

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

République Du Mali
Un Peuple – Un But – Une Foi

Université des Sciences Techniques et des
Technologies de Bamako (U.S.T.T.B)



FACULTÉ DE PHARMACIE

Année Universitaire 2011 – 2012

N...../P

TITRE

**Essais sur un Médicament Traditionnel
Amélioré à base des calices de
Hibiscus sabdariffa
utilisé contre l'hypertension artérielle :
formulation et dénomination commerciale**

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le 04 / 02 / 2013
Devant la Faculté de Pharmacie

Par :

M. Seydou TANGARA

**Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie
(Diplôme D'état)**

JURY

Président : Pr Abdel Kader TRAORE

Membres : Pr Benoît Yaranga KOUMARE

Dr Yaya KANE

Directeur : Pr Rokia SANOGO

DEDICACES

Je rends grâce à Dieu le tout puissant et au prophète Mohamed (paix et salut sur lui) de nous avoir offert la chance de combler nos espoirs.

A ma mère Mme TANGARA Aoua DEMBELE

Une femme dont la vaillance n'a jamais fait défaut, tes conseils, tes bénédictions, tes observations et tes critiques nous ont permis d'incarner le personnage que l'on est aujourd'hui : respectueux, travailleur et honnête.

Tes qualités de mère ont été d'un apport considérable dans la réussite de ce travail, je ne cesserai jamais de te remercier. Je t'aime profondément maman.

Puisse Allah te donner longue vie.

A mon père Sekou TANGARA

Un homme intègre, tolérant et compréhensible, tu nous as toujours exhorté au travail, en nous apprenant que « le travail et seul le travail bien fait assure l'indépendance ».

Ta modestie, ta patience et ton concept de la vie m'ont servi de repères dans les moments difficiles et m'ont conduit à cette réussite. Les valeurs que tu incarnes font de toi un homme exceptionnel et un modèle pour ma personne. Mon admiration pour toi est sans limite.

Puisse Allah te donner longue vie.

A mon oncle et meilleur ami de mon papa Mamadou DIAKITE

A un moment où j'étais peu confiant, déboussolé et dépourvu d'énergies physiques et morales, vous avez su donner espoir là où tout semblait finir.

A travers votre bon sens et vos conseils, vous m'aviez orienté dans la bonne direction. Si je suis pharmacien aujourd'hui, c'est grâce à vous en partie. Je vous témoigne ma profonde gratitude pour toute l'attention et la générosité dont vous avez fait preuve à mon égard.

Puisse Allah vous donner longue vie.

A mon mentor Dr DAGNOKO Cheick

Un homme modeste, réaliste, travailleur et un pharmacien exemplaire, vous avez été toujours disponible et prêté votre oreille attentive lorsqu'on vous a sollicité. Vos conseils m'ont beaucoup été précieux en tant que étudiant et en tant professionnel de santé.

Votre rigueur et votre persévérance sont des qualités que j'ai beaucoup aimées chez vous et me servent de modèle de pharmacien. Je vous remercie infiniment.

Puisse Dieu pérenniser notre relation.

A mes sœurs et frères : Fanta, Aïssata, Djenebou, Youssouf et Dickoni

Votre soutien et votre assistance dont j'ai bénéficié le long de mes études ont été déterminants. Merci à tous de m'avoir encouragé.

Puisse Dieu préserver l'unité et la force de notre famille.

A mes tantes, oncles, cousines et cousins

Vos encouragements et vos bénédictions ont été d'un apport capital dans la réussite de mon cursus universitaire, mes sincères remerciements.

A ma tante Mariam et mon meilleur ami d'enfance Youssouf DOUMBIA

Vous m'avez accueilli à bras ouvert, m'hébergé et nourri à une époque importante de ma vie, j'oublierai jamais et merci infiniment.

A mon amie Mme KONE Adiarra KANTE et son mari Dr KONE Boubacar

Vous êtes des personnes généreuses et merveilleuses, vous n'avez pas cessé de m'encourager et d'apporter votre soutien inconditionnel dans les moments difficiles. Merci à vous

A mon Ami et Chef Dr OUANE Mamadou

Un homme généreux, compréhensible, ouvert et disponible, vous m'avez fait confiance à me remettant de grandes responsabilités au moment où je ne m'attendais pas.

J'oublierai jamais ces moments exceptionnels dans ma vie de pharmacien, où j'ai appris à être un bon leader, à avoir de l'assurance et à me forger une grande personnalité. Merci à vous

Puisse Dieu pérenniser notre amitié.

A mes amis : Mohamed CISSE, Ahamadoun DICKO, Moussa BABY, Yaya TOGOLA, Tidiane DIABY, Facinet COULIBALY, Abdoulaye DIABY et tous les autres.

Vous avez tous à un moment donné, influencé positivement ma vie, soutenu et partagé mes bonheur dans les moments joviaux et mes tristesses dans les moments mélancoliques. Les mots me manquent pour vous remercier.

Puisse Allah nous permettre de tisser éternellement cette toile d'amitié

A mon Frangin Mahamadou TANGARA et sa femme Fatoumata BOUARE

Tu es un ami et un frère, je te remercie sincèrement pour tes nombreux conseils et aussi pour les améliorations apportées à ce document.

Puisse Allah pérenniser cette fraternité et cette amitié.

REMERCIEMENTS

J'exprime mon profond respect et ma reconnaissance au **Pr Abdel Kader TRAORE** qui a accepté de présider le jury de ce travail, et qui a beaucoup contribué à l'amélioration de la qualité de ce document.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude au **Pr Benoît Yaranga KOUMARE** pour m'avoir accepté dans son service et à son équipe pour avoir encadré mon travail sur le contrôle de qualité microbiologique des plantes, et pour m'avoir fait partager leur expérience sur le contrôle de qualité microbiologique des aliments, et aussi de leur soutien et encouragement.

J'adresse mes sincères remerciements au **Dr Yaya KANE** pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de siéger dans ce jury et pour tous les conseils qu'il a prodigué dans le but d'enrichir cet œuvre.

Je remercie chaleureusement **Pr Rokia SANOGO** pour avoir accepté de diriger cette thèse et la confiance qu'elle m'a témoignée au cours de cette période de thèse. Je tiens également à lui exprimer ma plus vive reconnaissance pour son suivi permanent, ses conseils judicieux, ses grandes qualités humaines et le soutien qu'elle m'a constamment apporté en me faisant profiter de ses compétences et de son enthousiasme.

Mes remerciements vont spécialement à **M. Amadou DIAWARA** pour son aide lors de la confection des infusettes et à la Société Douteni pour son soutien.

Un grand merci à tout l'équipe de la section phytochimie et galénique du département de médecine traditionnelle (DMT) pour leur accueil chaleureux durant cette période, qui a su créer une ambiance très sympathique d'entraide.

Merci aussi à tous mes collègues thésards et amis du laboratoire, pour leur convivialité et pour le bon accueil qu'ils m'ont réservé. J'en garde un très agréable souvenir : **Fatoumata Kaou SISSOKO, Soumaïla YOSSI et Maciré DOUCOURE.**

MES REMERCIEMENTS EGALEMENT**Au personnel du Département de Médecine Traditionnelle (DMT)**

En particulier **Mme MAÏGA Tapa FANE, Mr Fagnan SANOGO, Mr Adama Camara, Mr Yacouba OUALAGUEM, Tonton Kassim.**

Avec vos qualités et votre savoir faire dans vos domaines respectives, mous m'avez beaucoup aidé dans la réalisation de ce travail. Je n'ai pas de mots pour vous remercier.

Qu'ALLAH vous récompense.

Au personnel du Laboratoire National de la santé (LNS)

Notamment **Fatoumata SOW dite Tata, Mme DEMBELE Mariam TRAORE, Ibrim TRAORE, Aboubacar FOFANA** sans oublié mon ami **Lassana DRAME.**

Vous m'avez tous bien accueilli à bras ouvert ; malgré vos obligations professionnelles, vous n'avez ménagé aucun effort pour m'apporter votre soutien sans faille dans les moments où le besoin se faisait sentir. Je vous témoigne ma haute reconnaissance et merci.

Au personnel de la pharmacie d'officine Dian SIDIBE chez Dr DAGNOKO Cheick

Merci pour la formation, la collaboration, les conseils et le soutien.

Au personnel de la pharmacie d'officine Madina BA chez Dr OUANE Mamadou

Merci pour la collaboration, le perfectionnement, la responsabilisation et le soutien.

Aux assistants : Dr Adama DJENOU, Dr Mahamne HAÏDARA

Merci pour votre sympathie, votre disponibilité et surtout vos conseils.

A nos aînées du DMT : Dr Aboubacar NIARE, Dr Sidiki COULIBALY, Dr Birama Diarra, Dr Sékou DOUMBIA, Dr Mamady MOUGARE, Dr Daouda DEMBELE

Merci pour vos conseils

A toute la promotion « Pr Massa SANOGO »

Merci pour vos soutiens et pour ces moments agréables et inoubliables passés ensemble. Bonne carrière professionnelle à tous. Amicalement

A toutes et à tous ceux qui de loin ou de près ont contribué à la réussite de ce travail et de la personne que je suis aujourd'hui, merci.

MENTION SPECIAL**A la nation toute entière**

L'opportunité d'être instruit et formé pour devenir un cadre supérieur de ce pays. Puisse Allah me donner la force nécessaire pour rendre la monnaie d'échange par la prestation de services de qualité et pour le bien être du peuple malien et le développement de ce pays.

Aux Maîtres et Professeurs de la faculté de pharmacie et de la faculté de médecine et de l'Odontostomatologie

La réussite de ce travail est le résultat de votre enseignement de qualité reçu pendant tous ces années, ainsi que de votre rigueur et de votre persévérance.

Retrouvez ici l'expression de ma profonde gratitude.

A l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS)

Je remercie l'OMS pour son appui à la valorisation de la médecine traditionnelle et particulièrement pour le financement du projet de mise au point d'un médicament traditionnel amélioré (MTA) contre l'hypertension artérielle.

A l'Organisation Ouest Africaine de la Santé (OOAS)

Je remercie l'OOAS pour l'appui technique et financier sur les études de toxicités des calices de *Hibiscus sabdariffa* et leur collaboration avec le DMT pour la valorisation des plantes médicinales.

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY**A notre maître et président de jury : Pr Abdel Kader TRAORE**

**Maître de conférences agrégée en médecine interne,
Chargé des cours de sémiologie et de pathologie médicale à la faculté de pharmacie,
Chef adjoint du département de médecine interne au centre hospitalier universitaire de
point G (CHU-Point G).**

Honorable maître, vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples occupations.

Recevez ici cher maître le témoignage de notre haute reconnaissance, et permettez nous de vous remercier pour la qualité de votre enseignement reçu.

A notre maître et juge : Pr Benoît Yaranga KOUMARE

**Maitre de conférences en chimie analytique,
Chargé des cours de chimie analytique et de chimie générale à la faculté de pharmacie,
Directeur général du laboratoire national de la santé (LNS).**

Honorable maître, nous sommes heureux de l'honneur que vous nous faites en acceptant de siéger dans ce jury.

Vous nous avez reçu dans votre service malgré nos nombreuses lacunes. De ce fait, vous avez rendu possible la réalisation d'une partie de ce travail.

Trouvez ici cher maitre, l'expression de notre profonde gratitude.

A notre maître et juge : Dr Yaya KANE

**Maitre assistant en pharmacie galénique,
Chargé des cours de pharmacie galénique à la faculté de pharmacie,
Pharmacien titulaire à l'officine Sokona DAMBA S.A.R.L.**

Honorable maître, nous sommes très touchés par l'intérêt que vous avez porté à ce travail et aussi par la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de le juger.

Cher maître, nous vous exprimons nos sincères remerciements.

A notre maître et directeur de thèse : Pr Rokia SANOGO

**Maître de conférences agrégée en pharmacognosie,
Enseignante chercheure à la faculté de pharmacie,
Maître de recherche au département de médecine traditionnelle (DMT) de l'institut national de recherche en santé publique (INRSP).**

Honorable maître, vous m'avez fait un privilège et un grand honneur en me confiant ce travail. Par ailleurs, vos conseils et votre disponibilité ont beaucoup contribué à la bonne réalisation de ce travail.

Recevez ici cher maitre, l'expression de ma reconnaissance infinie et de mon profond respect.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS.....	4
Liste des abréviations et formules chimiques	10
Introduction	12
Motivations	14
Objectifs	15
1. Généralités	16
1.1. Rappels sur l'hypertension artérielle	16
1.2. Critères de choix thérapeutique	29
1.3. Optimisation thérapeutique.....	44
1.4. Traitement traditionnel de l'hypertension artérielle	56
1.5. Caractères généraux de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	61
2. Méthodologie	68
2.1. Cadre d'étude.....	68
2.2. Matériel végétal	69
2.3. Contrôle de qualité.....	70
2.4. Etudes phytochimiques	87
2.5. Formulations galéniques.....	97
2.6. Contrôle de qualité sur le produit fini.....	98
3. Résultats	99
3.1. Résultats du contrôle de la qualité des poudres de calices de <i>H. sabdariffa</i>	99
3.2. Résultats des études phytochimiques	101
3.3. Nouveau médicament traditionnel amélioré antihypertenseur	110
3.4. Résultats du contrôle de qualité sur le produit fini	112
4. Commentaires et discussions	114
5. Conclusion et recommandations	118
5.1. Conclusion	118
5.2. Recommandations	118
Références bibliographiques	119
Annexes	125
Composition des réactifs	125
Composition des milieux de cultures.....	126
Critères d'acceptation sur la base du DGAT et du DLMT	129
FICHE SIGNALETIQUE.....	130

LISTE DES ABREVIATIONS ET FORMULES CHIMIQUES

Acoét : acétate d'éthyle

ad : adulte

AF : acide formique

AINS : anti-inflammatoires non stéroïdiens

amp : ampoule

ARA II : antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II

ATU : autorisation temporaire d'utilisation

AVC : accident vasculaire cérébral

BAV: bloc auriculo-ventriculaire

BAW : Butanol – Acide acétique – Water

BGN : bacille gram négatif

BMKTTn : bouillon Muller-Kauffmann au tétrathionate de novobiocine

BRVS : bouillon Rappaport-Vassiliadis avec Soja

buv : buvable

CAT : conduite à tenir

CCM : chromatographie sur couche mince

CHCl₃ : chloroforme

CI : contre-indication

Clcr : clairance de la créatine

CMO : cardiomyopathie obstructive

cp: comprimé

D : débit cardiaque

déliv : délivrance

D_{L50} : dose létale 50

DMT : Département de Médecine Traditionnelle

DPPH : 1'1'diphenyl-2 picrylhydrazyle

EI : effet secondaire

EHP : élimination hépatique prédominante

ERP : élimination rénale prédominante

enr : enrobé

EPT : eau peptone tamponnée

EUV: excrétion urinaire volumétrique

FeCl₃ : chlorure ferrique

gél : gélule

h : heure

H₂S : sulfure d'hydrogène

H₂SO₄ : acide sulfurique

HCl : acide chlorhydrique

HCT : hydrochlorothiazide

HTA : hypertension artérielle

Ica: inhibiteur calcique

IDM : infarctus du myocarde

IEC: inhibiteur de l'enzyme de conversion
inj : injectable
INRSP : Institut National de Recherche en Santé Publique
IRC : insuffisance respiratoire chronique
ISH: International Society of Hypertension
IV : intra veineuse
JNC: Joint National Committee
KOH : Hydroxyde de potassium
LNS : Laboratoire National de la Santé
LP : libération prolongée
LRP : La Revue Prescrire
MAPA: mesure ambulatoire de la pression artérielle
MEC : méthyl – éthyl – cétone
min : minute
mmHg: millimètre de mercure
mmol : millimol
MTA : médicament traditionnel amélioré
NH₄OH : ammoniacque
nm : nanomètre
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
PA : pression artérielle
PA : pression artérielle systolique
PAD : pression artérielle diastolique
pdre : poudre
perf : perfusion
pH : coefficient d'acidité ou d'alcalinité d'une solution
Ph Eu: pharmacopée Européenne
Rf: facteur de rétention
RP : résistances périphériques:
SbCl₃ : chlorure d'antimoine
séc: sécable
sol buv: solution buvable
solv : solvant
susp : suspension
TA : tension artérielle
TDA : tryptophane désaminase
TSI : triple sugar iron
ttt: traitement
UFC : unité formant des colonies
UV : ultra violet
VP : Voges-Proskauer
VRBL : lactose bilié au cristal violet et au rouge neutre
XLD : xylose lysine désoxycholate

INTRODUCTION

L'hypertension artérielle (HTA) est un problème majeur de santé publique de part sa fréquence élevée et de ses complications cardiovasculaires.

Dans le monde, déjà en 2000, on estimait à environ 26,4 % la proportion d'hypertendus ; elle devraient être d'ici 2025 de 29,2% (**Kearney et al., 2005**).

Selon les statistiques sanitaires de l'Organisation Mondiale de la Santé, un adulte sur trois dans le monde est atteint d'HTA. Elle serait l'affection responsable de près de la moitié des décès par accident vasculaire cérébral (AVC) et par cardiopathie (**OMS, 2012**).

Cependant dans les pays à revenu élevé, la généralisation du diagnostic et du traitement au moyen de médicaments peu coûteux, a permis de réduire sensiblement la tension artérielle moyenne de la population, ce qui a contribué à réduire la mortalité par les maladies cardiovasculaires.

Toutefois en Afrique, plus de 40 % (et jusqu'à 50 %) des adultes de nombreux pays seraient hypertendus (**OMS, 2012**). La plupart de ces personnes ne sont pas diagnostiquées, alors qu'un grand nombre pourraient être traité au moyen de médicaments peu coûteux, ce qui réduirait sensiblement le risque de décès et d'incapacité dus aux cardiopathies et aux accidents vasculaires cérébraux.

Ces données épidémiologiques constituent une nouvelle preuve de l'augmentation spectaculaire des affections qui déclenchent des cardiopathies et d'autres maladies chroniques, en particulier dans les pays à revenus faibles ou intermédiaires.

Or les statistiques sanitaires mondiales de l'OMS (**2008**) rapportaient que les cardiopathies et les AVC tuaient davantage que les maladies infectieuses. Aussi que les maladies cardiovasculaires étaient la première cause de mortalité dans le monde.

Cependant l'hypertension artérielle serait responsable d'un peu moins de 8 millions de décès par an dans le monde et de près 100 millions de jours d'invalidité (**Lawes et al., 2001**).

Au Mali, la prévalence des facteurs de risques métaboliques sur l'HTA a été estimée à 34,7 % ; soit 34,0 % des hommes et 35,3 % des femmes (**OMS, 2008**).

Par ailleurs, **Koné S (2009)** au terme d'une étude réalisée sur 2477 patients entre 2004 à 2006 dans le service de cardiologie A du centre hospitalier universitaire de point G a estimé la prévalence de l'HTA à 56,51 % durant cette période d'étude.

L'étude VITARAA (Visite de la Tension Artérielle et du Risque Associé en Afrique) a analysé l'aspect épidémiologique de l'HTA dans 10 pays en Afrique. Elle a montré que le facteur majeur de surmortalité était l'accès difficile aux soins, et que le traitement avait un coût prohibitif pour la plupart de ces pays (**Lemogoum, 2010**).

Pour apporter des solutions à ces problèmes, nous nous sommes tournés vers la phytothérapie qui s'inscrit dans un contexte où 80 % de nos populations ont recours à la médecine traditionnelle (**OMS, 2002**).

Au Mali, les tradipraticiens jouent un rôle important dans la couverture sanitaire surtout en milieu rural. Des lors, il serait important de valoriser les ressources de cette médecine traditionnelle, tout en assurant sa complémentarité avec la médecine conventionnelle, par la fabrication des médicaments traditionnels améliorés (MTA), ayant un coût relativement bas et dont l'efficacité et l'innocuité sont établies.

C'est ainsi qu'au Département de Médecine Traditionnelle (DMT), de nombreux travaux ont porté sur des recettes, des plantes et des MTA dans la prise en charge de l'hypertension artérielle dont les plus importants sont :

- Diurotrisan[®] (à base des feuilles de *Vepris heterophylla* et/ou *Teclea sudanica* et d'inflorescences de *Cymbopogon giganteus*) [**Arama, 1988**]
- Les calices de *Hibiscus sabdariffa* (**Arama, 1988 ; Ouassa, 2009**)
- Les écorces de tronc de *Spondias mombin* (**Guindo, 2006**)
- Les feuilles de *Zizyphus mauritiana* (**Sira, 2006**)
- Nitrokoudang[®] (à base des écorces de tronc de *Sclerocarya birrea* et *Vitex doniana*) [**Halimatou, 2007 ; Ouassa, 2009**]
- *Gynandropsis gynandra*, *Portulaca oleracea* (**Haïdara, 2008**)
- Kebufura[®] (à base des feuilles de *Gardenia ternifolia*) (**Haïdara, 2008**)

Par ailleurs *Hibiscus sabdariffa* a fait l'objet de nombreuses études précliniques (**Arama, 1988 ; Ali et al., 2005 ; Ouassa, 2009** etc.) et cliniques (**Hirunpanich et al., 2006 ; Herrera et al., 2004, 2007 ; McKay et al., 2010** etc.)

La présente étude a pour but de mettre au point un phytomédicament à base des calices de *Hibiscus sabdariffa* pour la prise en charge de l'hypertension artérielle.

MOTIVATIONS

L'initiation de cette étude s'explique par :

- la prévalence élevée de l'hypertension artérielle dans notre pays,
- le coût élevé et prolongé de l'hypertension artérielle essentielle, au regard de la modestie des ressources disponibles,
- Le fort recours de nos populations aux plantes médicinales,
- Le renforcement des travaux antérieurs sur *Hibiscus sabdariffa* en vue d'améliorer sa forme d'utilisation pour la prise en charge de l'hypertension artérielle.

OBJECTIFS**Objectif général**

Réaliser la formulation et la dénomination commerciale d'un médicament traditionnel amélioré à base des calices de *Hibiscus sabdariffa* pour la prise en charge de l'hypertension artérielle.

Objectifs spécifiques

- ❖ Contrôler la qualité des poudres de calices de *Hibiscus sabdariffa*.
- ❖ Caractériser les groupes chimiques des poudres de calices de *H. sabdariffa*.
- ❖ Comparer les rendements des différents types d'extraction.
- ❖ Caractériser les constituants chimiques et antiradicalaires des extraits de calices.
- ❖ Proposer une forme galénique stable à base des calices.
- ❖ Donner un nom commercial au nouveau MTA.

1. GENERALITES

1.1. Rappels sur l'hypertension artérielle

1.1.1. Définitions

La pression artérielle (PA) est le paramètre chiffré le plus fréquemment mesuré au cours d'un examen clinique et sa « normalité » est ressentie comme un indicateur de santé.

L'HTA est définie par la pression artérielle (PA) permanemment élevée. Selon le groupe OMS/ISH (*International Society of Hypertension, 1999*), l'HTA est définie comme une pression artérielle systolique (PAS) supérieur à 140 mmHg et/ou une pression artérielle diastolique (PAD) supérieur à 90 mmHg. En réalité, l'HTA est un facteur majeur de morbidité et de mortalité cardiovasculaires (**Sever et al., 2003**).

Dans son sixième rapport, le *Joint National Committee* (1997) propose une nouvelle classification en fonction des chiffres tensionnels (**tableau I**)

Tableau I - Classification de l'HTA en fonction des chiffres tensionnels

PAS (mmHg)		PAD (mmHg)	Tension
< 120	et	< 80	Optimale
< 130	et	< 85	Normale
130-139	et	85-89	Normale « haute »
140-159	ou	90-99	Hypertension stade 1
160-179	ou	100-109	Hypertension stade 2
≥ 180	ou	≥ 110	Hypertension stade 3

Source : Calop J, Limat S, Fernandez S (2011, p. 42)

1.1.2. Mesure de la pression artérielle

❖ Méthode auscultatoire avec manomètre à mercure

La pression artérielle est sujette à des fluctuations. Elle est plus élevée pendant l'état de veille que durant le sommeil (cycle nyctéméral) et s'élève au cours de l'effort, de la fatigue, lors des conditions de sa détermination (**Denolle, 1996**).

