

**ÉVALUATION DE LA SENSIBILITÉ de *Candida albicans* AUX
EXTRAITS DE *Mitracarpus scaber* UNE RUBIACEAE CODIFIÉE
MISCA.**

KPOROU Kouassi Elisé^{1*}, KRA Adou Koffi Mathieu*, OUATTARA Sitapha* et
GUEDE-GUINA Frédéric*

* Laboratoire de Pharmacodynamie Biochimique (LPB), UFR Biosciences, Université
de Cocody, 22 BP 582 Abidjan 22

Résumé

Dans le but d'apporter notre contribution à la lutte contre les candidoses opportunistes en forte recrudescence chez les malades du SIDA, notre équipe a testé neuf (09) extraits d'une rubiaceae codifiée MISCA sur la croissance *in vitro* d'une souche de *Candida albicans*. Les tests antifongiques ont été réalisés sur milieu Sabouraud selon la méthode de la double dilution en tubes penchés. La souche testée est sensible aux neuf extraits de MISCA et l'extrait X₁₁ obtenu par partition de l'extrait hydro-alcoolique dans un mélange de solvants hexane-eau (v/v) est le plus actif (CMF =3,125 mg/ml).

Le tri phytochimique de tous les extraits de MISCA a révélé une forte présence des stérols et des triterpènes dans l'extrait X₁₁, l'activité anticandidosique de cette plante serait donc due à ces composés.

Ainsi, l'extraction à partir d'un mélange alcool-eau 70 :30 (v/v) suivi d'une partition dans la combinaison hexane-eau 50 :50 (v/v) est celle qui permet de mieux concentrer les principes actifs antifongiques présents dans MISCA.

Mots clés : MISCA, Rubiacée, extrait, champignons opportunistes, antifongique.

¹ Auteur à qui adresser la correspondance / Corresponding author.
Tel: 07-12-28-54/03-08-78-38 / Email: elykoua@yahoo.fr

EVALUATION OF THE SENSITIVITY OF *Candida albicans* TO EXTRACTS OF *Mitracarpus scaber* A RUBIACEAE MISCA CODIFIED.

Abstract

In the goal to bring our contribution to the struggle against opportunists candidosis in strong upsurge at patients of the AIDS, our team tested nine (09) extracts of a rubiaceae MISCA codified on the *in vitro* growth of a *Candida albicans* strain. Antifungal Test have been achieved on Sabouraud gelose medium according to the Agar slant method. The strain is sensitive to the nine extracts of MISCA; and the X₁₁ extract gotten by partition of the aqueous ethanol extract in a hexane-water (v/v) mixture is the most active (FMC =3,125 mg/mls).

From the preliminary phytochemical screening it is revealed that X₁₁ extract showed intensisve positive results towards steroids and triterpens, the anticandidosic activity's would due to these components.

Thus, the extraction from an alcohol-water 70:30 (v/v) mixture follow-up by a hexane-water 50:50 (v/v) partition is the best combination that permits a better concentration of active antifungal principle in MISCA.

Key words: MISCA, Rubiaceae, extract, yeast opportunists, antifungal.

I-INTRODUCTION

Les plantes ont été depuis toujours une source de médicaments. Aujourd'hui encore, une majorité de la population mondiale, plus particulièrement dans les pays en voie de développement, se soigne avec des remèdes traditionnels à base de plantes (Adjanohou *et al.*, 1979). La flore a déjà énormément contribué à la découverte de nombreux principes actifs qui ont servi à la préparation de nombreux médicaments et elle y contribue encore. En effet, l'industrie pharmaceutique moderne elle-même, continue de s'appuyer sur la diversité des métabolites secondaires végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiquement actives (Guédé-Guina *et al.*,1993 ; Vangah-Manda *et al.*, 1993 ; Bonga *et al.*, 1995 ; Guédé-Guina *et al.*,1997 ; Bonga *et al.*,1998 ; Mobié *et al.*,1998 ; Guédé-Guina *et al.*,1997 ; Kra, 1997 ; Kra, 2001). Malheureusement, malgré tous les efforts déployés par la médecine, on constate que ces dernières années les maladies infectieuses ont connu une forte recrudescence. Au niveau des mycoses, les candidoses constituent des infections très fréquentes chez des

