

Cette partie se rapporte sur la valorisation biologique des extraits, des fractions et des produits isolés de *C. dealbata* et de *C. rigidifolia* codées respectivement TST 139 et MG 442.

Pour sa réalisation, nous avons :

- Montré si les extraits bruts de ces plantes ont des effets toxiques sur les animaux à sang chaud.
- Recherché l'effet des extraits, des fractions ainsi que des produits isolés des 2 plantes sur les microorganismes.
- Prospecté l'activité antioxydante des extraits bruts et des produits isolés de la plante.
- Examiné l'effet antiplasmodial des extraits et des produits isolés de *C. dealbata* et de *C. rigidifolia*.

I- MATERIELS ET METHODES

1. Evaluation toxicologique

1.1. Principe

Tout animal ayant subsisté à une dose donnée aurait survécu à toute dose inférieure à celle-ci si elle lui avait été administrée et tout animal ayant faibli à une dose déterminée aurait montré des signes de toxicité à toute dose supérieure à celle-ci si elle lui avait été administrée [Lietchfield et Wilcoxon, 1949 ; Dupont, 1970].

1.2. Méthode

Le test de toxicité aigüe a été réalisé sur des souris blanches *Mus musculus* albinos de race swiss mâle âgées de 16 semaines élevées au CNARP. Six lots de cinq (5) souris dont un lot témoin ont été utilisés. Chaque animal a été identifié par un numéro et une marque différente. Le poids de chaque souris a été pris. Les souris d'un même lot reçoivent par voie intrapéritonéale 0,4 ml d'une solution à une concentration donnée.

La toxicité aigüe après une seule administration de l'extrait, dissout dans un mélange de DMSO/H₂O (50 : 50), consiste à déterminer la dose du produit qui tue la moitié de la population des souris [Miller et Tainter, 1944]. La dose létale médiane (DL₅₀), ou concentration létale médiane (CL₅₀), est un indicateur quantitatif de la toxicité d'une substance. La détermination de la DL₅₀ nécessite au moins trois doses à tester, en duplicate (répéter deux fois).

Après administration, l'observation a été faite pendant 2 h avant de leur donner à manger (cela pour observer le cas de mort immédiat). Nous avons observé les souris pendant 72 h afin de noter les symptômes de l'intoxication et la létalité [Litchfieldj et Wilcoxon, 1949 ; Dupont, 1970].

La DL_{50} consiste à déterminer la dose du produit qui tue la moitié de la population des souris auxquelles on a administré le produit. Elle est déterminée suivant la formule de Dragstedt et Lang (1957) :

$$DL_{50} = \frac{50 (X_2 - X_1) + X_1 Y_2 - Y_1 X_2}{Y_2 - Y_1}$$

Où X_2 : dose supérieur encadrant la DL_{50}
 X_1 : dose inférieur encadrant la DL_{50}
 Y_2 : pourcentage de mortalité correspondant à X_2
 Y_1 : pourcentage de mortalité correspondant à X_1

2. Recherche de l'activité antimicrobienne

2.1. Matériels

Les tests ont été réalisés sur 68 souches microbiennes dont 51 appartiennent à la collection du Service de Microbiologie de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques René Descartes Paris et 17 proviennent de la collection du Laboratoire de Chimie de Substances Naturelles et Sciences des Aliments (LCSNSA) de l'Université de La Réunion et du Centre Nationale d' Application des Recherches Pharmaceutiques (CNARP). La liste de ces souches est présentée dans le **tableau 14** et le **tableau 15**.

