêmes en réalité. X_{Aq} et X_0 renfermeraient donc des qualités différentes de polyphénols et de flavonoïdes. Ce qui explique la différence de leur performance. Selon les travaux de COWAN en 1999 ainsi que ceux de IWU et *al.*, en 1999 et ceux de IONELA et *al.*, en 2007, l'activité antimicrobienne des flavonoïdes s'expliquerait par le fait qu'ils sont capable de complexer non seulement les protéines extracellulaires et solubles mais aussi de rompre les membranes microbiennes entraînant la mort de la cellule.

Pour la suite des travaux, nous avons voulu séparer ces 2 éléments par chromatographie sur couche mince (CCM).

- Chromatographie sur couche mince

Le développement du chromatogramme révèle qu'il n'y a qu'une seule tache visible à la lumière montrant la présence d'une seule entité chimique. La révélation du chromatogramme à la vanilline sulfurique montre que cette entité chimique est en réalité un triterpène saponoside. En clair, il ne subsiste dans F_{12} qu'une seule classe de molécules au lieu de deux comme tendait à montrer les résultats du tri phytochimique. L'activité antifongique de la fraction 12 serait due à des molécules qui appartiennent au groupe des saponosides triterpeniques.

Nos résultats sont en accord avec les travaux de KUBO et *al.* (1993), de RANA et *al.* (1997), de SURESH et *al.* (1997) et de COWAN en 1999, de IWU et *al.* (1999) et de IONELA et *al.* (2007). Ces auteurs ont montré que les terpènes ont une action inhibitrice sur les germes fongiques. Leurs actions s'exerceraient sur la membrane cytoplasmique des microbes en provoquant la lyse de la membrane.

La méthode que nous avons mise au point permet non seulement de mieux concentrer mais aussi d'isoler le principe actif. Par cette méthode, nous avons atteint notre objectif. Ces résultats de la CCM permettent donc d'avoir une idée plus précise de la nature chimique du principe actif.

2- CONCLUSION

Cette étude s'inscrit dans le programme de recherche de notre laboratoire dont l'objectif est de valoriser les plantes médicinales de notre pharmacopée. Et surtout de chercher de nouvelles molécules à partir d'extrait de plantes pouvant servir de nouvelles têtes de séries de médicaments.

Dans ce travail, la plante étudiée est une espèce à laquelle on accorde des vertus anti-infectieuses en milieu traditionnel. Cette étude confirme le bien fondé de cette assertion. Les résultats de ces investigations nous ont permis de comprendre que:

- Les trois isolats testés sont sensibles aux 28 extraits selon une relation dose-effet.
- Tous les extraits testés ont une activité antifongique effective doublée d'une action fongistatique sur la croissance *in vitro* des trois isolats.
- *Trichophyton mentagrophytes* apparaît comme étant le plus sensible et *Aspergillus fumigatus* l'isolat le moins sensible.
- Au niveau des extraits totaux, l'extrait hydroalcoolique X₀ est 4 fois plus actif que l'extrait total aqueux. X_{1,2} est l'extrait le plus actif parmi les 6 extraits obtenus après partition de X₀ et son activité antifongique est 4 fois plus élevée que celle de l'extrait éthanolique.
- Parmi les 20 fractions issues de la chromatographie de X_{1,2}, la fraction F₁₂ est non seulement l'extrait le plus actif parmi les fractions mais aussi renferme le principe actif qui est un triterpène saponoside. Il est surtout 8 fois plus actif que X_{1,2} et 32 fois plus actif que X₀ l'extrait de base.
- L'obtention de la fraction la plus active a nécessité la préparation de l'extrait de base à partir d'un mélange ethanol-eau (70/30 v/v) suivi d'une partition dans la combinaison de solvant hexane-eau, dont l'extrait issu de la portion aqueuse est ensuite chromatographiée sur gel de filtration sephadex G₂₅.
- Cette méthode d'extraction nous a donc permis d'atteindre notre objectif qui était non seulement d'évaluer mais aussi d'optimiser l'activité antifongique des extraits de *Terminalia catappa*. Par ce procédé, nous avons obtenu F₁₂ qui est l'extrait le plus actif obtenu à ce jour. Les propriétés anti - infectieuses accordées à *Terminalia catappa* sont donc justifiées.

Cependant, ces travaux doivent se poursuivre afin de déterminer la structure chimique de ce principe actif par des méthodes combinées de spectroscopie de masse, d'infra rouge et de résonance magnétique nucléaire. Ces travaux nous permettront d'étudier sa toxicité ainsi que son mécanisme d'action sur les champignons et les bactéries. Enfin réaliser des études *in vivo*.

**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

- **ABIMELEC P., 2002.** Mycoses des ongles. Editeur scientifique. 1-16.
- **ACHA P.N. ; SZYFRES B. 1989.** Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'Homme et à l'animal. 2e éd. Paris, France, OIE, 1083 p.
- **ACKAH J. A. A. B., 2004.** Spectre anti-infectieux de MISCA-F3 sur la croissance *in vitro* *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus flavus*. Mémoire DEA. Biotechnologie, Université de Cocody, Abidjan. Côte d'Ivoire. 34 p.
- **ADJANOHOON E. J., 1979.** Les plantes africaines à propriétés thérapeutiques largement confirmées au 3^{ème} Symposium Interafricain OUA/CSTR sur la Pharmacopée Traditionnelle et les plantes médicinales africaines, Abidjan, 25-29 sept 79. Abidjan. Côte d'Ivoire, 89-91.
- **ADJANOHOON E. J. (1990).** Etat de l'ethno pharmacopée africaine. Bull. Med. Trad. Pharm. 4, Paris 1, 59-63.
- **ADJANOHOON E. J. et AKE-ASSI L., 1979.** Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte d'Ivoire. CRES. Université. Côte-d'Ivoire. Centre National de Floristique. 40-219.
- **ADJANOHOON E., AKE-ASSI L., AHMED A., EYMÊ J., GUINKO S., KAYONGA A., KEITA A. et LEBRAS M., 1982.** Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques aux Comores, A CCT, Paris, 216 p.
- **ADJANOHOON E., AKE-ASSI L., EYMÊ J., GASSITA J.N., GOUDOT J. E., GUÊHO J., JACKARIA D., KALACHAND S.K.K., KEITA A., KOUDOGBO B., LANDREAU D., OWADALLY A.W. et SOOPRAMANIEN A., 1983.** Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques à Maurice (Iles Maurice et Rodrigues), ACCT, Paris, 214 p.
- **ADJANOHOON E., AKE-ASSI L., CHIBON P., DE VECCHY H., DUBOZE E., EYMÊ J., GASSITA J.N., GOUDOTE., GUINKO S., MENGOME E., NGUÊMA M. G., OLLOME J.B., POSPS O. et SITA P., 1984.** Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Gabon. ACCT, Paris, 294 p.
- **ADOU-BRYN K., ASSOUMOU A., HADDAD R. N. et AKA B. R., 2004.** Epidémiologie des teignes à Abidjan (Côte d'Ivoire). Médecine Tropicale. 64, (2) : 171-175.
- **AHOUSSOU N., KOFFI G., SANGARE A. et SANGARE A., 1995.** COTE D'IVOIRE: Rapport de pays pour la conférence internationale de la FAO sur les ressources phytogénétiques (Leipzig, 1996). 75 p.

- **AJELLO L., GEORG L. K., KAPLAN W. and KAUFMAN L., 1963.** Laboratory manual for Medical Mycology (2nd Edition). New York, USA: John Wiley and sons. 158 p.
- **AKE-ASSI L., ABEYE J., GUINKO S., GIGUETR. et BANGAVOU X., 1980,** Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République Centrafricaine, ACCT, Paris, 139 p.
- **AKE-ASSI L. N., 1984.** Flore de la côte d'Ivoire: Etude descriptive et biogéographique avec quelque notes ethnobotaniques. Thèse Faculté des Sciences, Université, d'Abidjan. 6, (3) : 1206 p.
- **AKE-ASSI L. et GUINKO S. 1991.** Plantes utilisées dans la médecine traditionnelle en Afrique de l'Ouest. Ed. Roches. 151p.
- **AKE-ASSI L. 2001.** Flore de la Côte d'Ivoire : Catalogue systématique, biogéographie et écologie. *Boissiera* 57, (1) : 146 p.
- **AMENNOUDJI A., KOUDE D. et AKE-ASSI L., 1990.** Contribution à la connaissance de la flore ouest africaine. Rapport de stage au centre national de floristique d' Abidjan. 78 p.
- **ANDERSON C. J., CRAIG S. et BARBANA E. J., 1980.** Allergic bronchopulmonary aspergillosis and bilatéral fungus balls terminating in disseminated aspergillosis . *J Allergy clin. Immunol* ; 65 : 140-144.
- **ANN O., 1982.** Maladies parasitaires et fongiques. Ed. C et R, 246 – 285.
- **AQUARON M., 2005.** Conférence- relation entre les hommes et les plantes. 5 p.
- **AUBRÉVILLE A., 1959.** Flore forestière de la Côte d'Ivoire. Ed. 2, (3), CTFT, Nogent-Sur-Marne Seine, tome I, 372 p., tome II, 343 p., tome III, 335 p.
- **AUBRY P., 2008.** Les mycoses profondes. Médecine Tropicale. 27 p.
http://medecinetropicale.free.fr/cours/mycose_profonde.htm Mise à jour le 02/10/2008
consulté le 14-12- 2008
- **ASSOUMOU A., OUHON J., KASSI E. A., KOUAKOU D., KONE M. et THERIZOL-FERLY M., 1993.** Bilan de la flore fongique isolée de la peau et des phanères à la faculté de Médecine d'Abidjan (Côte-d'Ivoire). *Journal Mycol. Méd* (3), 150-153.
- **ATTOH-TOURE H., 2003.** Epidémiologie des dermatophyties à l'hôpital général Félix Houphouët Boigny d'Abobo Abidjan. Cinq mois Mars à juillet 2003 Thèse. De Médecine. UFR des Sciences Médicales. Université. Cocody Abidjan. 98 p.
- **BACK D., 1992.** Loss of taste and terbinafine. *Lancet* 340 : 252 p.

- **BADILLET G., DE BIEVRE C. et GUEHO E., 1987.** Champignons contaminants des cultures. Champignons opportunistes. Atlas clinique et biologique. Varia, (vol. II), 216 p.
- **BADILLET G., 1991.** Dermatophyties et dermatophytes. Atlas clinique et biologique. Varia, 3^e Ed. 303 p.
- **BAGRE I., 2004.** Spectre anti-infectieux de BGG, une substance antidiarrhéique de naturelle. Mémoire DEA. Biotechnologie, Université de Cocody- Abidjan. Côte d'Ivoire. 29 p.
- **BARAN R. et DAWBER., 1990.** «R.P.R., Un traitement simple, la phénolisation ». In Baran eds. Guide médico-chirurgical des onychopathies, Paris: Arnette, 134 p.
- **BARAN R., HAY R. J., HANECKE H. et TOSTI A., 1996.** Onychomycosis: Nail fungal infection, more than a cosmetic problem (Patient information pamphlet from the Council for Nail Disorders, Schamburg) 241-249.
- **BARAN R.; HANECKE H. et RICHERT B., 2001.** Pincer nails: Definition and Surgical Treatment. *Dermatol Surg* 27, 261-266.
- **BELHADJ S., CHAKER E., BEN S. N., CHAMAKHI S., ZOUTEN F., BEN R. M.S. et ZRIBI A. 1994.** Aspergillose naso-sinusienne invasive : A propos d'un cas. *J. Mycol. Med.* (4) : 48 – 50.
- **BERCHES P., GAILLARD J.L. et SIMONET M. 1989.** Bactériologie. Les bactéries, des infections humaines. Médecine Sciences Flammarion, 265 – 299.
- **BOIRON P., 1996.** Organisation et biologie des champignons. Nathan, 126 p.
- **BONGA G. M., VANGAH-MANDA M., DE SOUZA C. et GUEDE- GUINA F., 1995 .**Mise en évidence de phytostéroïdes antifongiques contre *Cryptococcus neoformans*. *Revue Méd. et Pharm. Afric.*, 9, (1) : 21-30.
- **BOUCHET P., REGIS P., CRUGNARD J. L. et MADULO-LEBLOND G., 1989.** "Mycologie générale et médicale". Masson. Paris, 1-143.
- **BOUCHET P., GUIGNARD J.L. et VILLARD J. 1999.** Les champignons. Mycologie fondamentale et appliquée. Masson, 208 p.
- **BOUQUET A., 1972.** Plantes médicinales du Congo- Brazzaville. Travaux et document de l'ORSTOM 13, Paris, 1-11.

- **BOUQUET A et DEBRAY M., 1974.** Plantes médicinales de la côte d'Ivoire. Travaux et documents de l' O.R.S.T.O.M n° 32.Paris, 56- 151.
- **BOUVENOT G., DUVULSE B., GRUILLEVIN L., QUENEAU P. et SCHEREFFER A., 1995.** "Pathologie Médicale", 324-326.
- **BORDAIS P. et BOURRAT E., 1999.** Candidose de l'enfant : Ce qu'il faut savoir sur les stomatites érythémateuses de l'enfant. Hôpital Robert-Debré Paris. Quotidien du Médecin, N° 6422 du 27 janvier 1999. 11p. <http://www.quotimed.com> consulté le 13/09/2005
- **BOTTON B., BRETON A., FEVRE M., GUY PH., LARPENT J. P., REYMOND P., SANGLIER J., VASYSSIER Y. et VEAU P., 1990.** Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. Collection Biotechnologie. 2^e Edition. Masson, 95- 121.
- **BOWMAN W. C. and RAND M. J., 1980.** "Textbook of pharmacology". Sd. Editions. blackwell scientific publication . 1- 36.
- **BURKILL, H.M., 1997.** The useful plants of West Tropical Africa. Ed. 2. Royal Bot. Garden Kew. 138-140; 546-547.
- **CADET DE FONTANAY G., LAVIELLE B., LINAS M. D. et SEQUELA J. P., 1996.** Comparaison statistique de deux méthodes d'évaluation de l'activité antifongique. *J. Mycol. Med.* (6): 129 – 132.
- **CALLOT J. et HELLUY J., 1970.** Parasitologies médicales.Ed : Med. Flam. , 557 – 600.
- **CAUMES E. D M., MOUCHET J., LAGARDÈRE B., LENOBLE D.-R. et BRUCKER G., 1993.** "Médecine Tropicale". Médecine Sciences. Flammarion, 267-841.
- **CHAAIB K. F., 2004.** Investigation phytochimique d'une brosse à dents africaine *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepernick et Timler (Syn. *Fagara zanthoxyloides* L.) (*Rutaceae*). Thèse de doctorat en pharmacie. Faculté des Sciences de l'Université de Lausanne. 211 p.
- **CHABASSE D., 1994.** "Les nouveaux champignons opportunistes apparus en médecine". Revue générale. *Journal. Mycol. Méd.*, 4 : 9-28.
- **CHABASSE D., GUIGUEN C. et CONTET-AUDONNEAU N., 1999.** Mycologie médicale. Masson, 324 p.
- **CHARLES D., LOULERQUE P., VIARD J.P., DRAUER F. et LORTHOLARY O., 2007.** Infections fongiques au cours de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine. *Encycl. Méd. Chir., Maladies infectieuses*, 8-002-C-10. 389-419.

- **CHEN P.S., LI J. H., LIU T. Y. and LIN T. C., 2000.** Folk medicine *Terminalia catappa* and its major tannin component, punicalagin, are effective against bleomycin-induced genotoxicity in Chinese hamster ovary cells. *Cancer Letters* 152, 115–122.
- **CHEN P.S. and LI J.H., 2006.** Chemopreventive effect of punicalagin, a novel tannin component isolated from *Terminalia catappa*, on H-ras-transformed NIH3T3 cells. *Toxicol-Lett.* 163(1): 44-53.
- **CHENEI J. et AKE-ASSI. L., 1987.** Les Plantes Médicinales Tropicales et Ivoiriennes. Daremi Editions. Tome II Cocody. Les deux plateaux. Abidjan. Côte.d'Ivoire, 106 p.
- **CHOUVALOVA E., 1984.** Les maladies tropicales. Editions MIR- Moscou, 191 p.
- **COULIBALY A. O., OUATTARA K., SCHMIDT D., RIBAUT J. Y. et METRAS D., 1982.** Traitement chirurgical de l' aspergillome pulmonaire, à propos de 30 cas. *Ann. Chir. Thorac. Cardio – vasc.* 36, (8), 682 -685.
- **COWAN M. M., 1999.** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews.* 12, (4): 564 -582.
- **CROMBERG S., BEYLOUT J. et RAY M., 1988.** "Maladies infectieuses". Editions. Masson, 232-625.
- **DATRY A., 1989.** Etude comparative entre le fluconazole et les kétoconazoles dans la candidose oropharyngée des patients VIH. Communication faite au symposium pfizer international : Montréal, Canada.4 p.
- **DATRY A., (1992).** Candidose digestive et infection à VIH. Actualité clinique et thérapeutique. *Mycol. Med*, 2, suppl.1 :5-14.
- **DATRY A et INGIBJORG. H. D., 1993.** Les mycoses superficielles. *Dermatologie Tropicale.* AUPELF-UREF, 273- 283.
- **DENDIEVEL J. et AUBRY P., 2006.** Mycétome fongique à *Exophiala janselmei* : à propos d'un cas dépisté à Mayotte. *Bull. Soc. Path. Exot.* 99, 72-77.
- **DENNING D. W., 1995.** Issues in the management of invasive aspergillosis. *Ann. Med. Interne* 146: 106-110.
- **DEVELOUX M., DIENG M.T. et N'DIAYE B., 2002.** Encycl. Med. Chir., Maladies infectieuses, (8). 918 p.
- **DEVELOUX M., DIENG M.T. et N'DIAYE B., 2002.** Mycétomes, Encycl. Med. Chir., Maladies infectieuses, 8-606-A-10. 452-467.