sujets vivant avec le VIH. La sensibilité vis-à-vis des antifongiques diminue chez certaines souches de *Candida* du fait de la pression médicamenteuse, des phénomènes de mutations et de la forte progression des infections opportunistes (Ajello *et al.*, 1963 ; Smith D., 1991 ; Holt, 1975 ; Midgley *et al.*, 1998 ; Dupont *et al.*, 1997 ; Dieng *et al.*, 2005).

Dans le souci d'aider les populations à se soigner à moindre coût et sans danger, notre équipe a entrepris depuis plus d'une décennie d'évaluer l'activité pharmacologique de différents extraits de plantes médicinales.

Le but de ce travail est d'évaluer l'activité anticandidosique de quelques extraits d'une plante médicinale ivoirienne *Mitracarpus scaber* codifiée MISCA utilisée en milieu traditionnel contre les infections de la peau (Maynard *et al.*, 1982).

II-MATÉRIEL ET MÉTHODES

II-1 Préparation des extraits végétaux

Les tiges feuillées de MISCA ont été récoltées, lavées, séchées à l'abri du soleil pendant 7 jours et rendues en poudre fine grâce à un broyeur de type IKA-MAG. La poudre a été extraite selon la méthode de Guédé-Guina *et al.*, 1993 comme suit : cent grammes (100g) de poudre de MISCA ont été extraits par macération dans un litre d'eau distillée sous agitation magnétique pendant 48 heures sur un agitateur de type IKA-MAG-RTC. Le macéré obtenu est filtré successivement deux fois sur coton hydrophile et ensuite une fois sur papier Whatman. Le filtrat obtenu est enfin évaporé à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif de type Büchi à 60°C, on obtient ainsi l'extrait total aqueux (X_{aq}).

Les autres extraits X_{Et} (éthanolique) et X_0 (hydro-alcoolique) ont été préparés selon le même procédé décrit ci-dessus en utilisant respectivement comme solvants l'éthanol pur et un mélange comportant 70% d'éthanol et 30% d'eau.

Au regard des performances de tous les extraits, seul l'extrait X_0 présentant une bonne activité et une bonne solubilité dans l'eau a été retenu pour les essais d'amélioration de l'activité antifongique : 3 portions de 10g de X_0 ont été pesées et soumises séparément à partition sur un agitateur magnétique de type IKA-MAG pendant 48 heures dans 3 différents mélanges de solvants (hexane-eau, acétate d'éthyle-eau, butanol-eau) 50% v/v. Cette opération a donné les extraits suivants :

- X₁₁ : phase hexanique et X₁₂ : phase aqueuse issues de la partition hHexane-eau ;
 - X₂₁ : phase acétatique et X₂₂ : phase aqueuse obtenues à partir de la partition acétate d'éthyle-eau ;
 - X₃₁ : phase butanolique et X₃₂ : phase aqueuse provenant de la partition butanol-eau.
- Tous ces 9 extraits ont été testés séparément sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*.

II-2 Tri phytochimique des extraits végétaux

Les différents extraits obtenus ont fait l'objet d'un tri phytochimique utilisant des réactifs appropriés pour la recherche des alcaloïdes (solution de DRAGENDORFF, BOUCHARDAT et VALSEN-MAYER), les stérols et triterpènes (réaction de LIEBERMAN), les composés phénoliques (chlorure ferrique à 2%), les tanins (réaction de STIASNY et acétate de sodium + FeCl₃), les flavonoïdes (réaction dite «à la Cyanidine»), les saponines (indice de mousse), les quinones (réactif de BORNTAEGER) (Latifou, 2005 ; Nikiema, 2005).