Les recommandations de la société française d'HTA sont les suivantes :

- le sujet doit être détendu, en position couchée ou assise, le dos bien calé, depuis au moins 5 min ;
- son bras doit être détendu et positionné, soutenu si nécessaire, à la hauteur du cœur ; il doit être dans un environnement calme et en dehors d'une exposition au froid ;
- sa vessie doit avoir été vidée ;
- il ne doit pas avoir pris de caféine ni avoir fumé dans les 30 min précédant la mesure ;

- le matériel doit être validé (sphygmomanomètre à mercure) selon les procédés parfaitement standardisés ;
- la mesure doit être effectuée en position couchée, puis debout pour rechercher une hypotension orthostatique spontanée ;
- la mesure doit être effectuée aux deux bras pour détecter une éventuelle asymétrie tensionnelle ;
- le nombre recommandé de mesures est de deux par consultation au moins, à refaire au cours des trois consultations effectuées sur trois à six mois. Ceci permet de s'assurer de la « permanence » de l'HTA ;
- à côté des fluctuations de la PA citées précédemment, il existe une élévation des chiffres liée au stress provoqué par l'intervention du médecin. Ce phénomène désigné par le terme d'effet « blouse blanche » appelé par l'OMS hypertension de consultation isolée, met en évidence l'intérêt de l'« automesure » et de la « mesure ambulatoire de la pression artérielle » (MAPA).

❖ **Mesure ambulatoire de la pression artérielle**

Cette approche qui ne doit jamais être réalisée en première intention, elle n'est fiable que lorsqu'un certain nombre de conditions sont réunies (**O'Brien et al., 2003**).

□ **Préalable patient**

Sa parfaite compréhension de la méthode est requise, et son adhésion sont indispensables à l'obtention d'un enregistrement de qualité. Il doit respecter ses conditions habituelles de vie, ses activités quotidiennes et, outre les mesures de base, déclencher une mesure à des moments précis et en présence des symptômes. La tenue du journal d'activités doit être rigoureuse et fidèle à la réalité.

□ **Préalable médecin**

Les explications qu'il doit fournir au malade sont d'une importance capitale. Il lui remettra le journal d'activités en insistant sur son utilité pour l'interprétation des mesures. L'intervalle des mesures programmées par le médecin doit être rigoureusement respecté, soit une mesure toutes les 15 min pendant 24 h ou une mesure toutes les 30 min la nuit. Enfin, une mesure déclenchée par le malade en présence du médecin permettra de s'assurer de la bonne compréhension de la méthode.

□ **Préalable technique**

L'appareil utilisé doit être validé, avec des caractéristiques techniques répondant à la procédure d'homologation. Son étalonnage reste cependant impératif par rapport à la référence, c'est-à-dire la méthode auscultatoire avec manomètre à mercure. L'emploi d'un brassard d'une taille adaptée à la circonférence du bras conditionne la fiabilité des mesures. Ces mesures permettent d'avoir un chronogramme sur 24 h et d'obtenir la PA moyenne, les moyennes de jour et de nuit, ainsi que le nombre de valeurs supérieures à une valeur définie à l'avance. Ces données seront interprétées au vue du journal d'activités et en se référant aux populations publiées dans la littérature. L'appareil utilisé est appelé le Holter.

Les valeurs « normales » de l' « automesure » ou de la (MAPA) sont plus basses que celles de la méthode de référence du cabinet du médecin : 135 - 85 mmHg.

La (MAPA) présente des intérêts diagnostiques, pronostiques et thérapeutiques.

◆ **Intérêts diagnostiques**

La mesure ambulatoire de la pression artérielle (MAPA) permet de s'assurer de la réalité de l'HTA et aide à rechercher d'éventuelles poussées tensionnelles.

◆ **Intérêts pronostiques**

En effet, les malades sujets à « hypertension clinique isolée » pourraient avoir un risque cardiovasculaire plus élevé que les sujets normotendus. Il convient par conséquent de les surveiller très régulièrement et de les inciter à suivre les règles hygiéno-diététiques. Les valeurs de la fréquence cardiaque peuvent être appréhendées tout au long du nyctémère. Or, il existe une corrélation entre fréquence cardiaque et morbi-mortalité coronarienne (**Jobbe Duval, 1996**).

◆ **Intérêts thérapeutiques**

La (MAPA) permet de s'assurer, en cas de doute sur les valeurs de repos après traitement, d'une couverture sur tout le nyctémère et de vérifier, devant une HTA apparemment réfractaire, qu'il ne s'agit pas d'un biais lié à un effet clinique.

1.1.3. Physiopathologie

❖ **Systèmes régulateurs de la pression artérielle**

La pression artérielle (PA) se définit comme le produit du débit cardiaque (D) par les résistances périphériques (RP) : $PA = D \times RP$ (**Gilgenkrantz, 1987**).

Par conséquent son élévation peut résulter :

- d'une augmentation de (D), elle-même consécutive à une augmentation de la fréquence cardiaque ou à une augmentation du volume d'éjection systolique ;
- d'une augmentation des (RP), consécutive à un phénomène de vasoconstriction.

❖ **Causes de l'hypertension artérielle**

□ **Hypertension artérielle essentielle**

Chez l'adulte, dans plus de 90% des cas, la cause de l'hypertension artérielle (HTA) est inconnue. Il s'agit alors d'une maladie familiale plurifactorielle associée, dans certaines populations, à des allèles particuliers de gènes intervenants dans la régulation de la PA (**Jeunemaitre, 1996 ; Joly 1999**). Par ailleurs, quel que soit le débit cardiaque dans l'HTA essentielle, la résistance périphérique est plus élevée que celle d'un sujet normal. Chez l'enfant, l'HTA essentielle est très rare.

□ **Hypertension artérielle secondaire**

Dans moins de 10% des cas, une cause peut être retrouvée, telle que :

- une coarctation aortique (rétrécissement congénital de l'aorte après le départ de la sous-clavière gauche). Dans ce cas, l'HTA est limitée aux membres supérieurs ;
- une sténose de l'artère rénale avec l'hypersécrétion de rénine par le rein ischémique (HTA réno-vasculaire) ;
- une tumeur surrénale sécrétant de catécholamines dans le phéochromocytome (tumeur médullosurrénale), de cortisol dans le syndrome de Cushing ou d'aldostérone dans le syndrome de Conn.

Chez l'enfant, les proportions sont inversées : l'HTA est secondaire dans 95% des cas.

□ **Hypertension artérielle d'origine iatrogène**

La consommation chronique de certaines substances peut induire une HTA et/ou la rendre réfractaire au traitement. C'est le des vasoconstricteurs nasaux, des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), des anti-glaucomeux analogues de la prostaglandine alpha (PGF2) tels que le latanoprost (**LRP, 2000**) et de la contraception oestro-progestative. L'érythropoïétine chez l'hémodialysé et la ciclosporine chez le transplanté peuvent également générer une HTA.

□ **Hypertension artérielle d'origine toxique**

L'HTA peut être due à une intoxication par suite de consommation chronique de certaines substances comme la réglisse, l'ecstasy, les amphétamines, la cocaïne etc.

❖ **Conséquences de l'hypertension artérielle**

L'HTA accélère l'évolution de l'athérosclérose des coronaires mais aussi des artères cérébrales (**Herpin, 1999 ; Laurent, 1999**).

Elle est à l'origine de complications mécaniques pouvant être responsables, à terme :

- d'une insuffisance cardiaque gauche en raison de l'augmentation chronique de la post-charge. Bien mieux que l'électrocardiogramme (ECG), l'échographie cardiaque permet dans le cas d'une HTA déjà sévère, de mettre en évidence un retentissement cardiaque débutant sous la forme d'une hypertrophie ventriculaire gauche. Cette augmentation de la masse ventriculaire gauche est un paramètre pronostic essentielle, proposé comme critère intermédiaire de jugement dans les études épidémiologiques et thérapeutiques de l'HTA ;
- d'autres complications cardiovasculaires que sont les insuffisances cardiaques globales, les angors avec ou sans infarctus du myocarde et les artériopathies périphériques ;
- d'une hémorragie cérébro-méningé à la suite de la rupture des artérioles cérébrales ;
- d'une hémorragie rétinienne observable au fond d'œil et qui permet d'apprécier la gravité du retentissement de l'HTA ;
- d'une insuffisance rénale à cause d'une vasoconstriction des artérioles préglomérulaires, avec détérioration progressive de la fonction glomérulaire (**Fauvel, 2001**).

❖ **Préalable à la thérapeutique**

Un examen minutieux est indispensable afin :

- d'affirmer la permanence, donc la réalité de l'HTA et d'en déterminer la sévérité (importance des conditions de mesures) ;
- d'apprécier les facteurs de risques cardiovasculaires associés (tabagisme, dyslipidémies, diabète, âge > 60 ans, sexe masculin, ménopause, antécédents familiaux de maladies cardiovasculaires, etc.) [**Cambou, 1999 ; Primatesta et al., 2001**]
- d'évaluer son retentissement sur le plan neurologique (accidents vasculaires cérébraux), rénal (néphropathies), cardiaque (insuffisance cardiaque), vasculaire (artériopathies périphériques) et ophtalmologique (rétinopathies, etc.) ;
- d'en déterminer enfin la cause, sauf s'il s'agit d'un enfant, auquel cas cette recherche ne doit être différée.

1.1.4. Médicaments disponibles (Thériaque, 2007 ; Vidal, 2007 ; Oates, 1998)

On distingue les diurétiques, les bêtabloquants, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion, les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II, les inhibiteurs calciques, les alpha-bloquants, les antihypertenseurs d'action centrale, les vasodilatateurs musculotropes et les associations d'anti-HTA à faibles doses.

❖ Diurétiques (tableau II)

En augmentant la perte hydrosodée, les diurétiques diminuent le volume sanguin et de fait réduisent le débit dans l'équation : $PA = D \times RP$ (Gosse *et al.*, 2000 ; Brown *et al.*, 2000). Cependant, au long cours, l'effet hypotenseur est dû à une diminution des RP (Oates, 1999). La réabsorption du sodium (Na) et du chlore (Cl) est réduite au niveau l'anse de Henlé par les diurétiques de l'anse et au niveau du segment cortical de dilution par les diurétiques thiazidiques.

L'aldostérone agit sur le tube distal et le tube collecteur en favorisant l'excrétion du potassium (K) contre une réabsorption de sodium. Les antialdostérones contrecarrent ce phénomène. L'amiloride et le triamtèrene sont également diurétiques et épargneurs potassiques mais leur action est indépendante de l'aldostérone.

Tableau II - Diurétiques utilisés dans le traitement de l'HTA

Principes actifs	Quelques noms commerciaux	Formes galéniques	Dosages
Diurétiques hypokaliémiants			
Diurétiques de l'anse			
Bumétanide	Burinex [®]	cp séc sol inj IV	1 et 5 mg 2 mg/4 ml
Pirétanide	Eurélix [®]	gél gastrorésistant	6 mg
Furosémide	Furosémide [®] Sandoz, Lasilix [®] Lasilix [®] , Furosémide [®] Renaudin	cp séc sol inj IM, IV sol inj	20 et 40 mg 20 mg/2 ml 250 g/25 ml
	Lasilix special [®]	cp	500 mg
	Lasilix retard [®]	gél LP	60 mg
	Lasilix [®]	sol buv	10 mg/ml
Diurétiques thiazidiques			
Xipamide	Lumitens [®]	cp séc	20 mg
Hydrochlorothiazide	Esidrex [®]	cp séc	25 mg
Indapamide	Fludex [®] , Indapamide [®] Biogaran	cp enr	2,5 mg
	Fludex [®]	cp enr	1,5 mg
Ciclétanine	Tenstaten [®]	gél	50 mg
Diurétiques épargneurs de potassium			
Antialdostérones			
Spirolactone	Aldactone [®] Practon [®] Spirolactone [®] AP-HP Flumach [®] Spiroctan [®] Spironone [®]	cp enr séc cp gél cp cp enr gél cp enr	25, 50, 75 mg 50 mg 2,5 et 5 mg 50 et 75 mg 50 et 75 mg 50 et 75 mg 75 mg
canrénoate de K	Soludactone [®]	pdre pour sol inj	100, 200 mg
Pseudo-antialdostérones			
Amiloride	Modamide [®]	Cp	5 mg
Diurétiques associés entre eux			
altizide + spironolactone	Aldactazine [®] , Practazin [®] , Prinactizide [®]	cp	15 mg 25 mg
hydrochlorothiazide + amiloride	HCT + amiloride [®] (RPG, Teva), Modurétic [®]	cp séc	50 mg/5 mg
méthyclothiazide + triamtèrene	Isobar [®]	cp séc	5 mg/150 mg
hydrochlorothiazide triamtèrene	Prestole [®]	gél	25 mg/50 mg
furosémide + spironolactone	Aldalix [®]	gél	20 mg/50 mg
furosémide + amiloride	Logirène [®]	cp séc	40 mg/5 mg

Source : Calop J, Limat S, Fernandez S (2011, p. 45)

❖ **β -bloquants (tableau III)**

Les bêtabloquants (Hansson *et al.*, 2000 ; Dahlof *et al.*, 2002) agissent au niveau du cœur et de la médullosurrénale. Les récepteurs β_1 -adrénergiques sont majoritaires au niveau cardiaque tandis que les récepteurs β_2 -adrénergiques prédominent au niveau vasculaire et bronchique.

La noradrénaline libérée consécutivement à l'excitation des nerfs sympathiques augmente la fréquence cardiaque. L'influx sympathique libère, au niveau de la médullosurrénale, de l'adrénaline et de la noradrénaline. Le rythme cardiaque déjà élevé est alors entretenu par l'adrénaline, suite à sa liaison aux récepteurs β_1 et par la noradrénaline qui, elle, se lie aux récepteurs β_2 . Les β -bloquants diminuent donc la même composante D dans l'équation régissant la PA. Ce blocage n'étant cependant pas toujours complet, l'existence de deux sous-types de récepteurs β_1 et β_2 introduit la notion de sélectivité. Par ailleurs, l'activation des récepteurs β -adrénergiques stimule la sécrétion de rénine (Waeber, 1999).

Tableau III - β -bloquants utilisés dans le traitement de l'HTA

Principes actifs	Quelques noms commerciaux	Formes galéniques	Dosages
Acébutolol	Acébutolol [®] (Biogaran, Merck, Winthrop, Sandoz); Sectaral [®]	cp et cp enr sol buv	200 et 400 mg 40 mg/ml
Tertatolol	Artex	cp enr séc	5 mg
Aténolol	Aténolol [®] (Arrow, Biogaran) Bétatop [®] , Ténormine [®]	cp cp enr	50 et 100 mg 50 et 100 mg
Propranolol	Avlocardyl, [®] Propranolol [®] Avlocardyl [®] LP, Propranolol [®] LP Hémipralon [®]	cp séc gél LP gél LP	40 mg 160 mg 80 mg
Céliprolol	Céliprolol [®] I (Merck, Biogaran) Célectol [®]	cp cp enr séc	200 mg 200 mg
Nadolol	Corgard [®]	cp séc	80 mg
Bisoprolol	Bisoprolol [®] (Arrow, Biogaran) Détenantiel [®] , Soprol [®]	cp cp enr séc	5 mg et 10 mg 10 mg
Bétaxolol	Kerlone [®]	cp enr séc	20 mg
Cartéolol	Mikélan [®]	cp séc	20 mg
Métoprolol	Lopressor [®] Lopressor [®] , Sékolen [®] Métoprolol [®] (RPG), Sékolen [®]	cp enr séc cp enr séc LP cp enr	100 mg 200 mg 50 ou 100 mg
Timolol	Timacor [®]	cp séc	10 mg
Labétalol	Trandate [®]	cp enr séc sol inj IV (RSH)	200 mg 100 mg/20 ml
Oxprénolol	Trasicor [®] Trasicor [®] retard	cp enr séc cp enr LP	80 mg 160 mg
Pindolol	Visken [®]	cp	5 et 15 mg
Nébivolol	Nébilox [®] , Témérit [®]	cp séc	5 mg

Source : Calop J, Limat S, Fernandez S (2011, p. 46)

❖ Inhibiteurs de l'enzyme de conversion (tableau IV)

Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC) agissent sur les vaisseaux et exercent un effet vasodilatateur (Cuspidi et al., 2002 ; Zanchetti et al., 2003). La rénine libérée dans le sang par l'appareil juxta-glomérulaire du rein est une enzyme transformant l'angiotensinogène en angiotensine I, laquelle sera, à son tour, transformée grâce à l'action de l'enzyme de conversion en angiotensine II. Cette dernière dégrade par ailleurs la bradykinine qui ne peut plus exercer sa puissante action vasodilatatrice. L'angiotensine II synthétisée exerce une action vasoconstrictrice prononcée d'une part et déclenche la sécrétion d'aldostérone d'autre part. Les IEC baissent par conséquent la PA en diminuant les résistances périphériques mais aussi, dans un temps, la volémie.

Tableau IV - IEC utilisés dans le traitement de l'HTA

Principes actifs	Quelques noms commerciaux	Formes galéniques	Dosages
Quinapril	Acuitel [®] , Korec [®]	cp enr séc	5 et 20 mg
Bénazépril	Briem [®] , Cibacène [®]	cp enr	5 et 10 mg
Captopril	Captopril [®] (Arrow, Biogaran) Capoten [®] (en ATU) Captolane [®] , Lopril [®]	cp sol buv cp séc	12,5 ; 25 ; 50 mg 5 mg/5 ml 25 et 50 mg
Périndopril	Coversyl [®]	cp séc	2, 4 mg et 5 mg
Fosinopril	Fosinopril [®] (Merk, Teva) Fozitec [®]	cp cp séc	10 et 20 mg 10 mg
Trandolapril	Gopten [®] , Odrik [®]	gél	0,5 2 et 4 mg
Cilazapril	Justor [®]	cp enr séc	0,5; 1 et 2,5 mg
Lisinopril	Lisinopril [®] (Arrow, Merck) Prinivil, Zestril	cp cp séc	5 et 20 mg 5 et 20 mg
Énalapril	Énalapril [®] (Arrow, Biogaran) Rénitec [®]	cp cp séc	5 et 20 mg 5 et 20 mg
Ramipril	Ramipril [®] Merck, Triatec [®] Triateckit [®]	cp ou gél cp bisécable	1,25; 2,5; 5;10 mg 2,5; 5 et 10 mg
Moexipril	Moex [®]	cp enr séc	7,5 et 15 mg
Imidapril	Tanatril [®]	cp séc	5 et 10 mg
Zofénopril	Zofényl [®]	cp pelliculé	15 et 30 mg

Source : Calop J, Limat S, Fernandez S (2011, p. 46 - 47)

❖ Antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II (tableau V)

Les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II (ARA II) agissent sur la même composante (RP), de l'équation régissant la PA (Dahlof et al., 2002 ; Devereux et al., 2002), mais leur niveau d'action se situe en aval de celui des IEC (Mounier-Vihier, 2001). En effet, ils empêchent l'angiotensine II synthétisée de se lier à ses récepteurs.

Tableau V - ARA II utilisés dans le traitement de l'HTA

Principes actifs	Quelques noms commerciaux	Formes galéniques	Dosages
Losartan	Cozaar [®]	cp enr séc	10 et 50 mg
Irbésartan	Aprovel [®]	cp (possibilité de déliv à l'unité)	75, 150 et 300 mg
Candésartan	Atacand [®] , Kenzen [®]	cp séc	4, 8 et 16 mg
Valsartan	Tareg [®] , Nisis [®]	cp	40, 80, 160 mg
Telmisartan	Pritor [®] , Micardis [®]	cp	20, 40 et 80 mg
Eprosartan	Teveten [®]	cp pelliculé	300 mg
Olmésartan	Altesis [®] , Olmetec [®]	cp pelliculé	10, 20 et 40 mg

Source : Calop J, Limat S, Fernandez S (2011, p. 47)

❖ Inhibiteurs calciques (tableau VI)

Les inhibiteurs calciques (ICa) agissent sur les vaisseaux. Les ICa ayant cette sélectivité vasculaire sont les plus importants dans l'HTA (Devereux *et al.*, 2001).

La présence de calcium libre à l'intérieur de la cellule musculaire lisse, vasculaire en particulier, est nécessaire à sa contraction. Ces médicaments, en agissant sur les canaux calciques lents, empêchent l'entrée de cet élément dans la cellule. Ils diminuent donc la variable RP de l'équation $PA = D \times RP$

Tableau VI - Inhibiteurs calciques utilisés dans le traitement de l'HTA

Principes actifs	Quelques noms commerciaux	Formes galéniques	Dosages
Nifédipine	Adalate [®] , Nifédipine [®] Merk	cp	20 mg et 30 mg
	Aprical [®] , Losung [®] (ATU)	sol buv	20 mg/ml
	Chrono Adalate [®] LP	cp osmotique ad	30 mg
	Nifédirex [®] LP	gél LP	20 mg
Amlodipine	Amlor [®]	gél	5 et 10 mg
Nitrendipine	Baypress [®] , Nidrel [®]	cp	10 et 20 mg
Lacidipine	Caldine [®]	cp séc	2 mg
		cp pelliculé séc	4 mg
Diltiazem	Deltazem [®] LP, Diltrène [®] LP	gél LP	300 mg
	Mono-Tildiem [®]	gél LP	200 et 300 mg
Féلودipine	Flodil [®]	cp enr LP	5 mg
Isradipine	Icaz [®]	gél LP ad	2,5 et 5 mg
Vérapamil	Isoptine [®] LP	cp séc LP	120 et 240 mg
	Vérapamil [®] (Merck, Sandoz)	gél, cp, cp LP	120 et 240 mg
Nicardipine	Loxen [®] Loxen [®] LP	cp séc,	20 mg
		sol inj pour perf	10 mg/10 mL
		gélule LP	50 mg
Lercanidipine	Zanidip [®] , Lercan [®]	cp pelliculé séc	10 et 20 mg
Manidipine	Ipterten [®]	cp	10 et 20 mg

Source : Calop J, Limat S, Fernandez S (2011, p. 47 - 48)

❖ **α -bloquants (tableau VII)**

L'antagonisme sélectif exercé par ces médicaments au niveau des récepteurs α_1 -adrénergiques entraîne une vasodilatation et, de ce fait, une baisse des RP.

Tableau VII - α -bloquants utilisés dans le traitement de l'HTA

Principes actifs	Quelques noms commerciaux	Formes galéniques	Dosages
Prazosine	Alpress [®] LP	cp osmotique	2,5 et 5 mg
	Minipress [®]	cp séc	1 et 5 mg
Urapidil	Eupressyl [®] , Médiatensyl [®]	gél	30 et 60 mg
		sol inj pour perf	25 mg/ 5 ml et 50 mg/ 10 ml

Source : Calop J, Limat S, Fernandez S (2011, p. 48)

❖ **Antihypertenseurs d'action centrale (tableau VIII)**

L'activité de ses principes actifs résulte d'une inhibition (directe dans le cas de la clonidine, la guanfacine, la rilménidine et la moxonidine ou via un métabolite dans le cas du méthyldopa) du système sympathique au niveau central.

