

ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIFONGIQUE DE TEKAM, UN EXTRAIT DE PLANTE, SUR LA CROISSANCE *IN VITRO* DE *CANDIDA ALBICANS*

**Bognan A. Auguste Jacques ACKAH^{1,*}, Mathieu Koffi Adou KRA¹,
Noël Guédé ZIRIHI² et Frédéric GUÉDÉ-GUINA¹**

¹Laboratoire de pharmacodynamie biochimique, UFR Biosciences,
Université de Cocody, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

²Laboratoire de botanique, UFR Biosciences, Université de Cocody, 22 BP
582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

(Reçu le 07 Janvier 2008, accepté le 02 Juin 2008)

* Correspondance et tirés à part, e-mail : jacquackah@yahoo.fr

RÉSUMÉ

Dans le but d'apporter notre contribution à la lutte contre les mycoses opportunistes en forte recrudescence chez les malades du SIDA, notre équipe a testé différents extraits végétaux (aqueux, éthanolique, butanolique, hexanique, et acétalique) de TEKAM, une poudre végétale obtenue à partir d'une combretacée sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*. *Candida albicans* est sensible aux différents extraits de TEKAM. Parmi les huit extraits testés, X_{1,2} possède la plus forte activité inhibitrice (CMF= 45 µg/mL). La méthode de préparation de l'extrait (X_{1,2}) par partitions de l'extrait éthanolique dans une succession de plusieurs solvants est une bonne voie pour arriver à une meilleure concentration des principes actifs.

Mots-clés : *Combretaceae, extraits végétaux, activité anticandidosique, champignons opportunistes, Tekam, Candida albicans*

ABSTRACT

Assessment of the antifungic activity of TEKAM an excerpt of plant on the growth in vitro of *Candida albicans*

In order to bring our contribution to struggle against the opportunist mycosis in strong upsurge at the patients of the AIDS, our team tested different plant excerpts (aqueous, ethanolic, butanolic, hexanic, and acetalic) of TEKAM, a plant powder got from a combretaceae on the in vitro growth of

Candida albicans. *Candida albicans* is sensitive to the different excerpts of TEKAM. Among the eight tested excerpts, X_{1,2} possesses the strongest inhibitory activity (CMF =45 µg /mL). The method of preparation of the excerpt (X_{1,2}) by partition of the excerpt ethanolic in a succession of several solvents is a good way to arrive to a better concentration of the active principles.

Keywords : *Combretaceae, plant excerpt, anticandidosic activity, opportunist mushrooms, Tekam, Candida albicans.*

I - INTRODUCTION

La lutte que nous menons contre les infections se fonde sur le fait que ces vingt dernières années ont vu une nette recrudescence des pathologies infectieuses, aggravées depuis 1980 par l'avènement des récives et des maladies nouvelles dont les infections à VIH et leur concert d'infections opportunistes [1-22]. Parmi ces infections opportunistes, on compte aussi bien des viroses, des bactérioses que des mycoses. Au niveau des mycoses, les candidoses, les cryptococcoses et les aspergilloses constituent le trio de tête. Elles sont devenues de nos jours, un réel problème de santé public.

Par ailleurs les populations africaines, du fait des contextes économiques difficiles, n'ont pas tous accès aux produits pharmaceutiques importés. De ce fait elles ont de plus en plus recours aux plantes médicinales locales pour se soigner.

Pour aider les populations démunies à tirer un réel avantage de l'usage de ces plantes médicinales, de leur pharmacopée, notre équipe de recherche a entrepris, depuis plus d'une dizaine d'années, d'évaluer sur le plan scientifique, l'efficacité des plantes à vertus thérapeutiques et d'en isoler les principes actifs. Pour y parvenir, nous avons mené des enquêtes ethnobotaniques qui ont abouti à la sélection de plusieurs plantes auxquelles on prête des vertus anti infectieuses et qui sont très utilisées par les tradithérapeutes. Plusieurs travaux ont déjà été initiés en vue d'évaluer le pouvoir antimicrobien de certaines de ces plantes [17,23,24].

