

**ETUDE BOTANIQUE, EVALUATION DE
L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE DES FEUILLES DE
ACANTHOSPERMUM HISPIDUM DC.,
(ASTERACEAE) SUR LA CROISSANCE *IN VITRO*
DE *CANDIDA ALBICANS* ET ETUDE DE LA
TOXICITE SUR LES CELLULES HUMAINES HFF.**

Basile A. Yapi

Université Félix HOUPHOUET BOIGNY, UFR Biosciences, Laboratoire de
Botanique, Abidjan, Côte-d'Ivoire

Goueh Gnahoue

Ecole Normale Supérieure (ENS) Abidjan, Laboratoire Biochimie-
Microbiologie (Section SVT), Abidjan, (Côte-d'Ivoire)

Djeneb Camara

Guédé N. Zirihi

Université Félix HOUPHOUET BOIGNY, UFR Biosciences, Laboratoire de
Botanique, Abidjan, (Côte-d'Ivoire)

Abstract

After an ethnobotanical survey conducted in the Autonomous District of Abidjan (Ivory Coast), we found that *Acanthospermum hispidum* is one of the best selling plants and the most requested by the actors of traditional medicine. This study was not only initiated to facilitate the recognition of the plant in the field by highlighting its most outstanding botanical characters but also to enjoy its antimicrobial activity on the growth of *Candida albicans* and its *in vitro* toxicity to HFF human cells. Botanically, this species is remarkable for its invasiveness and the presence of stiff hairs on all its organs and very spiny achenes. The microbiological test results showed that only the ethanolic fraction (EE70%) has an effective inhibitory activity on the growth of *C. albicans* after 72 hours of incubation at 30°C. The EE70% fungicide is on *C. albicans* with CMF = 25 µg/ml. The IC50 of the EE70% *A. hispidum* *C. albicans* is 1500 µg/ml, at this concentration; the toxicity tests showed that the plant is not toxic to human cells.

Keywords : *Acanthospermum hispidum* , antimicrobial activity , *Candida albicans* , human cell HFF , toxicity

Résumé

Après une enquête ethnobotanique réalisée dans le district Autonome d'Abidjan (Côte-d'Ivoire), nous avons constaté que *Acanthospermum hispidum* fait partie des plantes les plus vendues et les plus sollicitées par les acteurs de la médecine traditionnelle. Cette étude a été non seulement initiée pour faciliter la reconnaissance de la plante sur le terrain en mettant en exergue ses caractères botaniques les plus remarquables mais aussi pour apprécier son activité antimicrobienne *in vitro* sur la croissance de *Candida albicans* ainsi que sa toxicité sur les cellules humaines HFF. Sur le plan botanique, cette espèce est remarquable par son caractère envahissant et la présence de poils raides sur tous ses organes et d'akènes très épineux. Les résultats des tests microbiologiques ont montré que seule la fraction éthanolique (EE70%) a une activité inhibitrice effective sur la croissance de *C. albicans* après 72 heures d'incubation à 30°C. L'EE70% est fongicide sur *C. albicans* avec une CMF = 25 mg/ml. La CI₅₀ de l'EE70% de *A. hispidum* sur *C. albicans* est de 1500 µg/ml, à cette concentration, les tests de la toxicité ont montré que cette plante n'est pas toxique pour les cellules humaines.

Mots-clés : *Acanthospermum hispidum* , activité antifongique , *Candida albicans* , cellules humaines HFF , toxicité

Introduction

Originnaire d'Amérique tropicale, *Acanthospermum hispidum* DC. est une plante annuelle appartenant à la famille des Asteraceae. Cette espèce est largement répandue dans toutes les régions tropicales et fait partie des mauvaises herbes (Le Bourgeois, 1993). C'est une plante utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement de diverses affections. En Inde, la plante entière est utilisée dans le traitement des maladies de la peau. L'extrait des feuilles permet de faire baisser la fièvre (Anup *et al.*, 2012). La plante est également utilisée dans le traitement de la fièvre jaune, du paludisme et des troubles de l'estomac (Abbiw *et al.*, 2002 ; Mann *et al.*, 2003). Dans certaines parties de l'Amérique du Sud, elle est utilisée comme sudorifique et diurétique. En Côte d'Ivoire, il lui est attribué de nombreuses vertus thérapeutiques : antipaludéen, antihypertensif, antispasmodique, vermifuge, abortive (Yapi, 2013).

