

PUBLICATION N°1

Titre : Evaluation de l'activité antifongique des extraits totaux de *Hugonia platysepala* sur les pathogènes responsables de cryptococcoses chez les sujets infectés par le VIH.

Auteurs : COULIBALY Ousmane, YAPO-CREZOIT Chiaye, IRA Bonouman, TOURE André, SORO Yaya

Revue : Journal of Applied Biosciences Volume 146 pp 15046 – 15054

Lien de la revue : <https://www.ajol.info/index.php/jab>

Lien de l'article : <https://doi.org/10.35759/JABs.v146.7>

Année de publication : 2020

Facteur d'impact : 2.88

Register Login OPTIMISE PAR Google

HOME JOURNALS HOW TO USE AJOL RESOURCES SUPPORTERS

Journal of Applied Biosciences
Journal / Journal of Applied Biosciences / About the Journal OPEN ACCESS

Current Archives About

Journal of Applied BioSciences

The *Journal of Applied Biosciences* provides a forum for scholars and practitioners in all spheres of biological sciences to publish their research findings or theoretical concepts and ideas of a scientific nature.

eISSN : 1997-5902

Editeur : Elewa Biosciences

Statut : revue à comité de lecture

COMITE DE LECTURE

<https://m.elewa.org/Journals/wp-content/uploads/2021/03/Acknowledgement-of-Reviewers-2020.pdf>



ACKNOWLEDGEMENT OF REVIEWERS 2020 **(Journal of Applied Biosciences , ISSN 1997 - 5902)** **(J. Appl. Biosci.)**

Dr KEUMEAN KEIBA NOEL

Maitre Assistant à l'Université Félix Houphouët Boigny, Cocody, Abidjan Cote d'Ivoire

Dr HOUNGBEDJI Marcel,

Food Scientist Université Abomey-Calavi, Benin

Victor Attuquaye Clottey (PhD)

Regional Representative, West Africa
CABI
CSIR Campus, No.6 Agostino Neto Road
PO Box CT 8630, Cantonments, Accra
Ghana

Eddy L. NGONKEU,

Institut de recherche agricole pour le développement (IRAD),
BP 2067 Yaoundé – Cameroun

Dr. GBALEGBA N.G. Constant, PhD

Medical Entomologist/Technical Advisor
National Malaria Control Programme (NMCP)
Focal Point of USAID-PMI/Vectorlink Project

Dr Sandaogo Hamidou OUANDAOGO

Docteur en Médecine Vétérinaire,
Master en Biotechnologie agroalimentaire, Master en Qualité des aliments de l'homme
Laboratoire National d'Élevage de Ouagadougou, Burkina Faso.

Dr Aristide KONAN

Maitre-Assistant
Ichtyologie-Ecologie aquatique
Université Félix Houphouët-Boigny
22 BP 582 ABidjan 22

Prof. Dr. Ir. Marcel R. B. HOUINATO

Directeur de l'Ecole Doctorale des Sciences Agronomiques
Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey-Calavi

COULIBALY Kiyinma

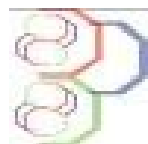
Maitre Assistant (CAMES) de Botanique
(Ethnobotanique Ethnopharmacologie)
UFR Sciences Biologiques
Université Peleforo Gon Coulibaly
BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire

Dr LAMINE M. Ousmane

Maitre de Conférences du CAMES
Département de Génie Rural & Eaux et Forêts
Faculté d'Agronomie et des Sciences de l'Environnement
Université Dan Dicko Dankoulodo de Maradi
BP : 465 Maradi - Niger

Professor Isaac Roger Tchouamo,

Faculty of Agronomy and Agricultural Sciences
Department of extension education and rural sociology
Universite de Dschang



Evaluation de l'activité antifongique des extraits totaux de *Hugonia platysepala* sur les pathogènes responsables de cryptococcoses chez les sujets infectés par le VIH

COULIBALY Ousmane^{124**}, YAPO-CREZOIT Chiaye², IRA Bonouman¹, TOURE André¹, SORO Yaya⁴

¹Laboratoire de mycologie et parasitologie de l'Institut Pasteur BP 490 Abidjan 01- Côte d'Ivoire

²Laboratoire d'immunologie de l'Institut Pasteur BP 490 Abidjan 01- Côte d'Ivoire

⁴Laboratoire des sciences des procédés chimique, alimentaire et environnementaux de l'INPHB BP 1313 Yamoussoukro - Côte d'Ivoire

**Auteur correspondant : coulibalyous1@gmail.com

* Original submitted in on 2nd December 2019. Published online at www.m.elewa.org/journals/ on 29th February 2020
<https://doi.org/10.35759/JABs.v146.7>

RÉSUMÉ

Objectif : Evaluer in vitro l'activité antifongique des extraits totaux des feuilles de *Hugonia platysepala*, plante médicinale du sud-ouest de la Côte d'Ivoire afin de traiter à moindre coût, les mycoses des sujets des pays pauvres, infectés par le VIH/SIDA.