La présente étude vise à faire le point des résultats concernant les tests d'évaluation de l'activité anticandidosique de TEKAM, un extrait d'une combrétacée de la pharmacopée ivoirienne.

II - MATÉRIEL ET MÉTHODES

II-1. Préparation des extraits totaux

L'écorce de TEKAM a été récoltée, découpée et séchée à l'abri du soleil. Après leur séchage, les éléments végétaux ont été finement broyés dans un broyeur électrique. La poudre obtenue a été nommée TEKAM.

Pour obtenir les extraits totaux aqueux et éthanoliques, la poudre de TEKAM a été extraite comme suit :

Cent grammes de poudre de *TEKAM* ont été extraits dans un litre de solvants (eau distillée ou éthanol 70 %) par broyage dans un blender (mixer). L'homogénat obtenu est d'abord essoré dans un carré de tissu, puis filtré successivement deux fois sur du coton hydrophile et sur du papier filtre Wattman. Le filtrat obtenu est concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif de type Bücher à la température de 60°C.

L'extrait éthanolique est évaporé à sec, par contre l'extrait aqueux est seulement concentré pour avoir une pâte qui est lyophilisée. L'extrait éthanolique est appelé $TEKAM_0$ ou X_0 et l'extrait aqueux $TEKAM_{aq}$ ou X_{aq} .

Trois portions de 10 grammes de X_0 sont constituées et soumises séparément à partition dans 100 mL de trois différents mélanges de solvants (hexane-eau; acétate d'éthyle-eau ; Butanol-eau 50/50 ; v/v). Après décantation, les différentes phases ont été séparées et concentrées à l'aide d'un évaporateur rotatif. On obtient respectivement les extraits suivants :

$X_{1,1}$: la phase hexanique.

$X_{1,2}$: la phase aqueuse issue de la partition hexane-eau.

$X_{2,1}$: la phase acétatique.

$X_{2,2}$: la phase aqueuse issue de la partition acétate d'éthyle-eau.

$X_{3,1}$: la phase butanolique.

$X_{3,2}$: la phase aqueuse issue de la partition butanol-eau.

Tous les huit extraits ont été testés séparément sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*.

II-2. Champignons testés

La souche de champignon à savoir : *Candida albicans*, sur laquelle nous avons fait les tests microbiologiques, a été fournie par le laboratoire de mycologie de l'UFR des Sciences Médicales de Université de Cocody (Abidjan, Côte d'Ivoire). Ces germes ont été isolés des patients en provenance du service des maladies infectieuses du CHU de Treichville.

Candida albicans, est un champignon opportuniste qui est à l'origine de

diverses mycoses cutanées, muqueuses, phanériennes, septicémiques ou viscérales. Ses infections généralisées chez des sujets sévèrement immunodéprimés conduisent souvent à des décès [17,24,25].

II-3. Préparation des milieux de culture

Les cultures de *Candida albicans* ont été faites sur milieu Sabouraud (BIOMERIEUX/ Réf : 51078 : 777666501). L'incorporation des différents extraits végétaux à la gélose Sabouraud a été faite selon la méthode de la double dilution, en tubes penchés [17,26]. Tous les extraits ont été testés séparément. Chaque série comporte pour chaque extrait végétal 9 tubes tests contenant les extraits végétaux et 2 tubes témoins dont un est sans extrait végétal, servant de contrôle de croissance des germes, l'autre sans germes et sans extrait servant de contrôle de la stérilité du milieu de culture. Pour les 9 tubes tests, les concentrations varient de 1560 à 5 µg/mL selon une liaison géométrique de raison ½.

Après l'incorporation des extraits, tous les 11 tubes de chaque série sont stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes et ensuite inclinés avec petit culot à la température de la salle afin de permettre leur refroidissement et la solidification de la gélose [17,24,26].