II-3 Préparation des milieux de culture

Les tests antifongiques ont été réalisés sur milieu de culture Sabouraud (BIO RAD 64494, lot 7A2211). Une quantité de 6,3g de poudre de gélose Sabouraud est homogénéisée dans 150 ml d'eau distillée. Ce mélange est chauffé et agité jusqu'à homogénéité complète puis répartie dans une série de 12 tubes à essai numérotés de 1 à 12. Cette répartition a été faite à raison de 20 ml dans le tube n°1 et de 10 ml dans les autres tubes allant du n°2 au n°12.

L'incorporation de l'extrait végétal à la gélose a été faite selon la méthode de la double dilution en tubes penchés. Notre série comporte 12 tubes à essai dont 10 tubes tests (tube n°1 à 10 contenant l'extrait végétal) et 2 tubes témoins (un sans extrait végétal tube n°11, sert de témoin de contrôle de croissance du germe ; l'autre sans germe et sans extrait, tube n° 12 sert de témoin de contrôle de la stérilité du milieu de culture). Notre série de tubes tests contient ainsi des concentrations de l'extrait allant de 100 à 0,195 mg/ml avec une liaison géométrique de raison 1/2 : pour passer d'une forte concentration à une faible, on multiplie par le facteur 1/2.

Tous les 12 tubes sont stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes et ensuite inclinés de telle sorte qu'à la solidification la gélose forme une pente à l'intérieur du tube. Puis, les tubes sont refroidis à la température de la salle à 27°C (Zirihi *et al.*, 2003; Kporou, 2004 ; Ouattara, 2004; Acka, 2004).

II-4 Essai antimicrobien

La souche *Candida albicans* sur laquelle nous avons travaillé nous a été fournie par le laboratoire de mycologie de l'UFR des sciences médicales de l'Université de Cocody (Abidjan, Côte d'Ivoire). Cette souche a été isolée chez des patients malades du SIDA. La culture des germes sur les milieux précédemment préparés a été faite par l'ensemencement de 1000 cellules de la souche de *C. albicans* équivalent à 10µl d'une suspension de 10⁻¹ d'une culture de 48h d'incubation de *C. albicans*. Les cultures ainsi réalisées ont été incubées à 30° C pendant 48 heures. Après le temps d'incubation, les colonies ont été dénombrées par comptage direct grâce à un stylo compteur de colonies. Ce stylo permet de compter directement les colonies qui sont vues à l'œil nu par le manipulateur. Ce dernier marque simplement la colonie et le compteur la dénombre en émettant un son. Et, la croissance dans les 10 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 (Zirihi *et al.*, 2003; Kporou, 2004 ; Ouattara, 2004; Acka, 2004).

Méthode de calcul de la survivance :

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

où :

S : survivance des germes (%)

n : nombre de colonies dans le tube expérimental

N : nombre de colonies dans le tube témoin

III-RÉSULTATS

Après 48 h. d'incubation à 30 °C, on observe qu'en passant d'un tube à un autre et comparativement au témoin, il y a une diminution progressive du nombre de colonies de *C. albicans* au fur et à mesure que les concentrations de l'extrait augmentent dans les

tubes expérimentaux. Les données expérimentales traduites sous forme de courbes sont résumées à la figure 1. Les valeurs des paramètres antifongiques des différents extraits pour la souche de *Candida albicans* (CI₅₀ : Concentration pour 50% d'inhibition et CMF : Concentration minimale fongicide) graphiquement déterminés sont consignées dans le tableau I. De façon générale, toutes les courbes présentent une allure décroissante avec des pentes de valeur variable selon les extraits.

Tableau I : Valeurs des paramètres antifongiques des extraits de MISCA à 48 heures d'incubation à 30 °C.