Méthodologie et résultats : La macrométhode de dilution en milieu liquide et la méthode de diffusion en milieu solide ont été utilisées pour les essais antifongiques. Les résultats obtenus ont révélé que les deux extraits aqueux (ETA) et hydro alcoolique (ETOH) ont une activité fongicide sur *Cryptococcus neoformans* et *Candida albicans* mais l'extrait ETOH est 32 fois plus actif que l'extrait ETA avec une CMI de 1,56 mg/ml et une CMF de 50 mg/ml. Testé sur un isolat de *Candida albicans* résistant à l'Amphotéricine B et au Fluconazole, l'extrait ETOH a obtenu une zone d'inhibition au-dessus du seuil de sensibilité de 10 mm.

Conclusion et application : L'extrait ETOH a donc une action fongicide sur des souches de *Cryptococcus neoformans* et *Candida albicans*, sensibles ou résistantes aux antifongiques classiques régulièrement prescrits aux malades. Le screening phytochimique de cet extrait ETOH a révélé, la présence de terpènes et de polyphénols qui pourrait justifier ses propriétés pharmacologiques antifongiques. Grâce à son action fongicide, l'extrait ETOH de *Hugonia platysepala*, après purification de ses molécules actives, peut être utilisé comme Médicament Traditionnel Amélioré (MTA) dans le traitement des mycoses chez les sujets infectés par le VIH.

Mots clés : *Hugonia platysepala*, extrait total, VIH/SIDA, mycose opportuniste.

Evaluation of antifungal activity of *Hugonia platysepala* extracts on cryptococcosis-responsible pathogens in HIV-infected people

ABSTRACT

Objective: To evaluate in vitro the antifungal activity of total extracts from the leaves of *Hugonia platysepala*, a medicinal plant in southwestern Côte d'Ivoire in order to treat the fungi of people in poor countries infected with HIV/AIDS at a lower cost.

Methodology and results: The liquid dilution macromethod and solid-media scattering method have been used for antifungal testing. The results revealed that both water extracts (ETA) and hydro alcoholic (ETOH) have fungicide activity on *Cryptococcus neoformans* and *Candida albicans* but ETOH extract is 32 times more active than ETA extract with a 1.56 mg/ml CMI and CMF 50 mg/ml. Tested on an isolate of *Candida albicans* resistant to Amphotéricin B and Fluconazole, ETOH obtained an inhibition zone above the 10 mm sensitivity threshold.

Conclusion and application: ETOH therefore has a fungicide effect on strains of *Cryptococcus neoformans* and *Candida albicans*, sensitive or resistant to conventional antifungals regularly prescribed to patients. The phytochemical screening of this ETOH extract revealed the presence of terpenes and polyphenols that could justify its antifungal pharmacological properties. The ETOH extract of *Hugonia platysepala*, after purification of its active molecules, can be used as an Improved Traditional Drug in the treatment of fungus in HIV-infected people.

Keywords: *Hugonia platysepala*, total extract, HIV/AIDS, opportunistic fungus.

INTRODUCTION

Les cryptococcoses et les candidoses sont des mycoses provoquées respectivement par les champignons microscopiques pathogènes, *Cryptococcus neoformans* et *Candida albicans*. Ce sont des mycètes encapsulés de type levures qui infectent majoritairement des personnes ayant un système immunitaire affaibli. Les mycoses surviennent essentiellement chez les sujets immunodéprimés, et en particulier les sujets infectés par le VIH (Dromer *et al.* 2003 ; Perfect *et al.* 2010). Devenue le principal facteur favorisant ces mycoses, l'infection à VIH a modifié l'épidémiologie de cette maladie opportuniste. En Afrique subsaharienne, les cryptococcoses et les candidoses restent les causes majeures des mycoses opportunistes, elles occupent le quatrième rang des décès dus aux maladies infectieuses avec un taux de mortalité de 45,1% (Aoussi *et al.* 2012; OMS, 2017). Ce taux de mortalité et de morbidité reste élevé dans nos pays en développement chez les personnes vivants avec le VIH (PVVIH) à cause de l'inaccessibilité des antifongiques classiques à nos populations compte tenu de leur coût très élevé et de leur indisponibilité. Aussi, certaines études ont montré

la toxicité rénale et hématologique de l'Amphotéricine B. (Kouangbé *et al.* 2015; Guillot et Dannaoui 2016). Dès lors, pour résoudre ce problème de prise en charge des mycoses chez les PVVIH, la recherche alternative de nouvelles molécules plus adaptées et moins coûteuses dans notre patrimoine floristique est nécessaire. D'où cet intérêt pour *Hugonia platysepala*, une plante utilisée en médecine traditionnelle ivoirienne pour ses vertus antifongiques. Appelée en Dioula «*Tchêbanikala*», *Hugonia platysepala* est un arbuste lianescent de la famille des linacées qui est très répandue au sud-ouest de la Côte d'Ivoire. *Hugonia platysepala* est utilisée traditionnellement contre les fortes douleurs, les céphalées, les dermatoses, les affections buccales, la toux et les troubles d'estomac. La présente étude qui s'inscrit dans le cadre de la recherche d'une phyto-molécule antifongique efficace et adaptée, est une contribution à la lutte contre les mycoses chez les sujets infectés par le VIH. Elle consistera à déterminer l'activité antifongique des extraits totaux aqueux et hydro-alcoolique des feuilles de *Hugonia platysepala*, sur *Cryptococcus neoformans* et *Candida albicans* en comparaison

avec les antifongiques classiques prescrits régulièrement aux PVVIH. Il s'agira également d'identifier par screening phytochimique, les

groupes chimiques responsables de ces dites activités antifongiques.