II-4. Essai antimicrobien

L'inoculum est préparé à partir des cultures jeunes de *Candida albicans* (âgés de 48 heures d'incubation). La suspension mère (dite 10^0) concentrée à 10^6 cellules/mL est d'abord préparée, par homogénéisation d'une colonie de *Candida albicans* dans 10 mL d'eau distillée stérilisée. A partir de la suspension 10^0 , une seconde suspension (10^{-1}) est préparée par dilution au $1/10^{\text{ème}}$ de la première. Cette dernière est concentrée à 10^5 cellules/mL.

Pour chacun des tubes à essai de chaque série des huit extraits de plante, la culture des germes a été faite sur des milieux précédemment préparés par l'ensemencement en stries transversales (jusqu'à épuisement) de 10 µL de la suspension 10^{-1} . Cela correspond à 1000 cellules ensemencées.

Les cultures ainsi réalisées ont été incubées à 30°C. Après 48 heures et 72 heures d'incubation à 30°C, les colonies de *Candida albicans* ont été dénombrées par comptage direct grâce à un stylo compteur de colonies (N° de série 23382 de marque Scinceware de Bel-Art). La croissance dans les 9 tubes expérimentaux de chaque série a été évaluée en pourcentage de survivance, par rapport à 100 % de survivance dans le tube témoin de contrôle de croissance [4,6,7,27].

Le traitement des données expérimentales a permis de déterminer les paramètres antifongiques suivants :

Concentration minimale fongicide (CMF). C'est la concentration d'extrait dans le tube qui donne 99,99 % d'inhibition comparativement au tube témoin de contrôle de croissance. Inversement, c'est la concentration d'extrait du tube qui laisse une survivance de 0,01 % par rapport au témoin de contrôle de croissance.

Concentration pour cinquante pour cent d'inhibition (CI₅₀). C'est la concentration qui donne 50 % d'inhibition, estimée par rapport au nombre de colonies dénombrées dans le tube témoin de contrôle de croissance. C'est un paramètre déterminé graphiquement.

III - RÉSULTATS

Après 48 heures d'incubation à 30°C, on observe comparativement au témoin, une baisse progressive du nombre de colonies de *Candida albicans* au fur et à mesure que les concentrations des extraits végétaux augmentent dans les tubes expérimentaux. Cela est observé pour toutes les séries des huit extraits.

Des inhibitions nettes et effectives ont été obtenues à différentes concentrations selon les extraits. Les valeurs des CMF (concentration minimale fongicide) pour les huit extraits sont consignées dans le **Tableau 1**. Les données expérimentales traduites sous forme de courbes de sensibilité sont résumées à la **Figure 1**.

Tableau 1 : Valeurs des paramètres antifongiques des différents extraits de TEKAM à 30°C et à 48 H d'incubation des cultures de *Candida albicans*

Différents extraits de TEKAM	Paramètres antifongiques	
	CI ₅₀ µg/mL	CMF µg/mL
X _{aq}	550	780
X ₀	150	195
X _{1,1}	70	395
X _{1,2}	10	45
X _{2,1}	60	195
X _{2,2}	20	95
X _{3,1}	580	1560
X _{3,2}	50	195