De nombreux travaux de recherche pharmacologiques, phytochimiques et toxicologiques ont été menés par des chercheurs afin de vérifier et justifier l'utilisation traditionnelle de *A. hispidum*. Ainsi *A. hispidum* a été étudiée scientifiquement pour ses propriétés antibactériennes et antivirales (Anani *et al.*, 2000 ; Kamanzi *et al.*, 2002 ; Fleischer *et al.*,

2003 ; Hoffman *et al.*, 2004), abortives et tératogènes (Lemonica et Alvarenga, 1994), antipaludique (Sanon *et al.*, 2003 ; Zirih, 2006 ; Gafon *et al.*, 2012), immunostimulateur (**Summerfield et Sallmuller, 1998**), antitrypanosomienne, antileishmania, antitrichomonal (Gafon *et al.*, 2012 ; Kamanzi *et al.*, 2004 ; Adepiti *et al.*, 2014). Il a été signalé que *A. hispidum* contient certains composés chimiques tels que les sesquiterpènes et les lactones (Jakupovic *et al.*, 1986 ; Kraus *et al.*, 1994 ; Cartagena *et al.*, 2000 ; Arena *et al.*, 2011). Les glycosides et les flavonoïdes ont été rapportés pour être présents dans la partie aérienne de la plante (Edewor et Olajire, 2011).

C'est pour apporter notre contribution à l'étude de cette plante à usage thérapeutique multiple que nous avons décidé de vérifier le bien fondé des vertus antimicrobiennes accordées à cette plante.

Cet article a un triple objectif :

- 1 - Faire une description botanique complète de la plante afin de faciliter son identification sur le terrain ;
- 2 - Evaluer l'activité antifongique des extraits des feuilles de la plante
- 3 - Etudier la toxicité *in vitro* des extraits des feuilles de la plante sur les cellules humaines HFF.

Matériel et Méthodes

Matériel

Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles d'*Acanthospermum hispidum* DC, Prod. 5 : 552 (1836) ; Adams, F.W.T.A., ed. 2,2 : 241 (1963) (Asteraceae) récoltées dans le district autonome d'Abidjan en Août 2014. Leur authentification a été effectuée au Centre National Floristique (CNF) de l'Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody-Abidjan où des échantillons sont conservés (Adiopodoumé, janvier 1948, Aké Assi n°353 ; Troya, 23 février 1973, Aké Assi n°11965). Les feuilles ont été séchées pendant deux semaines au laboratoire et réduites en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique IKA-MAG RTC.

Souche microbienne

Le support microbien est composé d'une souche fongique (*Candida albicans*) fournie par le Laboratoire de Mycologie de l'U.F.R. des Sciences Médicales de l'Université Félix HOUPHOUËT BOIGNY (Abidjan, Côte d'Ivoire). Elle a été isolée chez un patient en provenance du service des maladies infectieuses du CHU de Treichville (Abidjan, Côte-d'Ivoire).

Candida albicans est une levure saprophyte faisant normalement partie de la flore commensale d'individus et d'animaux sains. De couleur blanc cassé à crème, il est le plus souvent globuleux, arrondis ou ovalaire et se multiplie par bourgeonnement de cellules isolées (Bouchet *et al.*, 1989 ;

Janssen, 1979). Ce mycète, commensale de la muqueuse buccale est sans risque d'infection. Cependant, lorsque les systèmes de défenses de l'organisme sont compromis (cancer, diabète, infections bactériennes ou virales...), il peut causer des candidoses allant de simples infections superficielles jusqu'à une évansion systémique pouvant mener au décès. Il est en cause dans 70 à 80% des cas de candidoses humaines (Bouchet *et al.*, 2005). Principal agent responsable des infections fongiques disséminées à partir du tube digestif par contiguïté vers les voies génitales.

Cellules HFF

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

Ces cellules HFF sont cultivées à 37°C, sous 5% de CO₂ dans un milieu D10 (Dulbecco Minimum Essential Medium, Gibco, additionné de sérum de veau fœtal 10% ; glutamine 1% ; pénicilline 50 U.ml⁻¹ et streptomycine 50 µg.µl⁻¹).

Méthodes

Description botanique de la plante

La description botanique pendra en compte : l'aspect général de la plante ; la taille, la forme, et la disposition des feuilles ; le type et la disposition des inflorescences sur la tige, la section de la tige ; le type, la forme et l'aspect des fruits.