- **DEVELOUX M., DIENG M.T., KANE A. et NDIAYE B., 2003.** Prise en charge des mycétomes en Afrique de l'ouest. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 9: 376-382.
- **DEVELOUX M. et BRETAGNE S., 2005.** Candidoses et levures diverses. *Encycl. Med. Chir., Maladies infectieuses*, 8-062-A-10. 318-327.
- **DIAFOUKA A. A. et LEJOLY J., 1993.** Plantes hypotensives utilisées en médecine traditionnelle à Brazzaville (Congo). BARAB Actes du 2^e Colloque Européen d'Ethnopharmacologie et de la 11^e Conférence internationale d'Ethnomédecine, Heidelberg. 5 p.
- **DIALLO D. et SANOGO R., 2005.** Atelier sur : Les technologies de culture, de récoltes et de transformation des plantes médicinales et aromatiques dans les pays en développement. Bamako, Mali 25-29 Juillet 2005. 27 p.
- **DJAMAN A. J., DJE K. M. et GUEDE-GUINA F., 1997.** Evaluation d'une action antiplasmodiale de *Olox subscorpioides* sur les souches chloroquino résistantes de *P. falciparum*. *Revue de Med. Et Pharm. Afric.* 11-12, 177-183.
- **DORSCH W. and WAGNER, H., 1991.** New antiasthmatic drugs from traditional medicine? *International Archives of Allergy and Applied Immunology* 94, 262–265.
- **DROMER F. and DUPONT B., 1996.** The increasing problem of fungal infections in the immunocompromised host. *J. Mycol. Méd.*, 6, Suppl. I, 1-6.
- **DUCOL C., 1993.** Sensibilité *in vitro* de *Candida albicans* vis à vis du fluconazole. A propos d'une étude prospective chez trente patients VIH positifs porteurs d'une candidose buccale traitée par le fluconazole. Thèse dipl. d'Etat pharm Montpellier, 1 – 57.
- **DUPONT B., 1987.** Mycoses et SIDA. Résumé des rapports, communications affichées. Institut Pasteur – Paris, 4-9.
- **DUPONT B., MPROVISI L. et PROVOST F., 1990.** Détection de Galactomanane dans les aspergilloses invasives humaines et animales avec un test au latex. *Bull.Soc. Fr. Mycol. Med.*, XIX, (1), 35 – 42.
- **DUPONT B.F., DROMER F. and IMPROVISI L., 1996.** The problem of azole resistance in *Candida*. *J. Mycol. Med.* 6 suppl. 2, 12–19.
- **DUPONT B., MPROVISI L., DROMER I., 1997.** Facteurs d'échec clinique du traitement des candidoses oropharyngées au cours du SIDA. *La lettre de l'infectiologie*. Institut Pasteur – Paris, 23-30.

- **DUPONT B., 2002.** Encycl. Med. ChIr., Maladies infectieuses, 8-607-A-15. 517-600.
- **EBRAHIM M. S., 2003.** Médecine traditionnelle. Observation de la santé en Afrique. *Rev Régional.* 2003 ; 4 : 7-11.
- **ECOVIE (vie et écologie) 2008.** Les principes actifs des plantes médicinales. <http://www.medecinesnaturelles.com/index.php?to=334> consulté le 26 Février.
- **EHOLIE S. P., 1993.** Etude des infections opportunistes au cours du SIDA, à propos de 262 cas diagnostiqués, Thèse. Dipl. d'Etat. Med. Abj. N°1517, page n°81.
- **ESTERRE P., ANDRIANTSIMAHAVANDY A. et RAHARISOLO C., 1997.** Histoire naturelle des chromoblastomycoses à Madagascar et dans l'Océan Indien. *Bull. Soc. Path.. Exot.* 90, 312 – 317.
- **FAN Y.M., XU L.Z., GAO I. J., WANG Y., TANG X. H., ZHAO X. N. and ZHANG Z.X., 2003.** Phytochemical and antiinflammatory studies on *Terminalia catappa*. Institute of Materia Medica, Nanjing University School of Medicine, Nanjing 210093, PR China. *Fitoterapia.* Volume 75, Issues 3-4, 253-260.
- **FERNANDEZ DE LA PRADILLA C., 1981.** Des plantes qui nous ont guéris (I), Jeunesse d'Afrique, Ouagadougou, 208 p.
- **FERNANDEZ DE LA PRADILLA C., 1985.** Des plantes qui nous ont guéris (II), Pabre, Ouagadougou, 101 p
- **FEUILHADE de CHAUVIN M., 1998.** "Mycoses métropolitaines". Encyclopédie Médicale et Chirurgicale (Elsevier, Paris), Dermatologie, 12-320-A-10, 1-10.
- **FOFANA S., 2004.** Exploration biochimique sur le pouvoir immunogène de trois plantes en Côte d'Ivoire : *Alstonia boonei* (APOCYNACEAE), *Mitragyna ciliata* (RUBIACEAE) ET *Terminalia catappa* (COMBRETACEAE). Thèse. Dipl. d'Etat. Pharm. Bamako., 100 p.
- **GARRIGUES J.C., PEREZ E., LINAS M.D., RICO-LATTES, SEGUELE J.P. et LATTES A., 1996.** Tests *in vitro* et études quantitatives de relation structures-activité (QSAR) pour la détermination des propriétés antiaspergillaires d'une série d'analogues de glycolipides. *J. Mycol. Méd.* 6 :111-117.
- **GENTILINI M., CAUMES E., DANIS M., MOUCHET J., DUFLO B., LAGARDIERE B., DOMINIQUE R.L. et BRUCKER G., 1993.** Médecine tropicale. Ed. Flam. Med. Sciences, 955 p.
- **GHANIA B.A., 1984.** Contribution à l'étude des manifestations respiratoires dues à

l'Aspergillus. Thèse de Tunis. 124 p.

- **GRILLOT R., 1996.** Les mycoses humaines : démarche diagnostique. Elsevier, collection Option/Bio, 392 p.
- **GUEDE- GUINA F., OFFOUMOU A. M., BERREBI-BERTRAND I., MAIXENT J. M. and LELIEVRE L. G., 1990.** Reactivity of MSN with Na⁺, K⁺ ATPase isoforms of monkey heart sarcolemma. *Ann. Sci. Tech.*, Abidjan Univ., Tome XXIV-B, 1-12.
- **GUEDE-GUINA F., TSAI C. S., SMITH M. O. and OCHILLO R. F., 1991.** Pharmacological characterization and concentration of active ingredients of *Mareya micrantha*. *ABM.* 2(2), 17-22.
- **GUEDE-GUINA F., BERREBI-BERTRAND I., SMITH M. O. and OCHILLO R. F., 1991.** Pharmacological characterization of novel ouabain analog from *Mansonia altissima*. 'Proceeding of word first congress on cell and Mol. Bio. ' by Peters press, Bondgoetenlan 153, B-300, leuven, Belgium.
- **GUEDE-GUINA F., VANGAH-MANDA M., BONGA G. M et DE SOUZA C., 1996.** Activité antimicrobienne d'un extrait végétal contre les germes opportunistes au cours du SIDA. *Revue Méd. et Pharm. Afric* 9 (1), 13-19.
- **GUEDE-GUINA F.; KRA A. M., VANGAH-MANDA M. BONGA G. M., et DE SOUZA C., 1997.** Inhibition par MISCA-F₂ de la croissance de *Aspergillus fumigatus*; *Candida albicans* et *Cryptococcus neoformans*, 3 germes fongiques opportunistes du SIDA. *J. Afrique Bioméd.*, 2, (1), 11-16.
- **GUELZIM K., LMIMOUNI B., KOUACH J., MELLOUKI W., et FIHRI H. S., 2004.** Epidémiologie des candidoses vaginales à Mitrovica, Kosovo. *Rev. Armées* ; 77 : 261-266.
- **HERBAUD S., VOURIOT J., BERLE M. et PAILLAUD E., 2007.** Candidoses orales chez les personnes âgées hospitalisées : fréquence, facteurs de risque et prévention. *Hygiènes* ; 15 : 385-389.
- **HALEY L. D. and CALLAWAY C.S., 1978.** Laboratory methods in medical mycology (Edition II). Atlanta, USA: department of health Education and Welfare. *Centers for disease control, Hew Pub. NA (CDC)* 78-361.
- **HARVERY C. and LONGBOTTMON J. L., 1986.** Characterization of a major antigenetic component of *Aspergillus fumigatus* . *Clin. Exp. Immunol.* 65 :206-214.
- **HATANO T., YASUHARA T., YOSHIHARA R., AGATA I., NORO T. and OKUDA T., 1990.** Effects of interaction of tannins with co-existing substances. VII. Inhibitory effects of tannins

and related polyphenols on xanthine oxidase. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* (Tokyo) 38, 1224–1229.

- **HECHT S. M., BERRY D. E., MACKENZIE L. J., BUSBY R.W. and NASUTI C. A., 1992.** A strategy for identifying novel, mechanistically unique inhibitors of topoisomerase I. *Journal of Natural Products* 55, 401–413.

- **HENKE H., 1995.** Preparative gel chromatography on sephadex LH-20. Heidelberg: Huthig, Chromatography methods. ISBN 3-7785-2428-3. 89-135.

- **HOLT R. J., 1975.** Laboratory test of antifungal drugs. *J. Clin. Path.*, (18), 767- 774.

- **IONELA D. C., and ION I. B., 2007.** Plant products as antimicrobial agents. *Analele Științifice ale Universității Alexandru Ioan Cuza*”, Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară, TOM VIII, 151 – 156.

- **IWU M. M., DUNCAN A. R., and OKUNJI C. O., 1999.** New antimicrobials of plant origin. Reprinted from: *Perspectives on new crops and new uses*. J. Janick (ed.), ASHS Press, Alexandria, VA. 457 – 462.

- **JACQUEMIN LE VERN H., 1999.** Conduite à tenir devant une mycose vulvo-vaginale, qu'il s'agisse d'un épisode aigu ou d'une récurrence. *Quotidien du médecin*, N° 6492 du 06 mai 1999. 16 p. <http://www.quotimed.com> consulté le 18 -10- 2006.

- **JEWKES J., KAY P., PANETH M. and CITRON K., 1983.** Pulmonary aspergilloma : analysis of prognosis in relation to haemoptysis and survey of treatment. *Thorax*; 38: 572-578.

- **JOFFIN J. N., 2003.** Les cours de mycologie. 109p.

- **KASHIWADA Y., NONAKA G., NISHIOKA I., LEE K. J., BORI I., FUKUSHIMA Y., BASTOW, K.F. and LEE K. H., 1993.** Tannins as potent inhibitors of DNA topoisomerase II in vitro. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 82, 487–492.

- **KERHARO, J. and A. BOUQUET., 1950.** Plantes médicinales et toxiques de la Côte d'Ivoire et Haute-Volta. Vigot Frères eds, Paris, 291p.

- **KERNBAUM S., 1980.** *Eléments de Pathologie infectieuse spécia.* , 1-185.

- **KERNBAUM S., 1985.** *Eléments de pathologie infectieuse.* 3^{ème} édition. Chap XII, Villebranne, Paris. *Specia*, 201-202.

- **KETANI A., BELKHADIR Z. H., MOSADIK A., FAROUDY M., ABABOU A. et LAZREQ C., 2006.** Traitement antifongique des candidoses systémiques en réanimation. *J. Mycol. Med.* ; 16 : 16-25.
- **KOENIG H., 1995.** Guide de mycologie médicale. Ellipses, 284 p.
- **KOUAKOU A. V., N'GUESSAN J. D., KRA A. K. M. et GUEDE-GUINA F., 2007.** Activité antifongique et screening phytochimique de THOS (extrait aqueux de *Thonningia sanguinea*). *Revue Med. Pharm. Afr.* (20): 45-52.
- **KUBO I., MUROI H. and HIMEJIMA M., 1993.** Combination effects of antifungal nagilactones against *Candida albicans* and two other fungi with phenylpropanoids. *J. Nat. Prod.* 56: 220 – 226.
- **KRA A. K. M., 1997.** Evaluation des effets d'un nouveau anti- aspergillaire de source naturelle. DEA, Université de Cocody Abidjan Côte d'Ivoire 30 p.
- **KRA A. K. M., 2001.** Evaluation et amélioration par séquençage chromatographique d'une action antifongique de MISCA contre *Aspergillus fumigatus*. Thèse de Doctorat 3^e cycle. UFR Biosciences. Université de Cocody Abidjan, Côte d'Ivoire 126 p.
- **KRA A. K. M., ZIRIHI G. N. et GUEDE-GUINA F., 2002.** Evaluation et amélioration par fractionnements chromatographiques d'une action antifongique de MISCA contre *Aspergillus fumigatus*. *Afri. Bioméd.* 4, (7) : 17-22.
- **LAFONT R., 2005.** Méthodes physiques de séparation et d'analyse et méthodes de dosage des biomolécules. Biologie et Multimédia - Université Pierre et Marie Curie - UFR de Biologie. 39 p.
- **LAGNIKA L., 2005.** Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises. Thèse de Doctorat pharm. Université Louis Pasteur de Strasbourg/Université d'Abomey-calavi, Bénin. 268 p.
- **LARONE D. H., 1995.** Medically important fungi. A guide to identification. ASM Press, 3rd. ed., 274 p.
- **LARREGUE M., 1980.** Dermatologie- Vénérologie. Cahier de l'infirmière. Masson 2^e Edition. Collection en vingt fascicules. 7-61.
- **LATGE J.P., MOUTAOUAKIL M., DEBEAUPUIS J.P., BOUCHARA J.P., HAYNES K. and PREVOST M. C., 1991.** The 18 -Kilodalton antigen secreted by aspergillous fumigatus. *Infect Immunol* ; 59 : 586-594.
- **LAURENT F., SAPIN V., VINCENT M. C. et CAMPAGNI P.H., 1992.** "Les Aspergilloses"

Pharmaceutique, 43, (6), 339-349.

- **LEBEAU R., 1995.** Les candidoses cutanées, muqueuses et profondes. Corpus médical de la Faculté de Médecine de Grenoble, 2ème cycle médical, Université Joseph Fourier. 4 p.
<http://www-sante.ujf-grenoble.fr/sante/corpmcd/Corpus/corpus/question/inf153.htm> consulté le 12 08 2005.
- **LECLERCQ R. et SUEUR T., 1969.** "Les professions médicales et sociales". Collection à usage internationale. Ed. Foucher. 616 p.
- **LEOPHONTE P., 1994.** Aspergillus et pathologie respiratoire. Paris: Platoon. 81p.
- **LEUNG P.S.G., GERSHWIN M.E. and CARLES P., 1988.** Localization molecular weight , and immunoglobulin subclass response to A fumigatus allergens in acute bronchopulmonary aspergillosis . Arch. Allergy Appl. Immunol 85 : 416-21.
- **LEVEZIEL N., 2000.** Infections à dermatophytes de la peau glabre et des plis. *Revue du praticien.* 50: 655-660.
- **LIN C.C., CHEN Y.L., LIN J.M. and UJIE T., 1997.** Evaluation of the antioxidant and hepatoprotective activity of *Terminalia catappa*. *The American Journal of Chinese Medicine* 25, 153–161.
- **LIN C.C., HSU Y.F. and LIN, T.C., 1999.** Effects of punicalagin and punicalin on carrageenan-induced inflammation in rats. *The American Journal of Chinese Medicine* 27, 371–376.
- **LONGBOTTMON J. L., 1986.** Antigens and allergens of aspergillus fumigatus II Their further identification and partial characterization of a major allergen (Ag 3) .*Allergy Clin Immunol*; 78:18-24.
- **LOREN L., ROBIN H. D., CHRIS N. C., CARMELITE T., KOSTER F., SATTLER S., SQUIRES K. and MUHAMMED. Z. I., 1992.** "Fluconazole compared with ketonazole for the traetment of Candida esophagitis in AIDS." *Annals of internal Medicine.* 8, (117) : 655- 660.
- **LOUROGNON G. J., 1995.** Médecine traditionnelle africaine; Tome II: Plantes et Pharmacopée chez les bétés de la région de Daloa (C-I) (communication personnelle).102 p.
- **MAESAKI S., KOHNO S., YAMADA H., MATSUDA H., MIYAZAKI T., KAKU M., KOGA H. and HARA K., 1994.** Antifungal activity against Aspergillus fumigatus mycelial cells measured by wet weight, protein cocentration and enzymatic activity. *J. Mycol. Med.*, (4), 29 – 33.
- **MARTINE J., 2007.** Cours de mycologie 2. 53 p.