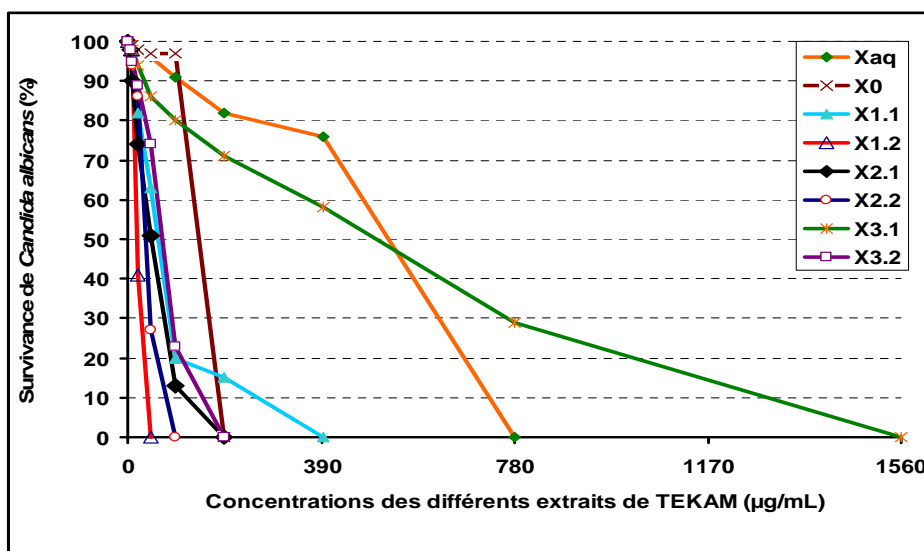


Figure 1 : Sensibilité de *Candida albicans* aux différents extraits de TEKAM.

De façon générale, toutes les courbes des huit extraits ont une allure décroissante, avec des pentes plus ou moins fortes. Les extraits X_{1,2}, X_{2,2}, X_{2,1} et X_{3,2} ont des courbes ayant les pentes relativement fortes, singulièrement celle de X_{1,2} tandis que X₀ et X_{1,1} ont des courbes à pentes moyennes. Les pentes les plus faibles sont observées avec celle de Xaq et particulièrement l'extrait X_{3,1}. Les valeurs des CI₅₀ (concentration pour 50 % d'inhibition) des différents extraits sur les courbes de sensibilité, ont été consignées dans le **Tableau 1**.

IV - DISCUSSION

Afin de vérifier les vertus anti-infectieuses accordées à TEKAM, nous avons de prime abord préparé l'extrait aqueux étant donné que l'eau est le solvant le plus utilisé pour la préparation des recettes traditionnelles.

Dans la seconde partie de notre étude, vu les bonnes performances obtenues avec l'extrait aqueux, nous avons voulu savoir si nous pouvions améliorer l'activité des extraits en utilisant d'autres solvants pour l'extraction. Au regard des travaux de Zirihi et Kra [24], nous avons choisi le mélange éthanol eau 70/30(v/v) comme solvant d'extraction. C'est à partir de ce solvant que nous avons préparé l'extrait éthanolique codifié X₀.

L'analyse des résultats des tests antifongiques avec les extraits de TEKAM montrent que *Candida albicans* est sensible à tous les 8 extraits testés (CMF

Xaq = 780 $\mu\text{g/mL}$, CMF X₀ = 195 $\mu\text{g/mL}$, CMF X_{1,1} = 395 $\mu\text{g/mL}$, CMF X_{1,2} = 45 $\mu\text{g/mL}$, CMF X_{2,1} = 195 $\mu\text{g/mL}$, CMF X_{2,2} = 95 $\mu\text{g/mL}$, CMF X_{3,1} = 1560 $\mu\text{g/mL}$ et CMF X_{3,2} = 195 $\mu\text{g/mL}$). Aucun cas de résistance n'a été noté. Toutefois les performances des extraits varient selon les solvants. Les valeurs des concentrations inhibitrices obtenues révèlent que les extraits ont des activités antifongiques plus ou moins accentuées.

Pour ces extraits, nos résultats montrent qu'il y a une diminution progressive du nombre de colonies en fonction de l'augmentation de la concentration des différents extraits dans les tubes. Nous en déduisons que *Candida albicans* est sensible aux différents extraits de TEKAM selon une relation dose-reponse. La **Figure 1** récapitule toutes les courbes de sensibilité des 8 extraits testés sur *C. albicans*. Elle permet une comparaison des performances de ces 8 extraits. Notons que plus la pente d'une courbe est forte c'est-à-dire plus la pente se rapproche de l'axe des ordonnées, plus l'extrait considéré est actif.