MATERIEL ET METHODES

Matériel

Matériel végétal : Le matériel végétal est constitué de feuilles de *Hugonia platysepala* (linaceae) située dans la région de la NAWA au sud-ouest de la Côte d'Ivoire dont les coordonnées géographiques sont : 5°47'08"

Nord - 6°36'29" Ouest, Altitude : 134 mètres. Cette plante a été authentifiée au centre national de floristique de l'université Félix Houphouët Boigny de Cocody. (Figure 1)



Figure 1 : Feuilles de *Hugonia platysepala* (Photo COULIBALY, 2019)

Matériel biologique : Le pathogène fongique utilisé lors de cette étude est l'isolat MY18-20739 de *Cryptococcus neoformans*, l'isolat MY18-22998 sensible de *Candida albicans* et l'isolat MY18-53502 résistante de *Candida albicans*. Ces souches ont été isolées de prélèvements de patients atteints de VIH/SIDA au laboratoire de mycologie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. Elles ont été cultivées sur gélose Sabouraud Agar au Chloramphénicol.

Méthodes

Collecte de la plante : Les feuilles de *Hugonia platysepala* ont été récoltées au sud-ouest de la Côte d'Ivoire. Elles ont ensuite été lavées, séchées à l'abri du soleil pendant trois semaines puis broyées grâce à un broyeur IKA-MAG. La poudre fine obtenue a été conservée dans des bocaux en verre.

Préparation des extraits totaux : Les extraits totaux ont été obtenus selon la méthode mise au point par Guédé-Guina et al. (1997) puis modifiée par Zihiri et al. (2007).

Extraction aqueuse : cent grammes de poudre de la plante ont été introduits dans 2 litres d'eau distillée puis homogénéisés sous agitation magnétique pendant 24 heures à la température ambiante à l'aide d'un agitateur magnétique IKA-MAG. L'homogénat obtenu

est filtré successivement sur du coton hydrophile puis sur du papier WATTMAN de 3 mm de diamètre. Le filtrat obtenu est évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif de BUCHI. La pâte résultante est séchée à l'étuve à 40°C jusqu'à l'obtention d'une poudre qui est l'extrait total aqueux.

Extraction hydro-alcoolique : cent grammes de poudre de la plante ont été dissous dans 500 ml d'une solution d'éthanol à 70% puis homogénéisé pendant 24 heures à la température ambiante à l'aide d'un agitateur magnétique IKA-MAG. Après décantation, le surnageant est recueilli, filtré puis évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif de BUCHI. La pâte résultante est séchée à l'étuve à 40°C jusqu'à l'obtention d'une poudre qui est l'extrait total hydro alcoolique.

Calcul de rendement : Le rendement de la quantité d'extrait obtenu à partir de la poudre de feuilles est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante (Zouaoui et al. 2018) : $Rd = (m \times 100) / M$
Rd : rendement d'extraction (%) ; m : masse de l'extrait sec (g) ; M : masse de poudre de feuilles sèches (g)

Préparation des milieux de culture : L'incorporation des extraits aqueux et hydro-alcoolique au milieu Sabouraud-chloramphénicol a été faite selon la méthode de la double dilution en tubes inclinés (Orsot

et al. 2016 ; Zihiri *et al.* 2007). Pour chacun des extraits, on a préparé une série de 12 tubes à essais comportant 10 tubes tests et 2 tubes témoins dont l'un sans extrait végétal constituant le témoin de croissance du pathogène fongique et l'autre sans extrait et sans germe fongique servant de témoin de contrôle de stérilité du milieu gélosé. Ainsi, 2g d'extrait végétal ont été homogénéisés dans 20 ml de gélose Sabouraud-chloramphénicol liquide à 40°C dans le tube T1 afin d'obtenir la concentration de 100 mg/ml. Ensuite la moitié du tube T1 a été transférée dans un tube T2 contenant 10 ml de gélose. Cette opération est répétée successivement pour les autres tubes jusqu'au tube T10 comportant la plus faible concentration de 0,195 mg/ml (la moitié du tube T10 est rejetée). Les 10 tubes tests contiennent alors une gamme de concentrations décroissantes des extraits allant de 100 mg/ml à 0,195 mg/ml selon une liaison géométrique de raison 1/2. Après une stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 15 mn, on a laissé les tubes à essai inclinés à la température ambiante pour permettre le refroidissement et la solidification de la gélose contenant la fraction de plante.

