

Potentiel antifongique des extraits de feuilles de *Bersama abyssinica* Fresen. (Francoaceae) sur *Aspergillus flavus*

Kouadio BENE^{1*}, Bosson Arobia Marie Bernadine ORSOT², Djeneb CAMARA³,
Adon Basile YAPI³, Yao KANGA² et Guédé Noël ZIRIHI³

¹ Université Nangui Abrogoua, UFR Sciences de la Nature, 02 BP 801 Abidjan 02, Abidjan, Côte d'Ivoire

² Université Péléforo Gon Coulibaly, UFR Sciences Biologiques, BP 1328 Korhogo, Korhogo, Côte d'Ivoire

³ Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, UFR Biosciences, 22 BP 582 Abidjan 22, Abidjan, Côte d'Ivoire

* Correspondance, courriel : benekouadio.sn@univ-na.ci

Résumé

Aspergillus flavus est l'un des champignons qui cause la perte de production agricole des céréales de grande importance économique tels que le riz et le maïs, ainsi que, divers autres fruits. Par ailleurs, son absorption provoque d'énorme risque de santé aux consommateurs. L'objectif de cette étude est de trouver de nouvelles substances bioactives capables de lutter efficacement contre ce champignon nocif par ses toxines. Pour se faire, une enquête ethnobotanique a été menée dans le Département de Transua (Est de la Côte d'Ivoire). Après extraction des principes actifs, la méthode de double dilution en tubes penchés sur gélose Sabouraud a été utilisée pour évaluer l'activité antifongique de deux extraits de feuilles de cette plante sur *Aspergillus flavus*. L'enquête révèle *Bersama abyssinica*, espèce médicinale très sollicitée dans le traitement des mycoses et les résultats de l'activité antifongique montrent que les extraits, total aqueux (Eaq) et éthanolique 70 % (Eeth 70 %) possèdent un potentiel antifongique. Eeth 70 % est le plus actif (CMI = $0,098 \pm 0$ mg/mL et $CI_{50} = 0,057$ mg/mL). Ces résultats justifient bien l'usage traditionnel de *Bersama abyssinica* dans le traitement des affections mycosiques à Transua. *Bersama abyssinica* constitue une alternative dans la lutte biologique par la formulation d'un biofongicide contre *Aspergillus flavus* productrice de l'aflatoxine B₁, permettant de sécuriser la production agricole, de protéger l'environnement et de contrôler la santé des consommateurs.

Mots-clés : *potentiel antifongique, Bersama abyssinica, extrait éthanolique 70 %, Aspergillus flavus.*

Abstract

Antifungal potential of leaf extracts of *Bersama abyssinica* Fresen. (Francoaceae) on *Aspergillus flavus*

Aspergillus flavus is one of the fungi causing the loss of agricultural production of cereals with great economic importance such as rice and corn, as well as, various other fruits. Moreover, its absorption causes enormous health risk to consumers. The purpose of this study is to find new bioactive substances able to fight effectively against this harmful fungus by its toxins. To be done, an ethnobotanical survey was conducted in the Department of Transua (Eastern Côte d'Ivoire). After extraction of the active compounds, the double dilution method in tubes bent on Sabouraud agar was used to evaluate the antifungal activity on *Aspergillus flavus* of two leaf extracts of this plant. This investigation revealed that *Bersama abyssinica* is a medicinal species with

great demand in the treatment of mycoses. The total aqueous (Eaq) and the 70 % ethanolic extracts (Eeth70 %) tested have antifungal potential. Eeth70 % is the most active (IMC = 0.098 ± 0 mg / mL and $IC_{50} = 0.057$ mg / mL). These results justify the traditional use of *B. abyssinica* in the treatment of mycotic affections in Transva. *B. abyssinica* is an alternative in the biological control by formulating a biofungicide against *A. flavus* producer of B₁-aflatoxin, which helps to secure agricultural production, protect the environment and control the consumers' health.