Extraits de MISCA	Paramètres antifongiques	
	CMF (mg/ml)	CI ₅₀ (mg/ml)
MISCA-X _{aq}	100	22
MISCA-X _{Et}	3.125	0.90
MISCA-X ₀	6.25	1.86
MISCA-X ₁₁	3.125	0.68
MISCA-X ₁₂	100	10
MISCA-X ₂₁	50	6
MISCA-X ₂₂	100	6
MISCA-X ₃₁	100	6
MISCA-X ₃₂	100	7

La courbe de sensibilité de l'extrait X₁₁ a une pente relativement très forte ; celle de l'extrait X₃₂ a une pente faible et celles des extraits X_{Et}, X₀, X₁₂, X₂₁, X₂₂, X₃₁, X_{aq} ont des pentes à valeurs moyennes. Par ailleurs les résultats du tri phytochimique consignés dans le tableau II ont montré que les différents extraits contiennent des composés phénoliques, stérols et triterpènes à des quantités variables mais ne contiennent pas des quinones, des saponines, des tanins et des flavonoïdes puis les alcaloïdes sont en traces.

Tableau II: Tri phytochimique des extraits de MISCA

Constituants	X _{aq}	X _{Et}	X ₀	X ₁₁	X ₁₂	X ₂₁	X ₂₂	X ₃₁	X ₃₂
Stérols et Triterpènes	++	++	++	+++	+	+	-	+	-
Composés phénoliques	++	+	+	-	++	-	++	-	++
Alcaloïdes	traces	-	-	-	-	-	-	-	-
Tanins									
Catéchiques	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Galliques	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flavonoïdes	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saponines	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Quinones	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(+) : Présence faible
 (++) : Présence moyenne
 (+++) : Forte présence
 (-) : Absence

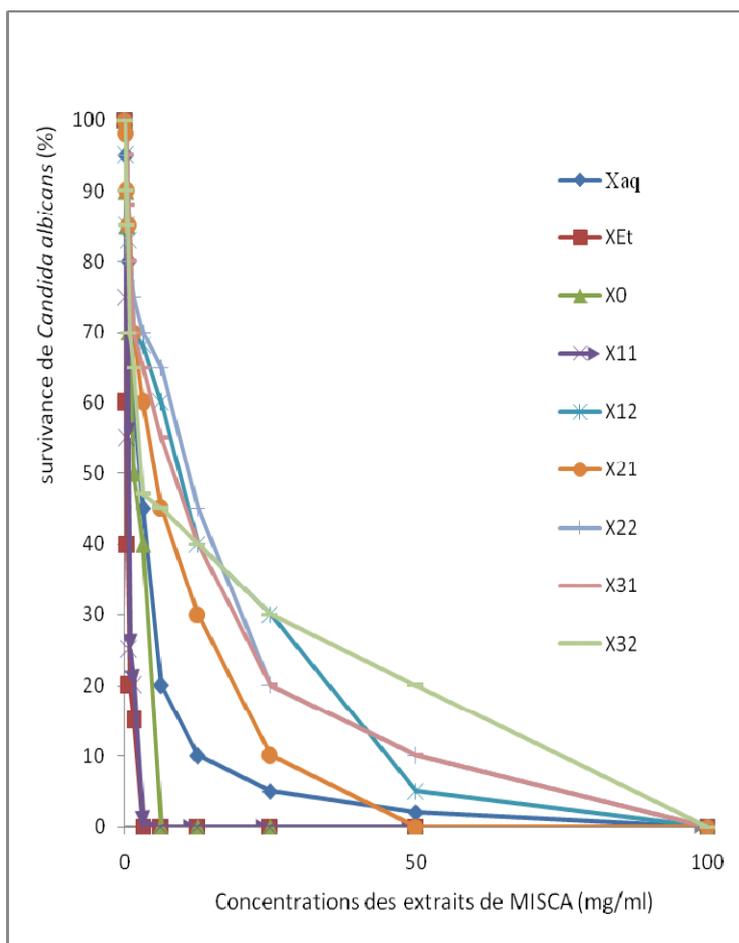


Figure 1 : Sensibilité de *Candida albicans* aux différents extraits de MISCA.