Réalisation des tests d'évaluation : Les tests d'évaluation permettent de déterminer les paramètres antifongiques (CMI, CI₅₀, CMF) grâce à la macro méthode de diffusion en milieu gélosé (Doughari *et al.* 2008 ; Ackah *et al.* 2016). Pour la préparation de l'inoculum, on a prélevé à l'aide d'une anse de platine, une jeune colonie de *Cryptococcus neoformans* qui est homogénéisée dans 10 ml d'eau distillée stérile afin d'obtenir la suspension mère (10⁰) concentrée à 10⁶ cellules/ml. A partir de la suspension (10⁰), on prépare une seconde suspension (10⁻¹) par dilution au 1/10^{ème} de la première afin d'obtenir une concentration de 10⁵ cellules/ml. La suspension ainsi obtenue est utilisée pour ensemercer tous les tubes à essai préparés sauf le témoin de contrôle de la stérilité. Les tubes ont ensuite été portés à incubation à 37°C pendant 48 heures puis on y a dénombré les colonies par comptage direct. Pour plus de fiabilité, les tests ont été répétés 3 fois. La croissance du germe dans les tubes à essai est exprimée en pourcentage de survivance (S) et calculée selon la formule suivante : $S = n / N \times 100$

S = % de survivance n = nombre de colonies du tube-test N = nombre de colonies du tube témoin

Le traitement de ces données expérimentales permet de déterminer la CMI, CI₅₀ et CMF :

- la concentration minimale inhibitrice (CMI) est la concentration minimale pour laquelle il n'y a aucune croissance visible à l'œil nu.

- La concentration inhibitrice 50% (CI₅₀) est la concentration qui correspond à 50% d'inhibition. Elle est déterminée graphiquement à partir de la courbe de sensibilité.

- la concentration minimale fongicide (CMF) est la plus faible concentration à partir de laquelle il n'y a pas de reprise de la croissance fongique. Elle est déterminée à partir d'une subculture réalisée après 48h d'incubation sur gélose neuve à partir des tubes au sein desquels aucune croissance n'a été observée.

Réalisation des tests d'efficacité : L'activité antifongique des extraits a été confirmée par la méthode de diffusion en milieu gélosé à partir de disques imbibés d'extraits ou d'antifongiques de références décrite par Vinod *et al.* (2010) ; Traore *et al.* (2012). Le principe de la méthode des disques repose sur la diffusion de la substance antifongique active dans la gélose contenant le germe à partir d'un disque avec création d'un gradient de concentration. L'inoculum préparé (10⁶ cellules/ml) est étalé à la surface de la gélose Sabouraud-chloramphénicol coulée en boîte de Pétri. Après séchage à 37°C pendant 5 min, les boîtes de Pétri sont stérilisées à l'autoclave pendant 1 heure. Des disques stérilisés de 6 mm de diamètre découpés sur du papier Whatman, sont déposés dans les extraits aqueux et hydro-alcooliques pendant 1 heure. Les disques ainsi imbibés d'extraits sont déposés dans les boîtes de Pétri inoculées à côté de disques imbibés d'Amphotéricine B et de Fluconazole, qu'on laisse incuber à 37°C pendant 48 h. Les diamètres d'inhibition sont mesurés autour de chaque disque contenant un extrait ou un antifongique de référence. Le test a été répété 3 fois pour chaque extrait.

Screening phytochimique : Le criblage phytochimique a été effectué dans le but de déceler les grands groupes chimiques contenus dans les extraits de feuilles de *Hugonia platysepala*. Le résumé de ces réactions de colorations et de précipitations est contenu dans le **Tableau 1** (Harbone *et al.* 1998).

Tableau 1 : Réactions d'identification des groupes chimiques

Groupes chimiques	Réactifs	Résultats
Stérols et Polyterpènes	Anhydride acétique Acide sulfurique	Anneau pourpre ou violet
Alcaloïdes	Acide chlorhydrique 2% Réactif de Mayer	Précipité blanc
Polyphénols	Solution alcoolique de chlorure ferrique 1%	Coloration bleu-noirâtre
Flavonoïdes	Acide chlorhydrique concentré Copeaux de magnésium	Coloration rouge ou orange
Anthocyanes	Alcool chlorhydrique Alcool isoamylique	Coloration rouge-cerise-violacée Coloration brun-rouge
Tanins catéchiques	Alcool chlorhydrique et amylique Acide chlorhydrique concentré	Précipité rouge soluble dans l'acide amylique
Tanins galliques	Réactif de Stiany Chlorure ferrique 1%	Coloration bleu-noire
Quinones	NaOH 1%	Coloration jaune ou rouge

RESULTATS

Rendement des extractions : Les extractions effectuées sur les feuilles de *Hugonia platysepala* ont permis d'obtenir l'extrait total aqueux (ETA) à un rendement de $38,06 \pm 0,37$ % et l'extrait total hydro-alcoolique (ETOH) avec un rendement de $28,22 \pm 0,92$ %.