Keywords : *antifungal potential, Bersama abyssinica, 70 % ethanolic extract, Aspergillus flavus.*

1. Introduction

De nombreux produits agricoles sont sujets aux attaques d'un groupe de champignons qui produit des métabolites toxiques appelés mycotoxines. Parmi ces dernières, les aflatoxines sont les plus étudiées à cause de leurs effets nocifs sur la santé des humains et des animaux [1]. Les aflatoxines sont des toxines naturelles [2] produites par certains champignons dont les plus répandues sont les *Aspergillus* (moisissures). Ces espèces contaminent généralement les produits alimentaires, principalement les céréales, les graines oléagineuses, les tourteaux destinés à l'alimentation animale, les fruits, les épices de toutes sortes, le café, les fèves de cacao, les produits laitiers et bien d'autres [3, 4]. La contamination et la croissance des moisissures productrices d'aflatoxines sont favorisées par la blessure des grains ou des fruits, à tous les stades de la production [3]. Ainsi, les aflatoxines sont produites tant au cours de la production agricole, de la récolte, du transport, du stockage que de la transformation des aliments. Du fait des pertes de récolte pouvant s'élever jusqu'à 40 % de la production potentielle, *Aspergillus* et les aflatoxines produites représentent des défis majeurs pour les systèmes mondiaux dans les domaines de la sécurité alimentaire, la santé, la nutrition et l'économie [5]. Parmi ces mycotoxines, l'aflatoxine B₁ (AFB₁), représentant majeur du groupe des aflatoxines [6], est la plus fréquente et la plus toxique. Elle est considérée comme l'un des plus puissants cancérigènes génotoxiques naturels et son organe cible est le foie. *Aspergillus flavus* est la principale espèce productrice d'aflatoxines, uniquement du groupe B [3]. Ce champignon, en plus d'être nocif en contaminant les produits de consommation agricole et animal, sécrète une mycotoxine. L'intoxication se réalise généralement par la consommation de ces produits contaminés et quelques fois par inhalation ou absorption cutanée des spores de ce champignon qui sont facilement disséminés dans l'air [7].

L'exposition à des niveaux élevés d'aflatoxine peut entraîner la mort par insuffisance hépatique [8]. Le plus grave cas d'intoxication par aflatoxines recensé dans le monde s'est produit au Kenya en 2004. Selon les déclarations des établissements médicaux locaux, 317 personnes ont dû être hospitalisées et 125 personnes en sont décédées. Cette intoxication a été attribuée à la consommation de maïs indigène stocké dans un environnement humide [9-10]. L'exposition prolongée à de faibles niveaux d'intoxication peut être chronique et suspectée de provoquer diverses affections telles que le cancer du foie, un retard de croissance, le kwashiorkor (malnutrition protéique) chez les enfants [11] et une baisse de la capacité à lutter contre l'invasion par d'autres agents pathogènes [12]. La lutte chimique reste la méthode la plus efficace contre ce champignon malgré ses nombreux effets néfastes pour l'environnement, la conservation de la biodiversité et surtout la santé du consommateur [13]. Ainsi, la lutte biologique, par l'utilisation des substances naturelles d'origine végétale en remplacement des fongicides de synthèse, est de plus en plus recommandée. Au vue des pertes de rendement causées par *Aspergillus flavus* dans l'agriculture d'une part et les multiples affections sévères liées à la production d'aflatoxines, surtout, du type B₁ pouvant causer la mort d'autre part, il convient de rechercher de nouvelles molécules bioactives permettant de lutter efficacement contre ce champignon. L'objectif de cette étude est de faire une étude ethnobotanique et d'évaluer l'activité antifongique des extraits aqueux et hydroéthanolique 70 % des feuilles de *Bersama abyssinica* Fresen. (Francoaceae) sur *Aspergillus flavus*.

2. Matériel et méthodes

2-1. Matériel

2-1-1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles de *Bersama abyssinica* Fresen. (Francoaceae) récoltées au cours de l'enquête ethnobotanique. La nomenclature a été faite selon Angiosperm Phylogeny Group [14].

2-1-2. Souche fongique

La souche testée est *Aspergillus flavus*. Elle provient du laboratoire de mycologie de l'institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI). Elle a été isolée et cultivée sur gélose de Sabouraud. Son aspect poudreux ou duveteux demande certaines précautions durant les manipulations. En effet, *Aspergillus flavus* est ubiquitaire (végétation, eau, sol, etc.). Les conidies sont dispersées dans l'environnement principalement par l'air, mais aussi par l'eau, les animaux et l'Homme.