Tableau VIII - Antihypertenseurs d'action centrale

Principes actifs	Quelques noms commerciaux	Formes galéniques	Dosages
Clonidine	Catapressan [®] , Clonidine [®] RPG	cp séc	0,15 mg
		sol inj IV, IM p perfu	0,15 mg/ml
		sol inj	0,15 mg
Guanfacine	Estulic [®]	cp séc	2 mg
Rilménidine	Hypérium [®]	cp	1 mg
	Rilménidine [®] Biogaran	cp	1 mg
Méthyldopa	Aldomet [®] Méthyldopa [®] MSD	cp enr	250, 500mg
		sol pour perfu IV	250 mg/5ml
		cp enr	250, 500 mg
Moxonidine	Physiotens [®]	cp enr	0,2 et 0,4mg

Source : Calop J, Limat S, Fernandez S (2011, p. 48)

❖ Vasodilatateurs musculotropes (tableau IX)

La dihydralazine agit directement sur la musculature lisse des petites artères et des artérioles en diminuant leur tonus.

Le minoxidil et le diazoxide agissent de même en ouvrant les canaux potassiques, ce qui induit une perte de potassium par la cellule musculaire.

Le nitroprussiate de sodium est à la fois vasodilatateur artériel et veineux *via* une production d'oxyde nitrique (NO).

Tableau IX - Antihypertenseurs vasodilatateurs musculotropes

Principes actifs	Quelques noms commerciaux	Formes galéniques	Dosages
Dihydralazine	Népressol [®]	pdre pour sol inj IV,	25 mg/2 ml
Minoxidil	Lonoten [®]	cp séc	5, 10 mg
Nitroprussiate de sodium	Nitriate [®]	pdre et solv pour sol inj IV,	50 mg/ 4ml

Source : Calop J, Limat S, Fernandez S (2011, p. 49)

❖ Bithérapies fixes (tableau X)

Les associations de principes actifs, à posologies réduites, au sein d'un même médicament développent une synergie d'action, justifiant l'utilisation de certaines d'entre elles en première intention.

Tableau X - Associations d'anti-HTA à faibles doses

Principes actifs	Quelques noms commerciaux	Formes galéniques	Dosages
IEC et diurétiques			
Quinapril+ HCT	Acuilix [®] , Koretic [®]	cp enr séc	20 mg /12,5mg
Bénazépril+ HCT	Briazide [®] , Cibadrex [®]	cp enr séc	10 mg /12,5mg
Captopril + HCT	Captéa [®] , Ecazide [®]	cp séc	50 mg /25 mg
Enalapril + HCT	Corénitec [®]	cp séc	20 mg/ 2,5 mg
Fosinopril + HCT	Fozirétic [®]	cp séc	20 mg/12,5 mg
Ramipril + HCT	Cotriatec [®]	cp	5 mg/ 12,5 mg
Quinapril + HCT	Koretic [®]	cp séc	20 mg/12,5 mg
Périndopril + indapamide	Prétérax [®] Biprétérax [®]	cp séc	2 - 0,625 mg 4 - 1,25 mg
Lisinopril + HCT	Zestorétic [®]	cp séc	20 mg/12,5 mg
Zofényl + HCT	Zonényduo [®]	cp	30 mg/12,5 mg
ARA II et diurétiques			
Iosartan + HCT	Hyzaar [®]	cp enr	50 mg/12,5 mg
	Fortzaar [®]		100 mg/25 mg
Valsartan + HCT	Cotareg [®] , Nisisco [®]	cp enr	80 mg/12,5 mg
			160 mg/ 12,5mg
			160mg / 25 mg
Ibésartan + HCT	Coaprovel [®]	cp (possibilité de déliv unitaire)	150 et 300mg / 12,5 mg
Candésartan + HCT	Cokenzen [®]	cp	8 ou 16 mg/12,5 mg
	Hytacand		
Telmisartan + HCT	Micardisplus [®] , Pritorplus [®]	cp	40, 80 mg/12,5 mg
β-bloquants et diurétiques			
Métoprolol + chlortalidone	Logroton [®]	cp enr séc	200 mg/ 25 mg
Timolol + amiloride	Moducen [®]	cp séc	10 mg / 2,5 mg
Aténolol + chlortalidone	Ténorétic [®]	cp pelliculé	50 mg/12,5 mg
Oxprénolol + chlortalidone	Trasitensine [®]	cp enr	160 mg 20 mg
Pindolol + clopamide	Viskaldix [®]	cp	10 mg / 5 mg
Bisoprolol + HCT	Lod [®]	cp	2,5 5 ou 10mg/
	Wytens [®]		6,25 mg
Inhibiteurs de l'enzyme de conversion et inhibiteurs calciques			
Trandolapril + vérapamil	Tarka [®] LP	cp	2 mg / 180 mg
β-bloquants et inhibiteurs calciques dihydropyridiniques			
Aténolol + nifédipine	Béta-adalate [®] , Ténordate [®]	gél	50 mg/ 20 mg
Métoprolol + féléodipine	Logimax [®]	cp enr LP	50 mg / 5 mg
Sympatholytique périphérique et diurétique			
Résérpine + ben-drofluméthiazique	Tensionorme [®]	cp séc	0,1 mg /2,5 mg

Source : Calop J, Limat S, Fernandez S (2011, p. 49 - 50)

1.2. Critères de choix thérapeutique

1.2.1. Principes de base et généralités

❖ Principe de base

L'efficacité de l'organisation des soins prévaut sur les performances intrinsèques des molécules antihypertensives (**Safar, 2000**).

Le principe de base du traitement repose sur les points suivants (**JNC, 1997 ; Vallée, 1999**) :

- la PAS comme la PAD sont des critères à prendre en considération dans la prise en charge de l'hypertension artérielle ;
- la mise en œuvre des mesures hygiéno-diététiques dès les valeurs tensionnelles « normales hautes » ;
- l'urgence à traiter une HTA sévère ou maligne ;
- la nécessité dans les autres formes d'avoir une période d'évaluation et/ou d'observation avant de proposer un traitement médicamenteux ;
- les objectifs tensionnels doivent être plus bas lorsqu'il existe un diabète ou une néphropathie associés (**Estacio et al., 2000 ; Wright , 2002**) ;
- l'avantage de traiter l'HTA du sujet âgé ;
- l'évaluation globale du risque cardiovasculaire qui permettra d'orienter au mieux le traitement. Celle-ci repose sur la détermination des chiffres tensionnels, l'évaluation du retentissement organique et/ou cardiovasculaire de l'HTA ainsi que la recherche des facteurs de risque associés (**Vallée, 1999 ; Zanchetti et al., 2002**).

Le sixième rapport du *Joint National Committee* (JNC) propose une classification des patients en trois groupes (A, B et C) en fonction des autres facteurs de risque associés à l'HTA et des éventuelles lésions organiques et/ou cardiovasculaires (**tableau XI**).

Le risque s'élève lorsqu'on passe du groupe A au groupe C et, la seule existence d'un diabète ou d'un retentissement de l'hypertension artérielle, classe d'emblée le patient dans le groupe à plus haut risque C.

Tableau XI - Classification des hypertendus

Groupes	Facteurs de risques (obésité, hyperlipidémie, tabagisme, sédentarité, âge, antécédents familiaux d'HTA)	Retentissements organiques et/ou cardiovasculaires
A	Pas de facteurs de risques	Pas de retentissement
B	Existence de facteurs de risques mais diabète exclu	Pas de retentissement
C	Existence de diabète	Pas de retentissement
	Existence de diabète et d'autres facteurs de risques associés	Pas de retentissement
	Pas de facteurs de risques	Existence de retentissement
	Existence de facteurs de risques autres que diabète	Existence de retentissement
	Existence de diabète	Existence de retentissement

Source : Calop J, Limat S, Fernandez S (2011, p. 51)

❖ Stratégie thérapeutique

La stratégie thérapeutique est déterminée en croisant les chiffres tensionnels avec le groupe auquel appartient le malade. La prise en charge en fonction du stade et du groupe est consignée dans le **tableau XII**.

Ainsi, les mesures hygiéno-diététiques peuvent permettre de rendre « optimale » une tension « normale haute » chez les sujets des groupes A et B.

Dans l'HTA de stade (1), ces mêmes règles constituent la première étape du traitement. La tentative d'optimisation tensionnelle par la mise en œuvre de ces mesures peut durer jusqu'à douze (12) mois chez les sujets du groupe A, alors qu'elle ne doit pas excéder six (6) mois pour un malade du groupe B.

Ces modifications du mode de vie doivent être d'emblée associées à un traitement médicamenteux :

- à partir du stade (2) de l'HTA, même en l'absence de tout facteur de risque associé et en dehors de tout retentissement organique ou cardiovasculaire objectivé,
- chez les patients du groupe C (ayant une lésion des organes cibles et/ou une maladie cardiovasculaire clinique et/ou diabétique), même avec des valeurs tensionnelles normales.

Tableau XII - Stratégie thérapeutique en fonction des chiffres tensionnels et de la classification des hypertendus

Catégories tensionnelles (PAS/PAD en mmHg)	Groupe A	Groupe B	Groupe C
Normale haute 130-139/85-89	Mesures hygiéno-diététiques	Mesures hygiéno-diététiques	Traitement médicamenteux
Stade 1 140-159/90-99	Mesures hygiéno-diététiques jusqu'à 12 mois	Mesures hygiéno-diététiques jusqu'à 6 mois	
Stade 2 ≥ 160/ ≥ 100	Traitement médicamenteux		

Source : Calop J, Limat S, Fernandez S (2011, p. 51)

❖ Règles hygiéno-diététiques

Elles comprennent :

- une réduction pondérale en cas d'obésité ;
- une limitation de la consommation d'alcool à 30 ml d'éthanol par jour soit deux (2) verres et demi de vin à 12° pour un homme et un verre et demi pour une femme ;
- un arrêt du tabagisme (**Tonstad et al., 2003**) ;
- un exercice physique régulier pendant 30 à 45 min par jour, et au moins, trois (3) fois par semaine (**Fagard, 2001**) ;
- une limitation de la consommation de sodium (**Sacks et al., 2001**) à un équivalent de 6 g de NaCl par jour. Cette mesure permet de réduire la PAD de 5 mmHg ;
- une limitation de la consommation de lipides saturés et de cholestérol ;
- une alimentation riche en potassium, calcium et en magnésium.

La DASH (*Dietary Approaches to Stop Hypertension*) propose d'associer au long cours la réduction de consommation de sel à un protocole diététique riche en fibres et appauvri en graisse (**Sacks et al., 2001**).

❖ Traitement médicamenteux de l'hypertension artérielle essentielle

La monothérapie est recommandée en première intention. Sur le critère d'efficacité « normalisation tensionnelle », aucune classe thérapeutique ne s'est révélée supérieure à une autre et la possibilité d'utiliser les principales classes d'antihypertenseurs : diurétiques, β-bloquants, IEC, antagonistes du calcium, ARA II, α-bloquants, en première intention, semble actuellement admise (**Chalmers, 1999 ; OMS, 1996 ; Girerd, 2000**).

Il faut noter que, pour des raisons de tolérance, ce n'est pas le cas des anti-HTA d'action centrale (**Mourad, 1999**).

Bien que certains auteurs déplorent le manque d'étude physiopathologique de fond sur les diurétiques, ces derniers sont, avec les β -bloquants, à préférer en cas d'HTA non compliquée (**Safar, 2001**). En effet, ils représentent, du fait du plus grand recul, la stratégie ayant le plus haut niveau de preuve d'un bénéfice sur la morbi-mortalité (**LRP, 1999 ; Vallée, 1999**).

En revanche lorsque d'autres pathologies sont associées à l'HTA, d'autres classes d'antihypertenseurs peuvent être préférées en première intention.

Il est également possible d'utiliser, en première intention des associations de principes actifs à faibles doses, donc les bithérapies fixes (**Borrie, 1998 ; JNC, 1997**).

1.2.2. Poussées hypertensives aiguës et hypertensions artérielles sévères

Les crises aiguës hypertensives surviennent chez des hypertendus connus dans neuf (9) cas sur dix (10) [**Le Roux, 2000**].

C'est plus le retentissement viscéral de l'hypertension, que la valeur absolue des chiffres tensionnels qui rend urgente la prise en charge : apparition ou aggravation d'une atteinte des organes cibles (cœur, rein, cerveau).

On parle d'HTA maligne en présence d'une atteinte multiviscérale rapidement progressive, objectivée sur fond d'œil. La pré-éclampsie constitue également une urgence hypertensive chez la femme enceinte. L'existence d'un retentissement viscéral impose une baisse urgente mais progressive des chiffres tensionnels. Cet objectif nécessite une prise en charge en milieu spécialisé, avec recours à des formes injectables, sous surveillance stricte.

L'administration intraveineuse en continu au pousse-seringue électrique est souvent préférable car elle permet de limiter les « à-coups » tensionnels. Dans ce cas, le débit de perfusion est réglé en fonction des chiffres de la pression artérielle.

Ce « monitoring » tensionnel permet d'adapter en permanence la posologie de médicament tel que le nitroprussiate de sodium, vasodilatateur à la fois artériel et veineux, utilisé en perfusion en continu en particulier en cas d'HTA maligne associée à une déshydratation.

Si l'administration est réalisée en discontinu, l'utilisation de médicaments injectables ayant un représentant oral est préférée. Il s'agit entre autres d'inhibiteurs calciques telle que la nifédipine ou d'un α -bloquant comme l'urapidil.

Dans ces cas, l'injection médicamenteuse est associée à une prise systématique de la pression artérielle toutes les trois ou quatre heures en se fixant une valeur limite à ne pas dépasser. En cas d'échec, une injection supplémentaire est effectuée. Si le résultat est favorable, une abstention thérapeutique s'impose et le même raisonnement est appliqué à la prise tensionnelle suivante. Parallèlement, un traitement *per os* est initié pour prendre le relais.

1.2.3. Traitement de fond

Actuellement, il n'existe pratiquement pas de facteur prédictif de réponse à une monothérapie (**Ruzicka, 2001**). Par conséquent, indépendamment des principes de base, à respecter par définition, si l'âge constitue un élément initial d'orientation, c'est ensuite par élimination des classes thérapeutiques en fonction des autres pathologies dont souffre le malade que le meilleur antihypertenseur sera choisi (**Tcherdakoff, 1990 ; Waeber, 1999**).

1.2.3.1. Stratégie selon l'âge

Si globalement tous les médicaments donnent des résultats comparables en matière d'efficacité tensionnelle, la tolérance est variable suivant l'âge et le type d'hypertension artérielle (**Gilgenkrantz, 1987**).

Tout âge confondu, l'antihypertenseur central et le diurétique sont les médicaments les plus efficaces pour abaisser la PAS alors que les antagonistes calciques sont les plus efficaces pour normaliser la PAD.

Sur le plan de la tolérance et au regard des pourcentages d'arrêt de traitement, les antihypertenseurs centraux et les α -bloquants sont les moins bien tolérés alors que les diurétiques à doses modérées donnent le meilleur taux de maintien thérapeutique.

❖ Hypertension artérielle chez le sujet âgé

Même après 80 ans, un traitement antihypertenseur permet de réduire le risque d'accident vasculaire cérébral et d'insuffisance cardiaque mais pas celui des accidents coronariens ni la mortalité (**LRP, 1999**).

Il est donc bénéfique de traiter l'HTA du sujet âgé (**Belmin, 1999**). Toutefois, la prudence s'impose avant d'affirmer le diagnostic d'HTA permanente.

L'objectif tensionnel ne doit pas être excessif et dépendra du niveau initial de la PA. Une diminution de 20 à 30 mmHg de la PAS est un résultat déjà appréciable.

Bien que le choix du meilleur hypotenseur soit controversé (**Belmin et Valée, 2000**), les recommandations donnent la priorité aux β -bloquants et aux diurétiques (**LRP, 2000**).

L'utilisation de ces deux classes doit cependant s'assortir de prudence car :

- les β -bloquants peuvent aggraver l'insuffisance cardiaque, certains troubles de la conduction et l'artérite ;
- les diurétiques peuvent démasquer une insuffisance rénale et accentuer l'hypotension orthostatique. Par ailleurs, l'hyponatrémie qu'ils induisent peut être à l'origine de troubles psychiques graves ;

- or, il s'agit de malades ayant fréquemment une HTA à prédominance systolique et une tendance à l'hypotension orthostatique et à l'hypovolémie. Il peut souffrir d'une insuffisance cardiaque souvent associée à une insuffisance coronarienne. Enfin, une insuffisance rénale n'est pas rare et les artérites des membres inférieurs fréquentes. Aussi, en cas de contre-indication, d'intolérance ou d'échec de ces médicaments, IEC ou inhibiteurs calciques sont utilisables.

Les IEC sont plus efficaces dans la prévention de l'insuffisance cardiaque et de l'infarctus du myocarde. Ils sont bien tolérés à condition de surveiller la fonction rénale et la kaliémie. De leur côté, les inhibiteurs calciques peuvent avoir un effet favorable sur la maladie coronarienne et sur les artères périphériques. Ils ne favorisent pas l'hypotension orthostatique et n'aggravent pas l'insuffisance rénale.

Une molécule comme la nitrenpidine est particulièrement efficace en cas d'HTA systolique (**Tournier, 1998**).

En présence d'HTA résistante, ne pas dépasser la bithérapie qui reste la règle. L'observance thérapeutique doit être vérifiée, la résistance doit être confirmée (par une MAPA, par exemple) et une HTA secondaire, éliminée.

❖ **Hypertension artérielle chez le sujet jeune**

Les mécanismes de régulation de la PA, neurohormonaux en particuliers, sont modifiés avec une grande variabilité tensionnelle. D'où la nécessité, encore plus chez le sujet jeune, de multiplier les mesures de la PA avant de débiter un traitement antihypertenseur.

Par rapport au traitement, les sujets jeunes répondent le mieux aux IEC et aux β -bloquants. Mais paradoxalement les β -bloquants provoquent plus d'arrêts de traitement chez eux.

Ce phénomène d'arrêt de traitement est en réalité du aux faits que les sujets jeunes sont moins observant sur le plan thérapeutique.

Toutefois, la priorité reste chez eux les β -bloquants suivie des IEC.

❖ **Hypertension artérielle chez l'enfant**

La recherche d'une cause est obligatoire. Si la présence d'une HTA essentielle est confirmée, un diurétique ou un β -bloquant peut être proposé.

1.2.3.2. Hypertension artérielle chez la femme enceinte et allaitante

Des valeurs de PAS > 140 mmHg ou de PAD > 90 mmHg définissent l'HTA chez la femme enceinte (**Levine et al., 2000**).

Dans ces conditions, tous les antihypertenseurs ne sont pas utilisables (**Gilgenkrantz, 1987 ; Mounier-Vehier, 1999 ; Dufour, 2000**).

Lors des crises hypertensives sévères de la femme enceinte ou en cas de persistance d'une PAD > 110 mmHg, ce sont les formes injectables de ces mêmes médicaments qui seront utilisées, éventuellement associées à l'alpha-méthildopa *per os*, à la dose de 750 à 1500 mg par jour.

Les inhibiteurs calciques (nicardipine par exemple) pour leur part, plus efficaces, sont réservés au traitement ponctuel des poussées hypertensives en raison des vasoplégies néonatales qu'ils peuvent entraîner.

Les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II et les inhibiteurs de l'enzyme de conversion sont contre-indiqués ainsi que les diurétiques, sauf en cas d'insuffisance cardiaque congestive associée.

❖ Hypertension artérielle gravidique

Plus de 10% des femmes font une HTA durant la grossesse (**Dufour, 2000**). C'est la première cause de morbidité et de mortalité périnatales. Les désordres hypertensifs s'articulent autour de trois symptômes principaux : hypertension, protéinurie et œdèmes (**Maurrizi, 1987**).

La protéinurie est dite significative si elle excède 0,5 g ou 1 g par 24 h selon les auteurs. Les œdèmes touchent les membres inférieurs mais aussi les mains et la face. Tant qu'ils n'ont pas le caractère massif et que leur constitution n'est pas brutale, ils n'ont pas de signification pronostique particulière. Nombre de ces femmes seront plus tard hypertendues.

L'hypertension est due à une insuffisance placentaire dont les conséquences sont :

- une augmentation de la sensibilité aux hormones « pressives » ;
- une activation de l'hémostase ;
- une diminution de la production des prostacyclines alors que celle de la tromboxane peut être accrue ;

Diverses complications peuvent survenir chez la mère : hématome rétroplacentaire, hypertension maligne ou éclampsie. Elles sont la conséquence d'un dysfonctionnement placentaire précoce entraînant une souffrance endothéliale diffuse. Les complications fœtales peuvent être de type retard ou arrêt de croissance, voire mort *in utero* par défaut de perfusion.

Dès les valeurs de PAD > 85 mmHg, l'HTA multiplie par trois (3) le risque fœtal. L'association d'une protéinurie de plus d'1 g/24 h le multiplie par vingt (20).

Le but du traitement est double : prévenir les complications maternelles et permettre un développement fœtal en assurant un flux sanguin utéroplacentaire satisfaisant. Ceci explique la nécessité d'éviter un traitement trop agressif qui altère la circulation placentaire et majore le risque de retard de croissance fœtale, voire de mort fœtale (**De Swiet, 2000**).

Le repos est bénéfique, de préférence au lit et en décubitus latéral gauche. Ainsi, le débit utéroplacentaire est augmenté car la pression exercée sur les gros vaisseaux pré-rachidiens par l'utérus gravide est levée. Ces mesures contribuent également à abaisser, dans une certaine mesure, les chiffres tensionnels.

Un traitement est instauré à partir d'une PAS > 160 mmHg ou d'une PAD > 90 mmHg mais la PAS ne devra pas descendre au-dessous de 140 mmHg.

Le traitement de première intention repose sur le labétalol, bêtabloquant par ailleurs doté d'une action alpha-bloquante, à la posologie initiale de 100 mg, deux fois par jour. La dose journalière maximale sera de 600 mg.

Ce n'est que lorsque les bêtabloquants ne peuvent être utilisés, patiente asthmatique par exemple, que les antihypertenseurs centraux, traversant la barrière placentaire mais dépourvus d'effets néfastes sur le fœtus, seront utilisés, comme la clonidine à la dose de 0,15 à 0,45 mg par jour (**Dufour, 2000**).

Le traitement de l'éclampsie qui est la complication la plus sévère comprend un volet médical basé entre autres sur les anticonvulsivants (en l'occurrence le sulfate de magnésium) et un volet obstétrical.

Un traitement par aspirine qui augmente la perfusion placentaire peut être instauré à faible dose, 100 mg, avant la 23^e semaine d'aménorrhée. Son action antithrombotique et de rétablissement de la balance prostacycline/thromboxane, est efficace dans la prévention de la pré-éclampsie et du retard de croissance fœtale (**Knight et al., 2000**).

Au-delà, le rapport bénéfices/risques n'est plus aussi favorable (**Dufour, 2000**).

❖ Désir de grossesse chez l'hypertendue

Le pronostic est excellent à condition :

- de vérifier qu'il s'agit bien d'une HTA « essentielle » ;
- d'écarter tout médicament non éprouvé chez la femme enceinte ;
- de bien contrôler l'HTA avant la mise en route de la grossesse (**Dekker et al., 2001**) ;
- de ne pas laisser la PA descendre au-dessous de 140/90 mmHg à 130/80 mmHg sous traitement et donc, de diminuer les doses, voire arrêter le traitement si besoin ;
- de surveiller étroitement la grossesse ;
- de ne jamais dépasser le terme.

❖ Allaitement

Le passage dans le lait, des β -bloquants notamment, est très variable d'un principe actif à l'autre : faible avec le propranolol, dans une forte proportion dans le cas du sotalol.

1.2.3.3. Stratégie selon la pathologie associée (Tcherdakoff, 1990 ; Vallée, 1999)

❖ Insuffisance cardiaque

Les β -bloquants ne sont classiquement pas indiqués dans les insuffisances cardiaques, ainsi ils ne sont pas indiqués dans les insuffisances cardiaque de niveau I et sont contre-indiqués au stade IV non stabilisées. En effet, le débit cardiaque n'est parfois maintenu que par l'action du système sympathique.