Paramètres antifongiques des extraits de *Hugonia platysepala* : Grace à la méthode de diffusion en milieu gélosé on observe qu'au bout de 48 heures

d'incubation, les extraits ETA et ETOH de *Hugonia platysepala* diminuent de manière dose-dépendante le nombre de colonies de *Cryptococcus neoformans* et *Candida albicans* dans les différentes boîtes de Pétri. La croissance des germes dans les boîtes de Pétri, exprimée en pourcentage de survivance, est traduite sous forme de courbe de sensibilité présentée aux **Figures 2 et 3**.

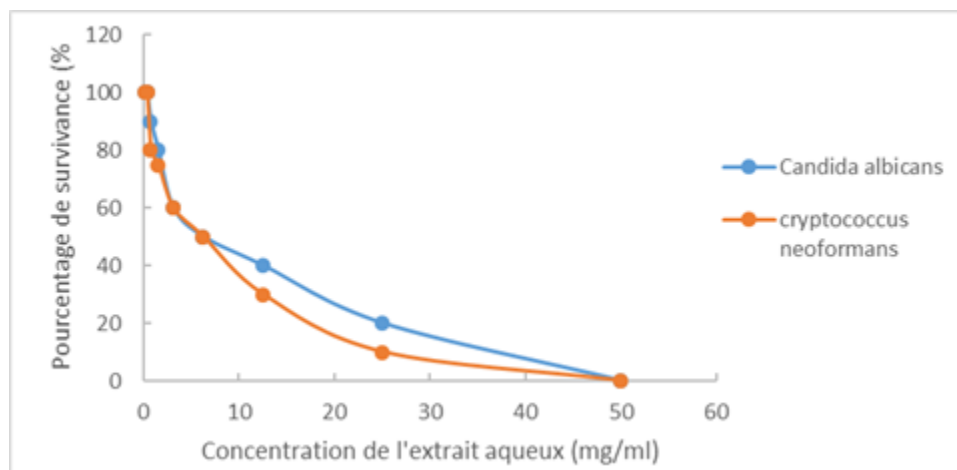


Figure 2 : Courbes de sensibilité de l'extrait aqueux de *Hugonia platysepala*

Les courbes de sensibilité obtenues présentent une allure décroissante, traduisant une nette activité antifongique des extraits totaux ETA et ETOH sur *Cryptococcus neoformans* et *Candida albicans*. Les courbes de l'extrait ETA coupent l'axe des abscisses à 50 mg/ml qui correspond à la CMI de l'extrait ETA sur

Cryptococcus neoformans et *Candida albicans*. Les courbes de l'extrait ETOH coupent l'axe des abscisses à 1,56 mg/ml qui correspond à la CMI de l'extrait ETOH sur *Cryptococcus neoformans* et *Candida albicans*. A partir des courbes de sensibilité de l'extrait ETA, la concentration qui correspond à 50 % d'inhibition

nommée CI_{50ETA} est de 6,25 mg/ml pour *Cryptococcus neoformans* et *Candida albicans*. A partir des courbes de sensibilité de l'extrait ETOH, la concentration qui correspond à 50 % d'inhibition nommée CI_{50ETOH} est de 0,98 mg/ml pour *Cryptococcus neoformans* et 1,04

mg/ml pour *Candida albicans*. Les paramètres antifongiques des extraits ETA et ETOH de *Hugonia platysepala* déterminés à partir des courbes de sensibilité, sont récapitulés dans les **Tableaux 2 et 3**.

Tableau 2 : Paramètres antifongiques de l'extrait aqueux (ETA) de *Hugonia platysepala*

ETA	CMI	CI50	CMF	
<i>Candida albicans</i> (mg/ml)	50	6,25	50	Fongicide
<i>Cryptococcus neoformans</i> (mg/ml)	50	6,25	50	Fongicide

Tableau 3 : Paramètres antifongiques de l'extrait hydro alcoolique (ETOH) de *Hugonia platysepala*

ETOH	CMI	CI50	CMF	
<i>Candida albicans</i> (mg/ml)	1,56	1,04	50	Fongicide
<i>Cryptococcus neoformans</i> (mg/ml)	1,56	0,98	50	Fongicide

Screening phytochimique des extraits de *Hugonia platysepala*

Tableau 4 : Identification des groupes chimiques contenus dans l'extrait hydro alcoolique

Groupes chimiques	Stérols et terpènes	Alcaloïdes	Polyphénols	Flavonoïdes	Anthocyanes	Tanins catéchiques	Tanins galliques	Quinones
Extrait ETOH	+	-	+	-	-	-	+	+

NB : (+) signifie « présence » (-) signifie « absence »

L'étude phytochimique qualitative a permis de détecter les différentes familles chimiques présentes dans l'extrait ETOH. Les résultats obtenus par des réactions de coloration, de précipitation et des observations sont représentées dans le **Tableau 4**. Les groupes moléculaires présents dans l'extrait hydro-alcoolique sont les polyphénols, les tanins galliques, les quinones, les stérols et les terpènes. Aussi il n'y a aucune trace d'alcaloïdes, de flavonoïdes et d'anthocyanes

Diamètres d'inhibition des extraits et des antifongiques classiques : Grâce à la méthode de diffusion en milieu solide, on a observé dans les différentes boîtes de Pétri, la présence d'halo d'inhibition autour des disques imbibés. Les diamètres de ces zones d'inhibition ont été mesurés et représentés dans les diagrammes de la **Figure 4**.