Tableau 14 : Liste des germes utilisés à l'Université de Paris Descartes

Souches	Références
<i>Achromobacter xylosoxidans denitrificans</i>	CIP 71.32
<i>Acinetobacter baumannii</i>	CIP 70.34
<i>Aeromonas caviae</i>	CIP 76.16
<i>Aeromonas hydrophila</i>	CIP 76.14
<i>Aeromonas hydrophila (bestiarum)</i>	CIP 74.30T
<i>Alcaligenes faecalis</i>	CIP 67.23
<i>Bacillus cereus</i>	CIP 6624
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 66.33
<i>Brevundimonas diminuta</i>	CIP103020
<i>Burkholderia cepacia</i>	CIP 80.24
<i>Citrobacter freundii</i>	CIP 57.32
<i>Citrobacter koseri</i>	CIP 82.87
<i>Comamonas acidovorans</i>	UR10024190
<i>Comamonas testosteroni</i>	HC07070111
<i>Enterobacter aerogenes</i>	CIP 6086T
<i>Enterobacter cloacae</i>	CIP 60.85
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	CIP 103.018
<i>Enterococcus faecalis</i>	CIP 103.214
<i>Enterococcus faecalis</i>	CIP 104676
<i>Enterococcus faecium</i>	CIP 103.014
<i>Enterococcus galinarum</i>	CIP105985
<i>Enterococcus gallinarum</i>	BM4174 Nadège
<i>Enterococcus hirae</i>	CIP 5855
<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922
<i>Flavimonas oryzihabitans</i>	CIP 102.961
<i>Klebsiella oxytoca</i>	coll perso
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CIP 52.145
<i>Listeria innocua</i>	coll fac
<i>Listeria monocytogenes</i>	CIP 103.575
<i>Listeria monocytogenes</i>	SA 1209 6359
<i>Listeria monocytogenes</i>	1301080167
<i>Micrococcus luteus</i>	coll fac
<i>Morganella morganii</i>	coll perso 396-1
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	SA04072409
<i>Providencia tuartii</i>	CIP 107.808
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CIP 103.467
<i>Pseudomonas luteola</i>	CIP102.995
<i>Pseudomonas montellii</i>	CIP 104.883
<i>Pseudomonas mosselii</i>	CIP 105.259
<i>Pseudomonas putida</i>	CIP 55.191
<i>Salmonella enterica</i>	CIP 58.58
<i>Shigella sonnei</i>	IP 5255
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25.923
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	CIP 53.124
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	CIP 81.56
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	ATCC 43.809
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	coll fac
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	CIP 76125
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	CIP 54.90
<i>Streptococcus agalactiae</i>	CIP 103.227
<i>Yersinia enterocolitica</i>	CIP 80.27

Tableau 15 : Liste des germes utilisés à La Réunion et au CNARP

Souches	Références
Bactérie Gram+	
<i>Clostridium perfringens</i>	ATCC13124
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC19114
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC25923
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC 19615
Bactérie Gram-	
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC35659
<i>Shigella flexnerii</i>	ATCC 12022
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Coll. CNARP
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ATCC23715
<i>Salmonella enterica</i>	ATCC13076
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC10145
Moisissures	
<i>Aspergillus flavus</i>	MUCL19006
<i>Aspergillus terreus</i> var. <i>terreus</i>	MUCL38640
<i>Fusarium moniliforme</i>	MUCL31591
<i>Fusarium sporotrichoides</i>	MUCL6133
<i>Trichoderma viride</i>	MUCL29749
Levure	
<i>Candida albicans</i>	ATCC10231

2.2. Méthodes

Deux méthodes différentes ont été adoptées pour la recherche des activités antimicrobiennes.

Il s'agit de :

- La technique de dilution en milieu solide,
- L'antibiogramme.

2.2.1. La technique de dilution en milieu solide

Cette technique consiste à mettre les échantillons à tester en solution dans du DMSO stérile pour faciliter leur diffusion dans l'agar.

2.2.1.1. Recherche de l'activité antibactérienne

Chaque produit testé est solubilisé dans le DMSO pour préparer la solution mère et les dilutions. Dans la boîte de Pétri, le mélange suivant est versé et homogénéisé : 0,25 ml de solution du produit de concentration précise dans le DMSO, 1,75 ml d'eau stérile et 18 ml de gélose de Mueller-Hinton en surfusion (liquéfié à 100 °C puis ramené à environ 50 °C) ; ce qui fait 0,12 % de DMSO dans la boîte (il a été vérifié que cette concentration n'inhibait pas les bactéries). Ainsi des concentrations variant de 0,75 à 200 mg/l en produit dans les milieux

de culture contenus dans la boîte de Pétri sont préparées. Un témoin est préparé pour chaque échantillon de produit, contenant uniquement le solvant, eau ou DMSO, et la gélose.