- **MARTY P., BRUN S. et GARI-TOUSSAINT M., 2000.** Les mycoses profondes tropicales. *Med. Trop.*, 60, 288-290.
- **MASLIN J., MORAND J.J. et CIVATTE M., 2001.** Les chromomycoses (chromoblastomycoses). *Med. Trop.*, 61, 459-461.
- **MASLIN J., MORAND J. J., MENARD G. et CAMPARO P., 2002.** Les cryptococcoses. *Med. Trop.*, 62, 480-484.
- **MASLIN J., MORAND J. J. et CAMPARO P., 2003.** Zygomycoses et Blastomycoses. *Méd. Trop.*, 63, 23-27.
- **MASLIN J. MORAND J. J., MENARD G. et CAMPRO P., 2004.** Aspergilloses. *Med. Trop.*, 64, 11-17.
- **MASUDA T., YONEMORI S., OYAMA Y., TAKEDA Y., TANAKA T., ANDOH T., SHINOHARA A. and NAKATA M., 1999.** Evaluation of the antioxidant activity of environmental plants: activity of the leaf extracts from seashore plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47, 1749–1754.
- **MILESI-LECAT A. M., AUMAITRE O., DEUSEBIS T., KAUFMAN F., TRIDON A., CAMBON M. and MARCHEIX J. C., 1994.** Aspergillose pulmonaire semi-invasive avec anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires de type diffus : Deux observations. *Ann. Med. Interne* ; 145 :140-146.
- **MORAND J. J., KOEPEL M. C., SAYAG J., MARROT F., NORMAND P. et SAINT-ANDRE P., 1996.** Manifestations cutanéomuqueuses des affections tropicales in *Guide illustré de diagnostic en Dermatologie et vénérologie. Tome II. Sandoz. Ellipses/ Edition.* 441-450.
- **MORAND J. J. et MASLIN J., 2003.** Sporotrichose. *Encycl. Med. Chir., Maladies infectieuses*, 8-604-A-10, 503-512.
- **MOUTET A., LIOTE H., MILLERON B., MALEPART M.G. et AKOUN G., 1988.** Aspergillome pulmonaire d'apparition précoce. *Rev. Pneumol. Clin*; 44 : 187-189.
- **MUNK P.L., VELLETT A.D., RANKIN R.N., MULLER N.L. and AHMAD D., 1993.** intracavitary aspergilloma : transthoracic percutaneous injection of amphotericin gelatin solution . *Radiology* ;188 : 821 -823.
- **NAGAPPA A. N., THAKURDESAI P. A., VENKAT R. N. and JIWAN S., 2003.** Antidiabetic activity of *Terminalia catappa* Linn fruits. *Journal of Ethnopharmacology* 88: 45–50.

- **N'GUESSAN K., 1995.** Contribution à l'étude ethnobotanique chez les krobou de la sous-préfecture d'Agboville (C.I). Thèse de Doctorat 3^e cycle. UFR Biosciences. Université de Cocody Abidjan Côte d'Ivoire, 557 p.
- **NORMAND P. H., 1991.** Affections dermatologiques contractées sur les tropiques. Editions Techniques. Encyclopédie. Médicale. Chirurgicale. (Paris- France). Dermatologie, 12-935-A-10, 212-221.
- **NORMAND P. H., 1993.** Aspects actuels de dermatologie sur peau noire. Editions Techniques. Encyclopédie. Médicale. Chirurgicale. (Paris- France). Dermatologie, 12-945-A-10, 338- 397.
- **OMS (ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE), 1998.** Rapport de mission d'étude au Mali : visite du centre de médecine traditionnelle et des structures parallèles. Rapports de mission. Direction des établissements et professions sanitaires, sous direction de la médecine traditionnelle. Genève : OMS, 20 p.
- **PAULI G. Et DIETEMANN A., 1995.** Aspergilloses pulmonaire allergiques. *Rev. fr. Allergol.* ;35 : 323-328.
- **PATTERSON R. and GRAMMER L. C., 1995.** Immunopathogenesis of allergic bronchopulmonary aspergillosis .Dans : Patterson R , Greenberger PA , Roberts ML . eds. Allergic bronchopulmonary aspergillosis . Rhode Island : Ocean side publ : 35-38.
- **PAWAR S. P., PAL S. C. and KASTURE V.S., 1997.** Anti inflammatory activity of *Terminalia catappa* Linn. Pharmacy focus in the new millennium abstracts. 110 p.
- **PECHERE J. C., 1970.** "Reconnaître, comprendre, traiter les infections." Edisem. Inc. Maloine. Inc, 475-517.
- **PERBET C., 1999.** Les infections mycotiques : Les candidoses. 6p. www.caducee.net/.../infection/candidose.asp. Consulté le 09 – 11 - 2005.
- **PIERARD G., CAUMES E., FRANCHIMONT C. et ESTRADA J. A., 1993.** "Dermatologie Tropicale ". UREF. Université de Bruxelles; 247-306.
- **PILLY E., 2004.** Maladies infectieuses et tropicales - 19^{ème} édition. Ed.2M2, 656 p.
- **PLANTIN P., 1997.** Les candidoses cutanéomuqueuses en 1997. Objectif Peau ; 5 : 195 p.
- **POULAIN D. et FEUILHADE de CHAUVIN M., 1995.** Candidoses et levures diverses. Encyclopédie. Médicale. Chirurgicale. (Elsevier, Paris). Maladies infectieuses, 8-602-A-10, 1-12.

- **POUSSET J L., 1989.** Plantes médicinales africaines. Lomé I. Utilisation pratique, Editions Ellipses- ACCT. Paris, 156 p.
- **POUSSET J.L., 2002.** Nouveaux médicaments: Savoir discerner le véritable progrès thérapeutique. Réseau Médicaments et Développement, 87-112.
- **POUSSET J L., 2004.** Plantes médicinales d’Afrique. Comment les reconnaître et les utiliser. Edsud ed, 287 p.
- **POUSSET J L., 2006.** Place des médicaments traditionnels en Afrique. Médecine Tropicale. 66; 606-609.
- **RANA B. K., SINGH U. P. and TANEEJA V., 1997.** Antifungal activity and kinetics of inhibition by essential oil isolated from leaves of *Aegle marmelos*. J. Ethnopharmacol. 57:29-34.
- **RASSNER G., 1983.** "Atlas de dermatologie avec diagnostics différentiels", 201p.
- **RATNASOORIYA W. D. and DHARMASIRI M.G., 2000.** Effects of *Terminalia catappa* seeds on sexual behaviour and fertility of male rats. *Asian Journal of Andrology* 2, 213–219.
- **RIBAUD P. and GLUCKMAN E., 1996.** Critical review of lipid Amphotericin B formulations as treatment of invasive aspergillosis in patients with hematological disorders or bone marrow transplantation (BBM). *J. Mycol. Med.*, 6, Suppl. I. 117 – 120.
- **ROSENHEIM M. and ITOUA N. A., 1989.** SIDA. Infections à VIH. Aspects en zone Tropicale. Ellipse/ Aupelf Ed. Paris, Série Médecine tropicale, 336 p.
- **ROSSET R., CANDE M. and JARDY A., 1982.** Manuel pratique de chromatographie en phase liquide. Masson, Paris. 137 p.
- **SALVAT J., ROMAND P., VINCENTGENO A., YOUNES B. et GUILBERT M., 1999.** Mycoses vulvo-vaginales récidivantes (MVVR). Centre hospitalier THONON 74203. 9 p.
[http:// www.gyneweb. fr / sources/ congres/ aa/ ttgyn/ ttmyc. Hhtml](http://www.gyneweb.fr/sources/congres/aa/ttgyn/ttmyc.Hhtml) consulté le 09 – 11 - 2005.
- **SANOGO M., 2007.** Evaluation de l’activité antifongique de *Abrus precatorius* sur la croissance *in vitro* de *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* et *Trichophyton mentagrophytes*. Mémoire DEA. Biotechnologie, Université de Cocody, Abidjan. Côte d’Ivoire. 32 p.
- **SAYAG J., BADILLET G. et ZAGULA M., 1995.** Efficacité et tolérance du Lamisil® (terbinafine). Etude multicentrique dans les mycoses cutanées et unguéales. *Nouv. Dermatol.* 14 : 547-552.

- **SAYAG J., BADILLET G. et ZAGULA M., 1996.** Lamisil crème® (terbinafine). Efficacité et tolérance. Etude multicentrique dans les mycoses cutanées. *Nouv. Dermatol.* 25 : 101-105.
- **SCHMUTZ. J. L. et BARBAUD. A., 1995.** "Dermatoses virales": herpès, Varicelle, Zona, Dermatoses à poxvirus et entérovirus. Editions Techniques. Encyclopédie. Médicale. Chirurgicale. (Paris- France). *Dermatologie*, 12-430-A-10, 289-298.
- **SCHWAB D., 1995.** Candidiasis : candidose et HIV . Project Inform Facts Sheet, San Francisco. 8p. <http://www.projinf.org/fs/candida.html> consulté le 09- 11- 2005.
- **SHIMIZU, M., HORIE, S., TERASHIMA, S., UENO, H., HAYASHI, T., ARISAWA, M., SUZUKI, S., YOSHIKAWA, M. and MORITA, N., 1989.** Studies on aldose reductase inhibitors from natural products. II. Active components of a Paraguayan crude drug 'Para-parai mi', *Phyllanthus niruri*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin (Tokyo)* 37, 2531–2532.
- **SMITH I. and SEAKINS J. W., 1976.** Chromatographic and electrophoretic technic, paper and thinlayer chromatography. 4th Edition,. Hineman, London. 38-112.
- **SMITH R. L., MORELLI M. J. and ARANDA C. P., 1987.** pulmary Aspergilloma diagnosed by fiberoptic bronchoscopy .*Chest* ; 92 : 948-949.
- **STEVENS D. A., 1997.** Oral Amphotericin B as antifungal agent. *J. Mycol. Méd.* 7: 241-242.
- **SUAREZ S., 1997.** New antifungal therapy for children. *Adv. Dermatol.* 12 : 195-208.
- **SURESH B., SRIRAM S., DHANARAJ S. A., ELANGO K. and CHINNASWAMY K., 1997.** Anticandidal activity of *Santolina chamaecyparissus* volatile oil. *J. Ethnopharmacol.* 55: 151-159.
- **SYED M. A., VRUSHABENDRA S. B. M., RDHANAPAL P. G. and CHANDRASHEKARA V. M., 2005.** Anti-Diabetic Activity of *Terminalia catappa* Linn. Leaf Extracts in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics* 4, 1, 36—39.
- **TA-CHEN L. and FENG-LIN H., 1999.** Tannin and Related Compounds from *Terminalia catappa* and *Terminalia parviflora*. *J. Chin. Chem. Soc.*, 4, (46) : 613-618.
- **TALLA N. R., 2001.** Contribution au traitement des candidoses buccales au cours de l'infection à VIH : Evaluation de l'activité antifongique de *Cassia alata* sur la croissance in vitro de *Candida albicans*. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Faculté de Pharmacie. Université de Cocody Abidjan, Côte d'Ivoire, 79 p.

- **TESTA J., TRAORE L. K., COMPAORE L. et SONDO B., 1994.** Les teignes en milieu scolaire dans la ville de Ouagadougou (BF). *J. Mycol. Méd.* 4, 41-44.
- **THERIZOL-FERLY M., 1990.** Cours de mycologie médicale pour le C.E.S de parasitologie. Faculté de Médecine d'Abidjan, 169 p.
- **THES P. M., 2008.** Contribution à l'élaboration d'un savon antimicrobien à des fins cosmétiques et médicales. Thèse de Doctorat d'Université. UFR Biosciences. Université de Cocody Abidjan Côte d'Ivoire, 200 p.
- **TESSILIMI Y A., 2008.** Evaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne de *Microglossa pyrifolia* de l'Ouest). Mémoire DEA. Université de Cocody. UFR Boisciences. Abidjan. Côte d'Ivoire, 32 p.
- **THIOMBIANO A., SCHMIDT M., KREFT H. et GUINKO S., 2006.** Influence du gradient climatique sur la distribution des espèces de *Combretaceae* au Burkina Faso (Afrique de l'Ouest). *Candollea*: 189-213.
- **TOMLINSON J. R., SAHN S. A., 1987.** Aspergilloma in Sarcoid and Tuberculosis .Chest; 92: 505-508.
- **VANBREUSEGHEN R., DEUROEY C. et TAKASHIO M., 1979.** Guide pratique de mycologie médicale et vétérinaire. 2^e Edition. Paris : Masson. 265 p.
- **VANGAH-MANDA M., 1983.** Contribution à l'inventaire des plantes médicinales utilisées dans la région sud-est de la C.I. DEA. Université de Cocody. Côte d'Ivoire. Abidjan. 57 p.
- **VANGAH-MANDA M., 1986.** Contribution à la connaissance des plantes médicinales utilisées par les ethnies Akans dans la région littorale de la C.I. Thèse de Doctorat 3^e Cycle. Faculté des Sciences et Techniques. Université de Cocody Abidsjan Côte d'Ivoire. 257 p.
- **VIGUE-VALLANET C., 1996.** Les prélèvements mycologiques. Impact. Médecin, 17-18.
- **VIGUE-VALLANET C., 2001.** Traitements antifongiques en dermatologie. Encyclopédie. Médicale. Chirurgicale. Editions Scientifiques et Médicales. Elsevier SAS. Paris. Dermatologie. 98-906-A-10, 236-278.
- **VOISIN C., WATTER F. et WALLAERT C., 1970.** Mycoses broncho-pulmonaires. EMC. Maladies infectieuses. Paris. 603 -610.
- **WANG Y., GAO J., ZHANG Z. X., FAN Y., XU M., TANG X. H. and ZHAO X. N., 2004** Phytochemical and antiinflammatory studies on *Terminalia catappa*. Institute of Materia Medica,

Nanjing University School of Medicine, Nanjing 210093, China. *Fitoterapia*, (Vol. 75) (No. 3/4) 253-260.

- **WOME B., 1985.** Recherches ethnopharmacologiques sur les plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle à Kisangani (Haut-Zaïre). Thèse Doct., Univ. Libre Bruxelles, 561 p.
- **YAO N. A., NGORAN N., DE JAURE G. J. P., BERARD H. et JAUBERT D., 2002.** Immunodépression et infections pulmonaires. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 95, 257-261.
- **YUN-LIAN L., YUEH-HSIUNG K., MING-SHI S., CHIEN-CHIH C. and JUN-CHIH O., 2000.** Flavonoid Glycosides from *Terminalia catappa* L. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 47, 253-256.
- **ZIRIHI G. N., (1991).** Contribution au recensement à l'identification et à la connaissance de quelques espèces végétales utilisées en médecine traditionnelles chez les bétés du département d'Issia, Côte d'Ivoire. Thèse de doctorat de 3^{ème} cycle. Botanique. Université de Cocody, U.F.R. Biosciences. Abidjan, Côte d'Ivoire. 253 p.
- **ZIRIHI G. N., KRA A. K. M. et GUEDE-GUINA F., 2003.** Evaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* (Lamarck) O. Kuntze (Asteraceae) "pymi" sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*. *Revue Méd. Pharm. Afr.* Vol. 17, 11-18.
- **ZIRIHI G. N., MAMBOU L., GUEDE-GUINA F., BODO B. et GRELLIER P., 2005.** *In vitro* antplasmodial activity and cytotoxicity of 33 West African plants used for the treatment of malaria. *J. Ethno.* 98, 281-285.
- **ZIRIHI G.N., KRA A. K. M. et ETIEN D. T., 2007.** Etude botanique et évaluation des activités antifongiques de *Mitracarpus villosus* (MV) (*Rubiaceae*) et *Spermacoce verticillata* (SV) (*Rubiaceae*) sur la croissance *in vitro* de *Aspergillus fumigatus*. *Revue Médecine et de Pharmacologie d'Afrique* (20) : 9-18.