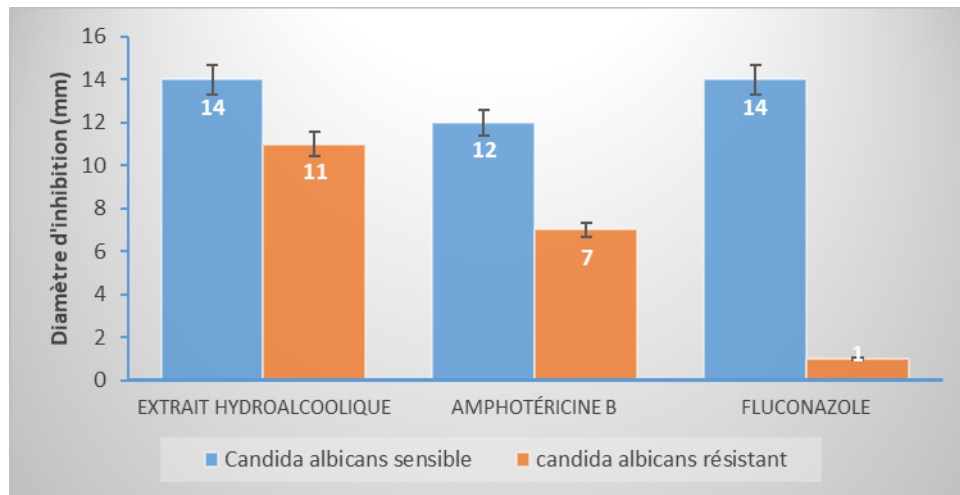


Figure 4 : Inhibition de *Candida albicans* sensible et résistant par l'extrait hydro alcoolique de *Hugonia platysepala* et les antifongiques de référence

La souche sensible et la souche résistante de *Candida albicans* ont présenté une sensibilité pour l'extrait ETOH de *Hugonia platysepala* avec des diamètres respectifs de 14 et 11mm. Par contre elles présentent

pour l'Amphotéricine B et le Fluconazole, des diamètres respectifs de 12 et 14 mm pour la souche sensible de *Candida albicans* et de 7 et 1mm pour la souche résistante de *Candida albicans*.

DISCUSSION

L'objectif de ce travail est de rechercher dans les extraits de *Hugonia platysepala*, des substances antifongiques de même efficacité que les antifongiques de référence contre les germes responsables des mycoses opportunistes du VIH/SIDA. Les extractions par macération aqueuse et hydro-alcoolique, ont donné des rendements différents. Le rendement de l'extraction aqueuse est supérieur à celui de l'extraction hydro-alcoolique. En comparant les rendements que nous avons obtenus avec ceux rapportés dans la littérature, nous constatons que nos résultats sont similaires à ceux obtenus par Goly et al. (2015) mais différents de ceux obtenus par Ambé et al. (2016) qui estime que c'est le rendement de l'extraction hydro-alcoolique qui est le meilleur. En effet, selon ces auteurs, les différences de rendement obtenues par les feuilles des plantes pourraient s'expliquer par le lieu et la période de la récolte, le stade de développement de la plante et la durée de séchage. L'évaluation de l'activité antifongique des extraits totaux aqueux (ETA) et hydro-alcoolique (ETOH) de *Hugonia platysepala* sur *Cryptococcus neoformans* et *Candida albicans* a été effectuée par la méthode de double dilution en milieu solide. Les tests antifongiques réalisés ont permis d'enregistrer des CMI différentes entre l'extrait ETA et l'extrait ETOH. Le rapport d'efficacité ($CMI_{ETA} / CMI_{ETOH} = 32,05$) indique que l'extrait ETOH est 32 fois