Préparation des extraits végétaux

Préparation de l'extrait total aqueux (ETA) : La préparation de cet extrait a été faite selon la méthode décrite par Zirihi *et al.* (2007) qui consiste à macérer 100 g de poudre végétale dans 1L d'eau distillée stérile à l'aide d'un Mixeur Blinder de type SEVEN 7 STAR[®]. L'homogénat obtenu a été filtré sur du coton hydrophile puis sur du papier filtre Whatman 3 mm. Le filtrât aqueux ainsi obtenu est évaporé à l'aide d'une étuve de type Med Center Venticell, à 50°C pour donner une poudre qui constitue l'extrait total aqueux (ETA).

Préparation de l'extrait éthanolique 70% (EE70%) et de l'extrait résiduel aqueux (ERA) : Ces deux extraits ont été obtenus en dissolvant 5 g de l'extrait total aqueux dans 100 mL d'une solution d'éthanol 70% puis homogénéisé. Grâce à une ampoule à décanter, la fraction éthanolique 70% et le dépôt résiduel aqueux ont été séparés (Zirihi *et al.* 2007). Après

filtration de la fraction éthanolique 70% sur du coton hydrophile et sur du papier Whatman 3 mm, le filtrat recueilli est évaporé à l'étuve à 50°C. La poudre obtenue constitue l'extrait éthanolique 70% (EE70%). De même le dépôt résiduel aqueux a été recueilli et évaporé à l'étuve à 50°C. La poudre obtenue constitue la fraction résiduelle aqueuse (ERA).

Tests antifongiques

Le milieu de culture utilisé pour les tests antifongiques est le Sabouraud (HIMEDIA/Réf : M1067-500G Lot 0000215703). L'incorporation des différents extraits au milieu Sabouraud a été faite en tubes inclinés selon la méthode de la double dilution (Touré *et al.*, 2011) qui a conduit à l'obtention d'une gamme de concentration allant de 50 à 0,097 mg/mL pour les trois extraits (ETA, EE70% et ERA). Pour chaque extrait, une série de tubes à essais a été préparée. Chaque série comporte 10 tubes expérimentaux et 2 tubes témoins dont l'un sans extrait végétal constituant le témoin de croissance des germes et l'autre sans extrait et sans germe servant de témoin de contrôle de stérilité du milieu de culture. Les 10 autres tubes sont ensemencés avec 10µL d'un inoculum de *Candida albicans*. La préparation de l'inoculum se fait par homogénéisation d'une colonie bien isolée de *C. albicans* dans 10 mL d'eau distillée stérile pour donner une suspension 10^0 . A partir de cette suspension, 0,1 mL est prélevé et mélangé dans 9 mL d'eau distillée stérile pour constituer la dilution 10^{-1} qui correspond à 10^5 cellules/mL. Tous les tubes sont incubés à 30°C pendant 72 heures. Les tests ont été répétés trois fois. Les colonies de *Candida albicans* ont été comptées et la croissance dans les tubes expérimentaux évaluée en pourcentage de survivance, calculé par rapport à 100% de survivance dans le tube témoin de contrôle de la croissance (Bagré *et al.*, 2007). Ce qui a permis de déterminer les paramètres antifongiques que sont la CMF (concentration minimale fongicide) et la CI_{50} (concentration pour 50% d'inhibition) graphiquement.

Tests de toxicité

Les tests de toxicité ont été réalisés au LAPM (Laboratoire Adaptation et Pathogénie des Microorganismes) à Grenoble en France.

Pour mesurer la toxicité de l'extrait éthanolique, les cellules HFF (Human Foreskin Fibroblasts) ont été ensemencées dans des plaques de 96 puits (*CellStar*) à raison de 3000 à 5000 cellules par puits dans 100 µl de milieu D10. Ces cellules sont maintenues en culture pendant 24 heures (cellules en division) ou 96 heures (cellules confluentes). Par la suite elles ont été exposées pendant 24 heures à différentes concentrations (0-1000 µg/ml) en extrait de plante solubilisé dans du tampon PBS. Cela a été fait en triplicate. La viabilité a été déterminée à l'aide du bromure de 3-(4,5-

diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tétrazolium (MTT). L'anneau de tétrazolium qu'il contient est réduit en formazan par la succinate déshydrogénase mitochondriale des cellules métaboliquement actives, qui précipite et donne une couleur violette. La quantité du précipité formé est proportionnelle au nombre de cellules vivantes. Dans chaque puits, le MTT est ajouté à une concentration de 500 µg/ml et incubé pendant 3h à 37°C. Les cristaux de formazan sont solubilisés dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) 10 mM. La mesure de la densité optique à 544 nm a été faite à l'aide d'un spectrophotomètre Safir (Tecan) ; cette mesure de l'absorbance permettra de déterminer la quantité relative de cellules vivantes et actives métaboliquement. Les résultats ont été exprimés en pourcentage de viabilité par rapport au contrôle sans extrait de plante (Mossman, 1983).

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

Resultats

Description botanique

Appelée Saraka-weini en Malinké (Nord de la Côte d'Ivoire) et Gnéakeyébéko en Bété (centre-ouest de la Côte d'Ivoire), *Acanthospermum hispidum* est une espèce de la famille des Asteraceae. L'aspect général de la plante est présenté par la Figure 1 et dans le Tableau I sont résumés les détails morphologiques et une description des différents organes.



Figure 1 : Pied de *Acanthospermum hispidum* DC.

Tableau I : Description de la plante

Espèce végétale Parties décrites	<i>Acanthospermum hispidum</i> DC.
Aspect général de la plante	Plante hispide à ramification <u>dichotomique</u> , annuelle Tiges à section anguleuse, 30 à 60 cm de hauteur
Section de la tige	Quadrangulaire
Taille des feuilles	Longueur : 6 à 8 cm Largeur : 2 à 4 cm
Forme des feuilles	Ovale
Disposition des feuilles	Opposées (sessiles)
Types d'inflorescences	<u>Capitules</u> solitaires, insérés à chaque ramification couleur verdâtre
Type de fruits	Akènes
Taille des fruits	Longueur : 6 à 8 mm Largeur : 3 à 4 mm
Aspect des fruits	Epineux

Rendement des extractions

La macération à l'eau distillée a donné une poudre de couleur noirâtre de 17 g (ETA) soit un rendement de 17% pour 100 g de drogue. Quant au fractionnement, pour 5 g d'ETA dissout dans 100 ml d'une solution éthanolique 70%, nous avons obtenu 2,61 g d'EE70% soit un rendement de 52,2% et 2,14 g d'ERA soit un rendement de 42,8%.

Tests antifongiques

Après 72 H d'incubation à 30°C, on a observé comparativement aux témoins, une diminution progressive du nombre de colonies au fur et à mesure que la concentration des extraits augmente dans les tubes expérimentaux. Cette diminution du nombre de colonies de champignon est plus remarquable pour la fraction éthanolique 70% (Figure 2). Cela est observé pour toutes les séries. On n'a pas observé d'activité antifongique notable des deux extraits ETA et ERA sur *Candida albicans*. Par contre l'EE70% a montré une activité antifongique significative sur *C. albicans*. Les données expérimentales traduites sous forme de courbes sensibilités sont résumées à la Figure 2. Les valeurs des paramètres antifongiques des trois extraits, CMF et CI₅₀ sont consignées dans le Tableau II. De façon générale tous les trois extraits ont eu des courbes présentant une allure décroissante avec des pentes plus ou moins fortes selon les extraits. L'EE70% a eu la courbe ayant une pente relativement plus forte ; alors que les extraits ETA et ERA ont eu des courbes à pente moyenne ; la pente la plus faible était celle de l'ERA. Seule la courbe de l'EE70% coupait l'axe des abscisses.