Mais actuellement, quatre bêtabloquants ont l'autorisation de mise sur le marché dans la prise en charge de l'insuffisance cardiaque : le nébivolol (Témérit[®]), le bisoprolol (soprol[®], cardensiel[®]), le métoprolol (Lopressor[®], Seloken[®]) et le carvediol (Kredex[®]).

Au contraire, l'action des diurétiques permet de diminuer les symptômes de congestion pulmonaire et les œdèmes périphériques.

Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion, qui sont aujourd'hui à la base du traitement de l'insuffisance cardiaque, sont particulièrement indiqués. Les inhibiteurs calciques à tropisme vasculaire permettent de diminuer la postcharge.

La moxonidine, antihypertenseur d'action centrale, augmente le taux de mortalité chez les patients insuffisants cardiaques. Dans certains pays, cette affection constitue une contre-indication de la moxonidine (**LRP, 2000**).

❖ Bloc auriculo-ventriculaire

Les β -bloquants peuvent aggraver les troubles du rythme et de la conduction, pathologies les contre-indiquant.

Aussi, les inhibiteurs calciques à tropisme cardiaque sont déconseillés.

❖ Cardiomyopathie obstructive

Les β -bloquants constituent les médicaments de choix.

❖ Maladies coronariennes

La nécessité d'une cardioprotection justifie le recours aux β -bloquants et aux inhibiteurs calciques à tropisme cardiaque.

❖ Artériopathies périphériques

En cas d'artérites des membres inférieurs, les β -bloquants, labétalol excepté, sont déconseillés car le blocage des effets vasodilatateurs et l'adrénaline sur les récepteurs β_2 vasculaires peut être nuisible. Le syndrome de Raynaud, *a fortiori*, en constitue une contre-indication.

Dans ce cas, les plus appropriés sont les IEC (sous réserves qu'il n'existe pas de sténose des artères rénales) ainsi que les inhibiteurs calciques.

❖ Néphropathies (Ruilope et al., 2001)

En présence de syndrome néphrotique avec œdèmes importants, les diurétiques trouvent une bonne indication. S'il existe une insuffisance rénale, les β -bloquants et inhibiteurs calciques à élimination hépatique prédominantes ne posent pas de problèmes (sauf s'il existe des métabolites actifs pouvant s'accumuler). Les β -bloquants éliminés par le rein nécessitent pour les patients une adaptation de la posologie.

Si un IEC est utilisé, la fonction rénale et la kaliémie doivent être étroitement surveillées, les IEC aggravent l'hyperkaliémie et l'insuffisance rénale.

Chez l'hémodialysé (et si l'HTA est due à la surcharge volémique), un diurétique de l'anse peut convenir. Si des poussées hypertensives surviennent pendant la séance, les IEC sont à préférer du fait de l'implication du système rénine-angiotensine.

Au cours des transplantations, les inhibiteurs calciques et plus particulièrement le diltiazem permettent la réduction du risque de l'insuffisance rénale post-transplantation.

Dans l'HTA rénovasculaire, le traitement initial peut comporter, sous-surveillance, un IEC à doses faibles. En cas d'échec, les diurétiques peuvent être utiles dans la mesure où certaines HTA rénovasculaires sur rein unique sont Na-dépendantes. Sinon, les β -bloquants peuvent être intéressants du fait de leurs actions frénatrices de la libération de rénine et rien n'interdit le recours aux anticalciques.

❖ Diabète (Amar, 2000)

L'HTA concerne plus d'un diabétique sur deux. Les IEC ont montré un effet particulièrement favorable en cas de néphropathie diabétique tandis qu'un bêtabloquant se révèle meilleur en présence d'une insuffisance coronarienne. Les objectifs tensionnels à atteindre, PA < 130/85 mmHg, peuvent faire recourir aux associations et les diurétiques y ont une place privilégiée. Si la fonction rénale est déjà altérée, il s'agira alors de diurétiques de l'anse.

❖ Insuffisance respiratoire chronique

Si le blocage des récepteurs β_2 accentue le bronchospasme, les β_1 -bloquants sélectifs eux aussi, céliprolol excepté, sont contre-indiqués.

❖ Troubles métaboliques

Du fait de leurs effets indésirables métaboliques en cas de prise au long cours (effets hyperglycémiant, hyperlipémiant, et hyperuricémiant), les diurétiques thiazidiques et apparentés sont déconseillés dans ces circonstances.

Le blocage des récepteurs β_2 aggrave l'hypoglycémie. Si les β -bloquants cardio-sélectifs n'ont pas cet inconvénient, tous masquent certains signes annonciateurs de la survenue d'une hypoglycémie (palpitations, tachycardie, sueur, etc.). Ceci peut être dangereux chez le patient diabétique traité par insuline, sulfamide ou tout autre antidiabétique hypoglycémiant. Les médicaments neutres sur le plan métabolique sont les IEC et les inhibiteurs calciques.

❖ Résultats thérapeutiques

Dans les HTA de stade (1), le pourcentage de répondeurs à une monothérapie est de 50 %, et de 70 à 80 % avec deux médicaments selon les doses. A partir du stade (2) de l'HTA, il est souvent nécessaire de combiner plusieurs médicaments. (Ces traitements selon la pathologie associée, sont récapitulés dans le **tableau XIII**).

Les échecs de la monothérapie peuvent avoir plusieurs causes (**Julien, 1997 ; Girred, 1999, 2001**) : un manque d'observance (problème de compréhension de la thérapeutique, trouble de la mémoire, effets indésirables, etc.), des interactions médicamenteuses défavorables, une posologie mal adaptée (forme galénique, voie d'administration, dose par prise, intervalle entre les prises).

En cas d'inefficacité de la monothérapie, l'OMS préconise l'une des trois possibilités suivantes :

- l'augmentation de la posologie de la monothérapie si elle s'avère inférieure à la posologie usuelle de l'autorisation de mise sur le marché et/ou si la relation dose-effet antihypertenseur de la classe thérapeutique est bien établie ;
- le changement de classe thérapeutique ;
- l'adjonction d'un deuxième antihypertenseur permettant d'atténuer les phénomènes de contre-régulation tout en ayant au minimum un effet additif.

Dans la pratique, l'augmentation de la dose risque d'exacerber les effets de la contre-régulation ainsi que les effets indésirables propres aux principes actifs, comme c'est le cas avec les diurétiques, les β -bloquants, les inhibiteurs calciques et les α -bloquants.

C'est pourquoi, le plus souvent, la troisième solution (passage à la bithérapie) est choisie. En effet une association additive sur le plan de l'efficacité permet de diminuer les doses de chaque médicament avec comme conséquence une diminution des effets indésirables. Par ailleurs, un choix judicieux des médicaments associés permet de limiter les phénomènes de contre-régulations qui tendent à ramener la PA vers les valeurs de base.

Bien qu'il n'existe pas d'essai ayant comparé ces différentes stratégies thérapeutiques et permettant de choisir l'une d'entre elles, un médicament agissant sur la composante « volémie » sera associé, dans la majorité des cas, à un médicament actif sur le tonus artériolaire (**Borrie, 1998 ; Julien, 1997**).

Tableau XIII - Choix de l'antihypertenseur en fonction de la pathologie associée à l'HTA

Pathologie associées	Diurétiques	Bétabloquants	IEC et ARA II	Ica	Alpha-bloquants
Insuffisance cardiaque	+++	CI (sauf carvedilol et bisoprolol)	+++	++ (ICa à tropisme vasculaire)	++
BAV		Contre-indication (CI)		(ICa à tropisme cardiaque)	
CMO ¹		+++			
Insuffisance coronarienne		+++	+++	+++	++
Syndrome de Raynaud		CI (sauf labétalol)		++++	
Artérite des membres inférieurs	++	(sauf labétalol)	++	+++	++
IRC	++	CI (sauf céliprolol)	++	++	++
Diabète	±	± (sauf si cardiosélectif)	+++ (IEC)		
Hyperuricémie	CI diurétique thiazidiques et de l'anse				
Dyslipidémies			+++	+++	+++
Syndrome néphrotique	+++				
Insuffisance rénale		++ si EHP ² + si ERP ³ avec adaptation de la posologie	+ si surveillance rénale et de la kaliémie	++ si EHP	
Hémodialysé	++ (diurétique de l'anse)		++ (si poussée de la TA pendant la séance)		
Transplantation rénale				++++ diltiazem	
HTA réno-vasculaire	ttt initial		IEC ++ à faibles doses		
	Relais	+ (freination de la rénine)	+ (si Na-dépendante)	+	
Troubles sexuels			++	+++	++

Source : Calop J, Limat S, Fernandez S (2011, p. 54)

¹ CMO : Cardiomyopathie obstructive

² EHP : élimination hépatique prédominante

³ ERP : élimination rénale prédominante

Les bithérapies recommandées par l’OMS sont :

- inhibiteur de l’enzyme de conversion + diurétique, particulièrement indiqué en cas d’atteintes vasculaires et rénales ainsi qu’en cas d’insuffisance cardiaque ;
- β -bloquant + diurétique ;
- α -bloquant + diurétique ;
- inhibiteur de l’enzyme de conversion + antagoniste du calcium, qui peut être bénéfique chez le patient athéromateux ou diabétique ;
- β -bloquant + ICa dihydropyridinique, pertinente chez l’hypertendu coronarien ;
- β -bloquant + α -bloquant.

Ce rationnel a d’ailleurs motivé la mise à disposition sur le marché d’association fixe. En cas de résistance à la bithérapie mise en place, un diurétique sera associé au couple de médicaments synergiques, si le traitement n’en comporte pas encore.

La stratégie thérapeutique est résumée dans un arbre décisionnel (**figure 1**).

1.2.4. Hypertension artérielle résistante

Une HTA est dite résistante au traitement lorsque les chiffres tensionnels sont supérieurs à 140/90 mmHg malgré la prise de trois (3) médicaments dont un diurétique.

Les « automesures » ou les « MAPA », le point sur l'historique de la médication antihypertenseur (produits, doses, efficacité, tolérance), l'évaluation de l'observance, la recherche d'une cause doivent permettre de trouver la source de l'échec thérapeutique (Girerd, 1999 ; Julien, 1997) qu'il faut éviter (Cuspidi *et al.*, 2001).

1.3. Optimisation thérapeutique

1.3.1. Optimisation de la posologie

Posologies et plan de prise

S'agissant d'un traitement au long cours, qui plus est, préventif, toute mesure permettant d'améliorer l'observance du patient est un avantage. C'est le cas de la monoprise journalière et cette possibilité est actuellement offerte par la plupart des médicaments.

Lorsque les propriétés intrinsèques du principe actif ne le permettent pas, ce dernier est présenté sous une forme pharmaceutique à libération prolongée.

1.3.2. Choix de la voie d'administration

Le traitement de la crise aiguë hypertensive requiert la voie injectable chaque fois qu'il existe des signes de gravité. Dans les cas moins sévères, la mise en route rapide d'un traitement *per os* est possible en choisissant un antihypertenseur ayant une présentation à libération prolongée qui assurera le relais afin d'éviter un éventuel « effet rebond ». En dehors des crises et comme pour tout traitement au long cours, la voie orale reste la référence.

1.3.3. Prévention de l'iatropathologie

1.3.3.1. Prévention des risques majeurs

❖ Contre-indications

Les contre-indications des antihypertenseurs sont indiquées dans le **tableau XIV (Vidal, 2007)**.

Tableau XIV - Contre-indications à l'utilisation des antihypertenseurs

Antihypertenseurs	Contre-indications
diurétiques de l'anse	Encéphalopathie hépatique Allergie aux sulfamides (réaction croisée) Obstacle sur les voies urinaires Hypovolémie ou déshydratation Grossesse (bumétanide et pirétanide) et allaitement
diurétiques thiazidiques	Hypersensibilités aux sulfamides Insuffisance rénale sévère Encéphalopathie hépatique
diurétiques hyperkaliémiants	Hyperkaliémie, association au potassium Insuffisance rénale sévère
triamtèrene	Carence en acide folique et lithiase urinaire
β-bloquants	Asthme et broncho-pneumopathies obstructives sévères (sauf céliprolol avec des précautions d'emploi) Insuffisance cardiaque (à doses utilisées dans l'hypertension) Choc cardiogénique BAV du 2 ^e et 3 ^e degré non appareillés Angor de Prinzmetal Maladie du sinus, bloc sino-auriculaire compris Bradycardie < 45 par minute Phénomène de Raynaud et troubles artériels périphériques Phéochromocytome non traité Hypotension Antécédent de réaction anaphylactique
inhibiteurs de l'enzyme de conversion	Hypersensibilité Antécédent d'angio-œdème (œdème de Quick) lié à la prise d'inhibiteurs de l'enzyme de conversion Grossesse et allaitement Sténose bilatérale de l'artérielle rénale ou sur rein fonctionnellement unique Hyperkaliémie
antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II	Hypersensibilité Sténose bilatérale de l'artère rénale ou sténose artérielle en raison du risque d'élévation de l'uricémie et de la créatinémie induite par les médicaments qui interfèrent avec le système rénine-angiotensine. Ce risque est augmenté en cas d'association avec les diurétiques Grossesse et allaitement
Inhibiteurs calciques	BAV du 2 ^e et 3 ^e degré non appareillés
vérapamil	Insuffisance cardiaque non contrôlée Dysfonctionnement sinusale Bradycardie sévère (< 40 battement par minute)
diltiazem	BAV de degrés 2 ^e et 3 ^e non appareillés Insuffisance ventriculaire gauche avec stase pulmonaire Grossesse et allaitement Hypersensibilité
dihydropyridines	IDM datant de moins d'1 mois, angor instable Grossesse et allaitement (relative)

Suite Tableau XIV	
Antihypertenseur	Contre-indications
α-bloquants	Hypersensibilité Rétrécissement aortique
anti-HTA centraux	Hypersensibilité Dépression sévère
méthildopa	Cirrhose, hépatite médicamenteuse et anémie hémolytique
rilménidine, moxonidine	Insuffisance rénale sévère (Clcr < 15ml/min)
moxonidine	Insuffisance cardiaque
Vasodilatateurs	
minoxidil	Infarctus du myocarde récent
diazoxide	Angor Diabète mal équilibré Hypersensibilité aux thiazidiques
nitroprussiate de sodium	hypovolémie Insuffisance thyroïdienne

Source : Calop J, Limat S, Fernandez S (2011 p. 60 - 61)

❖ **Associations médicamenteuses à proscrire**

Les interactions médicamenteuses de niveau « contre-indications » et « associations déconseillées » sont à proscrire.

1.3.3.2. Prévention des effets indésirables (Oates, 1998 ; Waeber, 1998)

Les préventions des effets indésirables (EI) et les conduites à tenir (CAT) face aux différents groupes thérapeutiques sont consignés dans les tableaux suivants :

❖ Face aux diurétiques (tableau XV)

Tableau XV - Prévention des EI et les CAT face aux diurétiques

Effets indésirables	Prévention	Conduite à tenir et traitement
Hypokaliémie observée avec les diurétiques de l'anse et les diurétiques thiazidiques	Régime appauvri en sodium et riche en potassium (bananes fruits secs etc.) Association d'un diurétique hypokaliémiant avec un diurétique épargneur ; potassique ; Association d'un diurétique hypokaliémiant avec un IEC. Toutefois, la compensation peut être insuffisante avec ce dernier.	Surveiller la kaliémie. Supplémenter en potassium par voie IV en cas d'administration parentérale du diurétique hypokaliémiant (Œdème Aigu du Poumon). Administer le chlorure de potassium en perfusion continue à raison de 26 à 52 mmol (soit 1 à 4 g) à la seringue électrique, en cas d'hypokaliémie très sévère (< 3 mmol/L) accompagnée de troubles du rythme. L'administration doit se faire sur une voie centrale car il y a risque de nécrose et de veinite sur une voie périphérique. Supplémenter en potassium par voie orale. Certaines spécialités orales apportent 7 à 8 mmol de K ⁺ et sont administrés à raison de 2 à 8 cp/jour.
Hyperkaliémie observée avec les diurétiques anti-aldostérones	Respect des CI, contrôle régulier de la kaliémie et un régime appauvrit en potassium	Traiter par voie orale par les résines échangeuses d'ions : une hyperkaliémie modérée (< 6 mmol/L) Kayexalate, échangeant du K contre du Na ou le Ca ; Sorbistérit, échangeant du K contre du Ca quand l'apport de sodium est déconseillé. Traiter par voie parentérale une hyperkaliémie sévère (> 6 mmol/L) par : bicarbonate de sodium (alcalisation), insuline (entraînant l'entrée du K dans la cellule) additionnée ou non de Na de glucose, gluconate de Ca qui inhibe les effets du K sur le myocarde, épuration extrarénale dans les cas extrêmes non contrôlables par les médicaments.

Suite Tableau XV		
Effets indésirables	Prévention	Conduite à tenir et traitement
Hyponatrémie et déshydratation		Recommander aux personnes âgées une hydratation régulière. Attention aux insuffisants cardiaques en cas d'association des diurétiques aux IEC et particulièrement chez les personnes âgées. Suivre régulièrement l'ionogramme et de la créatinémie.
Hypotension artérielle systémique observée souvent lors de l'association diurétique-IEC		En cas de survenue, réduire la posologie du diurétique sans modifier celle de l'IEC.
Hypoglycémie observée avec les diurétiques de l'anse et les diurétiques thiazidiques pouvant aggraver un diabète préexistant		Attention aux conséquences pouvant entraîner un déséquilibre du traitement hypoglycémique chez les sujets diabétiques. Contrôler la glycémie et adapter fréquemment le traitement, en particulier pendant son instauration.
Hyperuricémie susceptible d'arriver avec les diurétiques thiazidiques et les diurétiques de l'anse		Attention chez les sujets goutteux où les crises peuvent être augmentées, mais le plus souvent sans conséquence chez les non goutteux sur le plan clinique.
Hyperlipidémie susceptible d'arriver avec les diurétiques thiazidiques et les diurétiques de l'anse		Attention aux conséquences fâcheuses chez les sujets hypertendus ou coronariens. Chez ces patients, en cas de nécessité absolue des diurétiques, un traitement hypolipémiant peut être nécessaire.

❖ Face aux β -bloquants (tableau XVI)Tableau XVI - Prévention des EI et les CAT face aux β -bloquants

Effets indésirables	Prévention	Conduite à tenir et traitement
Hypotension, bradycardie		Suivi de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque. En cas de survenue de ces effets, diminuer. En cas de persistance, interrompre la thérapeutique.
Troubles glycémiques susceptibles de masquer les signes de survenue d'une hypoglycémie aiguë.	Alerter les patients diabétiques sur les risques de survenus de ces effets.	Surveiller étroitement la glycémie
Thrombocytopénie observée rarement.		Interrompre le traitement en cas de survenue
Décompensation d'une insuffisance cardiaque		Attention aux augmentations de posologies, moment où le risque de décompensation d'une insuffisance cardiaque est particulièrement important. Ajuster si nécessaire, les posologies des autres thérapeutiques associées. Réduire la posologie du β -bloquant ou interrompre le traitement.
Atteinte rénale observée suite à l'administration de carvedilol en cas de cardiomyopathie ischémique.		Suivi de la fonction rénale chez ces patients, en particulier pendant la période d'adaptation de la posologie. Interrompre le traitement en cas d'altération de la fonction rénale.

❖ Face aux inhibiteurs de l'enzyme de conversion (tableau XVII)

Tableau XVII - Prévention des EI et les CAT face aux IEC

Effets indésirables	Prévention	Conduite à tenir et traitement
Hypotensions sévères observées généralement dans les premiers jours du traitement et en particulier chez les patients hyponatrémiques qui sont les plus à risque.		Suivi étroit de la PA à l'initiation et régulier dans la suite du ttt. En cas de survenue, lors d'une association avec un diurétique, réduire la posologie du diurétique sans modifier celle de l'IEC. Hospitaliser les patients à risque d'hypotension, à la première dose (dysfonctionnement systolique ventriculaire gauche sévère, pression sanguine systolique < 100 mmHg, ou hyponatrémie < 135 mmol/L) pour l'initiation d'un traitement par IEC. Si l'hospitalisation n'est pas envisagée, débiter le ttt par une faible dose-test d'un IEC en surveillant le patient pendant 2 h
Hyperkaliémie	Eviter les traitements hyperkaliémifiants	Suivie de la kaliémie.
Anémie chez l'insuffisant rénal hémodialysé		Evaluer régulièrement le rapport bénéfices/risques et envisager l'arrêt du traitement par IEC en cas d'augmentation de la consommation d'érythropoïétine
Hypersensibilité, angio-œdème		Attention, les IEC peuvent provoquer un œdème qui peut s'étendre de la face jusqu'au larynx. Un œdème laryngé peut être fatal. Les IEC présentant un reste sulfhydryle semblent entraîner plus de réactions allergiques. Un cas d'angio-œdème viscérale a également été rapporté. Administré en urgence 0,3 à 0,5 ml d'adrénaline à 1/1000 lorsque les voies aériennes risquent d'être obstruées par l'œdème. Si l'œdème se limite à la face aux lèvres, un ttt antihistaminique H ₁ peut être entrepris. Dans tous les cas la survenue d'un œdème contre-indique l'utilisation ultérieure des IEC.

Suite Tableau XVII		
Effets indésirables	Prévention	Conduite à tenir et traitement
Dysgueusies		Effets généralement transitoires et ne doivent pas faire arrêter le ttt.
Toux sèche et persistante, dû à un effet de classe et disparaît en cas d'arrêt du traitement		Inutile de prescrire des antitussifs qui sont sans effet. En cas de toux non supporté par le patient, suspendre le traitement.

❖ **Face aux antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II (tableau XVIII)**

Tableau XVIII - Prévention des EI et les CAT face aux ARA II

Effets indésirables	Prévention	Conduite à tenir et traitement
Hypotension observée notamment en cas d'hypovolémie et chez les patients souffrant d'insuffisance cardiaque, d'HTA rénovasculaire ou de cirrhose,	Eviter la déplétion hydrique	Débuter le traitement à faible dose
Hyperkaliémie susceptible d'arriver généralement qu'en cas d'association à d'autres facteurs de risques.	Eviter la prise de sels de régime et de médicaments à base de potassium ainsi que ceux favorisant la rétention potassique.	Explorer la fonction rénale avant le traitement pour éliminer toute insuffisance rénale chronique.
Anémie chez l'insuffisant rénal hémodialysé sous losartan		Evaluer régulièrement le rapport bénéfices/risques et envisager l'arrêt du traitement sous losartan en cas d'augmentation de la consommation d'érythropoïétine
Toux, œdème de Quincke, angio-œdème	Eviter les sartans en cas d'antécédent d'angio-œdème sous IEC.	NB. Par rapport aux IEC, les ARA II sont beaucoup moins tussigènes et l'œdème de Quincke est rarement rapporté.

❖ **Face aux Inhibiteurs calciques (tableau XIX)**Tableau XIX - Prévention des EI et les CAT face aux Ica

Effets indésirables	Prévention	Conduite à tenir et traitement
Céphalées, bouffées de chaleur, palpitations observées en particulier avec les dihydropyridines.		Ces effets apparaissant le plus souvent à la phase d'instauration, la seule poursuite du traitement permet généralement de les amender. Sinon, et s'ils sont mal tolérés par le patient, l'utilisation préférentielle de l'amlodipine et des formes à libération prolongée permet d'atténuer ces effets indésirables par le début progressif de leur action.

❖ **Face aux α -bloquants (tableau XX)**Tableau XX - Prévention des EI et les CAT face aux α -bloquants

Effets indésirables	Prévention	Conduite à tenir et traitement
Hypotension survenant volontiers à l'orthostatisme s'observe en particulier avec la prazosine.	Le patient doit apprendre à se lever progressivement.	
Nausées, vertiges, céphalées, fatigues et palpitations sont parfois observés		Ces effets ne limitent jamais l'emploi des médicaments.