ANNEXE I

PUBLICATIONS

PUBLICATION

N° 1

**ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIFONGIQUE DE TEKAM, UN
EXTRAIT DE PLANTE, SUR LA CROISSANCE *IN VITRO* DE
*CANDIDA ALBICANS***

**Bognan A. Auguste Jacques ACKAH^{1,*}, Mathieu Koffi Adou KRA¹,
Noël Guédé ZIRIHI² et Frédéric GUÉDÉ-GUINA¹**

¹Laboratoire de pharmacodynamie biochimique, UFR Biosciences,
Université de Cocody, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

²Laboratoire de botanique, UFR Biosciences, Université de Cocody, 22 BP
582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

(Reçu le 07 Janvier 2008, accepté le 02 Juin 2008)

* Correspondance et tirés à part, e-mail : jacquackah@yahoo.fr

RÉSUMÉ

Dans le but d'apporter notre contribution à la lutte contre les mycoses opportunistes en forte recrudescence chez les malades du SIDA, notre équipe a testé différents extraits végétaux (aqueux, éthanolique, butanolique, hexanique, et acétalique) de TEKAM, une poudre végétale obtenue à partir d'une combretacée sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*. *Candida albicans* est sensible aux différents extraits de TEKAM. Parmi les huit extraits testés, X_{1,2} possède la plus forte activité inhibitrice (CMF= 45 µg/mL). La méthode de préparation de l'extrait (X_{1,2}) par partitions de l'extrait éthanolique dans une succession de plusieurs solvants est une bonne voie pour arriver à une meilleure concentration des principes actifs.

Mots-clés : *Combretaceae, extraits végétaux, activité anticandidosique, champignons opportunistes, Tekam, Candida albicans*

ABSTRACT

Assessment of the antifungic activity of TEKAM an excerpt of plant on the growth in vitro of *Candida albicans*

In order to bring our contribution to struggle against the opportunist mycosis in strong upsurge at the patients of the AIDS, our team tested different plant excerpts (aqueous, ethanolic, butanolic, hexanic, and acetalic) of TEKAM, a plant powder got from a combretaceae on the in vitro growth of

Candida albicans. *Candida albicans* is sensitive to the different excerpts of TEKAM. Among the eight tested excerpts, X_{1.2} possesses the strongest inhibitory activity (CMF =45 µg /mL). The method of preparation of the excerpt (X_{1.2}) by partition of the excerpt ethanolic in a succession of several solvents is a good way to arrive to a better concentration of the active principles.

Keywords : *Combretaceae, plant excerpt, anticandidosic activity, opportunist mushrooms, Tekam, Candida albicans.*

I - INTRODUCTION

La lutte que nous menons contre les infections se fonde sur le fait que ces vingt dernières années ont vu une nette recrudescence des pathologies infectieuses, aggravées depuis 1980 par l'avènement des récives et des maladies nouvelles dont les infections à VIH et leur concert d'infections opportunistes [1-22]. Parmi ces infections opportunistes, on compte aussi bien des viroses, des bactérioses que des mycoses. Au niveau des mycoses, les candidoses, les cryptococcoses et les aspergilloses constituent le trio de tête. Elles sont devenues de nos jours, un réel problème de santé public.

Par ailleurs les populations africaines, du fait des contextes économiques difficiles, n'ont pas tous accès aux produits pharmaceutiques importés. De ce fait elles ont de plus en plus recours aux plantes médicinales locales pour se soigner.

Pour aider les populations démunies à tirer un réel avantage de l'usage de ces plantes médicinales, de leur pharmacopée, notre équipe de recherche a entrepris, depuis plus d'une dizaine d'années, d'évaluer sur le plan scientifique, l'efficacité des plantes à vertus thérapeutiques et d'en isoler les principes actifs. Pour y parvenir, nous avons mené des enquêtes ethnobotaniques qui ont abouti à la sélection de plusieurs plantes auxquelles on prête des vertus anti infectieuses et qui sont très utilisées par les tradithérapeutes. Plusieurs travaux ont déjà été initiés en vue d'évaluer le pouvoir antimicrobien de certaines de ces plantes [17,23,24].

La présente étude vise à faire le point des résultats concernant les tests d'évaluation de l'activité anticandidosique de TEKAM, un extrait d'une combrétacée de la pharmacopée ivoirienne.

II - MATÉRIEL ET MÉTHODES

II-1. Préparation des extraits totaux

L'écorce de TEKAM a été récoltée, découpée et séchée à l'abri du soleil. Après leur séchage, les éléments végétaux ont été finement broyés dans un broyeur électrique. La poudre obtenue a été nommée TEKAM.

Pour obtenir les extraits totaux aqueux et éthanoliques, la poudre de TEKAM a été extraite comme suit :

Cent grammes de poudre de *TEKAM* ont été extraits dans un litre de solvants (eau distillée ou éthanol 70 %) par broyage dans un blender (mixer). L'homogénat obtenu est d'abord essoré dans un carré de tissu, puis filtré successivement deux fois sur du coton hydrophile et sur du papier filtre Wattman. Le filtrat obtenu est concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif de type Bücher à la température de 60°C.

L'extrait éthanolique est évaporé à sec, par contre l'extrait aqueux est seulement concentré pour avoir une pâte qui est lyophilisée. L'extrait éthanolique est appelé $TEKAM_0$ ou X_0 et l'extrait aqueux $TEKAM_{aq}$ ou X_{aq} .

Trois portions de 10 grammes de X_0 sont constituées et soumises séparément à partition dans 100 mL de trois différents mélanges de solvants (hexane-eau; acétate d'éthyle-eau ; Butanol-eau 50/50 ; v/v). Après décantation, les différentes phases ont été séparées et concentrées à l'aide d'un évaporateur rotatif. On obtient respectivement les extraits suivants :

$X_{1,1}$: la phase hexanique.

$X_{1,2}$: la phase aqueuse issue de la partition hexane-eau.

$X_{2,1}$: la phase acétatique.

$X_{2,2}$: la phase aqueuse issue de la partition acétate d'éthyle-eau.

$X_{3,1}$: la phase butanolique.

$X_{3,2}$: la phase aqueuse issue de la partition butanol-eau.

Tous les huit extraits ont été testés séparément sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*.

II-2. Champignons testés

La souche de champignon à savoir : *Candida albicans*, sur laquelle nous avons fait les tests microbiologiques, a été fournie par le laboratoire de mycologie de l'UFR des Sciences Médicales de Université de Cocody (Abidjan, Côte d'Ivoire). Ces germes ont été isolés des patients en provenance du service des maladies infectieuses du CHU de Treichville.

Candida albicans, est un champignon opportuniste qui est à l'origine de

diverses mycoses cutanées, muqueuses, phanériennes, septicémiques ou viscérales. Ses infections généralisées chez des sujets sévèrement immunodéprimés conduisent souvent à des décès [17,24,25].

II-3. Préparation des milieux de culture

Les cultures de *Candida albicans* ont été faites sur milieu Sabouraud (BIOMERIEUX/ Réf : 51078 : 777666501). L'incorporation des différents extraits végétaux à la gélose Sabouraud a été faite selon la méthode de la double dilution, en tubes penchés [17,26]. Tous les extraits ont été testés séparément. Chaque série comporte pour chaque extrait végétal 9 tubes tests contenant les extraits végétaux et 2 tubes témoins dont un est sans extrait végétal, servant de contrôle de croissance des germes, l'autre sans germes et sans extrait servant de contrôle de la stérilité du milieu de culture. Pour les 9 tubes tests, les concentrations varient de 1560 à 5 µg/mL selon une liaison géométrique de raison ½.

Après l'incorporation des extraits, tous les 11 tubes de chaque série sont stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes et ensuite inclinés avec petit culot à la température de la salle afin de permettre leur refroidissement et la solidification de la gélose [17,24,26].

II-4. Essai antimicrobien

L'inoculum est préparé à partir des cultures jeunes de *Candida albicans* (âgés de 48 heures d'incubation). La suspension mère (dite 10^0) concentrée à 10^6 cellules/mL est d'abord préparée, par homogénéisation d'une colonie de *Candida albicans* dans 10 mL d'eau distillée stérilisée. A partir de la suspension 10^0 , une seconde suspension (10^{-1}) est préparée par dilution au $1/10^{\text{ème}}$ de la première. Cette dernière est concentrée à 10^5 cellules/mL.

Pour chacun des tubes à essai de chaque série des huit extraits de plante, la culture des germes a été faite sur des milieux précédemment préparés par l'ensemencement en stries transversales (jusqu'à épuisement) de 10 µL de la suspension 10^{-1} . Cela correspond à 1000 cellules ensemencées.

Les cultures ainsi réalisées ont été incubées à 30°C. Après 48 heures et 72 heures d'incubation à 30°C, les colonies de *Candida albicans* ont été dénombrées par comptage direct grâce à un stylo compteur de colonies (N° de série 23382 de marque Scinceware de Bel-Art). La croissance dans les 9 tubes expérimentaux de chaque série a été évaluée en pourcentage de survivance, par rapport à 100 % de survivance dans le tube témoin de contrôle de croissance [4,6,7,27].

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

Concentration minimale fongicide (CMF). C'est la concentration d'extrait dans le tube qui donne 99,99 % d'inhibition comparativement au tube témoin de contrôle de croissance. Inversement, c'est la concentration d'extrait du tube qui laisse une survivance de 0,01 % par rapport au témoin de contrôle de croissance.

Concentration pour cinquante pour cent d'inhibition (CI₅₀). C'est la concentration qui donne 50 % d'inhibition, estimée par rapport au nombre de colonies dénombrées dans le tube témoin de contrôle de croissance. C'est un paramètre déterminé graphiquement.

III - RÉSULTATS

Après 48 heures d'incubation à 30°C, on observe comparativement au témoin, une baisse progressive du nombre de colonies de *Candida albicans* au fur et à mesure que les concentrations des extraits végétaux augmentent dans les tubes expérimentaux. Cela est observé pour toutes les séries des huit extraits.

Des inhibitions nettes et effectives ont été obtenues à différentes concentrations selon les extraits. Les valeurs des CMF (concentration minimale fongicide) pour les huit extraits sont consignées dans le **Tableau 1**. Les données expérimentales traduites sous forme de courbes de sensibilité sont résumées à la **Figure 1**.

Tableau 1 : Valeurs des paramètres antifongiques des différents extraits de TEKAM à 30°C et à 48 H d'incubation des cultures de *Candida albicans*

Différents extraits de TEKAM	Paramètres antifongiques	
	CI ₅₀ µg/mL	CMF µg/mL
X _{aq}	550	780
X ₀	150	195
X _{1,1}	70	395
X _{1,2}	10	45
X _{2,1}	60	195
X _{2,2}	20	95
X _{3,1}	580	1560
X _{3,2}	50	195

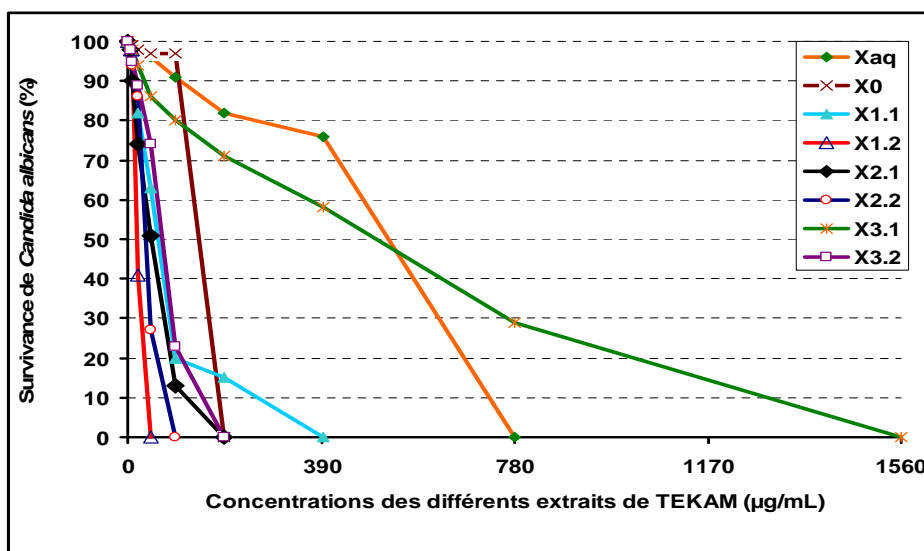


Figure 1 : Sensibilité de *Candida albicans* aux différents extraits de TEKAM.

De façon générale, toutes les courbes des huit extraits ont une allure décroissante, avec des pentes plus ou moins fortes. Les extraits X_{1,2}, X_{2,2}, X_{2,1} et X_{3,2} ont des courbes ayant les pentes relativement fortes, singulièrement celle de X_{1,2} tandis que X₀ et X_{1,1} ont des courbes à pentes moyennes. Les pentes les plus faibles sont observées avec celle de Xaq et particulièrement l'extrait X_{3,1}. Les valeurs des CI₅₀ (concentration pour 50 % d'inhibition) des différents extraits sur les courbes de sensibilité, ont été consignées dans le **Tableau 1**.

IV - DISCUSSION

Afin de vérifier les vertus anti-infectieuses accordées à TEKAM, nous avons de prime abord préparé l'extrait aqueux étant donné que l'eau est le solvant le plus utilisé pour la préparation des recettes traditionnelles.

Dans la seconde partie de notre étude, vu les bonnes performances obtenues avec l'extrait aqueux, nous avons voulu savoir si nous pouvions améliorer l'activité des extraits en utilisant d'autres solvants pour l'extraction. Au regard des travaux de *Zirihî et Kra* [24], nous avons choisi le mélange éthanol eau 70/30(v/v) comme solvant d'extraction. C'est à partir de ce solvant que nous avons préparé l'extrait éthanolique codifié X₀.

L'analyse des résultats des tests antifongiques avec les extraits de TEKAM montrent que *Candida albicans* est sensible à tous les 8 extraits testés (CMF

Xaq = 780 µg/mL, CMF X₀ = 195 µg/mL, CMF X_{1,1} = 395 µg/mL, CMF X_{1,2} = 45 µg/mL, CMF X_{2,1} = 195 µg/mL, CMF X_{2,2} = 95 µg/mL, CMF X_{3,1} = 1560 µg/mL et CMF X_{3,2} = 195 µg/mL). Aucun cas de résistance n'a été noté. Toutefois les performances des extraits varient selon les solvants. Les valeurs des concentrations inhibitrices obtenues révèlent que les extraits ont des activités antifongiques plus ou moins accentuées.

Pour ces extraits, nos résultats montrent qu'il y a une diminution progressive du nombre de colonies en fonction de l'augmentation de la concentration des différents extraits dans les tubes. Nous en déduisons que *Candida albicans* est sensible aux différents extraits de TEKAM selon une relation dose-reponse. La **Figure 1** récapitule toutes les courbes de sensibilité des 8 extraits testés sur *C. albicans*. Elle permet une comparaison des performances de ces 8 extraits. Notons que plus la pente d'une courbe est forte c'est-à-dire plus la pente se rapproche de l'axe des ordonnées, plus l'extrait considéré est actif.

Sur cette figure, on constate que de façon générale, toutes les 8 courbes ont une allure décroissante avec des pentes plus ou moins fortes. Sur la base des valeurs relatives de ces pentes, ces courbes peuvent être regroupées en 3 catégories :

- Les courbes dont les pentes sont très faibles et qui illustrent l'activité des extraits de X_{3,1} et Xaq.
- Les courbes ayant des pentes à valeur moyenne X₀ et X_{1,1}.
- Les courbes ayant des pentes fortes correspondant aux activités de X_{1,2}, X_{2,1}, X_{2,2}, et X_{3,2}. Parmi elles, celle de X_{1,2} possède la plus forte pente (**Figure 1** et **Tableau 1**).

Nos résultats révèlent que la valeur de la CMF de Xaq est 780 µg/mL et celle de X₀ est 195 µg/mL (**Tableau 1**). Cela justifie donc l'utilisation de la plante en milieu traditionnel comme antimicrobien. La comparaison des activités de l'extrait aqueux et de l'extrait éthanolique sur la base des CMF, montre que X₀ (CMF = 195 µg/mL) est 4 fois plus actif que Xaq.

La comparaison des performances de cet extrait avec l'extrait aqueux de MISCA ayant une valeur de CMF = 150000 µg/mL sur cette même souche [17,25,27,28] montre que TEKAM est nettement plus actif (192 fois).

De plus, la comparaison de nos résultats avec ceux de *Zihiri et Kra* [24] révèle que les extraits aqueux et éthanolique de TEKAM sont nettement plus actifs que les extraits de PYMI (PYMI₀, CMF = 50000 µg/mL ; PYMI₁, CMF = 25000 µg/mL). En fait, Xaq et X₀ sont respectivement 64 et 131 fois plus actifs.

Pour la suite des travaux, nous avons voulu améliorer les performances de X₀ en faisant des partitions avec plusieurs solvants tels que décrit dans la partie 'méthode'. Ces partitions nous ont donné six extraits codifiés X_{1,1}, X_{1,2},

X_{2,1}, X_{2,2}, X_{3,1}, X_{3,2}. L'analyse des résultats obtenus avec les six extraits issus des trois partitions montre que parmi ces extraits, X_{1,2} (CMF = 45µg/mL et CI₅₀ = 10µg/mL) est le plus actif.