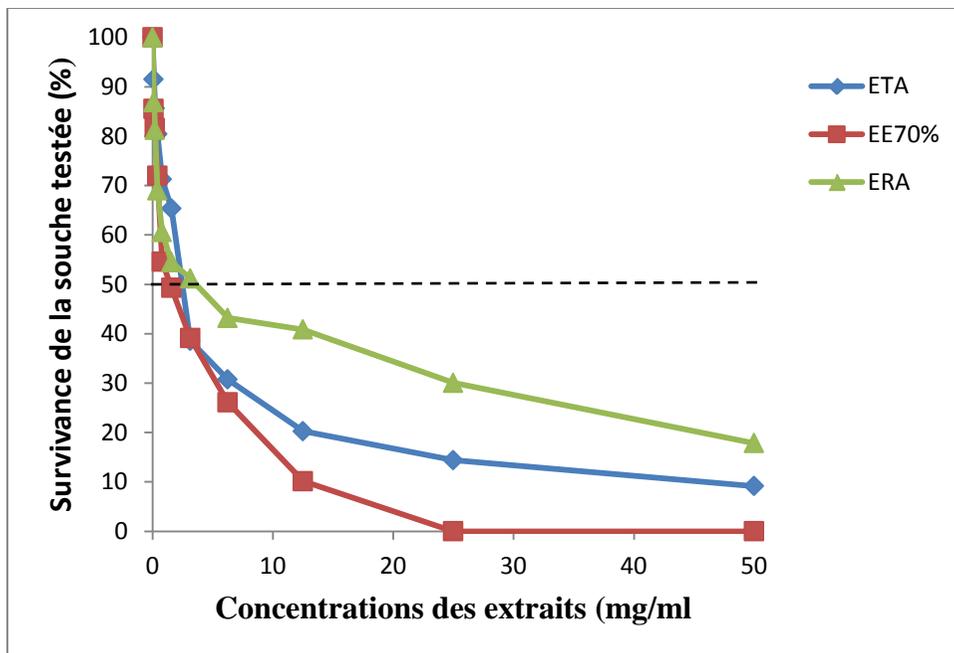


Figure 2 : Sensibilité de *Candida albicans* aux trois extraits de *Acanthospermum hispidum*

DC. (ETA, EE70% et ERA)

Tableau II : Valeurs des paramètres antifongiques des trois extraits (ETA, EE70% et ERA) de *Acanthospermum hispidum* DC. après 72 H d'incubation à 30°C.

Extrait végétal	Paramètres antifongiques	
	CI ₅₀ (mg/ml)	CMF (mg/ml)
Extrait total aqueux (ETA)	2,41	>50
Extrait éthanologique 70% (EE70%)	1,5	25
Extrait résiduel aqueux (ERA)	3,7	–

Tests de toxicité

Les résultats des tests de toxicité de l'EE70% sur les cellules HFF sont résumés à la *figure 3*. Ces résultats révèlent que la fraction éthanologique 70% de *A. hispidum* montre peu d'effet toxique sur les cellules humaines étudiées. Comparativement au témoin, on a observé une décroissance de la baisse du taux de viabilité des cellules HFF lorsque la concentration de l'extrait de plante augmente (de 125 µg/ml à 1000 µg/ml). Pour les cellules confluentes, la baisse du taux de viabilité était comprise entre 14% (125 µg/ml) et 7% (1000 µg/ml). Quant aux cellules en division (cellules non confluentes), la baisse du taux de viabilité était plus importante et variait de 38% pour 125 µg/ml d'EE70% à 19% pour 1000 µg/ml d'EE70%.