Sur cette figure, on constate que de façon générale, toutes les 8 courbes ont une allure décroissante avec des pentes plus ou moins fortes. Sur la base des valeurs relatives de ces pentes, ces courbes peuvent être regroupées en 3 catégories :

- Les courbes dont les pentes sont très faibles et qui illustrent l'activité des extraits de X_{3,1} et Xaq.
- Les courbes ayant des pentes à valeur moyenne X₀ et X_{1,1}.
- Les courbes ayant des pentes fortes correspondant aux activités de X_{1,2}, X_{2,1}, X_{2,2}, et X_{3,2}. Parmi elles, celle de X_{1,2} possède la plus forte pente (**Figure 1** et **Tableau 1**).

Nos résultats révèlent que la valeur de la CMF de Xaq est 780 $\mu\text{g/mL}$ et celle de X₀ est 195 $\mu\text{g/mL}$ (**Tableau 1**). Cela justifie donc l'utilisation de la plante en milieu traditionnel comme antimicrobien. La comparaison des activités de l'extrait aqueux et de l'extrait éthanolique sur la base des CMF, montre que X₀ (CMF = 195 $\mu\text{g/mL}$) est 4 fois plus actif que Xaq.

La comparaison des performances de cet extrait avec l'extrait aqueux de MISCA ayant une valeur de CMF = 150000 $\mu\text{g/mL}$ sur cette même souche [17,25,27,28] montre que TEKAM est nettement plus actif (192 fois).

De plus, la comparaison de nos résultats avec ceux de *Zihiri et Kra* [24] révèle que les extraits aqueux et éthanolique de TEKAM sont nettement plus actifs que les extraits de PYMI (PYMI₀, CMF = 50000 $\mu\text{g/mL}$; PYMI₁, CMF = 25000 $\mu\text{g/mL}$). En fait, Xaq et X₀ sont respectivement 64 et 131 fois plus actifs.

Pour la suite des travaux, nous avons voulu améliorer les performances de X₀ en faisant des partitions avec plusieurs solvants tels que décrit dans la partie 'méthode'. Ces partitions nous ont donné six extraits codifiés X_{1,1}, X_{1,2},

$X_{2,1}$, $X_{2,2}$, $X_{3,1}$, $X_{3,2}$. L'analyse des résultats obtenus avec les six extraits issus des trois partitions montre que parmi ces extraits, $X_{1,2}$ (CMF = 45 μ g/mL et CI₅₀ = 10 μ g/mL) est le plus actif.

En effet, la comparaison avec les extraits issus des différentes partitions montre que $X_{1,2}$ est 2 fois plus actif que $X_{2,2}$; 4,75 fois plus actif que $X_{2,1}$ et $X_{3,2}$. Il est aussi 9,75 fois plus actif que $X_{1,1}$ et enfin 39 fois plus actif que $X_{3,1}$. Par rapport aux extraits totaux aqueux et éthanoliques, la comparaison sur la base de la CMF montre que $X_{1,2}$ est 4,75 fois plus actif que X_0 l'extrait de base ayant servi à sa préparation. Cette même analyse montre que $X_{1,2}$ est 19,5 fois plus actif que l'extrait total aqueux.

De l'analyse de l'ensemble des résultats, il ressort 4 aspects essentiels :

- La souche *Candida albicans* est sensible à tous ces extraits testés.
- Il a été possible d'avoir des meilleures performances en préparant l'extrait à partir d'un solvant comportant 70 % d'éthanol et 30 % d'eau. Ce qui amène à déduire que du point de vue de leur masse que les principes actifs pourraient ne pas être des macromolécules. Ce sont certainement des molécules de tailles moyennes ou petites, solubles dans un solvant organique (en l'occurrence l'éthanol) pouvant être classées comme des huiles ou assimilées comme telles.
- Il a été possible d'améliorer la performance de l'extrait éthanolique en procédant à sa partition dans divers solvants. Ce qui a permis d'aboutir à $X_{1,2}$ qui, à ce niveau de notre étude est l'extrait possédant la meilleure activité anticandidosique ; donc le meilleur potentiel antifongique. Ce qui nous amène à déduire que la méthode de partition initiée par Zirihi et Kra [24] est une bonne voie permettant de mieux sélectionner les principes actifs.
- La bonne performance de $X_{1,2}$ permet de dégager que la combinaison de solvant hexane-eau (v/v) est celle qui convient pour une meilleure concentration du principe actif.