En effet, la comparaison avec les extraits issus des différentes partitions montre que X_{1,2} est 2 fois plus actif que X_{2,2} ; 4,75 fois plus actif que X_{2,1} et X_{3,2}. Il est aussi 9,75 fois plus actif que X_{1,1} et enfin 39 fois plus actif que X_{3,1}. Par rapport aux extraits totaux aqueux et éthanoliques, la comparaison sur la base de la CMF montre que X_{1,2} est 4,75 fois plus actif que X₀ l'extrait de base ayant servi à sa préparation. Cette même analyse montre que X_{1,2} est 19,5 fois plus actif que l'extrait total aqueux.

De l'analyse de l'ensemble des résultats, il ressort 4 aspects essentiels :

- La souche *Candida albicans* est sensible à tous ces extraits testés.
- Il a été possible d'avoir des meilleures performances en préparant l'extrait à partir d'un solvant comportant 70 % d'éthanol et 30 % d'eau. Ce qui amène à déduire que du point de vue de leur masse que les principes actifs pourraient ne pas être des macromolécules. Ce sont certainement des molécules de tailles moyennes ou petites, solubles dans un solvant organique (en l'occurrence l'éthanol) pouvant être classées comme des huiles ou assimilées comme telles.
- Il a été possible d'améliorer la performance de l'extrait éthanolique en procédant à sa partition dans divers solvants. Ce qui a permis d'aboutir à X_{1,2} qui, à ce niveau de notre étude est l'extrait possédant la meilleure activité anticandidosique ; donc le meilleur potentiel antifongique. Ce qui nous amène à déduire que la méthode de partition initiée par Zirihi et Kra [24] est une bonne voie permettant de mieux sélectionner les principes actifs.
- La bonne performance de X_{1,2} permet de dégager que la combinaison de solvant hexane-eau (v/v) est celle qui convient pour une meilleure concentration du principe actif.

V - CONCLUSION

Cette étude nous situe sur le réel potentiel anti infectieux de TEKAM. Les résultats de ces investigations nous ont permis de comprendre que la souche *Candida albicans* est sensible à tous les huit extraits testés et que cette sensibilité est dose-dépendante. Cette étude nous a permis de montrer que les extraits testés ont une activité antifongique plus ou moins accentuée sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*.

La préparation des extraits par la méthode de Zirihi et Kra [24], a permis d'obtenir par partitions plusieurs extraits (X_{1,1}, X_{1,2}, X_{2,1}, X_{2,2}, X_{3,1}, X_{3,2}) parmi lesquelles, X_{1,2} et X_{2,2} sont nettement plus actives ; singulièrement X_{1,2} la phase aqueuse issue de la partition hexane-eau (CMF = 45µg/mL, CI₅₀ =

10 μ g/mL) possède un pouvoir anticandidosique relativement très élevé. A l'opposé, l'extrait X_{3,1}, issu de la phase butanolique (CMF = 1560 μ g/mL, CI₅₀ = 580 μ g/mL) donne la plus faible activité antifongique.

On peut donc retenir que parmi les solvants utilisés, l'extraction à partir d'un mélange d'éthanol et d'eau 70/30 v/v suivi d'une partition dans la combinaison de solvant hexane-eau (v/v) est celle qui permet de mieux concentrer les principes actifs antifongiques présents dans TEKAM. On peut aussi retenir que l'utilisation en milieu traditionnel de cette plante comme antimicrobiens est justifiée.

RÉFÉRENCES

- [1] - J. CALLOT ET J. HELLUY "Parasitologies médicales", Ed Med. Flam., 4 (1970) 557-600.
- [2] - S. KERNBAUM "Eléments de Pathologie infectieuse spécia" Ed. Med. (1980) 1-185
- [3] - O. ANN "Maladies parasitaires et fongiques". Ed. C et R, (1982) 246-285
- [4] - P. LECLERC, C. ARTIGOU, S. GAGNEBIEN, O. DE FENOYL, J. ROCHEMAURE "Aspergillose Broncho-pulmonaires", *Revue générale poumon-cœur*, Masson Paris, 5 (1982) 25-33
- [5] - E. CHOVALOVA "Les maladies tropicales", Ed. Mir. Moscou. 3 (1984) 194
- [6] - B. DUPONT "Mycoses et SIDA, Résumé des rapports, communications affichées" Institut Pasteur-Paris, 16 (1987) 4-9
- [7] - S. CROMBERG, J. BEYLOUT, M. RAY, "Maladies infectieuses". Ed. Mason, (1988) 232-625.
- [8] - P. BOUCHET, P. REGIS., J. L. CRUGNARD, G. MADULO-LLEBOND, "Mycologie générale et médicale", Ed. Masson-Paris, (1989) 325-378
- [9] - B. T. FAURE, J. X. BIONDI, J. P. FLANAGAN, R. CLARKE, "Aspergillar osteomyelites of acetabulum. A case report and review of literature", *Orthopaedic review*. 19(1) (1990) 58-64
- [10] - THERIZOL-FERLY "Cours de mycologie médicale pour le CES de parasitologie". Fac. Med. Univ. Cocody Abidjan (1990) 169 pp.
- [11] - S. P. EHOLIE, "Etude des infections opportunistes au cours du SIDA, à propos de 262 cas diagnostiqués", Thèse. Dipl. d'Etat. Med. Abj. N°1517, (1993) page 81.
- [12] - M. GENTILINI, E. CAUMES, M. DANIS, J. MOUCHET, B. DUFLO, B. LAGARDIERE, R. L. DOMINIQUE, G. BRUCKER, "Médecine tropicale". Ed. Flam. Med. Sciences, 5 (1993) 955p

- [13] - D. CHABASSE, "Les nouveaux champignons opportunistes apparus en médecine". Revue générale. *J. Mycol. Med.*, 4 (1994)9-28.
- [14] - E. A. MONNAN, "Les aspergilloses respiratoires en Côte d'Ivoire. Aspects épidémiologiques, diagnostiques, thérapeutiques et évolutifs à propos de 89 cas colligés au CHU de Treichville de 1973 à 1994". Thèse. Fac de Méd. Abj. Université de Cocody, (1995) 137 pp.
- [15] - B. F. DUPONT, F. DROMER, L. IMPROVISI, "The probleme of azole resistance in *Candida*". *J. Mycol. Med.* 6 suppl. 2 (1996) 12-19.
- [16] - S. COULIBALY, et F.GUEDE-GUINA, "Etude de la tolérance cardiovasculaire de MISCA-F2 un anticryptococcique de source végétale". *JBNA-1*, Abidjan, 30nov-04 déc. (1998).
- [17] - A. K. M. KRA, "Evaluation et amélioration par séquençage chromatographique d'une action antifongique de MISCA contre *Aspergillus fumigatus*". Thèse. Pharma, Bioch. Univ. Abidjan, (2001) 126 pp.
- [18] - M. DEVELOUX et S. BRETAGNE, Candidoses et levuroses diverses. *Encycl. Med. Chir., Maladies infectieuses*, 8 (2005) 62-110
- [19] - A. KETANI, Z. H. BELKHADIR, A. MOSADIK, M. FAROUDY, A. ABABOU, C. LAZREQ, Traitement antifongique des candidoses systémiques en réanimation. *J. Mycol. Med.* 16 (2006) 16-25.
- [20] - D. CHARLES, P. LOULERQUE, J.P. VIARD, F. DRAUER, O. LORTHOLARY, Infections fongiques au cours de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine. *Encycl. Méd. Chir., Maladies infectieuses*, 8 (2007) 2-10.
- [21] - S. J. VOURIOT, M. BERLE, E. PAILLAUD, « Candidoses orales chez les personnes âgées hospitalisées : fréquence, facteurs de risque et prévention ». *Encycl. Med. Hygiènes* 15 (2007) 385-390.
- [22] - P. M. THES, « Contribution à l'élaboration d'un savon antimicrobien à des fins cosmétiques et médicales ». Thèse N°548/2008 de Doctorat d'Université. UFR Biosciences. Université de Cocody Abidjan Côte d'Ivoire(2008) 200pp.
- [23] - F. GUÉDÉ-GUINA, A. K. M. KRA, M. VANGAH-MANDA et G. M. BONGA, "Inhibition par MISCA-F₂ de la croissance de *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* et *Cryptococcus neoformans* trois germes opportunistes du SIDA". *J. Afrique Biomed.*, 2 (1) (1997) 11-16.
- [24] - G. N. ZIRIHI, A. M. KRA et F. GUEDE-GUINA, "Evaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* (LAMARCK) O. KUNZE (ASTERACEAE) << PYMI >> sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*". *Revue de Med. et Pharm. Afr.* 17 (2003) 11-18

- [25] - P. M. THES, "Recherche du profil antimicrobien des huiles de G₂₄₃ et de MISCA sur quelques agents de mycoses de la peau". Mémoire de DEA de biotechnologies, option pharmacologie-microbiologie. Université de Cocody, Abidjan, Cote d'Ivoire (2001) 34p
- [26] - R. HOLT, "Laboratory test of antifungal drug". *J. Clin. Path.* 18 (1975) 767-774.
- [27] - J. A. ACKAH,"Spectre anti-infectieux de MISCA-F₃ sur la croissance *in-vitro* de *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichophyton mentagrophytes* et *Trichophyton rubrum*". Mémoire de DEA de biotechnologies, option pharmacologie-microbiologie. Université de Cocody, Abidjan, Côte d'Ivoire, (2004) 34
- [28] - M. VANGAH-MANDA, A. M. KRA, G. M. BONGA et F. GUEDE-GUINA, "Amélioration de l'action antifongique de MISCA, un extrait végétal contre *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans*, trois germes opportunistes du SIDA", *J.B.NA.* 2(1) (1996) 11-16

PUBLICATION

N° 2

ÉVALUATION ET ESSAIS D'OPTIMISATIONS DE L'ACTIVITÉ ANTICANDIDOSIQUE DE *Terminalia catappa* LINN (TEKAM₃), UN EXTRAIT DE COMBRETACEAE DE LA PHARMACOPÉE IVOIRIENNE.

ACKAH Jacques Auguste Alfred Bognan^{1*}, KRA Adou Koffi Mathieu¹,

ZIRIHI Guédé Noël² et GUEDE-GUINA¹ Frédéric

¹ Laboratoire de pharmacodynamie biochimique, U. F. R. Biosciences, Université de Cocody, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

² Laboratoire de Botanique, U. F. R. Biosciences Université de Cocody, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

RÉSUMÉ

Malgré les progrès réalisés en médecine au cours des dernières décennies, de nombreux traitements médicamenteux restent insuffisants face aux fléaux tels que le paludisme, le cancer, les infections virales, bactériennes et fongiques.

Le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre ces fléaux. C'est dans ce but que notre équipe a testé vingt fractions issues de la chromatographie sur gel de filtration sephadex G₂₅ de X_{1.2} issu de la partition hexane-eau de TEKAM₃ une poudre végétale obtenue à partir de *Terminalia catappa* une combretacée sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*. Les résultats obtenus montrent que *Candida albicans* est sensible aux vingt fractions de TEKAM₃. Parmi ces vingt fractions testées, F₁₂ possède la plus forte activité inhibitrice (CMF = 5 µg/ml ; CI₅₀ = 1 µg/ml). La méthode de préparation de l'extrait (X_{1.2}) par partitions de l'extrait éthanolique dans une succession de plusieurs solvants suivie de chromatographie sur gel de filtration sephadex G₂₅ est une bonne voie pour arriver à une meilleure concentration des principes actifs. Par ce procédé nous avons obtenu F₁₂ qui est l'extrait le plus actif obtenu à ce jour.

MOTS CLÉS : *Terminalia catappa*, activité anticandidosique, chromatographie.

ABSTRACT

ASSESSMENT AND TESTS OF OPTIMIZATIONS OF THE ANTICANDIDOSIC ACTIVITY OF *TERMINALIA CATAPPA*, AN EXCERPT OF COMBRETACEAE OF THE PHARMACOPEIA OF THE COTE D'IVOIRE.

In spite of achievements in medicine during the last decades, many medicinal treatments remain limited against curses such as: malaria, cancer, viral, bacterial and fungus infections. The elaboration of new therapeutic agents proves to be essential to fight those curses. It is in this goal that our team tested twenty fractions from the chromatography on frost of sephadex G₂₅ of X_{1.2} filtration from hexane-water partition of *Terminalia catappa*, a plant powder got

* Correspondance et tirés à part, e-mail : jacquaackah@yahoo.fr

from a combretaceae on the *in vitro* growth of *Candida albicans*. The results show that *Candida albicans* is reactive to the twenty fractions of *Terminalia catapppa*. Among these twenty fractions tested, F₁₂ possesses the strongest inhibitory activity (FMC = 5 µg/ml; CI₅₀ = 1 µg/ml). The method of preparation of the extract (X_{1,2}) by partitions of the ethanolic extract in a succession of several solvents followed by chromatography on frost of sephadex G₂₅ filtration is a good way to obtain a better concentration of the active principles. Through that process we got F₁₂ that is the most active extract obtained today.

KEY WORDS: *Terminalia catapppa*, anticandidosic activity, chromatography.

1. INTRODUCTION

La lutte que nous menons contre les infections se fonde sur le fait que ces vingt dernières années ont vu une nette recrudescence des pathologies infectieuses, aggravées depuis 1980 par l'avènement des récives et des maladies nouvelles dont les infections à VIH et leur concert d'infections opportunistes [1-22]. Parmi ces infections opportunistes, on compte aussi bien des viroses, des bactérioses que des mycoses. Au niveau des mycoses, les candidoses, les cryptococcoses et les aspergilloses constituent le trio de tête. Elles sont devenues de nos jours, un réel problème de santé public.

Par ailleurs les populations africaines, du fait des contextes économiques difficiles, n'ont pas toutes accès aux produits pharmaceutiques importés. De ce fait elles ont de plus en plus recours aux plantes médicinales pour se soigner.

Pour aider ces populations démunies à tirer un réel avantage de l'usage des plantes médicinales, de leur pharmacopée, notre équipe de recherche a entrepris depuis plus d'une dizaine d'années d'évaluer sur le plan scientifique, l'efficacité des plantes à vertu thérapeutique et d'en isoler les principes actifs. Pour y parvenir, nous avons mené des enquêtes ethnobotaniques qui ont abouti à la sélection de plusieurs plantes auxquelles on prête des vertus anti infectieuses et qui sont très utilisées par les tradithérapeutes. Plusieurs travaux ont déjà été initiés en vue d'évaluer le pouvoir antimicrobien de certaines de ces plantes [17, 23, 24]. Parmi les plantes les plus sollicitées, figure *Terminalia catappa*. C'est une plante pantropicale. Elle est originaire de l'ancien monde (Asie du Sud Est). Cette plante est connue sous les appellations de Cocoma en Côte d'Ivoire, de Badamier en Europe, de M'handaya aux Comores et d'Amandier des indes en Inde. Elle se trouve en Côte d'Ivoire surtout sur le littoral. Elle est principalement utilisée en ornementation [25-29].

En médecine traditionnelle, on attribue à cette plante des propriétés antiparasitaires, anti-infectieuses, antihypertensives et antidiabétiques [30]. Les feuilles sont la partie de la plante la plus utilisée

Ainsi,

- dans l'île de la Réunion, l'infusion des feuilles mûres soignent la dysenterie et l'hypertension, tandis que la décoction des feuilles traite l'asthme ;
- à l'île Maurice, le décocté des feuilles est employé comme un antidiabétique et celui de l'écorce comme un antidiarrhéique [31] ;
- en Côte d'Ivoire et au Congo Brazzaville, le décocté des feuilles et de l'écorce sont utilisés pour traiter le diabète, l'hypertension artérielle et les infections cutanées [25-29] ;
- au Nigeria, le macéré des feuilles dans l'huile de palme est utilisé comme remède dans les amygdalites [32] ;
- aux Philippines et au sud de l'Inde, la sève des jeunes feuilles est utilisée dans une pommade contre les scarifications de la peau et la lèpre [30] ;
- en médecine asiatique, l'écorce est utilisée comme astringent dans la dysenterie. Le décocté est utilisé contre la blennorrhagie, les leucorrhées, la fièvre bilieuse et les crampes d'estomac [29,30].

Au vu de ces propriétés intéressantes, notre équipe a voulu vérifier le bien fondé des vertus antimicrobiennes accordées à cette plante. Nous avons choisi de tester le pouvoir antimycosique notamment l'activité anticandidosique des extraits d'écorce de cette plante. Dans cette étude, nous livrons les premiers résultats obtenus lors de ces investigations.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2. 1. Préparation des extraits totaux

L'écorce de *Terminalia catappa* a été récoltée, découpée et séchée à l'abri du soleil. Après leur séchage, les éléments végétaux ont été finement broyés dans un broyeur électrique. La poudre obtenue a été nommée TEKAM₃.