2-2. Méthodes

2-2-1. Préparation des extraits végétaux

Les feuilles de *Bersama abyssinica* récoltées, ont été rincées à l'eau et séchées à l'abri du soleil. Ces drogues végétales séchées ont été ensuite réduites en poudre fine grâce à un broyeur électrique IKA-MAG RTC. L'extraction des principes actifs a été faite selon la méthode de [15] couplée à la méthode faite par épuisement. Cent grammes (100 g) de poudre de drogues sont homogénéisés dans un (1) litre d'eau distillée dans un Blender (Mixer) de marque Life's Superb (LS-317) pendant trois fois trois minutes à température ambiante. L'homogénat obtenu est filtré successivement sur un carré de tissu blanc, sur du coton hydrophile puis sur du papier Wattman. À l'aide d'une étuve réglée à 50°C, le solvant d'extraction est éliminé. L'évaporat sec est récupéré sous forme de poudre et constitue l'extrait total aqueux (Eaq). Dix grammes (10 g) de l'Eaq sont dissouts dans 200 mL d'une solution éthanol-eau (70/30) puis homogénéisés dans un Blender. Après décantation dans une ampoule à décanter, une phase liquide avec un résidu solide qui précipite est obtenu, car insoluble dans le mélange alcool-eau 70-30. Le surnageant est recueilli, filtré sur du coton pour le débarrasser de tout résidu et séché à l'étuve (50°C). La poudre obtenue constitue l'extrait éthanolique 70 % (Eeth 70 %).

2-2-2. Tri phytochimique

Pour justifier les activités pharmacologiques éventuelles de *Bersama abyssinica*, un tri phytochimique a été effectué afin de déceler quelques grands groupes de métabolites secondaires contenus dans les deux extraits de cette plante. Les résumés des réactions sont contenus dans le **Tableau 1**. Le criblage par réactions colorées a été utilisé [16].

Tableau 1 : Tableau synthétique de groupes chimiques, réactions d'identification et indicateurs utilisés

Groupes chimiques		Réactifs d'identification	Indicateur (Réaction positive)
Stérols et polyterpènes		Anhydride acétique Acide sulfurique concentré	Apparition à l'interphase d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert.
Polyphénols		Chlorure ferrique FeCl ₃ (2 %)	Apparition d'une coloration bleue noirâtre ou verte plus ou moins foncée
Flavonoïdes		Alcool chlorhydrique Copaux de Magnésium Alcool isoamylique	Dégagement de chaleur puis coloration rose-orange ou violacée
Tanins	Catéchiques	Formaldéhyde Acide chlorhydrique concentré	Précipité gélatineux (en gros flocons)
	Galliques	Acétate de sodium Chlorure ferrique	Coloration bleue-noire intense
Quinones		Ammoniaque	Apparition d'une coloration allant du rouge au violet.
Saponosides		Indice mousse (Par agitation)	Apparition d'une mousse persistante
Alcaloïdes		Dragendorff (Solution iodo-bismuthate de potassium) Burchard (Reaction iodo-iodurée)	Précipité de coloration brun-rougeâtre

Les solutions présentant ces indicateurs ont une réaction positive et cela signale la présence de groupes chimiques dans la drogue.

2-2-3. Activité antifongique

- **Préparation des milieux de culture**

L'incorporation des extraits végétaux à la gélose Sabouraud a été faite selon la méthode de la double dilution en tubes penchés [17]. Les deux extraits ont été testés séparément. Chaque série comporte 14 tubes à essai dont 12 tubes tests (contenant l'extrait végétal) et 2 tubes témoins (un sans extrait végétal, sert de témoin de contrôle de croissance du germe ; l'autre sans germe et sans extrait sert de témoin de contrôle de stérilité du milieu de culture). Pour les douze tubes tests, les concentrations des extraits variaient de 50 à 0,024 mg/mL selon une suite géométrique de raison 1/2.

- **Stérilisation**

Les 14 tubes de chaque série ont été stérilisés à l'autoclave (PBI STEMATIC III) à 121°C pendant 15 minutes et ensuite inclinés avec petit culot à la température de la salle pour permettre le refroidissement et la solidification de la gélose [18].