Avec l'extrait X₁₁, l'intensité de la coloration révélant la présence de stérols et de triterpènes avec le réactif de Lieberman a été plus forte.

IV- DISCUSSION

L'analyse des résultats des cultures microbiologiques avec les extraits de MISCA montre que *C. albicans* est sensible à tous les extraits testés. Toutefois les performances des extraits testés sont différentes selon la CMF et la CI₅₀. Par ailleurs, la diminution progressive du nombre de colonies avec l'augmentation des concentrations des extraits dans les tubes montre que *Candida albicans* est sensible aux différents extraits de MISCA selon une relation dose-effet (voir figure 1 et tableau I). La comparaison des extraits totaux sur la base des valeurs des CMF montre que X_{Et} est plus actif car la valeur de ce paramètre pour cet extrait est la plus faible. À l'opposé, l'extrait X_{aq} est le moins actif. Précisons que l'extrait X_{Et} est très peu soluble dans le milieu Sabouraud à cause de sa très forte teneur en huiles. C'est pour remédier à cette difficulté que nous avons préparé l'extrait X₀ à base d'un mélange alcool/eau et la suite des travaux a été réalisée avec cet extrait car il est parfaitement soluble dans le milieu de culture. De plus sa valeur de CMF est plus proche de celle de X_{Et}.

L'analyse des résultats obtenus avec les extraits issus des différentes partitions montre que X₁₁ est plus actif. En effet, la comparaison des valeurs de CMF montre que X₁₁ est 16 fois plus actif que X₂₁ (le rapport CMF X₂₁/ CMF X₁₁ = 16). Cette même comparaison montre que X₁₁ est 32 fois plus actif que tous les extraits des autres partitions (X₁₂, X₂₂, X₃₁, X₃₂), il est 2 fois plus actif que X₀ qui a servi de base à sa préparation et 32 fois plus actif que l'extrait aqueux X_{aq} utilisé en médecine traditionnelle. Les extraits X₁₁ et X_{Et} ont une même valeur de CMF, tandis que sur la base des valeurs de CI₅₀, la comparaison montre que X₁₁ est 1.32 fois plus actif que X_{Et}. Les extraits X₁₁ et X_{Et}, possèdent la même activité car la différence entre les valeurs de CI₅₀ n'est pas statistiquement significative. Sur la base des valeurs des CMF, l'activité de MISCA-X₁₁ est nettement meilleure que celle obtenue avec les extraits MISCA-F₁ (CMF = 150 mg/ ml), MISCA-F₂ (CMF = 50 mg/ml), MISCA-F₃ (CMF = 25mg/ml) respectivement testés par Kporou, Ouattara et Acka en 2004 sur cette même souche de *Candida* (Acka, 2004 ; Kporou, 2004 ; Ouattara, 2004). De l'analyse de ces résultats, il ressort 3 aspects essentiels :

- La souche de *Candida albicans* est sensible à tous les extraits testés ;
- Il a été possible d'avoir de meilleures performances de l'extrait X₀ en réalisant une partition de cet extrait dans un mélange hexane-eau (v/v). Cela amène à déduire que les principes actifs pourraient ne pas être des macromolécules. Ce seraient des molécules solubles dans un mélange de solvants organiques (éthanol et hexane) et pouvant être classées comme étant des huiles ou assimilées comme telles ;
- La combinaison de solvants éthanol-eau (70 :30) et hexane-eau (v/v) est donc celle qui convient pour une meilleure concentration des principes actifs de MISCA. Cela a permis d'obtenir l'extrait X₁₁ qui à ce niveau de notre étude possède une activité anticandidosique meilleure que celle des extraits issus d'autres partitions. En outre, X₁₁ est nettement soluble que l'extrait X_{ET} dans le milieu de culture qui a été préparé à base d'eau. Ainsi cette méthode de partition telle qu'initiée par Zirihi et al. en 2003 est une bonne voie permettant de mieux sélectionner les principes actifs de MISCA.