❖ Face aux Anti-HTA d'action centrale (tableau XXI)

Tableau XXI - Prévention des EI et les CAT face aux Anti-HTA d'action centrale

Effets indésirables	Prévention	Conduite à tenir et traitement
Phénomène de rebond à l'arrêt du traitement, observée avec tous les antihypertenseurs centraux, mais particulièrement important avec la clonidine.	Eviter un arrêt de traitement brutal pouvant provoquer une crise hypertensive.	Signaler avec insistance au patient cet effet de phénomène de rebond à l'arrêt du traitement. Réintroduction de la clonidine par voie orale lors des poussées hypertensives dues à un arrêt trop brutal de la clonidine, ou par voie injectable si l'on souhaite une correction plus rapide.
Effets indésirables centraux survenant surtout en début de traitement et sont transitoires.		Prévenir les patients de la survenue de tels effets mais n'imposera pas l'arrêt du traitement.
Effets indésirables spécifiques de la méthyldopa		
Troubles hématologiques		Attention aux possibilités de survenue d'anémie hémolytique, d'aplasie médullaire, de leucopénie et de thrombocytopénie. Déterminer l'hémoglobémie et l'hématocrite en cas de symptômes suggérant une anémie. Arrêter le traitement en cas d'anémie hémolytique avérée, ceci permet le plus souvent, de corriger l'anémie. Dans le cas contraire, il faut faire appel aux corticoïdes.
Troubles hépatiques dues à une nécrose hépatocellulaire (hépatites cytolytiques aiguës et hépatites chroniques). Un ictère avec ou sans fièvre peut être observé dans les trois premiers mois du traitement.		Contrôler la fonction hépatique par la détermination des transaminases en cas de survenue de fièvre dans les deux à trois mois de traitement. Interrompre le traitement par méthyldopa en cas de valeurs anormales, pour ne plus le réintroduire. Utilisé avec précautions le méthyldopa chez les patients ayant des antécédents hépatiques.

Suite Tableau XXI		
Effets indésirables	Prévention	Conduite à tenir et traitement
Rétention sodés et œdèmes observées lors de prises prolongées du méthildopa.	Eviter d'utiliser en première intention les anti-HTA d'action centrale pour le traitement de l'HTA essentielle à cause de leurs effets indésirables lors de prises prolongées.	Interrompre le traitement par méthildopa si des œdèmes et des signes d'insuffisance cardiaque apparaissent. Ces œdèmes régressent habituellement avec un diurétique. NB : Néanmoins, les médicaments les plus récents semblent mieux tolérés et ils peuvent être utilisés dans le traitement au long cours. Ainsi la rilménidine entraînant moins de sédation et de sécheresse buccale, et la moxonidine aurait moins d'effets indésirables centraux. Elle ne comporterait pas de risques de rebond d'hypertension à l'arrêt du traitement.
Effets indésirables particulier de la moxonidine		
Effets survenant chez les insuffisants cardiaques.		Attention aux insuffisants cardiaques traités par ailleurs par cet anti-HTA d'action centrale où il y a une augmentation de la mortalité. L'insuffisance cardiaque constitue une contre-indication de la moxonidine dans certains pays.

❖ **Face aux Vasodilatateurs musculotropes (tableau XXII)**Tableau XXII - Prévention des EI et les CAT face aux Vasodilatateurs musculotropes

Effets indésirables	Prévention	Conduite à tenir et traitement
Hypotension orthostatique sévère observée lors d'utilisations prolongées.		NB : La plupart des médicaments n'existent que sous forme injectable pour le traitement de la crise hypertensive donc, pour une utilisation très ponctuelle.
Rétention sodée, les excluent de l'arsenal du traitement au long cours.		
Cas particulier du minoxidil		
rétention sodée importante, possibilité de déclenchement d'une crise d'angor, HTA pulmonaire, hypertrichose, etc.		Réserver le minoxidil <i>per os</i> au traitement de l'HTA sévère ayant résisté à une association comportant un diurétique et l'utiliser dans le cadre d'une trithérapie incluant ce diurétique. NB : seul représentant des vasodilatateurs musculotropes existant actuellement sur le marché pour la voie orale.

❖ **Face aux Sympatholytiques périphériques (tableau XXIII)**Tableau XXIII-Prévention des EI et les CAT face aux Vasodilatateurs musculotropes

Effets indésirables	Prévention	Conduite à tenir et traitement
Effets indésirables centraux fréquents avec manifestations dépressives, sédatives, cauchemars, symptômes extrapyramidaux et hyperprolactinémie.	Ne pas l'utiliser en première intention, ni seule à cause de la fréquence de ces effets indésirables.	NB : Elle n'existe sur le marché qu'à faible dose, sous forme d'association à un diurétique. Eviter son utilisation même dans ces conditions chez les malades ayant un antécédent d'ulcère gastroduodéal.
Dans les manifestations périphériques, augmentation de la sécrétion acide gastrique.		

1.3.4. Conseils au patient

❖ **Savoir identifier les signes de détérioration**

Les principaux signes de détérioration sont : céphalées, irritabilité, malaise général, flush vasomoteur, etc.

❖ **Informé sur la thérapeutique et son administration**

- Réexpliquer le but du traitement (normaliser les valeurs tensionnelles) et son intérêt (réduction significative des risques cardiovasculaires).
- Inciter le patient à respecter les mesures hygiéno-diététiques.
- Inciter à l'observance du traitement mais aussi à celle du suivi biologique.
- Respecter les impératifs de moments de prise quand ils existent. Lorsque la prise est unique, la réaliser le matin ; cela est d'autant plus vrai que le traitement comporte un diurétique (exception : antihypertenseurs d'action centrale sédatifs).

1.4. Traitement traditionnel de l'hypertension artérielle

Actuellement aucun MTA dans la prise en charge de l'HTA ne figure parmi les sept (7) MTA déjà mis sur le marché par le DMT. Cependant un certain nombre de recettes de plantes médicinales et de MTA ont déjà fait l'objet de recherche et sont utilisés dans la prise en charge de l'HTA.

1.4.1. Recettes et MTA déjà l'objet d'étude au DMT pour la prise en charge de l'HTA

❖ **Etude sur le Diurotrisane® (Koumaré et Keïta 1986)**

Cette recette est composée de deux plantes : 2 g d'inflorescences de *Cymbopogon giganteus* et 18 g de feuilles de *Vepris heterophylla* et/ou *Teclea sudanica*. Elle est présentée en sachet multidose de 20 g.

Le DMT a suivi d'octobre 1983 à avril 1988 quatre vingt quinze (95) patients souffrant d'HTA, âgés de plus de 25 ans ou plus sans distinction de sexe ni d'ethnie pendant 2 mois, dont seuls 35 répondant aux critères d'inclusion de l'étude ont été retenus par la suite. Le contrôle consistait d'une part à noter la présence ou l'absence des signes cliniques associées et d'autre part à enregistrer les PAS, PAD et les PA différentielles.

Les conclusions de l'étude ont été :

□ **Par rapport aux signes cliniques associés**

- Une régression du nombre de sujets ayant des vertiges du 1^{er} au 30^{ème} jour de traitement puis, une augmentation de cette proportion du 45^{ème} au 60^{ème} jour ;
- Une régression des bourdonnements d'oreille du nombre de sujets pendant les deux mois de traitement ;

- Une régression du nombre de sujets présentant des céphalées du 1^{er} au 30^{ème} jour de traitement puis une légère augmentation du 45^{ème} au 60^{ème} jour.
- Une régression du nombre de sujets présentant une asthénie du 1^{er} au 45^{ème} jour de traitement puis une légère augmentation avant le 60^{ème} jour.

□ **Par rapport aux pressions artérielles**

- Une activité hypotensive modérée après 15 jours de traitement au niveau de la PAD, plus prononcée après 30 jours et nette après 45 jours.
- Une légère activité hypotensive sur la PAS au bout de 2 mois de traitement.
- Aucun effet sur la pression artérielle différentielle.

Cependant la méthodologie employée présentait beaucoup de biais : l'étude a été menée sans témoins, les sujets retenus étaient laissés à eux-mêmes sans la garantie de la prise de médicament et l'observation de certains critères d'inclusions etc.

❖ **Etude sur le Nitrokoudang[®] (Halimatou, 2007; Ouassa, 2009)**

La recette est composée des écorces de tronc de *Sclerocarya birrea* et de *Vitex doniana*.

L'étude a permis de montrer que seul l'infusé extemporané a présenté une modeste activité diurétique. Ainsi il a été obtenu une augmentation dose-dépendante du volume urinaire, avec une importante activité à la dose de 23,44 mg/kg (plus de deux fois la dose conseillée par le tradipraticien), 161% d'excrétion urinaire volumétrique (EUV) en 6 h. L'élimination du sodium a été importante alors que le potassium a été mieux épargné chez les animaux traités par la recette. L'activité salidiurétique, le bilan Na^+/K^+ de l'infusé extemporané de la recette a été de deux (2) contre 2,62 pour le furosémide à la dose de 20 mg/kg et de 0,90 chez les souris traitées avec l'eau distillée.

Les conclusions de l'étude sur la recette ont été, de préférer l'utilisation de la préparation extemporanée qui a montré une augmentation du volume d'urine accompagnée d'une élimination du sodium tout en épargnant le potassium et que l'extrait aqueux de la recette aurait des propriétés antiradicalaires.

❖ Etude sur Phyto-HTA[®] (Halimatou, 2007)

Le Phyto-HTA est une recette constituée par le mélange de trois plantes médicinales.

L'étude a porté sur les activités diurétiques et salidiurétiques des extraits aqueux et des extraits extemporanés de la recette Phyto-HTA qui ont été évaluées respectivement par surcharge saline et hydrique chez la souris.

Les résultats montrent qu'il est préférable d'utiliser la recette Phyto-HTA à la dose de 170 mg/kg d'extrait sec, dose à laquelle il a été obtenu une excrétion urinaire de 144 % contre 140 % pour l'extrait extemporané. Cependant la même préparation extemporanée permet une meilleure élimination du sodium par rapport à l'extrait sec : 157 milliéquivalent contre 143 milliéquivalent avec un bilan salidiurétique de 2,2. Dans les mêmes conditions expérimentales le furosémide utilisé comme référence, a provoqué une augmentation du volume urinaire de 184 % à la dose de 20 mg/Kg et un bilan salidiurétique de 2,62 ; contre 0,90 chez des souris traitées avec de l'eau distillée dans les mêmes conditions.

❖ Etude sur le Kebufura[®] (Haïdara, 2008)

La recette est à la base des feuilles de *Gardenia ternifolia*. L'étude a permis de montrer que le macéré aqueux des extraits secs de la recette à la dose de 135 mg/kg a donné une importante activité diurétique et une EUV de 152,94 % contre 170,51 % pour le furosémide pris comme référence à la dose de 20 mg/kg chez des souris blanches. L'étude penche en faveur aussi d'une activité antioxydante de la recette suite à la réduction du 1'1'diphenyl-2 picrylhydrazyle (DPPH) par leurs extraits éthanoliques.

Les conclusions de l'étude montrent que la recette posséderait des vertus thérapeutiques pouvant justifier son utilisation en médecine traditionnelle contre l'HTA.

1.4.2. Plantes étudiées au DMT dans le traitement de l'HTA**❖ Etude sur *Hibiscus sabdariffa* (Arama 1988 ; Ouassa 2009)**

La première étude sur *Hibiscus sabdariffa* qui s'est déroulée en 1988, a montré une activité diurétique dose dépendante observée au bout de 6 h, chez la souris traitée avec du décocté aqueux de *H. sabdariffa* immédiatement après une surcharge sodée.

Ainsi, l'excrétion urinaire volumétrique a été de 34,16 % à la dose 100 mg/kg et 41,85 % à la dose de 200 mg/kg. Les valeurs de l'EUV étaient pratiquement égales aux doses de 100 et 200 mg/kg entre la 3^{ème} et 4^{ème} heure. Mais l'EUV a été soutenue et s'est poursuivie jusqu'à la 5^{ème} heure à la dose de 200 mg/kg,

Cependant, une légère baisse de l'EUV a été observé à la dose de 400 mg/kg soit 36,66 %. Toutefois, l'activité a été beaucoup plus importante les trois premières heures à la dose de 400 mg/kg puis accompagnée d'une légère baisse au-delà de la 3^{ème} heure par rapport à la dose de 200 mg/kg. Quant à la dose de 100 mg/kg l'activité est franche jusqu'à la 4^{ème} heure, au-delà l'évolution est beaucoup moins importante.

La deuxième étude qui s'est déroulée en 2009, a porté sur la détermination de la teneur en élément minéraux, sur les activités diurétiques et antioxydantes.

Les résultats de l'étude ont montré que la poudre des calices de *H. sabdariffa* est riche en sodium, potassium, calcium et fer.

Le décocté aussi bien lyophilisé qu'extemporané de *H. sabdariffa*, aux doses testées et dans leurs conditions expérimentales, n'a pas présenté d'activité diurétique chez les rats.

Cependant il a été observé, une activité antiradicalaire et antioxydante avec les calices de *H. sabdariffa*.

❖ Etude sur *Zizyphus mauritiana* (Sira, 2006)

Le travail a permis d'étudier la phytochimie, les activités antidiabétiques et antihypertensives des feuilles de *Zizyphus mauritiana*.

Les résultats de l'étude ont montré une activité antioxydante, hypoglycémiant et diurétique des extraits de feuilles de *Zizyphus mauritiana*.

Ainsi le décocté aqueux, les extraits éthanoliques et méthanoliques ont été les seuls a présenté une activité antioxydante.

Le macéré aqueux à la dose de 150 mg/kg a donné un pourcentage d'inhibition de 18,98 % de la glycémie.

Le même macéré aqueux utilisé à la dose 450 mg/kg a mis en évidence une activité diurétique importante dose dépendante et comparable à celle du furosémide, avec une excrétion urinaire importante de sodium. L'ionogramme sur les urines a montré pour la même dose une forte teneur en sodium et une faible teneur en potassium.

❖ Etude sur *Spondias mombin* (Guindo, 2006)

L'étude a porté sur la phytochimie, le dosage des ions, les activités antioxydantes et diurétiques ainsi que l'excrétion urinaire des écorces de tronc de *Spondias mombin*.

Les résultats de l'étude ont mis en évidence que les extraits aqueux des écorces de tronc de *Spondias mombin* ont une activité diurétique importante. L'activité diurétique la plus élevée a été obtenue avec le décocté de *Spondias mombin* aux doses de 150 et 300 mg/kg chez des souris. L'excrétion urinaire a été importante aux mêmes doses.

Le décocté de la recette après épuisement au soxhlet a présenté le plus grand nombre de substances antiradicalaires, ce qui semblerait indiquer une activité antioxydante.

Enfin le dosage des ions des poudres des écorces de tronc de *Spondias mombin* et de leurs extraits aqueux ont montré que tous les échantillons contenaient du sodium, du potassium, du calcium, du magnésium et du fer.

❖ Etude sur *Cymbopogon giganteus*, *Gynandropsis gynandra* et *Portulaca oleracea*

L'étude a porté sur les activités diurétiques des solutions extemporanées et des extraits lyophilisés des fleurs de *Cymbopogon giganteus*, des feuilles de *Gynandropsis gynandra*, et la plante entière de *Portulaca oleracea* (Haïdara, 2008).

Les tests biologiques *in vivo* ont été réalisés sur des souris blanches mise en surcharge saline dont l'EUV a été mesuré.

Les résultats de l'étude ont été les suivantes :

Pour les solutions extemporanées à la dose de 25 ml/kg (5 g/250 ml), il n'y a pas eu d'activité diurétique avec *Cymbopogon giganteus* et *Gynandropsis gynandra*. Par contre celle de l'infusé de *Portulaca oleracea* a donné une modeste activité diurétique avec une excrétion urinaire volumétrique de 135,57 %.

Quant aux extraits lyophilisés, ils ont présenté différentes activités diurétiques qui sont :

L'infusé de *Portulaca oleracea* à la dose de 37,5 mg/kg a donné une importante activité diurétique avec une excrétion urinaire de 163,10 % contre 170,51 % pour le furosémide à la dose de 20 mg/kg.

Par contre, l'infusé de *Gynandropsis gynandra* à la dose de 56 mg/kg a donné une modeste activité diurétique. Alors que le décocté de *Cymbopogon giganteus* jusqu'à la dose de 60 mg/kg n'a pas présenté d'activité diurétique.

1.5. Caractères généraux de *Hibiscus sabdariffa*

1.5.1. Systématiques (Kerharo et Adam, 1974)

Embranchement : Spermaphyte

Sous- embranchement : Angiosperme

Série : Thalamiflore

Classe : Dicotylédone

Sous-classe : Dialypétale

Ordre : Malvale

Famille : Malvaceae

Genre : *Hibiscus*

Espèce : *sabdariffa*

Nom scientifique : *Hibiscus sabdariffa* Linn

Hibiscus sabdariffa du grec *ibiskos* qui désignait la guimauve. Linné a adopté le mot pour ce genre et *sabdariffa* serait le nom donné par les turcs à cette plante.

Noms vernaculaires :

Français : Oseille de Guinée, Thé rose d'Abyssinie, Roselle

Anglais : *Sorell*

Arabe : *Karkadé*

Au Sénégal, elle est appelée en Wolof : *bissap* ; Sérère : *bondo* (Fortin, 2000).

Au Mali, en Bambara : *dakumu* ; Mandingue : *kutia* ; Peulh : *foléré* (Fortin, 2000).

1.5.2. Origine et répartition géographique

Hibiscus sabdariffa était cultivé à l'origine en Afrique. Il a été largement distribué dans les zones tropicales et subtropicales, des Indes occidentales à l'Amérique centrale et en Asie, où l'espèce s'est adaptée (Clydesdale et al., 1979).

Hibiscus sabdariffa est présent en Thaïlande, au Vietnam, en Malaisie, en Chine, au Soudan et au Mexique. Il est aussi présent dans d'autres pays, tels que l'Egypte, le Sénégal, la Tanzanie, le Mali, le Tchad et la Jamaïque, qui en produisent en petite quantité.

1.5.3. Description botanique

Hibiscus sabdariffa est une plante herbacée, annuelle à port de sous-arbrisseau atteignant 1 à 1,50 m et plus, suivant les types de l'espèce et le mode de culture.

La tige est robuste, verte ou rougeâtre suivant les variétés, glabre ou hispide, parfois avec quelques poils tuberculés épineux (**Kerharo et Adam, 1974**).

Elle porte des feuilles glabrescentes, ovales ou trilobées. Les fleurs sont axillaires de 3 à 4 cm de diamètre caractérisées par un calice à cinq sépales de 3 à 4 cm de long dont la couleur verte ou rouge correspond à celle de la tige et par une corolle à cinq pétales jaunes, mouchetés de brun-rouge. A maturité le fruit capsulaire est entouré par le calice persistant devenu charnu.

1.5.4. Constituants chimiques

Beaucoup d'études ont été menées en vue de déterminer la composition chimique des feuilles, des calices, des graines et des racines de *Hibiscus sabdariffa*. Nous allons nous intéresser particulièrement aux calices.

❖ Les calices

Les calices de *H. sabdariffa*, principales parties comestibles de la plante, ont une composition très variable. Cette variabilité peut être due à plusieurs facteurs : les conditions de culture, la nature des sols, la pluviométrie et le pays d'origine des calices (**Kerharo et Adam, 1974**).

Au Mali le dosage en éléments minéraux (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Fe^{2+}) dans 100 g de poudre des calices de *H. sabdariffa* a donné la composition suivante respectivement pour *H. sabdariffa* en provenance de Bandiagara (103,5 mg; 4041 mg; 36 mg; 22,68 mg) et pour *H. sabdariffa* en provenance de Kati (184 mg ; 2808 mg ; 24 mg ; 17,92 mg) [**Ouassa, 2009**].

L'étude de la composition en élément minéraux des calices de *H. sabdariffa* mise en parallèle avec les concentrations maximales autorisées dans l'alimentation humaine révèle une forte variabilité en fonction de la zone géographique de production. Dans ces calices, on constate la présence d'oligoéléments, tels que le chrome et le cuivre, alors que d'autres éléments tels que le plomb et le nickel n'ont été mis en évidence que dans les seuls calices des cultures du Mali (**Babalola et al., 2001 ; Maiga et al., 2005**).

Les sucres présents dans les calices de *H. sabdariffa* sont constitués de glucose, fructose et saccharose. Le glucose, avec près de 40 % des sucres totaux, est le sucre majoritaire. Ils étaient également riches en acides organiques : les acides succinique, oxalique, tartrique et malique étaient présents à des concentrations respectives de (0,51 g ; 0,43 g ; 0,17 g et 0,12 g) par 100 g. (**Wong et al., 2002**).

Les acides succiniques et oxaliques constituent les deux acides organiques majoritaires de *H. sabdariffa*. A eux deux, ils représentent 76 % des acides organiques totaux. La teneur en acide ascorbique est très variable même au sein d'espèces cultivées dans la même zone géographique comme cela a été montré au Nigéria (**Babalola et al., 2001**).

Endrias (2006) a identifié l'eugénol dans toutes les variétés. La fraction obtenue a été très riche en acides gras. Le même auteur a rapporté que des calices séchés de *H. sabdariffa* de trois pays (Vietnam, Sénégal et Mexique), par hydro-distillation montrent des variations des différents rendements en huiles essentielles, en fonction de l'origine de la matière première.

La présence de β -carotène et de lycopène à des concentrations respectives de 1,9 mg par 100 g et 164,3 μ g par 100 g de matière fraîche a été signalée dans des calices de *H. sabdariffa* (**Wong et al., 2002**), également des mucilages et des pectines (**Tsai, 1995**).

Lin et al. (2003) ont aussi montré dans les calices secs de *H. sabdariffa* la présence d'acide protocatechique et des composés polyphénoliques.

Une des caractéristiques de *H. sabdariffa* est également sa richesse en anthocyanes (calices rouges) dont la teneur peut atteindre 1,5 g par kg de calices secs, teneur supérieure à la plupart des autres végétaux comestibles (**Mazza et Miniati, 2000**).

Deux à quatre anthocyanes ont été identifiés selon les variétés de *H. sabdariffa* considérées (**Du C.T et Francis, 1973 ; Palé et al., 2004**). Il s'agit de la delphinidine-3-sambubioside ou hibiscine, la cyanidine-3-sambubioside ou gossypicyanine, la delphinidine-3-glucoside et la cyanidine-3-glucoside.

La delphinidine-3-sambubioside est l'anthocyane majoritaire responsable de la couleur rouge violette des calices. Il représente 70 % de la teneur totale en anthocyanes (**Francis, 1990**).

❖ Les graines

Les éléments trouvés dans les calices de *Hibiscus sabdariffa* se retrouvent également dans les graines, cependant leurs teneurs sont généralement plus importantes dans les graines que dans les calices (**Morton, 1987, El-Adawy et Khalil, 1994**).

L'analyse de la composition en élément minéraux des graines provenant de trois cultivars de *H. sabdariffa* a révélé que le potassium, le sodium, le magnésium et le calcium étaient les constituants majoritaires, alors que le manganèse, le fer et le zinc étaient présents en faible quantité (**Bloomfield, 1976**). Le cultivar rouge foncé a présenté les teneurs les plus élevées en potassium et en sodium.

Les graines de *H. sabdariffa* sont principalement constituées de lipides, de protéines et d'acides aminés. La teneur de la graine en huile variait selon l'origine géographique, mais la

valeur moyenne se situait entre 15 et 22 %. Dans cette huile, les composés majoritaires ont été l'acide linoléique, l'acide oléique, l'acide palmitique, l'acide stéarique et l'acide arachidonique. Les acides aminés essentiels et majoritaires des graines étaient les acides glutamiques et aspartiques, la leucine et l'arginine (**Ahmed, 1982**).