- **Évaluation de l'activité Antifongique**

L'inoculum est préparé à partir de cultures de germes de 48 heures sur gélose en pente. Ces germes sont prélevés à l'aide d'une anse de platine, puis homogénéisés dans 10 mL d'eau distillée stérilisée. On obtient ainsi une suspension 10⁰ de germes, à partir de laquelle est préparée la suspension 10⁻¹, par dilution au dixième, en transférant 1 mL de la suspension 10⁰ dans 9 mL d'eau distillée stérile pour avoir un volume final de 10 mL. La culture des germes sur les milieux précédemment préparés a été faite par l'ensemencement en stries transversales serrées jusqu'à épuisement de 1000 levures de la souche de *Aspergillus flavus* équivalent à 10 µl de la suspension 10⁻¹ contenant 10⁵ germes/mL [19]. Les cultures ainsi réalisées ont été incubées à la température de la salle pendant 72 heures.

• **Dénombrement des colonies**

Les colonies formées ont été comptées de la 36^e à la 48^e heure d'incubation, elles ont été dénombrées par comptage direct grâce à un stylo compteur de colonies de type Geiger. La croissance des germes dans les 12 tubes expérimentaux a été évaluée en pourcentage de survivance, calculé par rapport à 100 % de survivance dans le tube témoin de contrôle de la croissance [20-21]. La méthode de calcul du pourcentage de survivance s'est faite selon la **Formule (1)**.

$$S = \frac{n}{N} \times 100 \tag{1}$$

S étant la survivance de Aspergillus flavus (en pourcentage), N le nombre de colonies dans le tube témoin et n le nombre de colonies dans le tube expérimental.

• **Paramètres antifongiques recherchés**

Le traitement des données a permis de déterminer les paramètres antifongiques suivants [20] :

- La CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) : c'est la concentration d'extrait dans le tube pour lequel il n'y a aucune croissance visible du germe, à l'œil nu.
- La CI₅₀ (Concentration pour cinquante pour cent d'Inhibition) : c'est la concentration qui donne 50 % d'inhibition. Elle est déterminée graphiquement à partir du tracé de la courbe de sensibilité de *Aspergillus flavus* à chaque extrait.
- La courbe de sensibilité : elle représente l'évolution de la sensibilité de *Aspergillus flavus* en fonction des variations de la concentration de l'extrait.

3. Résultats

3-1. Tri phytochimique

Le tri phytochimique a permis la mise en évidence de composés chimiques tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les saponines et les alcaloïdes (**Tableau 2**).

Tableau 2 : Composition chimique des extraits Bersama abyssinica

Composés	Extraits	Eaq	Eeth 70 %
Polyphénols		++	+++
Tanins catéchiques		+	+
Tanins galliques		++	++
Saponosides		-	+
Flavonoïdes		++	++
Stérols et triterpènes		+	-
Alcaloïdes		-	++
Coumarines		+	+

- Absent ; + Présence ; ++ Très présent ; +++ Très très présent

3-2. Effet des extraits de plante sur *Aspergillus flavus*

Après 72 heures d'incubation, on observe comparativement au tube témoin, une baisse progressive du nombre de colonies de *Aspergillus flavus* au fur et à mesure que les concentrations des extraits Eaq et Eeth 70 % augmentent dans les tubes expérimentaux. Les courbes de sensibilité de *Aspergillus flavus* aux deux extraits présentent une allure décroissante avec des pentes fortes (**Figure 1**). La pente de Eeth 70% est plus forte et plus proche de l'axe des ordonnées que celle de Eaq. Les deux courbes coupent l'axe des abscisses à différentes concentrations, respectivement à $0,098 \pm 0$ et $0,195 \pm 0$ mg/mL pour Eeth 70 % et Eaq. Ces valeurs représentent le potentiel d'inhibition à 100% des extraits c'est-à-dire la CMI. Cela illustre bien la sensibilité dose dépendante de *Aspergillus flavus* aux différents extraits testés. À partir de ces courbes, les CI_{50} ont été déterminées (**Tableau 3**).