plus actif que l'extrait ETA contre les 2 germes. Ces résultats sont similaires à ceux de Bagre et al. (2014) ; Ouattara et al. (2007) qui ont montré que les extraits hydro alcooliques de *Morinda morindoides* et *Thonningia sanguinea* présentent une meilleure activité antifongique que l'extrait aqueux. En effet, selon les travaux de Isidore et al. (2018) ; Bene et al. (2015), le solvant hydro-alcoolique (éthanol/eau) concentre mieux les substances de petits poids moléculaires à meilleures activités antifongiques, qui seraient au préalable masquées par les molécules chimiques de grands poids moléculaires dans l'extrait aqueux. Il pourrait en être de même pour l'extrait hydro alcoolique ETOH de *Hugonia platysepala*. Après une subculture réalisée sur gélose neuve à partir des tubes au sein desquels aucune croissance n'a été observée, les extraits ETA et ETOH ont entraîné après 48 heures d'incubation, une inhibition nette et effective de *Cryptococcus neoformans* et *Candida albicans* à partir d'une certaine concentration de *Hugonia platysepala*. Cela a permis d'obtenir la concentration minimale fongicide (CMF) de 50 mg/ml pour les 2 extraits. On en déduit que l'activité antifongique des extraits ETA et ETOH de *Hugonia platysepala* sur *Cryptococcus neoformans* et *Candida albicans* est fongicide. Pour comprendre cette activité fongicide nous avons réalisé son screening phytochimique de l'extrait ETOH

qui a révélé la présence de stérols et terpènes, de polyphénols et de tanins galliques et de quinones. Selon des travaux, notamment ceux de Toure *et al.* (2015), ces groupes de molécules chimiques sont déjà connus pour leurs activités antimicrobiennes. Leur présence dans un milieu d'incubation, provoque la mort des germes fongiques par destruction de leurs membranes, enzymes et protéines. Les principes actifs antifongiques de *Hugonia platysepala*, pourraient agir selon ce même mécanisme. La méthode de diffusion en milieu gélosé à travers les disques imbibés a permis de tester l'efficacité de l'extrait ETOH de *Hugonia platysepala* sur un isolat de *Candida albicans* résistant aux antifongiques classiques AB et FCA. Ainsi, le diamètre d'inhibition de l'extrait ETOH obtenu sur ce

germe résistant, est de 12 mm pendant que ceux des antifongiques AB et FCA sont inférieurs au seuil de sensibilité de 10mm. Au vu des diamètres d'inhibitions, la souche résistante de *Candida albicans* est donc sensible à l'extrait ETOH de *Hugonia platysepala*. Selon Ziouti *et al.* (1996), la résistance et la sensibilité ne sont pas toujours liées à la présence d'un seul composé ou classe de molécule, ce sont des mécanismes complexes qui font appel à plusieurs types de molécules. Ainsi, la présence combinée des mêmes composés polyphénoliques et polyterpéniques dans l'extrait ETOH de *Hugonia platysepala* pourrait être responsable de leur activité antifongique contre les germes fongiques résistants aux antifongiques classiques (Chen *et al.* 2005).

CONCLUSION

Les extraits aqueux et hydro-alcoolique de *Hugonia platysepala* présentent des activités antifongiques contre *Cryptococcus neoformans*, avec une plus grande performance pour l'extrait hydro-alcoolique. Cet extrait hydro-alcoolique riche en molécules antifongiques tel que les polyphénols, les polyterpènes, est d'autant plus intéressant que son activité antifongique est fongicide sur des germes fongiques

résistantes à certains antifongiques classiques prescrits aux PVVIH atteints de cryptococcoses. A cet effet, les molécules antifongiques contenues dans les feuilles de *Hugonia platysepala* pourraient être isolées, purifiées et utilisées comme un Médicament Traditionnellement Amélioré (MTA) des cryptococcoses et candidoses de sujets infectés par le VIH dans nos régions.

CONFLIT D'INTERET : Les auteurs déclarent qu'ils n'ont aucun conflit d'intérêt.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ackah J, Oussou K, Angaman D, Dongui B, Djama A., 2016. Activités antimycosique et screening phytochimique des différents extraits de *Terminalia catappa* linne un antifongique de source naturelle. *J. Soc. Ouest-afr. Chim* ; 042 : 36-42.
- Ambe A., Camara D., Ouattara D., Yapou C., Soumahoro A., Zihiri G., N'guessan K., 2016. Etude ethnobotanique, évaluation in vitro de l'activité antifongique et cytotoxique des extraits d'*Enantia polycarpa*. *Int. Biol. Chim. Sci.* 10(1) :23-34.
- Aoussi EF, Ehui E, Dembélé JP, Kolia-Diafouka P, Elloh NF, Ouattara SI, Tanon KA, Doumbia A, Adou-Bryn KD, Eholié SP, Bissagnéné E., 2012. Cryptococcal meningitis and HIV in the era of HAART in Ivory Coast. *Med Mal Infect*, 42: 349–354.
- Bagré I., Bahi C., Ouattara K., Zihiri G., Djama A., Coulibaly A., N'Guessan J.; 2011. Étude botanique et exploration de l'activité antifongique de *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redh. sur la croissance in vitro de *Cryptococcus neoformans*. *Phytothérapie*, 9 : 136-141.
- Béné K., Camara D., Fofié N'G. et Zihiri G. ; 2015. Étude ethnobotanique, activité antifongique in vitro sur *Candida albicans* et toxicité sur les cellules HFF de *Harrisonia abyssinica* Oliv. (Simaroubaceae), une plante de la pharmacopée ivoirienne. *Journal of Applied Biosciences* 94 :8815-8824.
- Chen JC, Chiu MH, Nie RL, Cordell GA and Qiu SX, 2005. « Cucurbitacins and Cucurbitane Glycosides: Structures and Biological Activities ». *Natural Product Reports* 22(3): 386.
- Doughari JH and Manzara S, 2008. In vitro antibacterial activity of crude leaf extracts of *Mangifera indica* Linn. *African Journal of Microbiology Research* Vol. (2) pp. 067-072
- Dromer F., Lortholary O. ; 2003. Les mycoses / *Annales de l'Institut Pasteur : Actualités*, Paris : Elsevier, 236p.