La concentration totale en acides aminés essentiels de la référence protéique de la FAO est de 36 g par 100 g de protéine, alors qu'elle est de 39,5 g par 100 g de protéine pour les graines de *H. sabdariffa* (**El-Adawy et Khalil, 1994**).

Mohamed et al. (2007) ont montré que le tocophérol le plus abondant dans l'huile de graines de *H. sabdariffa* était le γ -tocophérol. Les teneurs en γ -tocophérol, α -tocophérol et en δ -tocophérol étaient respectivement de 74,5 %, de 25 % et de 0,5 %.

❖ Les feuilles et autres parties

Les feuilles de *Hibiscus sabdariffa* pourraient constituer potentiellement, une bonne source de fer, de calcium, de magnésium, et notamment de zinc (**SENA et al., 1998**).

Les pétales secs de *H. sabdariffa* contiendraient une phytostéroline en proportion assez importante et une cire éthéro-soluble et la racine contiendrait un saponoside et de l'acide tartrique.

1.5.5. Données pharmacologiques

Les études de différents auteurs ont rapporté de nombreuses activités pharmacologiques sur les calices de *Hibiscus sabdariffa*.

Ainsi **Odigie et al. (2003)** ont démontré l'effet antihypertensif et l'effet cardio-protecteur des extraits de *H. sabdariffa in vivo*.

La mesure des activités antiradicalaires d'extraits d'anthocyanes de *H. sabdariffa*, obtenue par macération de calices dans un mélange éthanol-acide-trifluoroacétique a révélé des propriétés comparables à celles de l'acide ascorbique (**Palé et al., 2004**).

Des études sur les extraits de *H. sabdariffa* ont montré l'inhibition de l'oxydation des lipoprotéines de basse densité et la prévention de l'hyperlipidémie chez les rats (**Chen et al., 2004 ; Chang et al., 2006**).

Liu J.Y et al. (2006) ont montré l'effet protecteur des extraits de *H. sabdariffa* contre la fibrose du foie chez le rat, et **Ali et al. (2003)** ; la réduction de l'hépatotoxicité induite par le paracétamol chez les souris.

Ajay et al. (2007) ont démontré l'activité anti-athérosclérotique des extraits de *H. sabdariffa* et **Lin et al. (2003)** les effets anti-leucémique *in vitro*, antioxydants *in vivo*, et antalgiques.

1.5.6. Données toxicologiques

Kerharo (1974) avait rapporté l'absence de toxicité dans les calices charnus de *H. sabdariffa*. **Arama (1988)** a étudié la toxicité aiguë des poudres de calices de *H. sabdariffa* par voie orale sur des souris albinos et a montré que le décocté aqueux par voie orale n'était pas toxique. La DL₅₀ a été 100 fois supérieure à la dose thérapeutique.

Ali et al. (2005) ont reporté que la DL₅₀ par voie orale de l'extrait de calices de *H. sabdariffa* chez les rats a été de 5000 mg/kg.

Une étude menée au Nigeria a évalué la toxicité subaiguë de l'extrait hydroalcoolique des calices desséchés de *H. sabdariffa* sur des animaux de laboratoire, et a montré l'absence de toxicité après des administrations de 7 jours (**Fakeye, 2008**).

1.5.7. Données cliniques

Plusieurs études cliniques ont été menées sur les calices de *Hibiscus sabdariffa* un peu partout dans le monde, pour évaluer son effet antihypertensif.

Ainsi deux études cliniques, l'une en Iran et l'autre au Mexique réalisées respectivement sur 54 et 75 patients, ont mis en évidence que la consommation journalière d'extrait de *Hibiscus sabdariffa* diminuerait de manière significative la pression artérielle chez les sujets hypertendus (**Hirunpanich et al., 2006**).

Un essai contrôlé et randomisé a été fait sur 75 patients (39 pour le groupe expérimental et 36 pour le groupe témoin), âgés de 30 à 80 ans ayant une hypertension diagnostiquée et ne prenant pas de traitement antihypertenseur pendant au moins un mois.

La procédure expérimentale consistait en l'administration d'une infusion préparée avec 10 g de calices secs de *H. sabdariffa* dans 0,51 L d'eau (9,6 mg anthocyanes contenu), tous les jours avant le petit déjeuner pour le groupe expérimental et 25 mg de captopril deux fois par jour pour le groupe témoins pendant 4 semaines.

Les résultats ont montré que l'extrait standardisé de *H. sabdariffa* diminuait la PAS et la PAD et possédait un effet natriurétique. Il n'y avait pas de différences significatives entre les PA détectées dans les deux groupes de traitement. Les taux d'efficacité thérapeutique étaient de 78,95 % et de 84,38 % respectivement avec *H. sabdariffa* et le captopril, tandis que la tolérance était de 100 % pour les deux traitements.

Les données obtenues confirment que l'extrait de *H. sabdariffa*, standardisé sur 9,6 mg d'anthocyanes totales, et le captopril 50 mg/jour, n'ont pas montré de différences significatives par rapport à l'effet hypotenseur, l'efficacité antihypertensive et la tolérance (**Herrera et al., 2004**).

Une étude clinique randomisée, en double aveugle, contrôlée *versus* placebo a été menée chez 65 adultes âgés de 30 à 70 ans et légèrement hypertendus. Ces patients n'ayant pas pris de médicament pour abaisser la PA, ont été soumis à du thé de *H. sabdariffa* ou d'une boisson placebo pendant 6 semaines. L'étude a montré que le thé de *H. sabdariffa* réduit la PAS par rapport au placebo et que la PAD était également plus faible, bien que ce changement ne diffère pas de celle du placebo. Les participants ayant une PAS élevée au départ ont montré une plus grande réponse au traitement (**McKay et al., 2010**).

Un essai clinique randomisé, en double aveugle et contrôlé contre placebo a été mené chez 171 patients âgés de 25 à 61 ans et souffrant d'hypertension artérielle de stade I ou II.

Le groupe expérimental a été tous les jours traité pendant quatre (4) semaines avec 250 mg d'anthocyanes totales d'extrait sec des calices de *H. sabdariffa* et le groupe témoin avec 10 mg de lisinopril. L'analyse des résultats a montré que le traitement expérimental diminuait la PA avec une efficacité thérapeutique de 65,12 % avec une tolérance et une sécurité de 100 %. Aussi que les réductions de la PA et de l'efficacité thérapeutique étaient inférieures à celles obtenues avec le lisinopril. Elle a également montré une réduction de l'activité de l'enzyme convertissant l'angiotensine, une tendance à la réduction du sodium sérique, sans modifier des concentrations de potassium (**Herrera et al., 2007**).

Quatre études cliniques saoudiennes ont été menées sur 390 patients. Deux études ont comparé *Hibiscus sabdariffa* au thé noir; l'une au captopril et l'autre au lisinopril.

Les études ont montré que *H. sabdariffa* a eu une plus grande réduction de la pression artérielle que le thé, mais moins que les IEC.

En conclusion, Les quatre études randomisées et contrôlées ne fournissent pas de preuves fiables pour recommander *H. sabdariffa* pour le traitement de l'hypertension primaire chez les adultes (**Wahabi et al., 2010**).

1.5.8. Indications et utilisations

La composition des feuilles de *Hibiscus sabdariffa* est également propice à leurs utilisations dans l'alimentation humaine.

Au Sénégal, selon **Kerharo (1974)**, *Hibiscus sabdariffa* est utilisé comme légume (variété verte). Elle favorise la digestion et permet de lutter contre la constipation. Les calices de la variété rouge sont utilisés en médecine populaire sous forme de décocté aqueux comme diurétique, diaphorétique et cholagogue. Les feuilles sont souvent recommandées en usage externe contre les plaies et les blessures.

Selon **McClintock et al. (2004)**, ces feuilles sont utilisées au Sénégal pour fabriquer une sauce aigre, épaisse, appelée « *bëkëj* », servie avec le riz au poisson. Au Mali, elles sont bouillies pour fabriquer des sauces accompagnant différents plats à base de tubercules.

Quant aux calices, ils sont utilisés comme tisane, confitures, gelées, boissons, aromatisant et colorant (**Seaforth et Tikasingh 2005**).

En Allemagne, les calices rouges sont de plus en plus utilisés comme colorants naturels dans la confiserie, l'extrait, sous forme de filtrat concentré ou de poudre séchée, est utilisé comme colorant dans l'industrie alimentaire ou pharmaceutique.

Dans ces deux secteurs, où l'on cherche des colorants naturels aux dépens des produits de synthèse, les colorants de *Hibiscus sabdariffa* sont préférés à ceux de la betterave, d'un rouge trop foncé, ou à ceux du raisin, moins éclatant, ou encore à ceux de la cochenille qui sont trop chers (**Pouget et al., 1990**).

Les graines de *H. sabdariffa* permettent la fabrication d'huile qui est traditionnellement utilisée en cuisine au Tchad, en Tanzanie et en Chine. Elle peut entrer également dans la fabrication de savon et de produits cosmétiques (**McClintock et al., 2004**).

Au Mali (**Traore, 1983**) les graines finement écrasées et légèrement salées sont mâchées pour soulager les maux de cœur (l'envie de vomir)

2. METHODOLOGIE

2.1. Cadre d'étude

Notre étude s'est déroulée dans les services du Département Médecine Traditionnelle (DMT) pour l'étude phytochimique, le dosage et la formulation galénique, ainsi qu'au Laboratoire National de la Santé (LNS) pour le contrôle microbiologique et à la société Douteni pour la confection des infusettes.

2.1.1. Présentation du Département Médecine Traditionnelle

Le DMT est l'une des divisions de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) qui est un établissement public à caractère administratif (EPA). Le DMT encouragé par l'OMS, a pour mission de contribuer à l'amélioration de l'état de santé des populations, par l'utilisation des ressources locales, d'organiser la médecine traditionnelle, pour assurer une bonne collaboration entre les systèmes de médecine traditionnelle et médecine conventionnelle. Elle est située à Sotuba Bamako Mali, et comprend 3 services :

- Service ethnobotanique et des matières premières, chargé de la conception des herbiers et droguiers, de la culture expérimentale des plantes médicinales et de la production des médicaments traditionnels améliorés.
- Service des sciences pharmaceutiques pour la recherche scientifique (phytochimique, galénique, pharmacologie, toxicologie) des plantes utilisées en médecine traditionnelle.
Il s'occupe également de la formation des prescripteurs pour le conseil des phytomédicaments.
- Service des sciences médicales pour la consultation clinique et la dispensation des MTA.

2.1.2. Présentation du Laboratoire National de la Santé

Le LNS, établissement public à caractère scientifique et technologique, a pour mission de contrôler la qualité des médicaments, des boissons, des aliments ou toutes autres substances importées ou produites en République du Mali et destinées à des fins thérapeutiques, diététiques ou alimentaires en vue de la sauvegarde de la santé des populations humaines et animales.

A ce titre il est chargé de :

- donner son avis technique pour l'autorisation ou l'interdiction de l'usage de tout produit, médicament, aliment ou boisson à usage thérapeutique, diététique ou alimentaire ;
- prélever et analyser des échantillons dans toute unité de production, d'importation, de distribution, de conservation des médicaments, eaux, boissons divers, aliments et toutes autres substances introduites dans l'organisme humain et animal dans le but de

thérapeutique, nutritionnel ou autre et concourant à l'amélioration ou à la détérioration de l'état de santé de l'homme et de l'animal ;

- participer à la formation universitaire et post universitaire ;
- entreprendre des activités de recherches scientifiques et technologiques ;
- contribuer à l'élaboration des normes et veiller à leur application.

2.1.3. Présentation de la société Douteni

La société Douteni est une petite entreprise qui confectionne les infusettes à partir de plantes locales telles que *Vepris heterophylla*, *Hibiscus sabdariffa*, *gingiber officinalis* etc.

Elle est située à Baco Djicoroni ACI et comprend une unité de production, une unité chargée de l'achat des matières première et une unité chargée de la vente des produits finis. Les produits de la société sont commercialisés sur le marché national dans un cadre alimentaire.

2.2. Matériel végétal

Le matériel végétal a été constitué par les calices de *Hibiscus sabdariffa* (**figure 2**). Les calices ont été achetés au marché « place de Niono » le 28 août 2011 et au marché « place de Sikasso » le 30 janvier 2012. Les calices achetés provenaient tous de la localité de Banamba.

Le premier achat de calices était issu de la récolte de 2010, et le second de celle de 2011.

Les drogues ont ensuite été séchées à la température ambiante du laboratoire du DMT pendant deux semaines, et broyée au pulvérisateur de type Retsch SM 2000.



(Source : Archive de Aidemet ONG)

Figure 2 - Calices de *Hibiscus sabdariffa*

2.3. Contrôle de qualité

2.3.1. Déterminations des caractères organoleptiques et macroscopiques

Ces caractères sont l'expression ou le témoignage de qualité d'une drogue ou partie utilisée : odeur, saveur, couleur, toucher, formes et autres aspects morphologiques.

Le vieillissement des substances végétales brutes tend à atténuer et à faire disparaître ces caractères : l'odeur vire et s'estompe; la couleur s'évanouit; la saveur s'évade.

Donc après l'achat de nos calices de *H. sabdariffa*, nous avons déterminé les aspects suivants : la couleur, l'odeur, la saveur et le toucher.

2.3.2. Déterminations de la teneur en eau, cendres, substances extractibles par l'eau

Ces déterminations permettent d'apprécier la qualité des drogues par rapport à la conservation et à la contamination. Elles ont été effectuées uniquement sur les premiers achats de calices de *H. sabdariffa* issu de la récolte de 2010. A cause des coupures récurrentes de courant nous n'étions pas en mesure de bien mener nos essais sur les calices de la récolte de 2011.

❖ Matériels

- Balance analytique de précision, type Sartorius à 0,01 g près,
- Spatule, pince métallique,
- Verres de montre, creusets en silice, fioles,
- Coton, papier filtre,
- Pipettes de 1 ml, 5 ml et 10 ml,
- Tubes à essai de 10 ml et 20 ml,
- Dessiccateur, étuve de $105^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$,
- Four électrique réglé à 800°C

❖ Détermination de la teneur en eau par la méthode gravimétrique ou pondérale

□ Principe

Il consiste à déterminer la perte de la masse en eau, sur une prise d'essai de 5 g après un temps de 24 heures à l'étuve.

□ Mode opératoire

Opérer en utilisant cinq verres de montre préalablement chauffés, et les peser après refroidissement. La masse du verre de montre vide représente la tare. Peser 5 g de poudre qui sont placés dans les différents verres. Peser les verres de montres pour obtenir la masse totale avant l'étuvage. Placer les cinq verres de montre dans l'étuve à 105°C pendant 24 heures. Peser ensuite pour obtenir la masse après étuvage.

□ **Calcul**

Masse drogue essai = Masse totale avant étuvage – tare

Masse eau = Masse totale avant étuvage – Masse totale après étuvage

$$\text{Pourcentage d'eau} = \frac{\text{masse en eau}}{\text{masse drogue essai}} \times 100$$

Nous avons considéré la moyenne des cinq prises d'essais pour déterminer la teneur en eau de notre échantillon par la méthode pondérale

❖ **Détermination de la teneur en cendres**

Nous avons procédé à la détermination de la teneur des cendres totales, des cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10 % et des cendres sulfuriques.

□ **Cendres totales**

◆ **Principe**

Il repose sur la détermination des substances résiduelles non volatiles contenues dans la drogue lorsqu'un échantillon est incinéré.

◆ **Mode opératoire**

Introduire une prise d'essai de 1 à 5 g de poudre dans un creuset de quartz taré au préalable puis calciner à 600°C au four à moufle, laisser refroidir et peser.

◆ **Calcul**

Masse drogue essai = masse avant calcination – tare

Masse cendres = masse après calcination – tare

$$\text{Pourcentage cendres totales} = \frac{\text{masse cendre}}{\text{masse drogue essai}} \times 100$$

□ **Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10 %**

Ce sont les résidus obtenus après traitement des cendres totales par HCl.

◆ **Principe**

Il consiste en un dosage pondéral du résidu en faisant bouillir les cendres totales dans l'acide chlorhydrique à 10 %. C'est une évaluation du contenu de la matière végétale en élément siliceux.

◆ **Mode opératoire**

Ajouter dans un creuset en silice, 20 ml d'HCl à 10 % aux cendres totales obtenues. Les mélanger dans un erlenmeyer, puis chauffer au bain-marie pendant 10 min. Filtrer sur un papier filtre sans cendres. Laver le résidu insoluble à l'eau très chaude. Incinérer le filtre séché et le résidu insoluble dans un four à 600°C jusqu'à poids constant. Laisser refroidir et peser.

◆ **Calcul**

$$\text{Pourcentage cendres HCl} = \frac{\text{masse cendre HCl}}{\text{masse prise d'essai}} \times 100$$

□ **Cendres sulfuriques**

◆ **Principe**

Leur teneur est déterminée par dosage pondéral des sulfates non volatils obtenus par calcination de la matière végétale, préalablement mouillée avec de l'acide sulfurique à 50 %. Les sulfates résultent de la conversion des sels organiques.

◆ **Mode opératoire**

Dans un creuset sec préalablement taré (T), nous avons introduit une prise d'essai de la poudre et pesé l'ensemble (M). La poudre a ensuite été humectée avec H₂SO₄ à 50 % et laissée à l'étuve pendant 24 heures à la température de 100°C, le creuset a été porté à calcination dans un four de 600°C pendant 6 heures et pesé ensuite après refroidissement (M') .

◆ **Calcul**

$$\text{Masse cendre sulfurique} = M - M'$$

$$\text{La masse de la prise d'essai} = M - T$$

$$\text{Pourcentage cendres H}_2\text{SO}_4 = \frac{\text{masse cendre H}_2\text{SO}_4}{\text{masse prise d'essai}} \times 100$$

❖ **dosages des substances extractibles par l'eau**

Faire une décoction d'une prise d'essai (PE) de 1 g de poudre végétale dans 20 ml d'eau distillée pendant 15 min, et laisser refroidir pendant 15 min. Filtrer sur compresse stérile.

Peser une capsule vide (n), et mettre le filtrat dans cette capsule.

Evaporer à sec à l'étuve, et peser la capsule avec le résidu (n')

$$\% \text{ substances extractibles par l'eau} = \frac{(n' - n)}{1} \times 100$$

2.3.3. Contrôle de qualité microbiologique

Le contrôle de qualité microbiologique a été effectué également sur les premiers achats de calices pour les mêmes raisons évoquées ci-dessus.

❖ Plan d'étude pour la recherche microbiologique

Après une étude de recherche sur les paramètres de contrôle de qualité microbiologique des médicaments à base de plantes et sur les critères d'acceptation, nous avons essayé de définir un protocole. Ainsi nous avons élaboré un premier protocole suivant les normes établies par la Pharmacopée Européenne (Ph Eu).

Compte tenu de la disponibilité du LNS en matériels, milieux de cultures et réactifs, nous n'étions pas en mesure de faire la recherche des microorganismes comme décrit par la pharmacopée Européenne pour les médicaments à base de plantes, mais plutôt avec celles utilisés par le LNS pour la recherche des microorganismes sur les aliments.

Néanmoins nous avons gardé les critères d'acceptation de cette pharmacopée (voir Annexe).

C'est ainsi que nous avons choisi les paramètres suivants : Salmonelle, levures et moisissures, coliformes totaux (CT) et coliformes fécaux (CF) et nous avons procédé avec les méthodes de recherches de routine du LNS.

❖ Echantillonnage

Nous avons effectué un échantillonnage (**figure 3**). Le contrôle microbiologique a porté sur dix (10) échantillons constitués chacun de 50 g de poudres de calices de *Hibiscus sabdariffa*. Les échantillons ont été prélevés à différents endroits de nos lots, et à deux dates différentes à savoir le 17 janvier 2012 et le 23 janvier 2012.



Figure 3 – Échantillons

❖ Préparation des échantillons en vue de l'examen microbiologique**□ Principe**

Une quantité déterminée de l'échantillon est prélevée, et diluée dans un volume de diluant de sorte à permettre aussi une répartition uniforme que possible des microorganismes dans cet échantillon. Si nécessaire des dilutions successives au dixième sont effectuées dans l'optique d'avoir une réduction des microorganismes afin de faciliter le dénombrement après incubation.

□ Appareillage et verrerie

- Four pasteur
- Autoclave à chaleur humide
- Sachets de prélèvement
- Tubes à essais ou fioles de capacité appropriée
- Pipettes graduées à écoulement total de 1 à 10 ml (graduation : 0,1 et 0,5)
- pH-mètre (précision de lecture : $\pm 0,01$ unité de pH à 25°C)
- Balance de précision à 0,01 g près
- Réfrigérateur

□ Préparation et vérification du diluant**◆ Préparation**

Le diluant choisi est l'eau peptone tamponnée (EPT)

- Dissous dans l'eau distillée une quantité du milieu
- Chauffer ou laisser bouillir si nécessaire
- Ajuster si nécessaire le pH, après stérilisation à $7,0 \pm 0,2$ à 25°C.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

◆ Vérification

- Avant stérilisation : mesurer et ajuster le pH
- Après autoclavage : contrôler le pH, la couleur, la stérilité du milieu.

□ Mode opératoire général**◆ Prise d'essai et suspension mère ou première dilution (figure 4)**

- Dans un sachet stérile, peser 10 g de poudre avec une incertitude de ± 5 % représentatif de l'échantillon pour essai.
- Ajouter 90 ml d'EPT avec une incertitude de mesure de ± 5 %.
- Ajuster la température de l'EPT à la température proche de la température ambiante pour éviter d'endommager les micro-organismes.

- Homogénéiser le mélange avec un agitateur péristaltique en laissant les grosses particules se déposer pendant 5 minutes si nécessaire.



Figure 4 - Suspension mère préparée

◆ **Dilution décimale**

- A l'aide d'une pipette stérile et avec une incertitude de $\pm 5\%$, transvaser 1 ml de la suspension mère dans un tube de 9 ml d'EPT stérile à la température appropriée.
- Ne pas introduire la pipette dans la suspension mère de plus de 1 cm et éviter tout contact entre la pipette contenant l'inoculum et le diluant stérile.
- Mélanger soigneusement la prise d'essai et l'EPT au vortex pendant 5 à 10 seconde pour obtenir la dilution à 10^{-2} . Répéter si nécessaire ces opérations sur la dilution 10^{-2} et les dilutions décimales suivantes en utilisant à chaque dilution une nouvelle pipette stérile afin d'obtenir les dilutions 10^{-3} , 10^{-4} etc. jusqu'à l'obtention du nombre approprié de microorganismes.

◆ **Durée de conservation**

Le temps entre la fin de la préparation de la suspension mère et le moment du contact entre l'inoculum et le milieu de culture ne doit pas dépasser 45 minutes, en limitant à 30 minutes le temps séparant la préparation de la suspension mère et du début de la préparation de la des dilutions suivantes sauf indications particulières mentionnée dans la norme internationale spécifique.

❖ Dénombrement des coliformes totaux (CT)**□ Principe**

- ensemencer en profondeur le milieu gélosé lactose bilié au cristal violet et au rouge neutre (VRBL), et couler dans une boîte de pétrie avec une quantité déterminée de l'échantillon pour essai et ces dilutions décimales.
- Recouvrir avec une double couche du même milieu.
- Incuber les boîtes à $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$, et dénombrer.