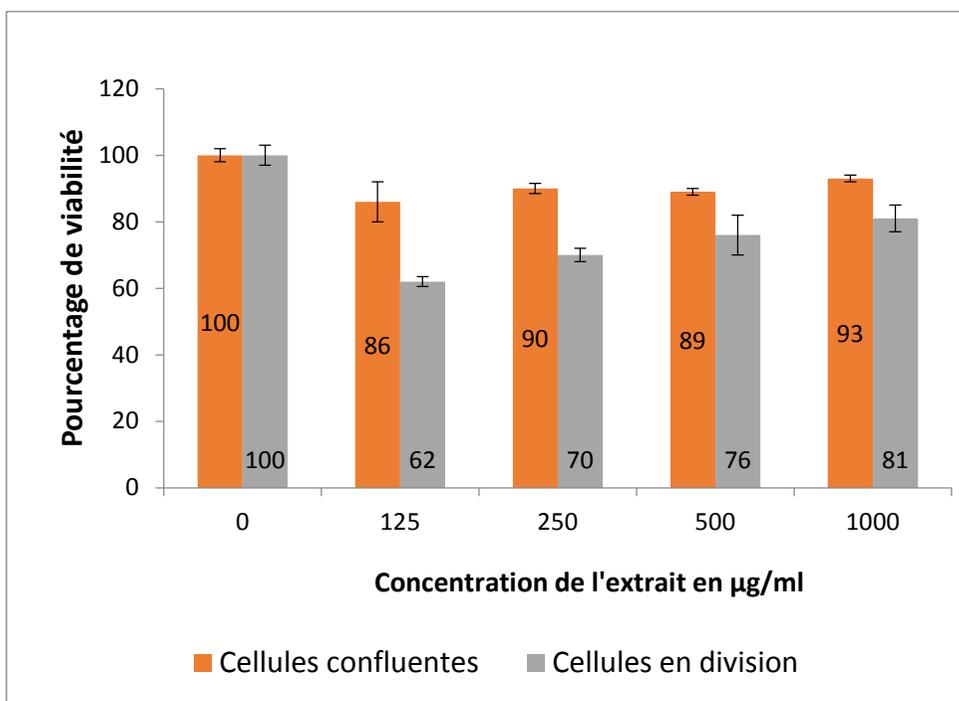


Figure 3 : Taux de viabilité sur des cellules HFF de l'EE70% de *Acanthospermum hispidum* DC.

Discussion

Sur le plan botanique, *Anthospermum hispidum* est une Asteraceae qui présente toutes les caractéristiques de cette famille. Elle est une espèce rudérale, caractéristique des zones de parcours du bétail et une adventice des parcelles pâturées après la récolte.

Sur le plan microbiologique, l'analyse de nos résultats a montré que *Candida albicans* n'était réellement sensible qu'à l'EE70% testé. Pour les trois extraits testés (ETA, EE70% et ERA), nos résultats ont démontré qu'il y'a eu une diminution progressive du nombre de colonies de *C. albicans* en fonction de l'augmentation de la concentration des extraits dans les tubes. Nous en déduisons que *C. albicans* serait sensible aux extraits selon une relation dose-réponse.

Nos résultats ont révélé que la valeur de la CMF de l'EE70% est 25 mg/ml et celle de l'ETA est <50 mg/ml, ce qui pourrait expliquer l'utilisation de *A. hispidum* en médecine traditionnelle. La comparaison des activités des trois extraits a montré que l'EE70% a été plus actif que l'ETA qui lui-même plus actif que l'ERA. Le rapport des CMF donne :

$$CMF_{ETA}/CMF_{EE70\%} = 50/25 = 2$$

Cela signifie que l'EE70% est 2 fois plus actif que l'ETA. L'EE70% améliorerait de façon très significative l'efficacité de l'ETA qui a servi de base à sa préparation. Si l'on se réfère aux travaux de Harekrishna *et al* (2010) et de Arena *et al* (2011), les principes actifs contenus dans l'EE70%, qui sont des molécules solubles dans l'éthanol pourraient être des carbohydrates, des alcaloïdes, des glycosides, des flavonoïdes, des tanins ou des saponines.

La comparaison des performances de cette fraction avec les extraits éthanoliques 70% des écorces de *Guarea cedrata* A. Chev. et *Khaya ivorensis* A. Chev., ayant tous deux une valeur de CMF = 100 mg/ml (Coulibaly *et al.*, 2010) sur cette même souche a montré que l'EE70% a été 4 fois plus actif. De plus la comparaison de nos résultats avec ceux de Thès (2001) et Ackah (2004) a révélé que l'ETA et l'EE70% sont nettement plus actifs que l'extrait aqueux de MISCA (CMF =150 mg/ml). L'ETA et l'EE70% sont respectivement 3 et 6 fois plus actifs.

Sur le plan de la toxicité, l'analyse de nos résultats a révélé que l'EE70% de *A. hispidum*, aurait eu peu d'effet toxique sur les cellules confluentes. Cet effet toxique diminue davantage avec l'augmentation de la concentration de l'extrait. Ce résultat pourrait s'expliquer par la présence dans l'extrait des molécules stimulant les divisions cellulaires. Ces résultats sont en accord avec ceux de Diarra (2006). En effet l'auteur a montré que *A. hispidum* prise par voie orale n'est pas toxique pour les souris.