- Goly C., Soro Y., Kassi B., Dadie A., Soro S., Djè M., 2015. Antifungal activities of the essential oil extracted from the tea of savanna (*Lippia multiflora*) in Côte d'Ivoire. International Journal of Biology and Chemical Sciences 9 (1): 24-34
- Guédé-G. F, Kra AKM, Vangah-Manda M, Bonga GM., 1997. Inhibition par MISCA-F2 de la croissance de *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* et *Cryptococcus neoformans* trois germes opportunistes du SIDA. J. Afrique Bioméd., 2 : 11-16.
- Guillot, Jacques, et Eric Dannaoui, 2016. « La résistance aux antifongiques : importance en Médecine humaine et vétérinaire ». Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France (4) : 314.
- Harbone J., 1998, Phytochemical Methods, A guide to modern techniques of plant analysis; New York, ISBN: 0-412-57260-5
- Isidore, Saraka Allou, Abo Kouabenan, Coulibaly Kiyinlma, et Zirih Guédé Noël, 2018. « Étude Phytochimique et activité antifongique d'extraits de quelques Euphorbiaceae médicinales utilisées chez les Baoulé du District de Yamoussoukro (Côte d'Ivoire) ». European Scientific Journal, ESJ 14(30) : 256.
- Kouangbé MA, Bahi C, Tia H, Boga GL, Edoh V, Djaman AJ and N'Guessan JD, 2015. Antifungal Activity of Roots Barks Extract of *Securinega virosa* (Roxb. ex Willd.) Baill and *Anogeissus leiocarpa* (DC.) Guill. & Perr, Two Plants Used in the Traditional Treatment of Candidiasis in Northern Côte d'Ivoire ». International Journal of Biochemistry Research & Review 8(1) : 1-11.
- OMS, 2017. Résultats de l'enquête mondiale de l'OMS sur le mycétome. REH 2018 ; 93: 423-428.
- Orsot B.A., Soro S., Konkoni N.G., Kone D., Zihiri G.N., 2016. Étude ethnobotanique et évaluation in vitro de l'activité antifongique des extraits de l'écorce de *Zanthoxylum gilletii* (de Wild Waterman) sur deux souches phytopathogènes de *Sclerotium rolfsii* J. Appl. Biosci. v98 p9309-9322
- Ouattara B., KRA A.M., Coulibaly A., Guédé-Guina F. ; 2007, Efficacité de l'extrait éthanolique de *Thonningia sanguinea* sur *cryptococcus neoformans*. Cahiers santé vol17 n°4 p219-222.
- Perfect J.R. Dismuke's WE, Dromer F, et al., 2010. Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis, 50 (3) : 291-322.
- Touré A, Bahi C, Ouattara K, Djaman AJ, Coulibaly A., 2011. Phytochemical screening and in vitro Antifungal activities of extracts of leaves of *Morinda morindoides* (*Morinda*, Rubiaceae). Journal of Medicinal Plants Research 5(31): 6780-86
- Traoré Y., Ouattara K., Yéo D., Doumbia I., Coulibaly A. ; 2012. Recherche des activités antifongique et antibactérienne des feuilles d'*Annona senegalensis* Pers. (Annonaceae) Journal of applied Biosciences 58 :4234-4242
- Vinod K.G., Vikas KN, Kalishankar M., 2010. Antimicrobial activity of *Spondias pinnata* resin. Journal of Medicinal Plants Research. 4(16), pp. 1656-1661
- Ziouti A, El Modafar C, Fleuriet A, EL Boustani S, Macheix JJ, 1996. « Phenolic Compounds in Date Palm Cultivars Sensitive and Resistant To *Fusarium Oxysporum* ». Biologia Plantarum 38(3) : 451-57.
- Zirih GN, Kra AKM, Dibie ET, 2007. Etude botanique et évaluation des activités antifongiques de *Mitracarpus villosus* (MV) (Rubiaceae) et *Spermocoe verticillota* (SV) (Rubiaceae) sur la croissance in vitro de *A. fumigatus*. Rev. Med. Pharm. Afr. 9-17
- Zouaoui S-A., Megherbi-benali A., Toumi B-F. et Ouair D., 2018. Contribution à l'étude du pouvoir antifongique des graines du *Chénopodium quinoa* Wild vis-à-vis de deux champignons phytopathogène de l'orge : *Pyrenophora tritici-repentis* et *Rhynchosporium secalis*. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Vol 87 : p 100-111