□ Milieux de culture, appareil et verreries**◆ Milieux de culture**

- EPT
- VRBL

◆ Verreries

- Boîtes de pétries (90 mm) de matière plastique
- Flacons stériles
- Pipettes graduées

◆ Appareils

- Agitateur péristaltique
- Agitateur vortex
- Bain-marie thermostaté 44°C à 47°C à $\pm 2^{\circ}\text{C}$
- Etuve $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ou $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$
- Compteur de colonies
- Balances de précision $\pm 0,01\text{ g}$

□ Mode opératoire**◆ Ensemencement**

- Avec une boîte de pétri et à l'aide d'une pipette stérile, transférer dans chaque boîte 1 ml de la suspension mère.
- Répéter cette même opération avec les dilutions successives si nécessaires
- Couler dans chaque boîte de la gélose VRBL.
- Homogénéiser de sorte à permettre l'incorporation du produit dans le milieu sur toute la boîte, et faire un témoin négatif
- Laisser le milieu se solidifier et ajouter une seconde couche de la même gélose et laisser les boîtes se solidifier

◆ Incubation

Incuber à $30^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 24 ± 2 h.

◆ Lecture des boîtes et expression des résultats**✓ Lecture des boîtes****• Colonies caractéristiques**

Colonies violacées avec ou sans centre zone rougeâtre de précipitation de la bile.

Diamètres des colonies $\geq 0,5$ mm

• Note

Après incubation, compter les colonies caractéristiques pour chaque boîte contenant moins de 150 colonies caractéristiques. Au-delà de ce chiffre les colonies risquent de présenter des aspects non caractéristiques.

✓ Expression des résultats

Pour le calcul voir « Formules utilisées pour les calculs p. 80 »

❖ Dénombrement des coliformes fécaux (CF)**□ Principe**

- Ensemencer en profondeur le milieu gélosé lactose bilié au cristal violet et au rouge neutre (VRBL), et couler dans une boîte de pétrie avec une quantité déterminée de l'échantillon pour essai et ces dilutions décimales.
- Recouvrir avec une double couche du même milieu.
- Incuber les boîtes à $44^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant $24 \text{ h} \pm 2$ h, et dénombrer toutes les colonies par gramme ou par millilitre dans les boîtes de pétri choisies.

□ Milieux de culture, appareil et verreries**◆ Milieux de culture**

- EPT
- VRBL

◆ Verreries

- Boîtes de pétries (90 mm) de matière plastique
- Flacons stériles
- Pipettes graduées

◆ Appareils

- Agitateur péristaltique et agitateur vortex
- Bain-marie thermostaté 44°C à 47°C à $\pm 1^{\circ}\text{C}$
- Etuve $44^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$

- Compteur de colonies
- Balances de précision 0,01 g

□ **Mode opératoire**

◆ **Ensemencement**

- Avec une boîte de pétri et à l'aide d'une pipette stérile, transférer dans la boîte 1 ml de la suspension mère.
- Répéter cette même opération avec les dilutions successives si nécessaires.
- Couler dans chaque boîte de la gélose VRBL.
- Homogénéiser de sorte à permettre l'incorporation du produit dans le milieu sur toute la boîte, et faire un témoin négatif.
- Laisser le milieu se solidifier.
- Ajouter une seconde couche de la même gélose et laisser les boîtes se solidifier.

◆ **Incubation**

Incuber à $44^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant $24 \pm 2\text{h}$.

◆ **Lecture des boîtes et expression des résultats**

✓ **Lecture des boîtes**

• **Colonies caractéristiques**

Colonies violacées avec ou sans centre zone rougeâtre de précipitation de la bile.

Diamètres des colonies $\geq 0,5\text{ mm}$

• **Note**

Après incubation, compter les colonies caractéristiques pour chaque boîte contenant moins de 150 colonies caractéristiques. Au-delà de ce chiffre, les colonies risquent de présenter des aspects non caractéristiques.

✓ **Expression des résultats**

Pour le calcul voir « Formules utilisées pour les calculs p. 80 »

❖ **Dénombrement des levures et moisissures totaux (DLMT)**

□ **Principe**

- Ensemencer en profondeur le milieu gélosé Sabouraud, et couler dans une boîte de pétrie avec une quantité déterminée de l'échantillon pour essai et ces dilutions décimales.
- Recouvrir avec une double couche du même milieu.
- Incuber les boîtes à $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant $72\text{ h} \pm 2\text{ h}$ et dénombrer, et si nécessaire aller à $110\text{ h} \pm 2\text{ h}$ lorsque les colonies n'ont pas poussé après 72 h.

□ **Milieux de culture, appareil et verreries**

◆ **Milieux de culture**

- EPT
- Sabouraud

◆ **Verreries**

- Boîtes de pétries (90 mm) de matière plastique
- Flacons stériles
- Pipettes graduées

◆ **Appareils**

- Agitateur péristaltique, et agitateur vortex
- Bain-marie thermostaté 44°C à 47°C à $\pm 2^\circ\text{C}$
- Etuve $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$
- Compteur de colonies
- Balances de précision $\pm 0,01\text{g}$

□ **Mode opératoire**

◆ **Ensemencement**

- Avec une boîte de pétri et à l'aide d'une pipette stérile, transférer dans chaque boîte 1 ml de la suspension mère.
- Répéter cette même opération avec les dilutions successives si nécessaires
- Couler dans chaque boîte de la gélose Sabouraud
- Homogénéiser de sorte à permettre l'incorporation du produit dans le milieu sur toute la boîte, et faire un témoin négatif.
- Laisser le milieu se solidifier, et ajouter une seconde couche de la même gélose et laisser les boîtes se solidifier

◆ **Incubation**

Incuber à $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ pendant $72\text{ h} \pm 2\text{ h}$, si nécessaire aller à $110\text{ h} \pm 2\text{ h}$.

◆ **Lecture des boîtes et expression des résultats**

✓ **Lecture des boîtes**

- **Colonies caractéristiques**

Colonies blanches

- **Note**

Après incubation, compter les colonies caractéristiques pour chaque boîte contenant moins de 150 colonies caractéristiques. Au-delà de ce chiffre les colonies risquent de présenter des aspects non caractéristiques.

- ✓ **Expression des résultats**

Pour le calcul voir « Formules utilisées pour les calculs p. 80 »

- ❖ **Formules utilisées pour les calculs**

- **Cas 1 :** (nombre de colonies caractéristiques compris entre 10 et 150)

$$Ne = \frac{\Sigma C}{V((n1 + 0,1 \times n2)) \times d}$$

- **N** = nombre d'UFC par gramme ou par millilitre de produit initial
- **ΣC** = somme des colonies comptées sur les deux (2) boîtes retenues, de deux dilutions successives et dont au moins, une boîte contient au moins 10 colonies
- **V** = volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte
- **n1** = nombre de boîte considérée à la première dilution retenue
- **n2** = nombre de boîte considérée à la deuxième dilution retenue
- **d** = facteur de la première dilution retenue
- **Cas 2 :** (nombre de colonies caractéristiques inférieur à 10 mais supérieur à 4)

$$Ne = \frac{\Sigma C}{V \times n1 \times d}$$

- **Ne** = nombre d'UFC par gramme ou par ml de produit initial
- **ΣC** = somme des colonies comptées à la première dilution retenue
- **V** = volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte
- **n1** = nombre de boîte considérée à la première dilution retenue
- **d** = facteur de la première dilution retenue

- **Cas 3 :** (nombre de colonies aux premières dilutions incomptables et seule la dernière dilution est retenue)

$$Ne = \frac{\Sigma C}{V \times n1 \times d}$$

- **N** = nombre d'UFC par gramme ou par ml de produit initial
- **ΣC** = somme des colonies comptées à la dernière dilution
- **V** = volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte
- **n1** = nombre de boîte considérée à la dernière dilution retenue
- **d** = facteur de la dernière dilution retenue

- **Cas 4 :** (nombre de colonies de la première à la dernière dilution tous incomptable, donc supérieurs à 150)

$$N = 150 \times 10^x \text{ colonies caractéristiques}$$

❖ Recherche des Salmonella

□ Principe

La recherche de salmonella nécessite quatre phases successives :

◆ Pré-enrichissement en milieu liquide non sélectif

- Ensemencement de la prise d'essai dans de l'EPT (servant également de diluant).
- Incubation à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant $18 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$, nous obtiendrons la (**culture A**).

◆ Enrichissement en milieux sélectifs liquides

- Ensemencement du bouillon Rappaport-Vassiliadis avec soja (BRVS) et d'un bouillon Muller-Kauffmann au trétrathionate de novobiocine (BMKTTn) avec la (culture A).
- Incubation du BRVS à $41,5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant $24 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$ et du BMKTTn à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant $24 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$, nous obtiendrons la (**culture B**).

◆ Isolement et identification

- A partir des (cultures B) obtenues, ensemencement de deux milieux sélectifs solides : gélose xylose lysine désoxycholate (gélose XLD), et gélose Hektoen.
- Incubation du milieu XLD à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ puis examen après $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$, et du milieu Hektoen à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, et examen après $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$, nous obtiendrons les (**cultures C**).

◆ Confirmation

- Repiquer les colonies présumées être des *Salmonella* isolées avec les (cultures C).
- Confirmation au moyen des essais biochimiques et sérologiques appropriés.

□ Milieux de culture, réactifs de sérum, verreries et appareils**◆ Milieux de culture**

- Bouillon pour le pré-enrichissement : EPT
- Bouillon pour l'enrichissement : RVS et MKTTn
- Gélose pour l'isolement : XLD et Hectoen
- Gélose nutritive
- Gélose pour confirmation : gélose au citrate de fer et aux trois sucres (gélose TSI), réactifs pour la recherche de l'urée-indole, solution saline physiologique, milieu pour la décarboxylation de la L-lysine, réactif pour la réaction de Voges-Proskauer (réaction VP).

◆ Sérums

- Antisérums « O » monovalents ou polyvalents
- Antisérums « H » monovalents ou polyvalents
- Antisérums Vi

◆ Appareillage et verrerie

- Agitateur péristaltique et agitateur vortex
- Bain-marie réglable à 37°C à ± 1°C
- Etuve 37°C ± 1°C et 41,5°C ± 1°C
- Balances de précision 0,01g
- Anses bouclées, d'environ 3 mm de diamètre ou 10 µl, ou pipettes stériles
- pH-mètre, ayant une précision de réglage de ± 0,1 unité de pH de 20°C - 25°C
- Tubes à essais, ou flacons, de capacité appropriée
- Pipettes graduées ou pipettes automatiques, de 10 ml et 1 ml de capacité a nominales graduées respectivement en divisions de 0,5 ml et 0,1 ml
- Boîtes de pétrie de diamètre 90 mm

□ Mode opératoire**◆ Prise d'essai et suspension mère**

- Peser 25 g de la poudre à diagnostiquer dans un sachet stérile.
- Ajouter 225 ml d'EPT.

◆ Pré-enrichissement non sélectif

Incuber le sachet à 37°C pendant 18 h ± 2 h, nous obtiendrons la (**culture A**).

◆ Enrichissement sélectif

Transférer 0,1 ml de la (culture A) obtenue, dans un tube contenant 10 ml du BRVS et 1 ml de la même (culture A) dans un flacon contenant 10 ml du BMKTTn.

Incuber les milieuxensemencés de la façon suivante :

- BRVS à 41.5°C ± 1°C pendant 24 h ± 3 h,
- BMKTTn à 37°C ± 1°C pendant 24 h ± 3 h.

Nous obtiendrons les (**cultures B**) avec le BRVS et le BMKTTn.

◆ Isolement et identification

- A partir de la (culture B) obtenue dans le BRVS après 24 h ± 3 h d'incubation, avec une anse, ensemencer la surface d'une boîte de pétri contenant le premier milieu d'isolement sélectif (gélose XLD,) de façon à permettre le développement de colonies bien isolées.
- Opérer de même avec le deuxième milieu d'isolement sélectif (gélose Hektoen) en se servant d'une nouvelle anse et de boîtes de pétri de dimensions appropriées.
- Nous obtiendrons les (**cultures C**) avec les géloses XLD et Hektoen, à partir du BRVS.
- A partir de la (culture B) obtenue cette fois ci dans le BMKTTn après 24 h ± 3 h d'incubation, répéter les opérations décrites ci-dessus avec les deux milieux d'isolement sélectifs (gélose XLD et Hektoen).
- Nous obtiendrons les (**cultures C**) avec les géloses XLD et Hektoen, à partir du BMKTTn.
- Dans le cas du premier milieu d'isolement sélectif (gélose XLD), retourner les boites, les placer dans une étuve réglée à 37°C, et pour le second milieu d'isolement sélectif (gélose Hektoen) faire de même.
- Après 24 h ± 3 h d'incubation, examiner les boîtes afin de rechercher la présence de colonies typiques de *Salmonella*, ainsi que les colonies atypiques susceptibles d'être des *Salmonella* (voir note).
- Marquer leur position sur le dessous de la boîte.

Note

Les colonies typiques de *Salmonella* cultivées sur gélose XLD ont un centre noir et sont entourées d'un halo clair transparent rouge dû à un changement de l'indicateur de milieu. Les variantes *Salmonella* H₂S négatifs (par exemple *Salmolla paratyphi A*), cultivées sur gélose XLD sont roses avec un centre rose foncé. Les *Salmonella* lactose positif cultivées sur gélose XLD sont jaunes sans noircissement.

◆ Confirmation**✓ Choix des colonies pour la confirmation**

- Pour la confirmation, prélever, à partir de chaque boîte de chacun des milieux sélectifs au moins une colonie considéré comme caractéristique ou comme suspect.
- Ensemencer les colonies sélectionnées sur la surface de boîtes de gélose nutritive préalablement séchée, de façon à permettre le développement de colonies bien isolées.
- Incuber les boîtes ainsi ensemencées à 37°C ± 1°C durant 24 h ± 3 h.
- Utiliser les cultures pures pour les confirmations biochimiques et sérologiques.

✓ Confirmation biochimique

A l'aide d'un fil à ensemencer, ensemencer les milieux indiqués avec chacune des cultures obtenues, à partir des colonies mises en cultures sur gélose nutritive.

● Gélose au citrate de fer et aux trois sucres (TSI)

- Ensemencer la pente du milieu en stries, et le culot par pique.
- Incuber à 37°C ± 1°C durant 24 h ± 3 h, et interpréter les phénomènes se produisant de la façon suivante.

Culot

- | | |
|----------------------|--|
| - Jaune | glucose positif (utilisation du glucose) |
| - Rouge inchangé | glucose négatif (pas utilisation du glucose) |
| - Noir | formation du sulfure d'hydrogène |
| - Bulles ou fissures | formation de gaz à partir du glucose |

Pente de la gélose

- | | |
|---------------------|--|
| - Jaune | lactose et/ou saccharose positif (utilisation du lactose et/ou du saccharose) |
| - Rouge ou inchangé | lactose et/ou saccharose négatif
(ni utilisation du lactose ni du saccharose) |

Note

Les cultures caractéristiques de *Salmonella* correspondent à une pente alcaline (rouge) et un culot acide (jaune) avec formation de gaz (bulle) et (dans environ 90 % des cas) formation de sulfure d'hydrogène (noircissement de la gélose).

● Révéléateur urée-indole

C'est un milieu liquide, jaune orangé, présenté en ampoule, à repartir en petit tube. Il contient de l'urée, du tryptophane (acide aminé) et du rouge de phénol comme indicateur coloré de pH.

Ensemencer une colonie dans 1 ml de milieu, et ensemencer toujours le tube urée-indole en premier.

Après incubation, la lecture de trois (3) caractères : nécessite deux (2) réactif : Erlich Kovacs (ou James), et perchlore de fer

- la présence d'une uréase :
 - Uréase positif : milieu rose violacé
 - Uréase négatif : pas de virage, milieu jaune ou jaune orangé
 - la recherche de l'indole : pour cela diviser le milieu en 2 parties, sur une moitié ajouter 2 à 3 gouttes d'Erlich Kovacs ou James et agiter
 - Indole positif : si anneau rouge en surface
 - Indole négatif : anneau jaune
 - la recherche du tryptophane désaminase (TDA) : à l'autre moitié du tube ajouter 2 à 3 gouttes de recettes TDA (perchlorure de fer)
 - TDA positif : coloration jaune ± accentuée
 - TDA négatif : coloration jaune
-
- **Milieu de décarboxylation de la L-lysine**
 - Ensemencer le milieu liquide juste au dessous de la surface, et incuber à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durant $24 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$.
 - Une turbidité et une couleur violette après incubation indique une réaction positive. Une couleur jaune indique une réaction négative.

- **Recherche de la β -galactosidase**

- Mettre en suspension une anse de la colonie suspecte dans un tube contenant 0,25 ml de la solution saline.
- Ajouter une goutte de toluène et agiter le tube.
- Placer le tube dans le bain d'eau réglé à 37°C et l'y laisser séjourné quelques minutes (environs 5 min).
- Ajouter 0,25 ml du réactif pour la recherche de la β -galactosidase et mélanger.
- Replacer le tube dans le bain d'eau réglé à 37°C, l'y laisser séjourner 24 h \pm 3 h en l'examinant de temps en temps.
- Une couleur jaune indique une réaction positive. La réaction est souvent visible au bout de 20 min.

- **Milieu pour réaction de Voges-Proskauer (VP)**

- Mettre en suspension une anse de la colonie suspecte dans un tube stérile contenant 3 ml du milieu pour la réaction de (VP).
- Incuber à 37°C \pm 1°C durant 24h \pm 3h.
- Après incubation, ajouter deux (2) gouttes de la solution de créatine, trois (3) gouttes de la solution éthanolique de naphthol-1 et, ensuite deux (2) gouttes de la solution d'hydroxyde de potassium, en agitant après avoir ajouté chaque réactif.
- La formation d'une coloration rouge rose, à rouge brillant dans un délai de 15 min indique une réaction positive.

Confirmation sérologique

La recherche de la présence des antigènes « O », « Vi » ou « H » des Salmonelles est effectuée par une agglutination sur une lame avec les sérums appropriés, à partir de colonies pures, et après élimination des souches auto-agglutinantes.

2.4. Etudes phytochimiques

La caractérisation par les réactions en tubes a été effectuée uniquement sur l'échantillon de 2010. La caractérisation par la chromatographie sur couche mince a été faite sur les échantillons de 2010 et 2011.

2.4.1. Caractérisation par les réactions en tubes

Les réactions de caractérisation ont porté sur la recherche des principaux groupes chimiques comme les tanins, les flavonoïdes, les anthocyanes etc.

Les résultats ont été exprimés de la façon suivante :

- réactions franchement positives : + + + +
- réactions positives : + + +
- réactions moyennement positives : + +
- réactions louches : +
- réactions négatives : -

❖ Matériels utilisés

- Becher, ballon, fioles, erlenmeyer, éprouvettes graduées, entonnoir
- Pipettes de 1 ml, 5 ml et 10 ml
- Tubes à essai de 10 ml et 20 ml
- Ampoules à décanter, creusets en silice, fioles
- Coton, papier filtre
- Balance analytique de précision type sartorius
- Bain-marie Buchi 461 water Bath
- Four électrique réglé à 800°C et étuve réglée à 103 ± 2°C
- Poire, pinces, cuillère à café,
- Spectrophotomètre UV 254 - 366 nm de type abnehmbar renovable,
- Congélateur de type Zanker ;

❖ Solvants utilisés

Eau distillée, éthanol à 70 %, chloroforme.

❖ Alcaloïdes**□ Principe**

Ce sont des réactions de précipitation : les alcaloïdes sont des substances azotées d'origine végétale, à caractère alcalin ; ainsi, en présence d'acide, vont donner des sels d'alcaloïdes. Ces réactions de précipitations sont fondées sur la capacité qu'ont les alcaloïdes de se combiner avec des métaux et des métalloïdes (dans la pratique, il s'agit des composés iodés) pour donner des précipités caractéristiques. On obtient avec :

- le réactif de Boucharda : un précipité brun
- le réactif de Dragendorff : un précipité rouge orangé
- le réactif de Valser Mayer : un précipité blanc-jaunâtre

□ Mode opératoire

- A 10 g de poudre est additionné 50 ml d'acide sulfurique dilué au 1/10. Après agitation, l'ensemble a été laissé en macération pendant 24 h à la température ambiante, puis filtré.
- Dans deux tubes à essai, introduire 1 ml du filtrat et ajouter 5 gouttes de réactif de Mayer (le tétraiodomercurate de potassium) dans le premier tube et 5 gouttes de réactif de Dragendorff (le tétraiodobismuthate de potassium) dans le second tube.
- L'apparition de précipité dans les deux tubes indique la présence d'alcaloïdes.

❖ Substances polyphénoliques

La solution à analyser est un infusé aqueux à 5 % préparé à partir de 5 g de la poudre de drogue dans 100 ml d'eau distillée bouillante pendant 15 minutes.

□ Tanins**◆ Mode opératoire**

Dans un tube à essai contenant 5 ml de l'infusé, ajouter 1 ml d'une solution aqueuse diluée de $FeCl_3$ à 1 %. En présence de tanins il se développe une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

◆ Tanins catéchiques

Ajouter à 5 ml de l'infusé, 1 ml de l'éthanol chlorhydrique (5 ml d'éthanol à 95° alcoolique + 5 ml d'eau distillé + 5 ml d'HCl concentré) et porter le tout à ébullition pendant 15 minutes. En présence de tanins catéchiques, il y a formation d'un précipité rouge soluble dans l'alcool amylique.

◆ Tanins galliques

- Ajouter à 30 ml de l'infusé, 15 ml de réactif de Stiany (10 ml de formol à 40 % + 15 ml d'HCl concentré).
- Chauffer au bain-marie à 90°C pendant 15 min.
- Filtrer et saturer le filtrat avec de l'acétate 5 g de sodium pulvérisé.
- Ajouter 1 ml goutte à goutte une solution de FeCl₃ à 1 %. L'obtention de précipité montre la présence de tanins galliques.
- Filtrer et saturer 10 ml de filtrat d'acétate de sodium et ajouter quelques gouttes de FeCl₃ à 1 %. Le développement d'une teinte bleu noire indique la présence de tanins galliques non précipité par le réactif de Stiany.

□ Flavonoïdes**Mode opératoire**

A 5 ml d'infuser à 5 % présentant une coloration de départ plus ou moins foncée, ajouter un acide (5 ml de H₂SO₄) puis une base (5 ml de NH₄OH). Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu violacé en milieu basique, on peut conclure la présence d'anthocyanes.

◆ Réaction à la cyanidine**Principe**

En solution alcoolique et en présence d'hydrogène naissant par action de l'acide chlorhydrique sur du magnésium, les flavonoïdes donnent une coloration rouge orangé allant au violet.

Mode opératoire

Introduire dans un tube à essai 5 ml de l'infusé, ajouter 5 ml d'éthanol chlorhydrique (éthanol à 95 %, eau distillée, HCl concentré à parties égales en volumes), puis quelques copeaux de magnésium et 1 ml d'alcool isoamylique, L'apparition d'une coloration rose orangée (flavones), ou rose violacée (flavonones), ou rouge (flavonols, flavononols) rassemblée dans la couche surnageante d'alcool isoamylique indique la présence d'un flavonoïde libre (génine). Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavoniques.

La réaction est négative avec les chalcones, les dihydrochalcones, les aures, les catéchines et les isoflavones.

◆ Leucoanthocyanes

Effectuer la réaction à la cyanidine sans ajouter les copeaux de magnésium et chauffer pendant 15 min au bain-marie. En présence de leucoanthocyanane, il se développe une coloration rouge cerise ou violacée. Les catéchols donnent une teinte brune rouge.

❖ Dérivés anthracéniques**□ Anthracéniques libres ou quinones**

- A 1 g de poudre de drogue, ajouter 10 ml de chloroforme et chauffer pendant 3 minutes. Filtrer à chaud et compléter à 10 ml si nécessaire.
- A 1 ml de l'extrait chloroformique obtenu, ajouter 1 ml de NH_4OH dilué et agiter. La coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthraquinones libres.

Différenciation des quinones

A 1 g de poudre humectée avec H_2SO_4 à 10 % sont ajoutés 20 ml d'un mélange à volume égal d'éther et de chloroforme. Après une macération de 24 heures, 5 ml du filtrat obtenu sont évaporés à l'air libre, puis le résidu est repris par quelques gouttes d'éthanol à 95 %. Ajouter goutte à goutte une solution aqueuse d'acétate de nickel à 5 %. La réaction positive est caractérisée par la coloration rouge.