Quand le milieu de culture est solidifié, l'inoculation des suspensions bactériennes, à environ 10^6 cellules/ml, est réalisée à l'aide d'un inoculateur automatique, permettant de déposer 52 souches. L'incubation dure 24 h à 37 °C.

Criblage et CMI

Les tests se font généralement sur 3 séries d'analyses pour chaque échantillon de produit naturel à tester. La première série consiste en un criblage sur toutes les espèces bactériennes disponibles provenant de souches de référence (ATCC, CIP, Coll. Paris V). Pour ce criblage, on teste une seule concentration de produit (100 µg/ml).

Tenant compte du résultat de la première série de test, la deuxième série consiste à la détermination de la CMI des produits sur les espèces bactériennes sensibles provenant cette fois des souches de référence et de souches cliniques. La troisième série de test consiste à la confirmation de la valeur de la CMI trouvée dans la deuxième série de test. Dans le cas où un résultat est douteux ou superflu, le produit est testé de nouveau.

2.2.1.2. Recherche de l'activité antifongique

L'étude de l'activité antifongique est réalisée par la technique décrite par Favel et *al.* en 1994. Un millilitre de chaque extrait de plante de concentration finale égale à 1 mg/ml est ajouté dans 19 ml de milieu de culture PDA (Potatoes Dextrose Agar) maintenu à 45 °C. Le mélange est ensuite versé dans des boîtes de Pétri. Ces dernières sont mises à sécher pendant 15 min à 37 °C. 10 µl de chaque germe testé à une suspension correspondante à 0,5 Macfarland sont déposés à la surface du milieu. Les boîtes de Pétri sont incubées à 25 °C pendant 72 h. Sont considérées positives les cultures où il y a une croissance normale visible des moisissures. Les témoins négatifs ont été préparés par spot des souches testées à la surface des milieux sans extraits [Senhaji et *al.*, 2005].

2.2.2. L'antibiogramme

2.2.2.1. Principe

Le test consiste à déposer des disques imprégnés d'une quantité définie d'antibiotique à la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé avec une suspension de bactéries. L'antibiotique diffuse au sein de la gélose. Les concentrations d'antibiotique diminuent du centre vers la périphérie. Il apparaît une zone circulaire appelée halo d'inhibition ou auréole d'inhibition autour du disque si la souche est sensible à l'antibiotique. Le diamètre de la zone

d'inhibition varie en fonction du degré de sensibilité de la bactérie à l'antibiotique [Duval et Soussy, 1991].

2.2.2.2. Mode opératoire

Le test se déroule en 3 étapes successives :

1^{ère} étape :

La colonie jeune de 24 h de chaque souche bactérienne étudiée est mise en suspension dans de l'eau physiologique pour former un inoculum.

2^{ème} étape :

Une quantité d'inoculum égale à 2 ml a été répartie dans des boîtes de Pétri contenant le milieu Mueller Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour la levure selon la technique d'inondation. L'excès est ensuite aspiré avec une pipette stérile. Chaque boîte est séchée sous la hotte pendant 15 à 20 min. Les antibiotiques de références ainsi que les disques stériles d'antibiogramme imprégnés de 10 µl d'extrait à tester à une concentration bien déterminée sont déposés à la surface du milieu à l'aide d'une pince fine stérile. Miconazole (50 µg/disque) est l'antifongique de référence. Pour les bactéries, Néomycine (30 µg/disque), Gentamycine (30 µg/disque) et Kanamycine (30 µg/disque) sont utilisées comme antibiotiques de références.

Les tests pour chaque souche ont été effectués en triple et la moyenne sera prise comme le résultat final.