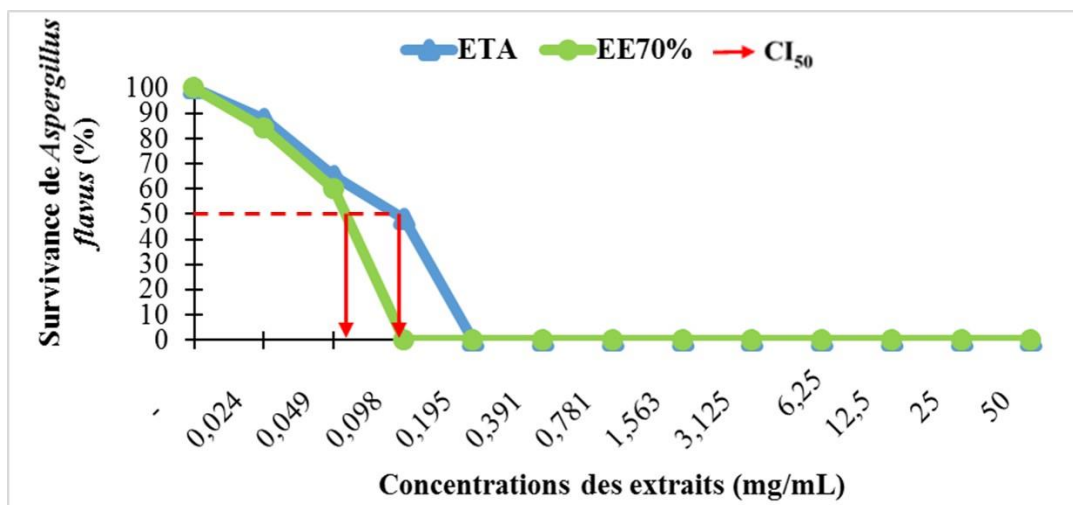


Figure 1 : Courbes de sensibilité de *Aspergillus flavus* aux extraits Eaq et Eéth70% de *Bersama abyssinica*

Tableau 3 : Valeurs des paramètres antifongiques des deux extraits de *Bersama abyssinica* à 72 heures d'incubation

Extraits de <i>Bersama abyssinica</i>	Paramètres antifongiques	
	CMI (mg/mL)	CI_{50} (mg/mL)
Eaq	$0,195 \pm 0$	0,092
Eeth 70 %	$0,098 \pm 0$	0,057

4. Discussion

Les résultats montrent que *Aspergillus flavus* est sensible aux extraits aqueux (Eaq) et éthanoliques 70 % (Eeth 70 %) de *Bersama abyssinica*, selon une relation dose-réponse. Les valeurs des concentrations inhibitrices obtenues attestent que les extraits ont des activités antifongiques accentuées avec une meilleure activité pour l'extrait hydroéthanolique 70 % (CMI = $0,098 \pm 0$ mg/mL). Cela montre que la partition de Eaq (par le solvant éthanol / eau) permet de mieux concentrer les principes actifs, révélant ainsi un meilleur potentiel antifongique. En effet, l'Eaq étant un *totum*, contiendrait un ensemble de molécules de petites, moyennes et de grandes tailles puisque l'eau est un solvant qui extrait un grand groupe de composés chimiques. L'Eeth 70 % issu de la partition concentre donc beaucoup de principes actifs de faibles et de moyennes tailles (terpénoïdes, les phénols, les polyphénols, les quinones etc.) pouvant davantage exprimer leur potentiel antifongique, d'où la meilleure activité observée avec cet extrait. Cette observation est