Pour obtenir les extraits totaux aqueux et éthanoliques, la poudre de TEKAM₃ a été extraite comme suit :

Cent grammes de poudre de TEKAM₃ ont été extraits dans un litre de solvants (eau distillée ou éthanol 70%) par broyage dans un blender (mixer). L'homogénat obtenu est d'abord essoré dans un carré de tissu, puis filtré successivement deux fois sur du coton hydrophile et sur du papier filtre Wattman 3mm. Le filtrat obtenu est concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif de type Bücher à la température de 60 °C.

L'extrait éthanolique est évaporé à sec, par contre l'extrait aqueux est seulement concentré pour avoir une pâte qui est lyophilisée. L'extrait éthanolique est appelée X_0 et l'extrait aqueux X_{aq} .

Trois portions de 10 grammes de X_0 sont constituées et soumises séparément à partition dans 100 ml de trois différents mélanges de solvants (hexane - eau ; acétate d'éthyle - eau ; butanol - eau 50/50 ; v/v). Après décantation, les différentes phases ont été séparées et concentrées à l'aide d'un évaporateur rotatif. On obtient respectivement les extraits suivants :

$X_{1,1}$: la phase hexanique ;

$X_{1,2}$: la phase aqueuse issue de la partition hexane – eau ;

$X_{2,1}$: la phase acétatique ;

$X_{2,2}$: la phase aqueuse issue de la partition acétate d'éthyle – eau ;

$X_{3,1}$: la phase butanolique ;

$X_{3,2}$: la phase aqueuse issue de la partition butanol – eau ;

$X_{1,2}$ a été ensuite chromatographié sur une colonne de filtration de sephadex G_{25} . Les caractéristiques de cette colonne sont : diamètre = 1 cm, hauteur du gel = 55 cm, débit=0,22 ml/mn. Nous avons obtenu 20 fractions.

Tous les vingt huit extraits ont été testés séparément sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*.

2. 2. Champignons testés

La souche de champignon à savoir : *Candida albicans*, sur laquelle nous avons fait les tests microbiologiques, a été fournie par le laboratoire de mycologie de l' UFR des Sciences Médicales de Université de Cocody (Abidjan, Côte d'Ivoire). Ces germes ont été isolés des patients en provenance du service des maladies infectieuses du CHU de Treichville.

Candida albicans, est un champignon opportuniste qui est à l'origine de diverses mycoses cutanées, muqueuses, phanériennes, septicémiques ou viscérales. Ses infections généralisées chez des sujets sévèrement immunodéprimés conduisent souvent à des décès [17, 24, 33-35].

2. 3. Préparation des milieux de culture

Les cultures de *Candida albicans* ont été faites sur milieu Sabouraud (BIOMERIEUX/ Réf : 51078 : 777666501). L'incorporation des différents extraits végétaux à la gélose Sabouraud a été faite selon la méthode de la double dilution, en tubes penchés [23, 33-35]. Tous les extraits ont été testés séparément. Chaque série comporte pour chaque extrait végétal 9 tubes tests contenant les extraits végétaux et 2 tubes témoins dont un est sans extrait végétal, servant

de contrôle de croissance des germes, l'autre sans germes et sans extrait servant de contrôle de la stérilité du milieu de culture. Pour les 9 tubes tests, les concentrations varient de 1560 à 5 µg/ml selon une liaison géométrique de raison $\frac{1}{2}$.

Après l'incorporation des extraits, tous les 11 tubes de chaque série sont stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes et ensuite inclinés avec petit culot à la température de la salle afin de permettre leur refroidissement et la solidification de la gélose [23, 33-36].

2. 4. Essai antimicrobien

L'inoculum est préparé à partir des cultures jeunes de *Candida albicans* (âgés de 48 heures d'incubation). La suspension mère (dite 10^0) concentrée à 10^6 cellules /ml est d'abord préparée, par homogénéisation d'une colonie de *Candida albicans* dans 10 ml d'eau distillée stérilisée. À partir de la suspension 10^0 , une seconde suspension (10^{-1}) est préparée par dilution au $1/10^{\text{ème}}$ de la première. Cette dernière est concentrée à 10^5 cellules/ml. Pour chacun des tubes à essai de chaque série des huit extraits de plante, la culture des germes a été faite sur des milieux précédemment préparés par l'ensemencement en stries transversales (jusqu'à épuisement) de 10 µl de la suspension 10^{-1} . Cela correspond à 1000 cellules ensemencées.

Les cultures ainsi réalisées ont été incubées à 30°C. Après 48 heures et 72 heures d'incubation à 30°C, les colonies de *Candida albicans* ont été dénombrées par comptage direct grâce à un stylo compteur de colonies (N^0 de série 23382 de marque Scinceware de Bel-Art). La croissance dans les 9 tubes expérimentaux de chaque série a été évaluée en pourcentage de survivance, par rapport à 100 % de survivance dans le tube témoin de contrôle de croissance [23, 33-36].

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

- concentration minimale fongicide (CMF). C'est la concentration d'extrait dans le tube qui donne 99,99% d'inhibition comparativement au tube témoin de contrôle de croissance. Inversement, c'est la concentration d'extrait du tube qui laisse une survivance de 0,01% par rapport au témoin de contrôle de croissance ;
- concentration pour cinquante pour cent d'inhibition (CI_{50}). C'est la concentration qui donne 50% d'inhibition, estimée par rapport au nombre de colonies dénombrées dans le tube témoin de contrôle de croissance. C'est un paramètre déterminé graphiquement.

3. RÉSULTATS

Après 48 heures d'incubation à 30 °C, on observe comparativement au témoin, une diminution progressive du nombre de colonies de *Candida albicans* au fur et à mesure que les concentrations des extraits végétaux augmentent dans les tubes expérimentaux. Cela est observé pour toutes les séries des vingt-huit extraits.

Des inhibitions nettes et effectives ont été obtenues à différentes concentrations selon les extraits. Les valeurs des CMF (concentration minimale fongicide) et CI_{50} (concentration pour 50% d'inhibition) pour les huit extraits (X_{aq} , X_0 , $X_{1.1}$, $X_{1.2}$, $X_{2.1}$, $X_{2.2}$, $X_{3.1}$ et $X_{3.2}$) sont consignées dans le tableau 1. Les données expérimentales traduites sous forme de courbes de sensibilité sont présentées à la figure 1.

Tableau 1 : Valeurs des paramètres antifongiques des différents extraits de TEKAM₃ à 30 °C et à 48 h d'incubation des cultures de *Candida albicans*.

Extraits de <i>Terminalia catappa</i>	Paramètres antifongiques	
	CI_{50} (µg/ml)	CMF (µg/ml)
X_{aq}	550	780
X_0	150	195
$X_{1.1}$	70	395
$X_{1.2}$	10	45
$X_{2.1}$	60	195
$X_{2.2}$	20	95
$X_{3.1}$	580	1560
$X_{3.2}$	50	195

De façon générale, toutes les courbes des huit extraits ont une allure décroissante, avec des pentes plus ou moins fortes. Les extraits $X_{1.2}$, $X_{2.2}$, $X_{2.1}$ et $X_{3.2}$ ont des courbes ayant les pentes relativement fortes, singulièrement celle de $X_{1.2}$ tandis que X_0 et $X_{1.1}$ ont des courbes à pentes moyennes. Les pentes les plus faibles sont observées avec celle de X_{aq} et particulièrement l'extrait $X_{3.1}$. Toutes les 8 courbes coupent l'axe des abscisses à différents niveaux selon les extraits.

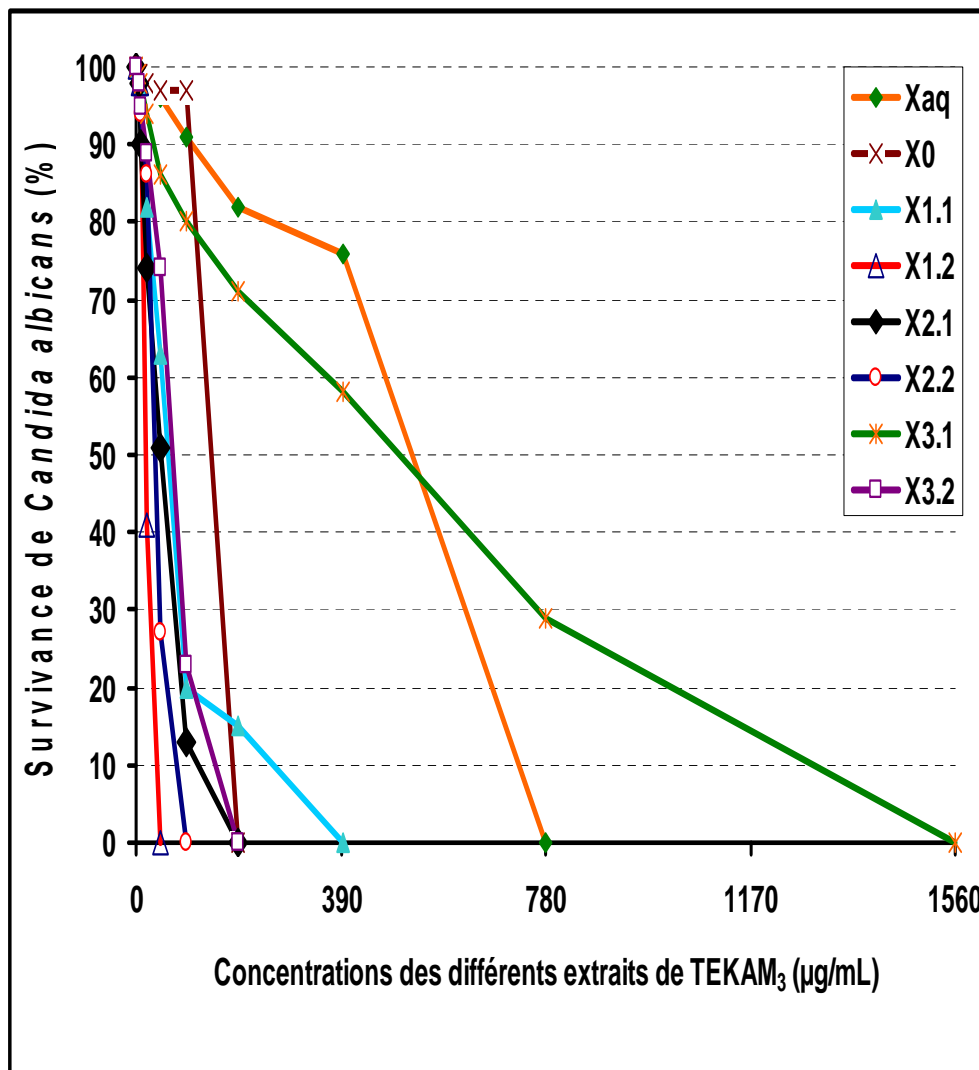


Figure 1 : Sensibilité de *Candida albicans* aux différents extraits de TEKAM₃.

En ce qui concerne les 20 fractions, l'activité antifongique de ces fractions donne des valeurs de CMF (voir tableau 2) dont certaines se répètent. En tenant compte de ces valeurs de CMF et aussi des pentes ainsi que de l'allure des courbes, ces 20 fractions peuvent être classées selon leur performance en 5 groupes (G) :

- groupe 1 comprenant les fractions F₁ à F₅ et F₁₅ à F₁₇ dont la valeur de la CMF est de 200 µg/ml. Dans ce groupe, la F₁₅ est l'extrait qui a la meilleure CI₅₀ (24 µg/ml) ;
- groupe 2 comprenant les fractions F₆ à F₈ et F₁₃ à F₁₄ dont la valeur de la CMF est de 20 µg/ml. Dans ce groupe, la F₆ est l'extrait qui a la meilleure CI₅₀ (10 µg/ml) ;
- groupe 3 renfermant les fractions F₉ à F₁₁ dont la valeur de la CMF est de 10 µg/l. Dans ce groupe, la F₁₁ est l'extrait qui a la meilleure CI₅₀ (2,9 µg/ml) ;

- groupe 4 constitué seulement de la fraction F₁₂ dont la valeur de la CMF est égale à 5 µg/ml.
- groupe 5 qui renferme les fractions F₁₈ à F₂₀ dont la valeur de la CMF est supérieure à 200 µg/ml. Dans ce groupe, la F₁₈ est l'extrait qui a la meilleure CI₅₀ (190 µg/mL).

Tableau 2 : Valeurs des paramètres antifongiques des différentes fractions de TEKAM₃ à 30 °C et à 48 h d'incubation des cultures de *Candida albicans*

Paramètres antifongiques			
Groupes	Fractions	CMF (µg/ml)	CI ₅₀ (µg/ml)
1	F ₁	200	25
	F ₂	200	30
	F ₃	200	29
	F ₄	200	31
	F ₅	200	27
	F ₁₅	200	24
	F ₁₆	200	25,8
	F ₁₇	200	30
2	F ₆	20	10
	F ₇	20	11,6
	F ₈	20	22,8
	F ₁₃	20	15,4
	F ₁₄	20	15,7
3	F ₉	10	03,1
	F ₁₀	10	03,2
	F ₁₁	10	02,9
4	F ₁₂	05	1,6
5	F ₁₈	>200	190
	F ₁₉	>200	192
	F ₂₀	>200	197

La figure 2 présente des antifongigrammes qui illustrent la sensibilité de *Candida albicans* aux 5 groupes de fractions. Sur cette figure, on constate que de façon générale, toutes les 5 courbes ont une allure décroissante avec des pentes plus ou moins fortes.

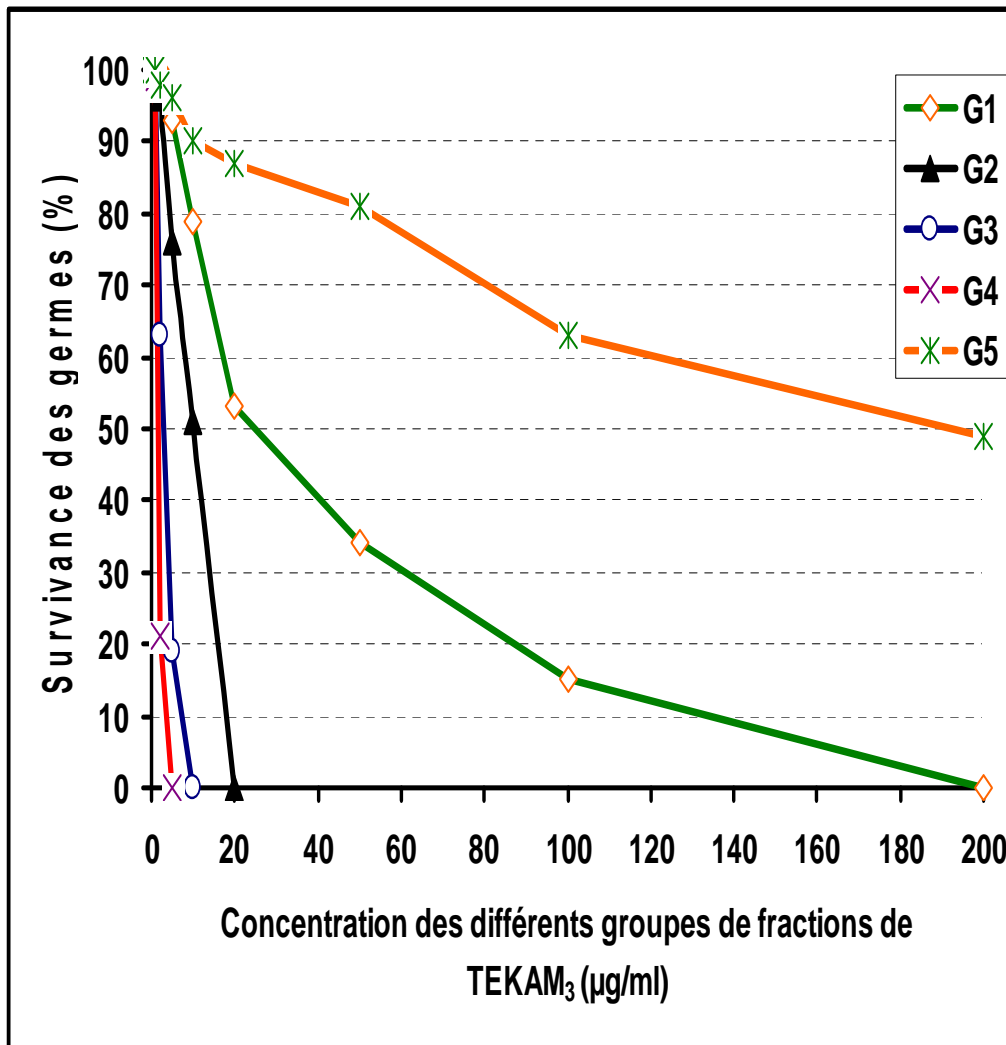


Figure 2 : Sensibilité de *Candida albicans* aux différents groupes de fractions de TEKAM₃.

Sur la base des valeurs relatives de ces pentes, ces courbes peuvent être regroupées en 3 catégories :

- la courbe dont la pente est très faible et qui illustre l'activité des extraits de G₅ ;
- les courbes ayant des pentes à valeur moyenne G₂ et G₁ ;
- les courbes ayant des pentes fortes correspondant aux activités de G₃ et G₄. Parmi elles, celle de G₄ possède la plus forte pente.