Les boîtes de Pétri sont incubées à 37 °C pendant 24 h pour les bactéries et 48 h pour la levure.

3^{ème} étape

Le diamètre de l'halo d'inhibition est mesuré avec une règle graduée. La substance a une activité sur le germe quand un halo d'inhibition apparaît autour du disque.

Les résultats sont évalués en se référant aux normes de Ponce *et al.* (2003) données dans le **tableau 16**.

Tableau 16 : Normes sur la mesure du diamètre de la zone d'inhibition données par Ponce et *al.* (2003).

Diamètre du halo d'inhibition (x)	Sensibilité des germes	Résultats
$x < 8 \text{ mm}$	Insensible	-
$9 \text{ mm} \leq x \leq 14 \text{ mm}$	Sensible	+
$15 \text{ mm} \leq x \leq 19 \text{ mm}$	Très sensible	++
$x > 20 \text{ mm}$	Extrêmement sensible	+++

X : diamètre du halo d'inhibition

3. Recherche de l'activité antioxydante

3.1. Matériels

Pour cette étude, nous avons utilisé les matériels suivants :

- Des plaques CCM (Silica gel 60 de marque MERCK) pour le criblage des activités antioxydantes des extraits analysés.
- Un spectrophotomètre de marque DMS 100S pour la quantification du pouvoir antioxydant des extraits à la longueur d'onde $\lambda = 517 \text{ nm}$.

3.2. Méthode de DPPH

Le DPPH est un radical libre stable pourvu de deux atomes d'azote au centre de la molécule. Il peut être réduit par transfert d'atome d'hydrogène, par transfert d'électrons ou par perte séquentielle du proton. L'addition du radical DPPH à une solution éthanolique (ou méthanolique) contenant un composé potentiellement antioxydant et pouvant céder un atome d'hydrogène entraîne donc une diminution de la coloration violette caractéristique de l'apparition de la forme réduite du DPPH (**Figure 90**). [Grigoras et *al.*, 2012].

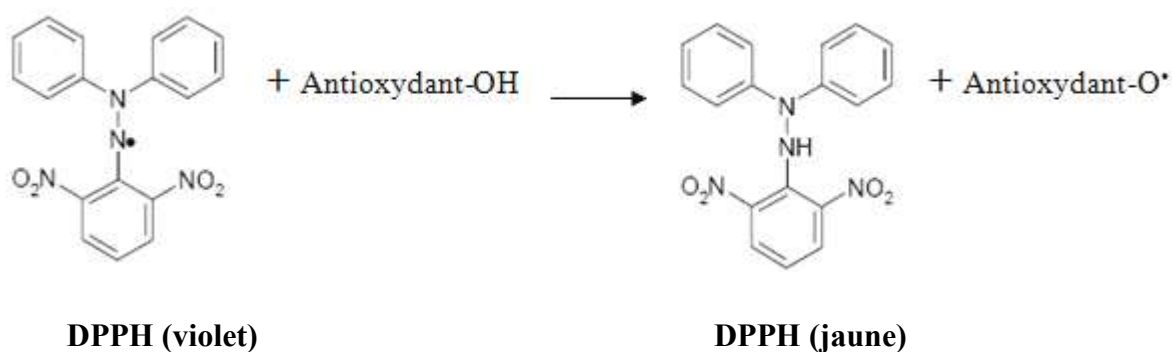


Figure 90 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH

3.2.1. Criblage de l'activité antioxydante par la méthode « Bioautography »

3.2.1.1. Principe

C'est une technique d'analyse qui permet à la fois de séparer par chromatogramme les composants organiques d'un extrait et de visualiser leurs effets biologiques. Elle facilite l'isolement et l'identification des différents constituants actifs d'un extrait brut testé [Oyi, 2001].

On localise sur le chromatogramme une ou plusieurs bandes actives parmi les constituants d'un extrait testé [Botz et *al.*, 2001].

3.2.1.2. Mode opératoire

Le protocole utilisé a été inspiré de celui décrit par Teixeira et *al.* en 2007.