soutenue par plusieurs auteurs dont [21 - 23] qui ont montré que les extraits hydroalcooliques présentent les meilleures activités antimicrobiennes et concentrent mieux les principes actifs. En effet, selon ces auteurs, lorsqu'on passe de l'extrait total aqueux à l'extrait éthanolique, certains groupes chimiques sont éliminés et d'autres sont concentrés. Ces principes actifs qui sont des molécules solubles dans l'éthanol pourraient être soit des terpènes, soit des alcaloïdes. Le rapport d'efficacité établi sur la base des $CI_{50} (CI_{50(Eaq)} / CI_{50(Eeth70\%)} = 0,092 / 0,057 = 1,6$) montre que l'extrait Eeth 70 % est 1,6 fois plus actif que Eaq. Le tri phytochimiques a mis en évidence plusieurs groupes chimiques. Parmi ceux-ci, les composés tels que les polyphénols, les tanins, les flavonoïdes et saponosides sont doués de diverses activités biologiques dont celles antimicrobiennes démontrées par plusieurs auteurs dont [13, 17, 24]. Ainsi, les activités antifongiques observées pourraient s'expliquer par la richesse de cette plante ces métabolites secondaires. En outre, la majorité de ces composés seraient à la base des activités physiologiques contre les microorganismes pathogènes dont *Aspergillus flavus*. Ces résultats sont en accord avec ceux de [25], qui ont montré dans leur étude que les extraits de *Bersama abyssinica* possédaient une activité antimicrobienne.

5. Conclusion

Ce travail permet mettre en évidence les propriétés antifongiques des extraits aqueux et éthanolique 70 % des feuilles de *Bersama abyssinica* Fresen. (Francoaceae) sur la croissance *in vitro* de *Aspergillus flavus* productrice d'aflatoxine B₁. L'extrait éthanolique 70 % présente la meilleure activité. Ces résultats pourraient justifier les usages traditionnels de cette plante dans le traitement des mycoses. *Bersama abyssinica* pourraient constituer une alternative dans la lutte biologique contre *Aspergillus flavus* productrice de l'aflatoxine B₁. Ce qui permettrait de sécuriser la production agricole, de protéger l'environnement et de contrôler la santé des consommateurs.

Références

- [1] - H. P. VAN EGMOND, C. S. RONALD and A. J. MARCO, Regulations relating to mycotoxins in food. Perspectives in a global and European context. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389 (2007) 147 - 157
- [2] - CODEX, CODEX general standards for contaminants and toxins in food and feed. http://www.codexalimentarius.org/input/download/standards/17/CXS_193e, (2013). Consulté le 13 septembre 2017
- [3] - ANSES, *Aspergillus flavus* et autres moisissures productrices d'aflatoxines. Agence nationale de sécurité sanitaire, France, (2012) 3 p.
- [4] - A. CARVAJAL-CAMPOS, A. L. MANIZAN, S. TADRIST, D. K. AKAKI, R. KOFFI-NEVRY, G. G. MOORE, S. O. FAPOHUNDA, S. BAILLY, D. MONTET, I. P. OSWALD, S. LORBER, C. BRABET and O. PUEL, *Aspergillus korhogoensis*, a Novel Aflatoxin Producing Species from the Côte d'Ivoire. *Toxins*, 9 (353) (2017) 1 - 22
- [5] - P. A. MURPHY, S. HENDRICH and C. M. BRYANT, Food mycotoxins: an update. *Journal of Food Science*, 71 (5) (2006) 51 - 65
- [6] - AFSSA, Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale. Agence française de sécurité sanitaire des aliments, (2009) 308 p.
- [7] - J. M. WAGACHA and J. W. MUTHOMI, Mycotoxin problem in Africa: Current status, implications to food safety and health and possible management strategies. *International Journal of Food Microbiology*, 124 (2008) 1 - 12
- [8] - T. C. Chao, S. M. Maxwell and S. Y. Wong, An outbreak of aflatoxicosis and boric acid poisoning in Malaysia : a clinicopathological study. *Journal of Pathology*, 164 (1991) 225 - 233