À l'exception de la courbe G₅, les courbes G₁, G₂, G₃ et G₄ coupent l'axe des abscisses à différents niveaux selon les extraits.

4. DISCUSSION

Afin de vérifier les vertus anti-infectieuses accordées à *Terminalia catappa*, nous avons de prime abord préparé l'extrait aqueux étant donné que l'eau est le solvant le plus utilisé pour la préparation des recettes traditionnelles.

Dans la seconde partie de notre étude, vu les bonnes performances obtenues avec l'extrait aqueux, nous avons voulu savoir si nous pouvions améliorer l'activité des extraits en utilisant d'autres solvants pour l'extraction. Au regard des travaux de ZIRIHI et KRA en 2003 [24], nous avons choisi le mélange éthanol eau 70/30(v/v) comme solvant d'extraction. C'est à partir de ce solvant que nous avons préparé l'extrait éthanolique codifié X_0 .

L'analyse des résultats des tests antifongiques avec les extraits de TEKAM₃ montrent que *Candida albicans* est sensible à tous les 8 extraits testés (CMF X_{aq} = 780 µg/mL, CMF X_0 = 195 µg/ml, CMF $X_{1.1}$ = 395 µg/ml, CMF $X_{1.2}$ = 45 µg/ml, CMF $X_{2.1}$ = 195 µg/ml, CMF $X_{2.2}$ = 95 µg/ml, CMF $X_{3.1}$ = 1560 µg/ml et CMF $X_{3.2}$ = 195µg/ml). Aucun cas de résistance n'a été noté. Toutefois les performances des extraits varient selon les solvants. Les valeurs des concentrations inhibitrices obtenues révèlent que les extraits ont des activités antifongiques plus ou moins accentuées. Pour ces extraits, nos résultats montrent qu'il y a une diminution progressive du nombre de colonies en fonction de l'augmentation de la concentration des différents extraits dans les tubes. Nous en déduisons que *Candida albicans* est sensible aux différents extraits de TEKAM₃ selon une relation dose-reponse. La figure 1 récapitule toutes les courbes de sensibilité des 8 extraits testés sur *C. albicans*. Elle permet une comparaison des performances de ces 8 extraits. Notons que plus la pente d'une courbe est forte c'est-à-dire plus la pente se rapproche de l'axe des ordonnées, plus l'extrait considéré est actif. Sur cette figure, on constate que de façon générale, toutes les 8 courbes ont une allure décroissante avec des pentes plus ou moins fortes. Sur la base des valeurs relatives de ces pentes, ces courbes peuvent être regroupées en 3 catégories :

- les courbes dont les pentes sont très faibles et qui illustrent l'activité des extraits de $X_{3.1}$ et X_{aq} ;
- les courbes ayant des pentes à valeur moyenne X_0 et $X_{1.1}$;
- les courbes ayant des pentes fortes correspondant aux activités de $X_{1.2}$, $X_{2.1}$, $X_{2.2}$, et $X_{3.2}$.

Parmi elles, celle de $X_{1.2}$ possède la plus forte pente (voir figure 1 et tableau 1).

Nos résultats révèlent que la valeur de la CMF de X_{aq} est 780 µg/ml et celle de X_0 est 195 µg/ml (voir tableau I). Cela justifie donc l'utilisation de la plante en milieu traditionnel

comme antimicrobien. La comparaison des activités de l'extrait aqueux et de l'extrait éthanolique sur la base des CMF, montre que X_0 (CMF = 195 $\mu\text{g/ml}$) est 4 fois plus actif que X_{aq} .

La comparaison des performances de cet extrait avec l'extrait aqueux de *Mitracarpus scaber* selon les travaux de Ackah [34] ayant une valeur de CMF = 150000 $\mu\text{g/ml}$ sur cette même souche montre que TEKAM₃ est nettement plus actif (192 fois).

De plus, la comparaison de nos résultats avec ceux de ZIHIRI et KRA en 2003 [24] révèle que les extraits aqueux et éthanolique de TEKAM₃ sont nettement plus actifs que les extraits de *Microglossa pyrifolia* "PYMI" (PYMI₀, CMF = 50000 $\mu\text{g/ml}$; PYMI₁, CMF = 25000 $\mu\text{g/ml}$). En fait, X_{aq} et X_0 sont respectivement 64 et 131 fois plus actifs.

Pour la suite des travaux, nous avons voulu améliorer les performances de X_0 en faisant des partitions avec plusieurs solvants tels que décrit dans la partie "méthode". Ces partitions nous ont donné six extraits codifiés $X_{1,1}$, $X_{1,2}$, $X_{2,1}$, $X_{2,2}$, $X_{3,1}$ et $X_{3,2}$. L'analyse des résultats obtenus avec les six extraits issus des trois partitions montre que parmi ces extraits, $X_{1,2}$ (CMF = 45 $\mu\text{g/ml}$ et CI_{50} = 10 $\mu\text{g/ml}$) est le plus actif. En effet, la comparaison avec les extraits issus des différentes partitions montre que $X_{1,2}$ est 2 fois plus actif que $X_{2,2}$; 4,75 fois plus actif que $X_{2,1}$ et $X_{3,2}$. Il est aussi 9,75 fois plus actif que $X_{1,1}$ et enfin 39 fois plus actif que $X_{3,1}$. Par rapport aux extraits totaux aqueux et éthanoliques, la comparaison sur la base de la CMF montre que $X_{1,2}$ est 4,75 fois plus actif que X_0 l'extrait de base ayant servi à sa préparation. Cette même analyse montre que $X_{1,2}$ est 19,5 fois plus actif que l'extrait total aqueux.

De l'analyse de l'ensemble des résultats, il ressort 4 aspects essentiels :

- la souche *Candida albicans* est sensible à tous ces extraits testés ;
- il a été possible d'avoir de meilleures performances en préparant l'extrait à partir d'un solvant comportant 70% d'éthanol et 30% d'eau ;
- il a été possible d'améliorer la performance de l'extrait éthanolique en procédant à sa partition dans divers solvants. Ce qui a permis d'aboutir à $X_{1,2}$ qui, à ce niveau de notre étude est l'extrait possédant la meilleure activité anticandidosique ; donc le meilleur potentiel antifongique. Ce qui nous amène à déduire que la méthode de partition initiée par Zihiri et Kra en 2003 [24] est une bonne voie permettant de mieux sélectionner les principes actifs ;
- la bonne performance de $X_{1,2}$ permet de dégager que la combinaison de solvant hexane- eau (v/v) est celle qui convient pour une meilleure concentration du principe actif. Il a donc servi de base à un fractionnement chromatographique sur gel de

sephadex G₂₅. 20 fractions ont été recueillies. Les valeurs des paramètres antifongiques sont consignées dans le tableau 2.

La comparaison des 5 groupes de fractions entre eux montre que les fractions du groupe 2 sont 10 fois plus actives que celles du groupe 1. Quant aux fractions du groupe 3, elles sont 2 fois plus active que celles du groupe 2 et 20 fois plus active que les fractions du groupe 1. Toutes les fractions des groupes 1, 2, 3 et 4 sont plus actives que celles du groupe 5.

De plus la comparaison des extraits aqueux (X_{aq}), ethanolique 70% (X_0), $X_{1,2}$ (phase aqueuse issue de la partition hexane – eau) et la fraction F_{12} montre que la fraction F_{12} est 156 fois plus active que X_{aq} et 38 fois plus active que X_0 l'extrait de base. Elle est enfin 8 fois plus active que $X_{1,2}$ qui a servi à sa préparation.

Les travaux de Bagré *et al.* [37] ont porté sur l'évaluation de l'activité antifongique des feuilles de *Morinda morindoides* sur la croissance *in vitro* d'une souche de *Candida albicans*. Ces auteurs ont obtenu une fraction F_1 la plus active sur la souche de *Candida albicans*, une inhibition nette et effective avec une valeur de CMF = 780 µg/ml. En comparant cette donnée à nos résultats, F_{12} de *Terminalia catappa* donne la meilleure activité antifongique (CMF = 5 µg/ml) par rapport à F_1 de *Morinda morindoides*. Le rapport établi sur la base de la valeur des CMF, montre que F_1 de *Morinda morindoides* / F_{12} de *Terminalia catappa* = 780 / 5 = 156 en faveur de F_{12} . Ce qui signifie que F_{12} de *Terminalia catappa* est donc 156 fois plus active que F_1 de *Morinda morindoides*.

En dehors de l'effet fongicide, les concentrations moyennes des extraits de *Terminalia catappa* exercent des effets fongistatiques sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*.

De tout ce qui précède, nous retiendrons que F_{12} est la fraction la plus active obtenue à ce jour dans cette étude. Il a donc été possible en combinant des méthodes de partitions à la chromatographie sur gel de filtration, d'améliorer considérablement l'activité anticandidosique de l'extrait de base X_0 . Cette stratégie a permis d'obtenir F_{12} .

Ces résultats font donc ressortir que l'obtention de la fraction la plus active est assurée en utilisant comme solvant de base un mélange d'éthanol-eau dans les proportions 70/30 v/v. L'extrait obtenu doit être partitionné dans un mélange hexane-eau v/v. Dans cette opération, seule la phase aqueuse doit être retenue pour être chromatographiée sur gel de filtration sephadex G₂₅. Par ce procédé, nous avons donc atteint notre objectif qui est d'optimiser l'activité antifongique des extraits de *Terminalia catappa*.

5. CONCLUSION

Cette étude s'inscrit dans le programme de recherche de notre laboratoire dont l'objectif est de valoriser les plantes médicinales de notre pharmacopée. Et surtout de chercher de nouvelles molécules à partir d'extrait de plantes pouvant servir de nouvelles têtes de séries de médicaments.

Dans ce travail, la plante étudiée *Terminalia catappa* est une espèce à laquelle on accorde des vertus anti-infectieuses en milieu traditionnel. Cette étude confirme non seulement le bien fondé de cette assertion mais aussi on peut retenir les faits saillants suivants :

- la souche testée est sensible aux 28 extraits selon une relation dose-réponse ;
- parmi les six extraits issus de la partition de X_0 , $X_{1,2}$ est le plus actif et son activité anticandidosique est 4 fois plus élevée que celle de X_0 ;
- parmi les 20 fractions issues de la chromatographie de $X_{1,2}$, F_{12} (CMF=5 $\mu\text{g/ml}$; CI_{50} =1,6 $\mu\text{g/ml}$) est non seulement l'extrait le plus actif parmi les fractions mais aussi il est surtout 8 fois plus actif que $X_{1,2}$ et 38 fois plus actif que X_0 l'extrait de base. On retiendra par contre que dans ce groupe, les fractions F_{18} , F_{19} et F_{20} sont les moins actives ;
- L'obtention de la fraction la plus active a nécessité la préparation de l'extrait de base à partir d'un mélange ethanol-eau (70/30 v/v) suivi d'une partition dans la combinaison de solvant hexane-eau, dont l'extrait issu de la portion aqueuse est ensuite chromatographiée sur gel de sephadex G_{25} .

Cette méthode d'extraction nous a donc permis d'atteindre notre objectif qui était non seulement d'évaluer mais aussi d'optimiser l'activité anticandidosique des extraits de *Terminalia catappa*. Par ce procédé, nous avons obtenu F_{12} qui est l'extrait le plus actif obtenu à ce jour. Les vertus anti infectieuses accordées à cette plante sont donc justifiées.

Une analyse plus poussée, nous permettra de déterminer qualitativement la structure chimique de ce principe actif par des méthodes combinées de spectroscopie de masse, d'infrarouge et de résonance magnétique nucléaire. Elle nous permettra également d'essayer la synthèse chimique de cette molécule. De rechercher une formulation galénique stable pouvant servir de support à la molécule pour en faire un médicament contre les mycoses cutanées et systémiques. D'étudier les domaines de toxicité du principe actif et du médicament final. D'étudier les mécanismes d'action du principe actif sur les champignons et les bactéries. De

rechercher les moyens de produire industriellement le médicament final. De rechercher les activités biologiques intéressantes des autres fractions.

REMERCIEMENTS

Nos remerciements à tous les tradipraticiens qui nous ont permis de découvrir la plante. Nos remerciements vont aussi à l'égard de nos collaborateurs qui nous ont permis la réalisation de ce travail.

RÉFÉRENCES

- [1] J. Callot et J. Helluy, *Parasitologies médicales*, Éd: Méd. Flam., **4** (1970) 557-600.
- [2] S. Kernbaum, *Éléments de Pathologie infectieuse*. Éd. Méd., Chap. XII, Villebranne, Paris, Spécia, **3** (1980) 1-185.
- [3] O. Ann, *Maladies parasitaires et fongiques*. Éd. C et R, (1982) 246-285.
- [4] P. Leclerc, C. Artigou, S. Gagnebien, O. De Fenoyl, J. Rochemaure, *Aspergillose broncho-pulmonaires*. Revue générale poumon-cœur, Masson Paris, **5** (1982) 25-33.
- [5] E. Chouvalova, *Les maladies tropicales*, Éd. Mir, Moscou, **3** (1984) p. 194.
- [6]. B. Dupont, *Mycoses et SIDA*. Résumé des rapports, communications affichées, Institut Pasteur, Paris, **16** (1987) 4-9.
- [7]. S. Cromberg, J. Beylout et M. Ray. *Maladies infectieuses*, Éd. Mason, (1988) 232 - 625.
- [8]. P. Bouchet, P. Regis., J. L. Crugnard et G. Madulo-Lelbond, *Mycologie générale et médicale*, Éd. Masson, Paris, (1989) 325-378.
- [9] B. T. Faure, J.X. Biondi, J. P. Flanagan, and R. Clarke, *Aspergillar osteomyelites of acetabulum*, A case report and review of literature, *Orthopaedie review*, **19** (1990) 58-64.
- [10]. Therizol-Ferly, *Cours de mycologie médicale pour le CES de parasitologie*, Fac. Méd., Univ. Cocody, Abidjan (1990) 169 pp.
- [11]. S. P. Eholié, *Étude des infections opportunistes au cours du SIDA, à propos de 262 cas diagnostiqués*. Thèse. Dipl. d'État. Méd. Abj. N°1517, (1993) p. 81.
- [12] M. Gentilini, E. Caumes, M. Danis, J. Mouchet, B. Duflo, B. Lagardière, R.L. Dominique et G. Brucker, *Médecine tropicale*, Éd. Flam. Méd. Sciences, **5** (1993) 955pp.
- [13] D. Chabasse, *Les nouveaux champignons opportunistes apparus en médecine*. *Revue générale*, J. Mycol. Méd., **4** (1994) 9-28.

- [14] E. A. Monnan. *Les aspergilloses respiratoires en Côte d'Ivoire. Aspects épidémiologiques, diagnostiques, thérapeutiques et évolutifs à propos de 89 cas colligés au CHU de Treichville de 1973 à 1994*. Thèse. Fac de Méd. Abj., Univ. Cocody, (1995) 137 pp.
- [15] B. F. Dupont, F. Dromer, and L. Improvisi, *The probleme of azole resistance in Candida*, J. Mycol. Méd., **6** suppl. 2 (1996) 12-19.
- [16] S. Coulibaly et F. Guédé-Guina, *Étude de la tolérance cardiovasculaire de MISCA-F2 un anticryptococcique de source végétale*, JBNA-1, Abidjan, 30 nov-04 déc. (1998).
- [17] A. K. M. Kra, *Évaluation et amélioration par séquençage chromatographique d'une action antifongique de MISCA contre Aspergillus fumigatus*, Thèse. Pharma., Bioch. Univ. Abidjan, (2001) 126 pp.
- [18] M. Develoux et S. Bretagne. *Candidoses et levuroses diverses*. Encycl. Méd. Chir., Maladies infectieuses, 8 - 062 - A - 10, (2005), 10p.
- [19] A. Ketani, Z. H. Belkhadir, A. Mosadik, M. Faroudy, A. Ababou, et C. Lazreq. *Traitement antifongique des candidoses systémiques en réanimation*, J. Mycol. Méd. **16** (2006) 16-25.
- [20] D. Charles, P. Loulerque, J. P. Viard, F. Drauer et O. Lortholary, *Infections fongiques au cours de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine*. Encycl. Méd. Chir., Maladies infectieuses, 8 - 002 - C - 10, (2007), 8p.
- [21] S. J. Vouriot, M. Berle et E. Paillaud, *Candidoses orales chez les personnes âgées hospitalisées : fréquence, facteurs de risque et prévention*, Encycl. Méd. Hygiènes, **15** (2007) 385-390.
- [22] P. M. Thès, *Contribution à l'élaboration d'un savon antimicrobien à des fins cosmétiques et médicales*, Thèse n° 548/2008 de Doctorat d'Université. UFR Biosciences. Univ. Cocody, Abidjan, Côte d'Ivoire (2008) 200pp.
- [23] F. Guédé-Guina, A. K. M. Kra, M. Vangah-Manda et G. M. Bonga, *Inhibition par MISCA-F₂ de la croissance de Aspergillus fumigatus, Candida albicans et Cryptococcus neoformans trois germes opportunistes du SIDA*. J. Afrique Bioméd., **2** (1997) 11-16.
- [24] G. N. Zirih, A. M. Kra et F. Guédé-Guina, *Évaluation de l'activité antifongique de Microglossa pyrifolia (LAMARCK) O. KUNZE (ASTERACEAE) <<PYMI>> sur la croissance in vitro de Candida albicans*, Revue de Méd. et Pharm. Afr., **17** (2003) 11-18.
- [25] E. J. Adjanohoun et L. Aké-Assi, *Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte d'Ivoire*, CRES. Université Côte-d'Ivoire, Centre National de Floristique, (1979) 40-219.