V - CONCLUSION

Cette étude nous situe sur le réel potentiel anti infectieux de TEKAM. Les résultats de ces investigations nous ont permis de comprendre que la souche *Candida albicans* est sensible à tous les huit extraits testés et que cette sensibilité est dose-dépendante. Cette étude nous a permis de montrer que les extraits testés ont une activité antifongique plus ou moins accentuée sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*.

La préparation des extraits par la méthode de Zirihi et Kra [24], a permis d'obtenir par partitions plusieurs extraits ($X_{1,1}$, $X_{1,2}$, $X_{2,1}$, $X_{2,2}$, $X_{3,1}$, $X_{3,2}$) parmi lesquelles, $X_{1,2}$ et $X_{2,2}$ sont nettement plus actives ; singulièrement $X_{1,2}$ la phase aqueuse issue de la partition hexane-eau (CMF = 45 μ g/mL, CI₅₀ =

10 μ g/mL) possède un pouvoir anticandidosique relativement très élevé. A l'opposé, l'extrait X_{3,1}, issu de la phase butanolique (CMF = 1560 μ g/mL, CI₅₀ = 580 μ g/mL) donne la plus faible activité antifongique.

On peut donc retenir que parmi les solvants utilisés, l'extraction à partir d'un mélange d'éthanol et d'eau 70/30 v/v suivi d'une partition dans la combinaison de solvant hexane-eau (v/v) est celle qui permet de mieux concentrer les principes actifs antifongiques présents dans TEKAM. On peut aussi retenir que l'utilisation en milieu traditionnel de cette plante comme antimicrobiens est justifiée.

RÉFÉRENCES

- [1] - J. CALLOT ET J. HELLUY "Parasitologies médicales", Ed Med. Flam., 4 (1970) 557-600.
- [2] - S. KERNBAUM "Eléments de Pathologie infectieuse spécia" Ed. Med. (1980) 1-185
- [3] - O. ANN "Maladies parasitaires et fongiques". Ed. C et R, (1982) 246-285
- [4] - P. LECLERC, C. ARTIGOU, S. GAGNEBIEN, O. DE FENOYL, J. ROCHEMAURE "Aspergillose Broncho-pulmonaires", *Revue générale poumon-cœur*, Masson Paris, 5 (1982) 25-33
- [5] - E. CHOUVALOVA "Les maladies tropicales", Ed. Mir. Moscou. 3 (1984) 194
- [6] - B. DUPONT "Mycoses et SIDA, Résumé des rapports, communications affichées" Institut Pasteur-Paris, 16 (1987) 4-9
- [7] - S. CROMBERG, J. BEYLOUT, M. RAY, "Maladies infectieuses". Ed. Mason, (1988) 232-625.
- [8] - P. BOUCHET, P. REGIS., J. L. CRUGNARD, G. MADULO-LLEBOND, "Mycologie générale et médicale", Ed. Masson-Paris, (1989) 325-378
- [9] - B. T. FAURE, J. X. BIONDI, J. P. FLANAGAN, R. CLARKE, "Aspergillar osteomyelites of acetabulum. A case report and review of literature", *Orthopaedic review*. 19(1) (1990) 58-64
- [10] - THERIZOL-FERLY "Cours de mycologie médicale pour le CES de parasitologie". Fac. Med. Univ. Cocody Abidjan (1990) 169 pp.
- [11] - S. P. EHOLIE, "Etude des infections opportunistes au cours du SIDA, à propos de 262 cas diagnostiqués", Thèse. Dipl. d'Etat. Med. Abj. N°1517, (1993) page 81.
- [12] - M. GENTILINI, E. CAUMES, M. DANIS, J. MOUCHET, B. DUFLO, B. LAGARDIERE, R. L. DOMINIQUE, G. BRUCKER, "Médecine tropicale". Ed. Flam. Med. Sciences, 5 (1993) 955p