Conclusion

Cette étude nous a permis de montrer que la fraction éthanolique 70% de *Acanthospermum hispidum* possède une activité antifongique plus accentuée sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*. A 72 heures d'incubation à 30°C, seul l'EE70% a montré une activité inhibitrice effective avec une valeur de CMF = 25 mg/ml et de CI₅₀ = 1,5 mg/ml. La fraction éthanolique est plus active que l'extrait total aqueux. L'éthanol serait le solvant qui permettrait une meilleure concentration des principes actifs de cette plante. Cette étude a également permis de montrer que la méthode d'extraction employée, serait une voie qui permettrait de concentrer les principes actifs et d'améliorer l'activité de l'ETA, traditionnellement utilisé contre les dermatoses. Cette étude nous a également permis de montrer que l'utilisation de cette plante à des fins thérapeutiques serait sans danger. A cet égard, jusqu'à 1500 ug/ml d'EE70%, la plante a montré une toxicité très moindre sur les cellules humaines HFF. L'on pourrait enfin retenir que l'utilisation en milieu traditionnel de cette plante comme antimicrobien est justifiée. Une analyse plus poussée par tri phytochimique suivie de chromatographie sur CM et sur colonne, nous permettra d'isoler les différentes molécules contenues dans l'EE70% afin de préciser la nature des

molécules actives et leurs paramètres antifongiques. Une étude de toxicité *in vivo* de la plante sur des souris est également envisagée.

Références:

- Abbiw D., Agbovie T., Akuetteh B., Amponsah K., Dennis F., Ekpe P., Gillett H., Ofosuhene-Djan W., Owusu-Afriyie G. Conservation and sustainable use of medicinal plants in Ghana: Ethnobotanical survey. UNEP-WCMC, Cambridge, UK, 64p, 2002.
- Ackah J. A. 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, 34p, 2004.
- Adepiti A. O., Adewumi C. O., Agbedahunsi J. M. Antitrichomonal activity of *Acanthospermum hispidum* D.C. (Asteraceae). Afr. J. Biotechnol. 13 (11) : 1303-1307, 2014.
- Anani K., Hudson J. B., De Souza C., Akpagana K., Tower G. H. N., Amason J. T., Gbeassor M. Investigation of medicinal plants of Togo for antiviral and antimicrobial activities. Pharm. Biol. 38 (1) : 40-45, 2000.
- Anup K. C., Amit V. G., Karuna. Phytopharmacological review on *Acanthospermum Hispidum*. Journal of Applied Pharmaceutical Science 02 (01) : 144-148, 2012.
- Arena M. E., Cartagena E., Gobbato N., Baigori M., Valdez J. C., Bardon A. *In vivo* and *in vitro* antibacterial activity of acanthospermal B, a sesquiterpene lactone isolated from *Acanthospermum hispidum*. Phytother. Res. 25 : 597-602, 2011.
- Bagré I., Bahi C., Gnahoue G., Djaman A. J., Guédé-Guina F. Composition phytochimique et évaluation *in vitro* de l'activité antifongique des feuilles de *Morinda morindoides* (BAKER) Milne-redh (rubiaceae) sur *Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans*. J.sci. pharm. Biol., 8 (1) : 15-23. EDUCI 2007.
- Bouchet P. H., Guignard J. L., Pouchus Y. F., Villard J. Les champignons. Mycologie fondamentale et appliquée. Abrégés de Pharmacie, Paris : Masson, 2005.
- Bouchet P. H., Regli P., Guignard J. L., Madullo-Leblond G. Mycologie générale et médicale. Masson-Paris : 107-378, 1989.
- Cartagena E., Bardon A., Catalan C. A., De Hernandez N. J., De Hernandez L. R., Joseph-Nathan P. Germacranolides and new type of guainolide from *Acanthospermum hispidum*. J. Nat. Prod. 63 (10) : 1323-1328, 2000.
- Coulibaly K., Zirih Guédé N., Amari A.S.G. Evaluation de l'activité anticandidosique des extraits hydro-alcooliques d'écorces de huit espèces

ligneuses commerciales, de la forêt de Mopri, Tiassalé (Côte d'Ivoire). *Ethnopharmacologia*, n°46 : 81-86, 2010.

Diarra Y. Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Acanthospermum hispidum* DC. (Asteraceae) et *Curculigo pilosa* Schum. Et Thonn. (Hypoxidaceae), deux plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'hypertrophie bénigne de la prostate HBP). Thèse de doctorat d'Etat, Université de Bamako, URF FMPOS, 143 p, 2006.

Edewor T., Olajire A. Two Flavones from *Acanthospermum hispidum* DC and their antibacterial activity. *Int. J. Org. Chem.* 1 (3) : 132-141, 2011.

Fleischer T. C., Ameade E. P., Sawyer I. K. Antimicrobial activity of the leaves and flowering tops of *Acanthospermum hispidum*. *Fitoterapia* 74 : 130-132, 2003.