- [26] L. Aké-Assi. et S. Guindo, *Plantes utilisées dans la médecine traditionnelle en Afrique de l'Ouest*. Éd. Roches (1991). 151pp.
- [27] A. A. Diafouka, J. Lejoly, *Plantes hypotensives utilisées en médecine traditionnelle à Brazzaville (Congo)*, BARAB Actes du 2ème Colloque Européen d'Ethnopharmacologie et de la 2ème Conférence internationale d'Ethnomédecine, Heidelberg (1993) 24-27 mars 1993. 5p.
- [28] G. K. N. Ahoussou, Abdourahamane Sangaré et Alassane Sangaré, Côte d'Ivoire : *Rapport de pays pour la conférence internationale de la FAO sur les ressources phytogénétiques*, (Leipzig, 1996). 75p
- [29] S. Fofana, *Exploration biochimique sur le pouvoir immunogène de trois plantes en Côte d'Ivoire : Alstonia boonei (APOCYNACEAE), Mitragyna ciliata (RUBIACEAE) et Terminalia catappa (COMBRETACEAE)*, Thèse. Dipl. d'État. Pharm. Abj., (2004) 100 p.
- [30] H.M. Burkill,. *The useful plants of West Tropical Africa*. ed. 2, Royal Bot. Garden Kew (1997) 138-140; 546-547.
- [31] E. J. Adjanohoun, L. Aké-Assi, J. Eymé, N. J. Gassita, E. J. Goudot, J. Gueho, I. P. F. S. L., D. Jackaria, K. K. S. Kalashand, A. Keita, B. Koudogbo, D. Lanndreau, W. Owadally et A. Soopramanin, *Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques à Maurice (Iles Maurice et Rodrigues)*, ACCT, Paris (1983) 214 p.
- [32] D. K. A. Amennoudji et Aké-Assi, *Contribution à la connaissance de la flore ouest africaine*. Rapport de stage au centre national de floristique d'Abidjan du 09/11/1987 au 30/10/1989. (1990).
- [33] P. M. Thès, *Recherche du profil antimicrobien des huiles de G₂₄₃ et de MISCA sur quelques agents de mycoses de la peau*, Mémoire de DEA de biotechnologies, option pharmacologie-microbiologie. Univ. Cocody, Abidjan, Côte d'Ivoire (2001) 34p.
- [34] J. A. Ackah, *Spectre anti-infectieux de MISCA-F₃ sur la croissance in-vitro de Candida albicans, Aspergillus fumigatus, Cryptococcus neoformans, Trichophyton mentagrophytes et Trichophyton rubrum*. Mémoire de DEA de biotechnologies, option pharmacologie-microbiologie. Univ. Cocody, Abidjan, Côte d'Ivoire. (2004) 34 p.
- [35] M. Vangah-Manda, A. M. Kra, G.M. Bonga et F. Guédé-Guina, *Amélioration de l'action antifongique de MISCA, un extrait végétal contre Cryptococcus neoformans, Aspergillus fumigatus et Candida albicans, trois germes opportunistes du SIDA*, J.B.NA. **2** (1996) 11-16.

- [36] R. Holt, *Laboratory test of antifungal drug*, J. Clin. Path., **18** (1975) 767-774.
- [37] I. Bagré, C. Bahi, L. Gnahoué, J. A. Djaman et F. Guédé-Guina, *Composition phytochimique et évaluation inn vitro de l'activité antifongique des extraits des feuilles de Morinda morindoides (Baker) Milne-Medhed (Rubiaceae) sur Aspergillus fumigatus et Candida albicans*, J. Sci. Pharm. Biol., **8**, (2007), 15-23.

ANNEXES II

**DONNEES
STATISTIQUES**

II

Analyse statistique de l'activité de l'extrait X_{Aq} sur les isolats de *Aspergillus fumigatus*, de *Candida albicans* et de *Trichophyton mentagrophytes*.

	<u>Sdv</u>	<u>ddl</u>	<u>Sc</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Concentrations	9	74960	8329	318,4***
	Erreur	40	1047	26,16	0,9862 ^{ns}
	Total	49	76010	-	-
<i>Candida albicans</i>	Concentrations	14	149900	10710	2831***
	Erreur	55	208	3,782	0,9986 ^{ns}
	Total	69	150100	-	-
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	Concentrations	7	70290	10040	725***
	Erreur	32	443,2	13,85	0,9937 ^{ns}
	Total	39	70730	-	-

Sdv = source de variation ; **ddl** = degré de liberté ; **Sc** = somme des carrés ; **CM** = carré moyen **Fcal** = F calculée ; **Fth** = Fthéorique

Pour chacun des isolats testés avec l'extrait X₀, Fcal < Ftab. Donc pour une concentration donnée, Il n'y a pas de différence significative entre les différents tests.

Analyse statistique de l'activité de l'extrait X₀ sur les isolats de *Aspergillus fumigatus*, de *Candida albicans* et de *Trichophyton mentagrophytes*.

	<u>Sdv</u>	<u>ddl</u>	<u>Sc</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Concentrations	6	32740	5456	200***
	Erreur	28	744	27,29	0,9772 ^{ns}
	Total	34	33500	-	-
<i>Candida albicans</i>	Concentrations	14	165900	11850	60350***
	Erreur	55	10,80	0,1964	0,9999 ^{ns}
	Total	69	165900	-	-
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	Concentrations	3	21030	7008	177,4***
	Erreur	16	662	39,50	0,9708 ^{ns}
	Total	19	21660	-	-

Pour chacun des isolats testés avec l'extrait X₀, Fcal < Ftab. Donc pour une concentration donnée, Il n'y a pas de différence significative entre les différents tests.

III

Analyse statistique de l'activité de l'extrait X_{1,1} sur les isolats de *Aspergillus fumigatus*, de *Candida albicans* et de *Trichophyton mentagrophytes*.

	<u>Sdv</u>	<u>ddl</u>	<u>Sc</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Concentrations	9	50030	5559	273, 3 ^{***}
	Erreur	40	813,7	20,344	0,9840 ^{ns}
	Total	49	50850	-	-
<i>Candida albicans</i>	Concentrations	14	121700	8694	1189 ^{***}
	Erreur	55	402	7,309	0,9967 ^{ns}
	Total	69	122100	-	-
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	Concentrations	3	32620	110870	286, 2 ^{***}
	Erreur	16	608	38	0,9817 ^{ns}
	Total	19	33230	-	-

Pour chacun des isolats testés avec l'extrait X_{1,1}, F_{cal} < F_{tab}. Donc pour une concentration donnée, Il n'y a pas de différence significative entre les différents tests.

Analyse statistique de l'activité de l'extrait X_{1,2} sur les isolats de *Aspergillus fumigatus*, de *Candida albicans* et de *Trichophyton mentagrophytes*.

	<u>Sdv</u>	<u>ddl</u>	<u>Sc</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Concentrations	6	65600	10930	1353 ^{***}
	Erreur	28	226,2	8,078	0,9966 ^{ns}
	Total	34	65820	-	-
<i>Candida albicans</i>	Concentrations	7	83460	11920	1178 ^{***}
	Erreur	32	324	10,13	0,9961 ^{ns}
	Total	39	83790	-	-
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	Concentrations	7	55600	7943	869, 2 ^{***}
	Erreur	32	292,4	9,138	0,9948 ^{ns}
	Total	39	55890	-	-

Pour chacun des isolats testés avec l'extrait X_{1,2}, F_{cal} < F_{tab}. Donc pour une concentration donnée, Il n'y a pas de différence significative entre les différents tests.

IV

Analyse statistique de l'activité de l'extrait X_{2,1} sur les isolats de *Aspergillus fumigatus*, de *Candida albicans* et de *Trichophyton mentagrophytes*.

	<u>Sdv</u>	<u>ddl</u>	<u>Sc</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Concentrations	8	67130	8391	349,6 ^{***}
	Erreur	36	864	24	0,9873 ^{ns}
	Total	44	67990	-	-
<i>Candida albicans</i>	Concentrations	14	115400	8244	639,7 ^{***}
	Erreur	55	708,8	12,89	0,9939 ^{ns}
	Total	69	11600	-	-
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	Concentrations	3	34660	11550	1155 ^{***}
	Erreur	16	160	10	0,9954 ^{ns}
	Total	19	34820	-	-

Pour chacun des isolats testés avec l'extrait X_{2,1}, F_{cal} < F_{tab}. Donc pour une concentration donnée, Il n'y a pas de différence significative entre les différents tests.

Analyse statistique de l'activité de l'extrait X_{2,2} sur les isolats de *Aspergillus fumigatus*, de *Candida albicans* et de *Trichophyton mentagrophytes*.

	<u>Sdv</u>	<u>ddl</u>	<u>Sc</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Concentrations	7	41350	5907	265,3 ^{***}
	Erreur	32	712,6	22,27	0,9831 ^{ns}
	Total	39	42060	-	-
<i>Candida albicans</i>	Concentrations	14	124400	8883	2213 ^{***}
	Erreur	55	220,8	4,015	0,9982 ^{ns}
	Total	69	124600	-	-
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	Concentrations	3	26500	8835	303,3 ^{***}
	Erreur	16	466	29,113	0,9827 ^{ns}
	Total	19	26970	-	-

Pour chacun des isolats testés avec l'extrait X_{2,2}, F_{cal} < F_{tab}. Donc pour une concentration donnée, Il n'y a pas de différence significative entre les différents tests.

Analyse statistique de l'activité de l'extrait X_{3,1} sur les isolats de *Aspergillus fumigatus*, de *Candida albicans* et de *Trichophyton mentagrophytes*.

	<u>Sdv</u>	<u>ddl</u>	<u>Sc</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Concentrations	7	43950	6279	712,5***
	Erreur	32	282	8,813	0,9936 ^{ns}
	Total	39	44230	-	-
<i>Candida albicans</i>	Concentrations	14	123800	8845	897,6***
	Erreur	55	542	9,855	0,9956 ^{ns}
	Total	69	124400	-	-
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	Concentrations	6	44830	7472	569,8***
	Erreur	28	367,2	13,11	0,9919 ^{ns}
	Total	34	45200	-	-

Pour chacun des isolats testés avec l'extrait X_{3,1}, F_{cal} < F_{tab}. Donc pour une concentration donnée, Il n'y a pas de différence significative entre les différents tests.

Analyse statistique de l'activité de l'extrait X_{3,2} sur les isolats de *Aspergillus fumigatus*, de *Candida albicans* et de *Trichophyton mentagrophytes*.

	<u>Sdv</u>	<u>ddl</u>	<u>Sc</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Concentrations	4	38040	9510	157,1***
	Erreur	20	1210	60,52	0,9692 ^{ns}
	Total	24	39250	-	-
<i>Candida albicans</i>	Concentrations	12	117200	9765	1109***
	Erreur	47	414	8,809	0,9965 ^{ns}
	Total	59	117600	-	-
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	Concentrations	6	47550	7925	1718***
	Erreur	28	129,2	4,614	0,9973 ^{ns}
	Total	34	47680	-	-

Pour chacun des isolats testés avec l'extrait X_{3,2}, F_{cal} < F_{tab}. Donc pour une concentration donnée, Il n'y a pas de différence significative entre les différents tests.

Analyse statistique de l'activité de la fraction 12 sur les isolats de *Aspergillus fumigatus*, de *Candida albicans* et de *Trichophyton mentagrophytes*.

	<u>Sdv</u>	<u>ddl</u>	<u>Sc</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Concentrations	6	44240	7373	540,4 ^{***}
	Erreur	28	382	13,64	0,9914 ^{ns}
	Total	34	44620	-	-
<i>Candida albicans</i>	Concentrations	6	4934	822,4	195,1 ^{***}
	Erreur	28	118	4,214	0,9766 ^{ns}
	Total	34	5052	-	-
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	Concentrations	7	58240	8321	346,7 ^{***}
	Erreur	32	768	24,00	0,9870 ^{ns}
	Total	39	59010	-	-

Pour chacun des isolats testés avec F12, $F_{cal} < F_{tab}$. Donc pour une concentration donnée, Il n'y a pas de différence significative entre les différents tests.

RESUME

Malgré les progrès réalisés en médecine au cours des dernières décennies, de nombreux traitements médicamenteux restent insuffisants face aux fléaux tels que: le paludisme, le cancer, les infections virales, bactériennes et fongiques. A ceci, s'ajoute l'augmentation de l'incidence des infections fongiques avec l'émergence de nouvelles maladies qui affaiblissent le système immunitaire (SIDA) ainsi que l'apparition de souches de microorganismes de plus en plus résistantes aux traitements connus.

Le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre ces fléaux. C'est dans ce but que notre équipe a testé différents extraits végétaux (aqueux, éthanolique, butanolique, hexanique, et acétatique) de TEKAM₃ une poudre végétale obtenue à partir de *Terminalia catappa* une combrétacée sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton mentagrophytes*. Ceux-ci sont sensibles aux différents extraits de TEKAM₃. Parmi les huit extraits testés, X_{1,2} possède la plus forte activité inhibitrice. Vingt fractions issues de la chromatographie sur gel de filtration sephadex G₂₅ de X_{1,2} issu de la partition hexane-eau ont montré que les trois germes fongiques sont sensibles aux vingt fractions. Parmi ces vingt fractions testées, F₁₂ possède la plus forte activité inhibitrice :

Pour *C. albicans* CMF= 5 µg/mL CI₅₀= 1, 6 µg/mL.

Pour *A. fumigatus* CMF= 10 µg/mL CI₅₀= 1 µg/mL.

Pour *T. mentagrophytes* CMF= 0, 5 µg/mL CI₅₀= 0, 04 µg/mL.

La révélation du chromatogramme à la vanilline sulfurique de la fraction F₁₂ a montré que l'activité antifongique de la fraction F₁₂ serait due à des molécules qui appartiennent au groupe des saponosides triterpeniques.

La méthode de préparation de l'extrait (X_{1,2}) par partitions de l'extrait éthanolique dans une succession de plusieurs solvants suivie de chromatographie sur gel de filtration sephadex G₂₅ est une méthode permettant non seulement de mieux concentrer mais aussi de purifier et d'isoler le principe actif. Par cette méthode, nous avons atteint notre objectif.

MOTS CLES : *Terminalia catappa*, activités antifongiques, chromatographie.

ABSTRACT

In spite of achievements in medicine during the last decades, many medicinal treatments remain limited against curses such as: malaria, cancer, viral, bacterial and fungus infections. Added to this is the increase in the incidence of fungal infections with the emergence of new diseases that weaken the immune system (AIDS) as well as the appearance of strains of microorganisms that are increasingly resistant to known treatments.

The elaboration of new therapeutic agents proves to be essential to fight those curses. It is for this purpose that our team tested various plant extracts (aqueous, ethanolic, butanolic, hexanic, and acetatic) of TEKAM3 a vegetable powder obtained from *Terminalia catappa* a combretaceous on the in vitro growth of *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* and *Trichophyton mentagrophytes*. These are sensitive to the different TEKAM3 extracts. Among the eight extracts tested, X1.2 has the strongest inhibitory activity. Twenty fractions from chromatography on X1 sephadex G25 filtration gel. 2 from the hexane-water partition showed that the three fungal germs are sensitive to twenty fractions. Among these twenty fractions tested, F12 has the strongest inhibitory activity:

For *C. albicans* FMC = 5 µg / mL IC₅₀ = 1.6 µg / mL.

For *A. fumigatus* FMC = 10 µg / mL IC₅₀ = 1 µg / mL.

For *T. mentagrophytes* FMC = 0.5 µg / mL IC₅₀ = 0.04 µg / mL.

The revelation of the sulfuric vanillin chromatogram of the F12 fraction showed that the antifungal activity of the F12 fraction is due to molecules which belong to the group of triterpenic saponosides.

The method of preparation of the extract (X1.2) by partitions of the ethanolic extract in a succession of several solvents followed by chromatography on sephadex G25 filtration gel is a method which allows not only to better concentrate but also to purify and isolate the active ingredient. By this method, we have achieved our goal.

KEY WORDS: *Terminalia catappa*, antifungal activities, chromatography.