- [9] - CDC (Centers for Disease Control and Prevention), Outbreak of aflatoxin poisoning - Eastern and Central provinces (Kenya), 53 (34) (2004) 790 - 793
- [10] - L. LEWIS, M. ONSONGO, H. NJAPAU, H. SCHURZ-ROGERS, G. LUBER and S. KIESZAK, The Kenya aflatoxicosis investigation group. Aflatoxin contamination of commercial maize products during an outbreak of acute aflatoxicosis in Eastern and Central Kenya. *Environmental Health Perspectives*, 113 (2005) 1763 - 1767
- [11] - S. A. OKOTH and M. OHINGO, Dietary aflatoxin exposure and impaired growth in young children from Kisumu, Kenya : Cross sectional study. *African Journal of Health Sciences*, 11 (2004) 43 - 54
- [12] - R. W. NJERU, Défis en matière de sécurité alimentaire : l'exemple de l'aflatoxine. Agro-Innovations International, Nairobi, Kenya, (2014) 8 p.
- [13] - B. A. M. B. ORSOT, S. SORO, N'D. G. KONKON, D. KONE et G. N. ZIRIHI, Étude ethnobotanique et évaluation *in vitro* de l'activité antifongique des extraits de l'écorce de *Zanthoxylum gillettii* (de Wild Waterman) sur deux souches phytopathogènes de *Sclerotium rolfsii*. *Journal of Applied Biosciences*, 98 (2016) 9309 - 9322
- [14] - APG IV, An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181 (2016) 1 - 20
- [15] - G. N. ZIRIHI, A. K. M. KRA et F. GUEDE-GUINA, Évaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* (Lamarck) O. Kuntze (Asteraceae) « PYMI » sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*. *Revue de Médecine et de Pharmacopées Africaines*, 17 (2003) 11 - 18
- [16] - M. J. DE D. MANGAMBU, K. F. MUSHAGALUSA et N. J. KADIMA, Contribution à l'étude phytochimique de quelques plantes médicinales antidiabétiques de la ville de Bukavu et ses environs (Sud-Kivu, R.D. Congo). *Journal of Applied Biosciences*, 75 (2014) 6211 - 6220
- [17] - K. COULIBALY, Études botanique, pharmacologique et explorations phytochimiques des extraits de *Terminalia ivorensis* et *Terminalia superba*, deux espèces ligneuses commerciales, médicinales antimicrobiennes de la forêt de Mopri, Tiassalé (Sud de la Côte d'Ivoire). Thèse de Doctorat de botanique, Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, Abidjan (Côte d'Ivoire), (2012) 200 p.
- [18] - K. E. KPOROU, A. K. M. KRA, S. OUATTARA, F. GUEDE-GUINA et A. J. DJAMAN, Évaluation de l'activité antiscaber sur *Candida tropicalis*. *Journal des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques*, 10 (1) (2009) 13 -
- [19] - J. R. HOLT, Laboratory test of antifungal drugs. *Journal of Clinical Pathology*, 1 (18) (1975) 767 - 774
- [20] - A. K. M. KRA, Recherche bioguidée de composés antifongiques à partir de plantes médicinales de Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat d'État, Pharmacologie des substances naturelles, Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, Abidjan (Côte d'Ivoire), (2016) 242 p.
- [21] - Y. KANGA, D. CAMARA, GNAHOUE G., N. GUESSENND, K. BENE, ALAIN SERGE AMBE et GUEDE NOEL ZIRIHI, Étude botanique, évaluation de l'activité anticandidosique de *Hunteria eburnea* et de sa toxicité sur les cellules humaines. *Afrique Science*, 12 (1) (2016) 214 - 223
- [22] - I. BAGRE, C. BAH, K. OUATTARA, G. N. ZIRIHI, A. J. DJAMAN, A. COULIBALY & J. D. N'GUESSAN, Étude botanique et exploration de l'activité antifongique de *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redh. sur la croissance *in vitro* de *Cryptococcus neoformans*. *Phytothérapie*, 9 (2011) 136 - 141
- [23] - A. KRA, G. M. AHON, D. DJO-BI, S. OUATTARA, A. COULIBALY, A. J. JOSEPH, Antifungal activities of medicinal plants extracts of Ivorian. *J. of. intercul. Ethnopharmacol*, 3 (4) (2014) 159 - 166
- [24] - K. F. KONAN, Activités antibactériennes (sur les entérobactéries productrices de bêta-lactamases a spectre élargi) et antioxydantes *in vitro* de *Terminalia glaucescens* Planch. (Combretaceae), une plante médicinale ouest-africaine. Thèse Unique de Doctorat, Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, Abidjan (Côte d'Ivoire), (2015) 144 p.
- [25] - N. ZEKEYA, F. SHAHADA & M. CHACHA, *In vitro* Antibacterial and Antifungal Activity of Tanzanian *Bersama abyssinica*. *International Journal of Science and Research*, 3 (7) (2014) 1150 - 1153