En outre, le tri phytochimique a révélé que les extraits de MISCA contiennent des composés phénoliques, des stérols et triterpènes à des quantités variables car l'intensité de la coloration est importante pour certains extraits et moyenne ou légère pour d'autres. Toute fois l'extrait X₁₁ qui possède la meilleure activité antifongique est uniquement constitué de stérols et triterpènes, donc la forte activité anticandidosique de MISCA serait due à ces composés. Et cela confirme la nature des principes actifs de MISCA (Bonga *et al.*, 1998).

V- CONCLUSION

Cette étude nous situe sur le potentiel anti infectieux de cette plante codifiée MISCA. Les résultats de ces investigations nous ont permis de comprendre que la souche *Candida albicans* est sensible à tous les neuf extraits testés et que cette sensibilité est dose dépendante.

Cette étude nous a permis de montrer que les extraits testés ont une activité anticandidosique plus ou moins accentuée sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*.

La préparation des extraits par la méthode de Zirihi et Kra en 2003, a permis d'obtenir par partition des extraits X₁₁, X₁₂, X₂₁, X₂₂, X₃₁, X₃₂ parmi lesquelles X₁₁

phase hexanique issue de la partition hexane-eau (CMF=3.125 mg/ml et CI₅₀=0.68 mg/ml) possède un pouvoir anticandidosique relativement élevé. Contrairement, l'extrait X_{aq} habituellement utilisée en médecine traditionnelle possède une faible activité antifongique (CMF=100 mg/ml et CI₅₀ = 22 mg/ml).

On peut donc retenir que l'extraction à partir d'un mélange alcool-eau 70 :30 (v/v) suivi d'une partition dans la combinaison hexane-eau 50 :50 (v/v) est la voie qui permet de mieux concentrer les principes actifs antifongiques présents dans MISCA. Le tri phytochimique a révélé que l'activité de MISCA serait due aux stérols et triterpènes. Des études ultérieures par chromatographie sur colonne et sur couche mince de l'extrait X₁₁ permettraient d'isoler la molécule active et d'améliorer l'activité de MISCA-X₁₁.

VI - RÉFÉRENCES

- Acka A. B. A. J., (2004). Spectre anti-infectieux de MISCA F₃ sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*. Mémoire de DEA de Biotechnologie, option Pharmacologie des substances naturelles, Université de Cocody Abidjan 35 pages.
- Adjanohou J E. (1979) Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte d'Ivoire, CRES, Univ. CI, Centre National de Floristique. 358 p.
- Ajello L., Georg L. K., Kaplan W. & Kaufman L., (1963). Laboratory manual for medical mycology. 2nd ed. John Wiley and sons, Inc. New York 20-35.
- Bonga F. M. G., Vangah-Manda M., De Souza C. & Guéde-Guina F., (1995). Mise en évidence des phytostéroïdes antifongiques contre *Cryptococcus neoformans*. Revue Med. et pharm. Afr., (9) (1) 21-30.
- Bonga G. M. F., Kra A. K. M. & Guédé-Guina F., (1998). Identification chimique et pharmacologique des phytostérols anticryptococciques de MISCA, un antifongique de source naturelle. JBNA-1, 30 Nov-04 Déc Abidjan (Côte d'Ivoire).
- Dieng Y. ; Faye-Niang M. A.; Ndour-Diop A.; Sow P. S.; Dieng T.; Soumare M.; Bah I. B.; Faye O.; Diop B. M.; Gaye O.; Ndir O., & Diallo S., 2005. Sensibilité aux antifongiques des souches de candida responsables de candidoses oropharyngées chez des sujets vivant avec le VIH. Sidanet 2(3) :835.
- <http://sidanet.refer.org/webapps/komplete/index.php> . 15/07/2006.