Ganfou H., Bero J., Alembert T., Tchinda A. T., Fernand Gbaguidid, Gbenou J., Moudachirou M., Michel Frédéric M., Quetin-Leclercq J. Antiparasitic activities of two sesquiterpenic lactones isolated from *Acanthospermum hispidum* DC. *J Ethnopharmacol.* 141 : 411-417, 2012.

Harekrishna R., Anup C., Satyabrata B., Bhabari S. N., Sruti R. M., Ellaiah P. Preliminary phytochemical investigation and anthelmintic activity of *Acanthospermum hispidum* DC. *J. Pharm. Sc. Tech.* 2 (5) : 217-221, 2010.

Hoffman B. R., Delasalas H., Blanco K., Wiederhold N., Lewis R. E., Williams L. Screening of antibacterial and antifungal activities of ten medicinal plants from Ghana. *Pharm. Biol.* 42 (1) : 13-17, 2004.

Jakupovic J., Baruah R. N., Bohlmann F., Msonthi J. D. Further acanthospermolides from *Acanthospermum hispidum*. *Planta Med* 52 (2) : 154-155, 1986.

Janssen-Le Brun. Candidose. Importance du terrain et des foyers dans la prophylaxie et le traitement. Paris : Vaucluse, 66p, 1979.

Kamanzi A. K., Koné M., Terreaux C., Traoré D., Hostettmann K., Dosso M. Evaluation of the antimicrobial potential of medicinal plants from the Ivory Coast. *Phyther. Res.* 16 : 497-502, 2002.

Kamanzi A. K., Schmid C., Brun R., Koné M. W., Traoré D. Antitrypanosomal and antiplasmodial activity of medicinal plants from Côte d'Ivoire. *Journal of Ethnopharmacology.* 90 (2-3) : 221-227, 2004.

Kraus W., Köll_Weber M., Maile R., Wunder T., Vogler B. Biologically active constituents of tropical and subtropical plants. *Pure Appl. Chem.* 66 (10/11) : 2347-2352, 1994.

Le **Bourgeois** T. H. Les mauvaises herbes dans la rotation cotonnière au Nord-Cameroun (Afrique) - Amplitude d'habitat et degré d'infestation - Cycle de développement. *Thèse USTL Montpellier II*, Montpellier, France, 241p, **1993**.

- Lemonica I. P., Alvarenga C. M. Abortive and teratogenic effect of *Acanthospermum hispidum* DC and *Cajanus cajan* (L.) Millps in pregnant rats. *J.Ethnopharmacol.* 43 (1) : 39-44, 1994.
- Mann A., Glate M., Umar N. A. Medicinal and Economical plants of Nupeland. Jube-Evans books and Publication Bida, Niger state, 276p, 2003.
- Mossman T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival : application to proliferation and cytotoxicity assay. *Journal of Immunological Methods* 65 : 55-63, 1983.
- Sanon S., Azas N., Gasquest M., Olivier E., Mahrou V., Barro N., Cuzin-Ouattara N., Traoré A. S., Esposito F., Balasard G., Timon-David P. Antiplasmodial activity of alkaloid extracts from *Pavetta crassipes* (K. Schum) and *Acanthospermum hispidum* (DC), two plants used in traditional medicine in Burkina Faso. *Parasitol. Res.* 90 (4) : 314-317, 2003.
- Summerfield A., Saalmüller A. Interleukin-2-dependent selective activation of porcine T lymphocytes by an extract from the leaves of *Acanthospermum hispidum*. *Int. J. Immunopharmacol.* 20 (1-3) : 85-98, 1998.
- Thès P. M. 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, Côte d'Ivoire, 34p, 2001.
- Touré A., Bahi C., Ouattara K., Djaman A. J., Coulibaly A. 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, 2011.
- Yapi A. B. Inventaire des plantes médicinales de la famille des Asteraceae des marchés de la commune d'Abobo (Abidjan, Côte-d'Ivoire). Mémoire de master, Université Félix Houphouët Boigny Abidjan Côte d'Ivoire, UFR Biosciences, 56 p, 2013.
- Zirihi G. N. Etudes botanique, pharmacologique et phytochimique de quelques plantes médicinales anti-paludiques et/ou immunogènes utilisées chez les Bété du Département d'Issia, dans l'Ouest de la Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Cocody-Abidjan, UFR Biosciences, 126p, 2006.
- Zirihi G. N., Kra A. K. M., Dibie E. T. 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, 2007.