- [13] - D. CHABASSE, "Les nouveaux champignons opportunistes apparus en médecine". Revue générale. *J. Mycol. Med.*, 4 (1994)9-28.
- [14] - E. A. MONNAN, "Les aspergilloses respiratoires en Côte d'Ivoire. Aspects épidémiologiques, diagnostiques, thérapeutiques et évolutifs à propos de 89 cas colligés au CHU de Treichville de 1973 à 1994". Thèse. Fac de Méd. Abj. Université de Cocody, (1995) 137 pp.
- [15] - B. F. DUPONT, F. DROMER, L. IMPROVISI, "The probleme of azole resistance in *Candida*". *J. Mycol. Med.* 6 suppl. 2 (1996) 12-19.
- [16] - S. COULIBALY, et F.GUEDE-GUINA, "Etude de la tolérance cardiovasculaire de MISCA-F2 un anticryptococcique de source végétale". *JBNA-1*, Abidjan, 30nov-04 déc. (1998).
- [17] - A. K. M. KRA, "Evaluation et amélioration par séquençage chromatographique d'une action antifongique de MISCA contre *Aspergillus fumigatus*". Thèse. Pharma, Bioch. Univ. Abidjan, (2001) 126 pp.
- [18] - M. DEVELOUX et S. BRETAGNE, Candidoses et levuroses diverses. *Encycl. Med. Chir., Maladies infectieuses*, 8 (2005) 62-110
- [19] - A. KETANI, Z. H. BELKHADIR, A. MOSADIK, M. FAROUDY, A. ABABOU, C. LAZREQ, Traitement antifongique des candidoses systémiques en réanimation. *J. Mycol. Med.* 16 (2006) 16-25.
- [20] - D. CHARLES, P. LOULERQUE, J.P. VIARD, F. DRAUER, O. LORTHOLARY, Infections fongiques au cours de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine. *Encycl. Méd. Chir., Maladies infectieuses*, 8 (2007) 2-10.
- [21] - S. J. VOURIOT, M. BERLE, E. PAILLAUD, « Candidoses orales chez les personnes âgées hospitalisées : fréquence, facteurs de risque et prévention ». *Encycl. Med. Hygiènes* 15 (2007) 385-390.
- [22] - P. M. THES, « Contribution à l'élaboration d'un savon antimicrobien à des fins cosmétiques et médicales ». Thèse N°548/2008 de Doctorat d'Université. UFR Biosciences. Université de Cocody Abidjan Côte d'Ivoire(2008) 200pp.
- [23] - F. GUÉDÉ-GUINA, A. K. M. KRA, M. VANGAH-MANDA et G. M. BONGA, "Inhibition par MISCA-F₂ de la croissance de *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* et *Cryptococcus neoformans* trois germes opportunistes du SIDA". *J. Afrique Biomed.*, 2 (1) (1997) 11-16.
- [24] - G. N. ZIRIHI, A. M. KRA et F. GUEDE-GUINA, "Evaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* (LAMARCK) O. KUNZE (ASTERACEAE) << PYMI >> sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*". *Revue de Med. et Pharm. Afr.* 17 (2003) 11-18

- [25] - P. M. THES, "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, Cote d'Ivoire (2001) 34p
- [26] - R. HOLT, "Laboratory test of antifungal drug". *J. Clin. Path.* 18 (1975) 767-774.
- [27] - J. A. ACKAH,"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, (2004) 34
- [28] - M. VANGAH-MANDA, A. M. KRA, G. M. BONGA et F. GUEDE-GUINA, "Amélioration de l'action antifongique de MISCA, un extrait végétal contre *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans*, trois germes opportunistes du SIDA", *J.B.NA.* 2(1) (1996) 11-16