- Une concentration égale à 1 mg par dépôt de 10 µl d'extrait à étudier a été déposée sur une plaque chromatographique de gel de silice 60F₂₅₄.
- La plaque a été développée dans une cuve contenant le système de solvant approprié aux extraits testés.

Après migration puis séchage à l'air libre, la plaque a été pulvérisée par une solution de DPPH à 25% de méthanol de couleur violette.

10 à 30 min après la pulvérisation, les extraits testés ont un pouvoir antioxydant si des zones claires sont apparues sur la plaque CCM, soit sur les dépôts et/ou au niveau des tâches de migration des composants des extraits. Aucune activité n'est observée dans le cas contraire, la coloration reste violette.

3.2.2. Quantification du pouvoir antioxydant

3.2.2.1. Principe

La coloration violette caractéristique de l'apparition de la forme non réduite du DPPH peut être facilement suivie par un spectrophotomètre à une longueur d'onde $\lambda = 517$ nm. La rapidité de la perte de couleur est directement proportionnelle à l'activité antioxydante du donneur d'hydrogène [Popovici et *al.*, 2009 ; Grigoras et *al.*, 2012].

3.2.2.2. Mode opératoire

Cette activité est déterminée selon la méthode d'Awika et *al.* (2003). 25 mg de DPPH sont dissouts dans 100 ml de méthanol et gardés à -20 °C à l'abri de la lumière avant utilisation.

Dans des tubes secs, 200 µl de la solution à tester sont introduits, puis 3800 µl de la solution de DPPH à 25% sont ajoutés. Pour chaque concentration, un blanc constitué de 3800 µl de

DPPH, additionné de 200 µl de méthanol est préparé. Après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante, une mesure de l'absorbance à $\lambda = 517$ nm a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre. L'activité antioxydante qui exprime la capacité de piéger le radical libre est estimée par le pourcentage de décoloration du DPPH en solution dans le méthanol. Elle est donnée par la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = (\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{test}} / \text{Abs}_{\text{control}}) \times 100$$

[Yoo et al., 2008]

Où Abs désigne l'absorbance à la longueur d'onde de $\lambda = 517$ nm.

Les résultats ont été exprimés par la moyenne de 3 mesures $\pm$ écart type.

Le pourcentage d'inhibition ainsi calculé a été comparé en utilisant deux courbes d'étalonnage de l' α - tocophérol à des valeurs comprises entre 6,25 µM à 100 µM et 150 µM à 600 µM.

4. Recherche de l'activité antiplasmodiale

4.1. Principe

Cette étude est fondée sur la mesure de la fluorescence de la solution contenant le parasite *Plasmodium falciparum* par ajout d'un fluorophore, le SYBR Green I.

4.2. Méthode

Un mélange de 200 µl, composé de 100 µl de suspension de globules rouges infectés par la souche FCM29 de *P. falciparum* (1% de parasitémie et 2% d'hématocrite dans un milieu RPMI 1640 complété avec du sérum humain à 20%), de 50 µl du produit à tester dilué en série et de 50 µl de milieu non enrichi en sérum humain, est réparti dans une microplaque à 96 puits. La microplaque est ensuite incubée dans une atmosphère microaérophile à 37°C pendant 72 h.

Après incubation, un volume de 50 µl de solution de SYBR Green I (Microprobes, Oregon, États-Unis), dilué 20 fois dans un milieu supplémenté avec du sérum humain, est ajouté dans chaque puits. Les solutions résultantes sont mélangées et laissées au repos pendant 60 min à l'abri de la lumière à 37°C. La fluorescence est lue à deux longueurs d'ondes $\lambda_1 = 485$ nm, longueur d'onde d'excitation et $\lambda_2 = 518$ nm, longueur d'onde d'émission (Biotek - Lecteur de microplaques FLX800). Le taux de fluorescence est considéré comme proportionnel à la quantité de *P. falciparum* respective dans chaque puits. Les valeurs d'IC₅₀, les concentrations

de médicaments qui réduisent de 50% le taux de fluorescence, donc la croissance, sont ensuite déduites selon le calcul décrit par Bennett et *al.* 2004.