- Dupont B., Improvisi L., & Dromer F., 1997. Facteurs d'échec clinique du traitement des candidoses oropharyngées au cours du SIDA. La lettre de l'infectiologie. Institut Pasteur – Paris 23-30.
- Guédé-Guina F., Vangah-Manda M., Harouna D., & Bahi C., (1993). Potencies of MISCA, a plant source concentrate against fungi. Mycol. Med., (5); (4) 225-229.
- Guédé-Guina F., Kra A. K. M., Vangah-Manda M., & Bonga G. M. F., 1997. Inhibition par MISCA-F₁ de la croissance de *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* et *Cryptococcus neoformans* opportunistes du SIDA. Afr. Biomédicale, 2, (1) 11 – 16.
- Holt J. R., (1975). Laboratory test of antifungal drugs; J clin. Path., (18) 767 – 774.
- Kporou K. E. (2004), Spectre anti-infectieux de MISCA F₁ sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, Mémoire de DEA de Biotechnologie, option Pharmacologie des substances naturelles, Université de Cocody Abidjan 35 pages.
- Kra A. K. M., (1997). Évaluation des effets d'un nouvel anti-aspergillaire de source naturelle. Mémoire de DEA de Biotechnologie, option Pharmacologie - Microbiologie, Université de Cocody, Abidjan 30 pages.
- Kra A. K. M., (2001). Évaluation et amélioration par séquençage chromatographique d'une action antifongique de MISCA contre *Aspergillus fumigatus*. Thèse. Bioch. UFR Biosciences. Univ. Abidjan 126 pages.
- Latifou L., Étude phytochimique et Activité Antipaludique de substances Naturelles issues de plantes Béninoises. Thèse de Doctorat. Univ. Louis Pasteur de Strasbourg/ Univ. d'Abomey-calavi, Bénin 280 pages.
- Maynard G., Mboup S., Samb A., N'diaye B., Pousset J. C., & Yameogo A. M., (1982). Plantes médicinales africaines IX. Contribution à l'étude d'une plante spontanée *Mitracarpus scaber* Zucc. (Rubiaceae). Med. Afr. Noire, Vol. 29, n°27 519 – 521.
- Midgley G., Roderick J. H., Clayton M. Y., (1998). Atlas de poche de mycologie. Med. Flam. 1 – 93.
- Mobié P. D., Kra A. K. M., & Guedé-Guina F., (1998). Action antifongique de l'huile de MISCA sur *Trichophyton rubrum* et *Trichophyton mentagrophytes*. Afr. Biomédicale, 2, (1) 18 – 20.

- Nikiema W. P. R., (2005). Propriétés pharmacologiques de *Calotropis procera* Ait. (Asclepiadaceae) récolté au Mali : Étude préclinique des effets antiinflammatoires et antimicrobiens des extraits des écorces de racines. Faculté de Médecine de pharmacie et d'Odontostomatologie, Univ. Bamako, Mali 162 pages.
- Ouattara S., (2004). Spectre anti-infectieux de MISCA F₂ sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*. Mémoire de DEA de Biotechnologie, option Pharmacologie des substances naturelles, Université de Cocody Abidjan 35 pages.
- Smith D., (1991). Fluconazole resistant *Candida* in aids. J. Infect., 23: 345-348.
- Vangah-Manda M., Harouna D., & Guédé-Guina F., (1993). Ciblage de l'action antifongique de MISCA, un concentré de source végétale contre *Cryptococcus neoformans*. Premier congrès de la pathologie infectieuse tropicale. Abidjan, 17 – 18 mars. Afr. Biomédicale, (1) (1) 16 – 19.
- Zirihi G. N.; Kra A. K. M. & Guédé-Guina F., (2003). Évaluation de l'activité Antifongique de *Microglossa pyrifolia* (LAMARCK) O. KUNTZE (ASTERACEAE) « PYMI » sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*. Revue de Méd. et Pharm. Afr. 17 : 11 – 18.