II. RESULTATS ET DISCUSSIONS

1. Etude des propriétés biologiques des extraits et des fractions

1.1. Evaluation toxicologique

Chaque dose létale des extraits de *C. dealbata* et de *C. rigidifolia* qui tue 50% des animaux testés (DL₅₀) après le calcul et en se basant sur l'extrapolation en surface relative [Paget et Barnes, 1964] est présentée dans le **tableau 17**.

Tableau 17 : Les DL₅₀ des extraits bruts de *C. dealbata* et *C. rigidifolia*

<i>C. dealbata</i>		<i>C. rigidifolia</i>	
Code	DL ₅₀ (mg/kg)	Code	DL ₅₀ (mg/kg)
TST139	7875	MG442	1575

D'après ces résultats, l'extrait brut de *C. dealbata* (TST139) tue la moitié des animaux testés à une dose de 7875 mg/kg. Quant à celui de *C. rigidifolia* (MG442), il tue à 1575 mg/kg.

1.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne

1.2.1. Activité antimicrobienne des extraits et des fractions de *C. rigidifolia* et *C. dealbata* par la méthode antibiogramme

L'activité antimicrobienne en milieu solide des extraits bruts et des fractions hexanique et Acétate d'éthyle notés respectivement TST139, TST139-1 et TST139-2 pour *C. dealbata* et MG442, MG442-1 et MG442-2 pour *C. rigidifolia* a été évaluée sur 04 souches de bactéries Gram + (*L. monocytogène*, *C. perfringens*, *S. pyogène*, *S. aureus*,), 07 souches de bactéries Gram - (*P. mirabilis*, *K. pneumoniae*, *S. flexnerii*, *P. aeruginosa*, *Y. enterocolitica*, *S. enterica*, *E. coli*) et 01 levure (*C. albicans*), à la concentration de 1 mg/disque.

Les effets des extraits et des fractions de deux *Cryptocaria* sur ces germes sont récapitulés dans le **tableau 18**. D'après les normes données par Ponce et *al.* (2003), les résultats ont montré que :

Pour *C. dealbata* (TST 139),

L'extrait brut TST 139 est moyennement actif contre 2 germes (*C. perfringens* et *S. aureus*) sur les 4 bactéries gram+ testés. Sur les 7 bactéries Gram-, seule *K. pneumoniae* est sensible vis-à-vis de cet extrait, les 6 souches restantes sont résistantes. Il est actif contre la levure (*C. albicans*). Pourtant, ces activités sont moins importantes par rapport à celles des antibiotiques et des antifongiques de référence.

Les 2 fractions TST139-1 et TST 139-2 ne présentent aucune activité sur les 12 germes testés.

Pour *C. rigidifolia* (MG 442),

Aucune activité n'est observée contre les bactéries Gram+. 4 bactéries Gram- (*P. mirabilis*, *S. flexnerii*, *Y. enterocolitica*, *S. enterica*) contre les 7 souches testées sont assez sensibles vis-à-vis de l'extrait brut MG 442. Cette activité est nulle pour la fraction MG 442-1. Pourtant, *P. mirabilis* et *S. enterica* sont sensibles à la fraction MG 442-2. *S. flexnerii* est assez sensibles vis-vis de cette fraction.

Tableau 18 : Effets des extraits bruts et des fractions de *C. dealbata* et *C. rigidifolia* testés à 1mg/disque

	Diamètre de l'halo d'inhibition (mm)											
Extraits	Gram(+)				Gram(-)							Levure
	<i>L. monocytogène</i>	<i>C. perfringens</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogène</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. flexnerii</i>	<i>Y. enterocolitica</i>	<i>S. enterica</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
TST139	0	8±0,0	10±0,0	0	0	9±0,0	0	0	0	0	0	9 ±0,0
TST139-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TST139-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MG 442	0	0	0	0	8±0,5	0	0	7±0,5	7±0,5	7±0,1	0	0
MG442-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MG442-2	0	0	0	0	10±0,5	0	0	7±0,5	0	8± 0,0	0	0
Neomycine (30µg/disc)	NT	NT	NT	NT	NT	NT	20±2	NT	NT	NT	NT	NT
Gentamycine (30µg/disque)	NT	NT	NT	NT	NT	24±2	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Kanamycine (30µg/disque)	30±0,0	20± 0,0	23± 0,0	35±0,0	27± 0,0	NT	NT	21±0,0	25± 0,0	20± 0,0	11±0,0	NT
Miconazole (50µg/disque)	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	30±0,0

NT : non testé ; 0 : aucune zoned'inhibition

1.2.2. Activité antifongique d'extrait et des fractions de *C. dealbata* par la technique de dilution en milieu solide.

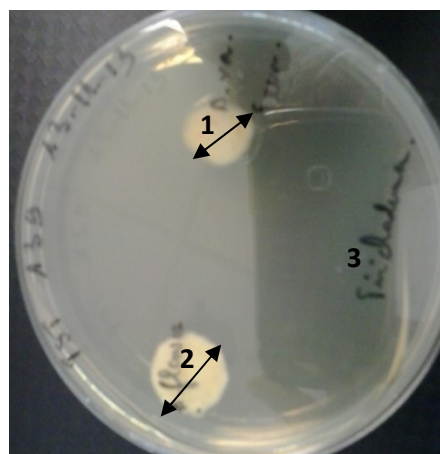
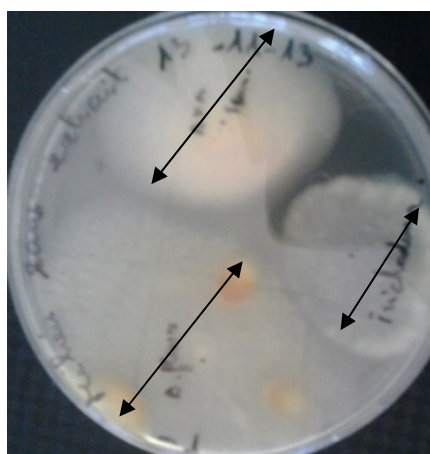
Cette étude a été effectuée sur l'extrait TST139 et ses fractions TST139-1 et TST139-2 dont la quantité est largement suffisante pour le test.

Le **tableau 19** et la **figure 91** montrent que, par rapport au témoin où aucune inhibition n'est observée, la croissance des 05 souches de moisissures est inhibée de 26 à 100% en présence de l'extrait brut (TST139), des fractions hexanique (TST139-1) et Acétate d'éthyle (TST139-2) du *C. dealbata*. L'inhibition est maximale sur *Trichoderma viride* (100%).

Tableau 19 : Effets inhibiteur des extraits et des fractions (concentration : 1mg/ml) du *C. Dealbata* sur la croissance des champignons filamenteux

Souches	Pourcentage d'inhibition de la croissance des moisissures (%)				
	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus terreus</i> var. <i>terreus</i>	<i>Fusarium moniliforme</i>	<i>Fusarium sporotrichoides</i>	<i>Trichoderma viride</i>
TST139	71	69	50	59	100
TST139-1	40	33	29	26	77
TST139-2	48	47	29	37	100
TEMOIN (milieu sans extraits)	0	0	0	0	0

0 : pas d'inhibition



Témoin (milieu sans extrait): croissance normale de l'*A. flavus*, l'*A. terreus* var. *terreus* et du *Trichoderma viride* au bout d'une semaine

Test : Inhibition de la croissance de l'*A. flavus* (1) de l'*A. terreus* var. *terreus* (2) et du *Trichoderma viride* (3) en présence du TST 139 au bout d'une semaine

Figure 91 : Un exemple montrant l'inhibition de la croissance des moisissures en présence de l'extrait brut TST 139