□ Anthraquinones combinés ou hétérosides**◆ O-hétérosides**

- Sur le résidu de la poudre épuisée par le chloroforme, ajouter 10 ml d'eau distillée et 1 ml d' HCl concentré.
- Placer le tube à essai dans un bain-marie bouillant pendant 15 minutes.
- Refroidir le tube à essai sous un courant d'eau froide et filtrer.
- Prélever 5 ml de ce filtrat et ajouter 5 ml de chloroforme ; soutirer la phase organique après agitation. A la phase organique, ajouter 1 ml de NH_4OH dilué à 50 %. Une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines O-hétérosides.
- La réaction négative ou faiblement positive conduit à la recherche de :

O-hétérosides à génines réduites

- A 5 ml du filtrat précédent, ajouter 4 à 5 gouttes de FeCl_3 à 10 %.
- Chauffer au bain-marie pendant 5 minutes et refroidir sous un courant d'eau.
- Extraire avec 5 ml de chloroforme la phase organique, ajouter 1 ml de NH_4OH dilué à 50 %. En présence des anthranols ou des anthrones, la coloration rouge est plus intense que précédemment.

◆ C-hétérosides

La solution à analyser est la phase aqueuse obtenue avec la solution à analyser des O-hétérosides.

- A cette solution ajouter 10 ml d'eau distillée et 1 ml de FeCl_3 . Chauffer au bain-marie pendant 30 minutes et refroidir sous un courant d'eau.
- Agiter avec 5 ml de CHCl_3 . Soutirer la phase chloroformique et y ajouter 1 ml de NH_4OH dilué à 50 %. L'apparition d'une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines de C-hétérosides.

❖ Stérols et triterpènes

L'extrait obtenu à partir d'une macération en 24 heures de 1 g de poudre et 20 ml dans d'éther servira en plus à la recherche de coumarines et de caroténoïdes.

Après filtration compléter le macéré à 20 ml.

Mode opératoire

- Prélever 10 ml de ce macéré à évaporer jusqu'à sec dans une capsule, puis dissoudre le résidu dans 1 ml d'anhydride acétique et 1 ml de chloroforme.
- Partager cette solution dans deux (2) tubes à essai.
- Mettre au fond d'un des tubes à l'aide d'une pipette de 1 ml d'acide sulfurique concentré, l'autre servira de témoin. A la zone de contact des deux liquides la formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet avec la couche surnageante (verte ou violette), révèle la présence de stérols et triterpènes.

❖ Caroténoïdes

Prélever 5 ml de l'extrait et évaporer jusqu'à sec, ajouter 2 à 3 gouttes d'une solution saturée de trichlorure d'antimoine (SbCl_3) dans le chloroforme. Il se développe en présence de caroténoïdes une coloration bleue devenant rouge par la suite.

❖ Coumarines

5 ml d'extrait éthéré obtenue après une macération de 24 h est évaporé jusqu'à sec, puis repris avec 2 ml d'eau chaude. Partager la solution entre deux tubes à essai.

L'un des tubes servira de témoin ; ajouter dans l'autre tube 0,5 ml de NH_4OH à 25 %, mélanger et observer de la fluorescence sous UV à 366 nm. Une fluorescence bleue, intense dans ce dernier indique la présence de coumarines.

❖ Hétérosides cardiotoniques

- A 1 g de la poudre de drogue, ajouter 10 ml de l'éthanol à 60 %, et 5 ml d'une solution d'acétate neutre de plomb à 10 %; porter au bain-marie bouillant pendant 10 minutes.
- Ajouter 10 ml de chloroforme et après agitation, soutirer la phase organique et la partager entre trois (3) tubes à essais.
- Faire évaporer ces derniers au bain-marie bouillant jusqu'à sec et reprendre le résidu de chaque tube avec 0,4 ml d'isopropanol.
- Ajouter dans le premier tube 1 ml de réactif de Baljet, dans le second tube 1ml de réactif de Kedde et 1 ml de réactif de Raymond-Marthoud dans le troisième.
- Introduire dans chaque tube 5 gouttes de KOH à 5 % dans l'éthanol et observer après 10 minutes environ. En présence des hétérosides cardiotoniques, il se développe dans le tube au réactif de Baljet une coloration orangée, une coloration rouge violacée dans le tube au réactif de Kedde et enfin une coloration violette fugace dans celui au réactif de Raymond.

❖ Saponosides

Faire une décoction à 1 % de 15 min. Introduire dans 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10 successivement (1, 2, 3, jusqu'à 10 ml) du filtrat et compléter à 10 ml avec de l'eau distillée le contenu des neufs (9) premiers tubes. Agiter chaque tube pendant 15 secondes dans le sens de la longueur à raison de deux agitations par seconde, puis laisser au repos pendant 15 min. Mesurer au bout de ce temps la hauteur de la mousse. L'indice de mousse (I_m) se calcule à partir du numéro du tube (N) dans lequel la hauteur de la mousse est de 1 cm.

$$I_m = \frac{1000}{N}$$

❖ Composés réducteurs

Préparer une décoction aqueuse à 10 % pendant 15 min, évaporer 5 ml de filtrat à sec au bain-marie. Ajouter au résidu obtenu 1 ml de réactif de Fehling (0,5 ml réactif A + 0,5 ml réactif B, mélange extemporané).

L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence de composés réducteurs.

❖ Oses et holosides

Evaporer à sec au bain-marie 5 ml du décocté obtenu dans la réaction précédente. Ajouter 2 à 3 gouttes d'acide sulfurique concentré, puis au bout de 5 min 3 à 4 gouttes de l'éthanol saturé avec du thymol.

Le développement d'une coloration rouge révèle la présence d'oses et holosides.

❖ Mucilages

A 1 ml du décocté aqueux à 10 %, ajouter de 5 ml de l'éthanol absolu. L'obtention d'un précipité floconneux, par mélange, indique la présence de mucilages.

❖ Hétérosides cyanogénétiques

Un mélange à volume égal d'eau et 5 ml de toluène est ajouté à 1 g de la poudre de drogue. Agiter et bien nettoyer la partie supérieure du tube à essai, enfin d'y fixer à l'aide d'un bouchon le papier picrosodé fraîchement préparé. La présence d'hétérosides cyanogénétiques est indiquée par la coloration rouge plus ou moins rapide de ce papier.

2.4.2. Extractions aqueuses

Nous avons utilisé deux poudres de granulométries différentes (poudre grossière et fine) des calices de *Hibiscus sabdariffa*. La poudre grossière a été constituée par le premier calice acheté à la « place de Niono » et la poudre fine par le second acheté à la « place de Sikasso ».

❖ Matériels

- Balance analytique de précision de type Sartorius à 0,01 g près
- Ballons, fioles, éprouvettes graduées, entonnoir
- Lyophilisateur type Heto Drywinner
- Rotavapor de type Buchi R-200
- Four électrique, spatule métallique, compresse 40 cm x 40 cm

❖ Extraction du décocté

A 10 g de poudre végétale des calices de *H. sabdariffa*, nous avons ajouté 500 ml d'eau distillée. Le tout a été porté à ébullition pendant 10 min dans un ballon. Après refroidissement à la température ambiante du laboratoire, nous avons filtré sur compresse 40 cm x 40 cm, et mesuré le volume du filtrat. Le filtrat ainsi obtenu, a été concentré au Rotavapor à la température de 55 °C (**figure 5**). Le filtrat concentré a été lyophilisé avec le lyophilisateur (**figure 6**), puis nous avons calculé le rendement avec la formule suivante.

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{masse du lyophilisat}}{\text{masse prise d'essai}} \times 100$$

Les extraits secs ainsi obtenus, ont été conservés dans des flacons en verre, stériles pour la chromatographie sur couche mince (CCM) et l'activité antiradicalaire.



Figure 5 – Rotavapor



Figure 6 - Lyophilisateur

❖ Extraction de l'infusé

Dans un bécher, nous avons porté à ébullition 500 ml d'eau distillée. Après nous avons ajouté 10 g de poudre végétale des calices de *H. sabdariffa*, puis laissé infuser pendant 5 min. Après refroidissement, la solution obtenue a été filtrée et le volume du filtrat mesuré. Ensuite nous avons procédé comme avec la forme décoté.

2.4.3. Caractérisation par la chromatographie sur couche mince

❖ Principe

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption. La phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium.

Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant de migration.

Lorsque la plaque sur laquelle on a déposé l'échantillon est placée dans la cuve, l'éluant monte à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité. En outre, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse derrière le front du solvant.

Les composés se déplacent donc alternativement de la phase stationnaire à la phase mobile, l'action de rétention de la phase stationnaire étant principalement contrôlée par des phénomènes d'adsorption. Généralement, en chromatographie sur couche mince, les substances de faible polarité migrent plus rapidement que les composants polaires.

❖ Matériels

- Balance analytique de précision de type Sartorius
- cuve de migration en verre avec couverture étanche,
- Solvant de migration
- Lampe à Ultra Violet
- Crayon de papier
- Eprouvettes graduées
- Micropipettes de 10 µl
- Pince pour plaque
- Plaque de silice (silicagel G₆₀F₂₅₄)
- Papier aluminium
- Règle graduée
- Séchoir électrique

❖ Mode opératoire**□ Préparation des extraits**

Nous avons introduit 50 mg de chaque extrait aqueux dans des petits flacons stériles. Nous avons ajouté ensuite du méthanol dilué à 50 %, et nous avons agité jusqu'à homogénéité.

□ Les systèmes de solvants

- Acétate d'éthyle – Méthyl-éthyl-cétone – Acide formique – Eau (Acoét – MEC – AF – Eau) dans les proportions (50 : 30 : 10 : 10),
- Butanol - Acide acétique - Eau (BAW) dans les proportions (60 : 15 : 25).

□ Dépôt des différents extraits

L'échantillon (10 µl) est déposé à l'aide d'une micropipette, en appuyant légèrement l'extrémité de la pipette sur la couche d'adsorbant, en prenant soin de ne pas la détériorer.

Les solutions ont été déposées sous forme de point distant de 1,5 cm les unes des autres et situées à environ 1 cm de la partie inférieure de la plaque.

Chaque dépôt a été séché à l'aide d'un séchoir.

□ Développement de la plaque

La plaque a été introduite en position verticale dans la cuve de migration restée fermée pendant le développement. Lorsque la position du front de solvant arrive à environ 1 cm de l'extrémité supérieure de la plaque, celle-ci est retirée de la cuve. Le niveau atteint par le solvant est marqué par un trait fin, puis la plaque est séchée à l'air libre.

Après le séchage, les plaques ont été observées à l'œil nu, et ensuite à l'UV 254 nm et 366 nm. Les taches observées ont été encerclées au crayon, en traits peins pour les taches détectées à l'UV 254 nm et en traits pointillés pour les taches détectées à l'UV 366 nm.

Nous avons calculé pour chaque tâche les facteurs de rétention avec la formule suivante.

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par la substance}}{\text{Distance parcourue par le solvant}}$$

Le rapport frontal des composés détectés à l'UV 254 nm, 366 nm et après révélation a été calculé et les couleurs notées.

NB : le rapport frontal est toujours inférieur ou égal à un (1).

□ Observation

Les plaques ont été séchées puis observées à l'œil nu, et ensuite à l'UV 254 nm et 366 nm.

□ Révélation

La révélation des chromatogrammes a été faite avec le réactif de Godin et le FeCl_3 .

2.4.4. Caractérisation des constituants antiradicalaires

L'activité antiradicalaire a consisté en la révélation de chromatogrammes avec une solution de 1,1'-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH).

❖ Principe

Le test repose sur la réduction du radical 1,1'-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH) par les substances antiradicalaires.

❖ Mode opératoire

Ce test consiste à déposer les produits à tester sur des plaques de CCM en aluminium recouvertes de gel de silice $\text{G}_{60}\text{F}_{254}$ et à les développer dans des systèmes de solvants appropriés. Après séchage, les plaques sont révélées avec une solution méthanolique de DPPH à 2 mg/ml. Les activités antiradicalaires apparaissent sous forme de spots de couleur jaune blanc sur fond violet.

2.5. Formulations galéniques

2.5.1. Confection des sachets-doses

La confection des sachets-doses a été faite au DMT. Nous avons confectionné les sachets-doses de 10 g, et les conditionnés par paquet de 14 sachets-doses.

❖ Matériels utilisés

- Balance analytique de précision de type Sartorius
- Thermo-soudeuse
- Couteau, ciseaux et cuillerée à soupe
- Gaine plastique
- Etiquettes et notices

❖ Mode opératoire

- Découpages des sachets et des étiquettes
- Étiquetages des sachets
- Dosages
- Collages des sachets
- Embaquetages
- Notifications
- Recollage

2.5.2. Confection des infusettes

Les infusettes ont été confectionnées à la société Douteni. Nous avons conditionnées les poudres de calices de *Hibiscus sabdariffa* dans des sachets stériles au DMT. Chaque sachet contenait de poudres de calices de *H. sabdariffa*, et ensuite nous les avons apportés à la société Douteni pour la confection des infusettes.

C'est ainsi, que nous avons opté de faire des infusettes contenant 3,5 g de poudres grossières de calices de *H. sabdariffa*, ayant comme objectif d'avoir avec trois infusettes 10,5 g.

Après la confection des infusettes, le conditionnement a été fait au DMT.

2.5.3. Confection des étiquettes et des notices

Au préalable, nous avons essayé de définir un nom pour notre produit, en combinant un nom en langue Bambara de la plante (*dah*), la forme d'utilisation (tisane), l'activité (hypotenseur) et la maladie contre laquelle il est indiqué (hypertension artérielle).

Les propositions de noms ont été les suivantes : *Dah* Tisane, Hypotisane, *Dah* Anti-HTA et Tension *Kala*.

Ces propositions ont ensuite été soumises aux appréciations d'un certain nombre de personnes (pharmaciens, médecins, communicateurs, utilisateurs). Le nom le plus cité a été retenu pour faire les étiquettes et les notices.

NB : nous avons pu définir aussi dans « DAH » le sigle suivant :

- D : Diurétique
- A : Anti
- H : Hypertension

2.6. Contrôle de qualité sur le produit fini

2.6.1. Essais d'uniformité de poids sur les infusettes

Nous avons choisi vingt (20) infusettes de façon aléatoire et nous avons déterminé le poids de chacune. Après nous avons déconditionné quelques infusettes, pour déterminer le poids du papier filtre, afin de pouvoir calculer le poids net de poudre contenue dans chaque infusette.

2.6.2. Détermination de rendement sur les infusettes

Nous avons déterminé le poids deux (2) infusettes, et nous avons calculé le volume d'eau distillée correspondant par rapport à notre prise de départ (10 g de poudre dans 500 ml).

Dans un bécher, nous avons porté à ébullition ce volume d'eau distillée, et nous avons ensuite mis les deux (2) infusettes, puis laissé infuser pendant 5 min.

Après refroidissement, la solution obtenue a été filtrée et le volume du filtrat mesuré. Ensuite nous avons procédé de la même manière lors de la détermination de rendement et de concentration ci-dessous avec les formes infusé et décocté.

3. RESULTATS

3.1. Résultats du contrôle de la qualité des poudres de calices de *H. sabdariffa*

3.1.1. Résultats des Caractéristiques organoleptiques et macroscopiques

Les calices étaient secs, rouges et avec un goût acide. Nous n'avons ni senti d'odeur particulière, ni observé d'autres aspect laissant penser à une éventuelle dégradation.

3.1.2. Résultats des dosages

Les résultats des dosages effectués sur les échantillons de poudres de calices *H. sabdariffa* sont consignés dans le **tableau XXIV**.

Tableau XXIV – Résultats des dosages des calices de *H. sabdariffa*

Dosages (%)	Poudre de calice de <i>Hibiscus sabdariffa</i>
Teneur en eau	
Méthode gravimétrique	10,86
Substances extractibles par l'eau	18
Teneur en cendres	
Cendres totales	14,39
Cendres chlorhydriques	6,56
Cendres sulfuriques	17,66

Nous constatons que la teneur a été supérieure à 10% par la méthode gravimétrique et que le plus grand pourcentage de cendres a été de 17,55% pour les cendres sulfuriques et le plus petit avec 6,56% pour les cendres chlorhydrique.

3.1.3. Résultats du contrôle de qualité microbiologique

❖ Résultats du dénombrement des coliformes totaux (CT)

Les résultats concernant le dénombrement des CT sont consignés dans le **tableau XXV**.

Tableau XXV – Dénombrement des CT sur les poudres de calices de *H. sabdariffa*

N° échantillon	Date début essais	Dilutions			Résultats
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
Echantillon 1	31-01-2012	6	2	0	60 UFC
Echantillon 2	31-01-2012	12	0	0	120 UFC
Echantillon 3	07-02-2012	0	0	0	0
Echantillon 4	07-02-2012	0	0	0	0
Echantillon 5	14-02-2012	0	0	0	0
Echantillon 6	14-02-2012	0	0	0	0
Echantillon 7	21-02-2012	0	0	0	0
Echantillon 8	21-02-2012	0	0	0	0
Echantillon 9	28-02-2012	0	0	0	0
Echantillon 10	28-02-2012	0	0	0	0

Nous avons dénombré le plus grand nombre de colonies de CT à notre 2^{ème} essai à la première dilution, le plus petit nombre au 1^{er} essai et le reste de nos essais a donné des résultats nuls.

❖ Résultats du dénombrement des coliformes fécaux (CF)

Les résultats concernant le dénombrement des CF sont consignés dans le **tableau XXVI** :

Tableau XXVI – Dénombrement des CF les poudres calices de *H. sabdariffa*

N° échantillon	Date début essais	Dilutions			Résultats
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
Echantillon 1	31-01-2012	0	0	0	0
Echantillon 2	31-01-2012	0	0	0	0
Echantillon 3	07-02-2012	0	0	0	0
Echantillon 4	07-02-2012	0	0	0	0
Echantillon 5	14-02-2012	0	0	0	0
Echantillon 6	14-02-2012	0	0	0	0
Echantillon 7	21-02-2012	0	0	0	0
Echantillon 8	21-02-2012	0	0	0	0
Echantillon 9	28-02-2012	0	0	0	0
Echantillon 10	28-02-2012	0	0	0	0

Nous n'avons pas dénombré de colonies avec les CF, donc tous nos essais nous ont donné des résultats nuls.

❖ Résultats du dénombrement des levures et moisissures totaux (DLMT)

Les résultats concernant le dénombrement des levures et moisissures totaux sont consignés dans le **tableau XXVII**.

Tableau XXVII – DLMT des poudres de calices de *H. sabdariffa*

N° échantillon	Date début essais	Dilutions			Résultats
		10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	
Echantillon 1	31-01-2012	0	0	0	0
Echantillon 2	31-01-2012	0	0	0	0
Echantillon 3	07-02-2012	36	12	2	4363 UFC
Echantillon 4	07-02-2012	38	6	2	4000 UFC
Echantillon 5	14-02-2012	15	8	0	2090 UFC
Echantillon 6	14-02-2012	2	0	0	20 UFC
Echantillon 7	21-02-2012	13	6	2	1727 UFC
Echantillon 8	21-02-2012	50	15	3	5090 UFC
Echantillon 9	28-02-2012	10	6	3	1454 UFC
Echantillon 10	28-02-2012	16	7	3	2090 UFC

Nos deux premiers essais ont donné des résultats nuls à toutes les dilutions. Tandis que nous avons dénombré le plus grand nombre de colonies de moisissures et du nombre de levures au 8^{ème} essai à la deuxième et troisième dilution, et le plus petit nombre au 6^{ème} essai à la deuxième dilution. Tous ces résultats sont inférieurs à la limite autorisé qui est de 10⁴ UFC/g ou ml, et 10⁵ UFC/g ou ml de levures et moisissures totaux dénombrées, selon que l'emploi du médicament à base de plantes fait intervenir respectivement de l'eau bouillante ou non.

❖ Résultats de la recherche des salmonelles

La recherche des salmonelles a été négative dans tous les échantillons analysés. Dans la majorité de nos essais nous n'avons pas observé de germes ni sur la gélose XLD, ni sur la gélose Hectoen. Cependant au 3^{ème} ; 7^{ème} et 8^{ème} essai ; où nous avons observé des germes soit sur Hectoen et/ou sur XLD, nous n'avons pas isolé de colonies de suspect ou présumés être de salmonelles. Ce résultat est conforme aux normes, qui exigent l'absence totale de salmonelles dans les préparations des médicaments à base de plantes.

3.2. Résultats des études phytochimiques

3.2.1. Résultats de la caractérisation par les réactions en tubes

Les groupes chimiques caractérisés dans les poudres de calices de *Hibiscus sabdariffa* sont reportés dans le **tableau XXVIII**.

Tableau XXVIII - Résultats groupes chimiques présents dans les calices de *H. sabdariffa*

Groupe chimique	Coloration	Intensité
Coumarines (U V 366 nm)	Fluorescence verte	++
Tanins (FeCl ₃ à 1%)	Bleu noirâtre	++
Tanins (HCl concentré)	Précipité rouge soluble	++
Tanins catéchiques (Stiany)	Précipité rouge	+++
Tanins galliques après (Stiany)	Bleu noirâtre	++++
Flavonoïdes : génines flavoniques	Rose orangée	++
Saponosides	Présence de mousse	++
Hétérosides cardiotoniques	Violette (Raymond), orange (Baljet)	+
Stérols et triterpènes (Liebermann)	Anneau violet	+
Oses et Holosides	Rouge	++
Mucilages	Précipité floconneux	+++
Anthocyanes	Rouge bleu	++
Leucoanthocyanes	Rouge cerise	++

Les mucilages et les tanins ont donné des réactions positives, alors que les anthocyanes, les flavonoïdes et les saponosides ont donné des réactions moyennement positives.

Par contre, les alcaloïdes, les caroténoïdes et les anthracénosides ont été absents dans l'échantillon analysé. L'indice de mousse a été de **166,66**

3.2.2. Résultats des extractions aqueuses

Les résultats (**tableau XXIX**) nous renseignent sur les volumes de filtrat, la masse de l'extrait sec après lyophilisation, ce qui nous a permis de calculer les rendements et les concentrations.

Tableau XXIX - Résultats des extractions aqueuses

Calices de <i>Hibiscus sabdariffa</i> (poudre grossière)				
	Volume du filtrat (ml)	Masse du lyophilisat (g)	Rendement (%)	Concentration (mg/ml)
Décocté 1	380	5,76	57,60	15,16
Décocté 2	350	5,82	58,20	16,63
Décocté 3	370	5,71	57,10	15,43
Moyenne	366,66	5,76	57,63	15,74
Infusé 1	465	5,08	50,80	10,92
Infusé 2	450	5,29	52,90	11,76
Infusé 3	460	5,63	56,3	12,24
Moyenne	458,33	5,33	53,33	11,64
Calices de <i>Hibiscus sabdariffa</i> (poudre fine)				
	Volume du filtrat (ml)	Masse du lyophilisat (g)	Rendement (%)	Concentration (mg/ml)
Décocté 1	390	5,32	53,20	13,64
Décocté 2	395	5,88	58,80	14,89
Décocté 3	395	5,57	55,70	14,10
Moyenne	393,33	5,59	55,90	14,21
Infusé 1	445	6,18	61,80	13,89
Infusé 2	445	5,64	56,40	12,67
Infusé 3	430	5,46	54,60	12,70
Moyenne	440	5,76	57,60	13,09

Nous remarquons que tous les rendements ont été supérieurs à 50 %, et que toutes les quatre formes contiennent plus de 10 mg/ml de constituants de calices de *H. sabdariffa*.

Aussi que la forme décocté a donné les meilleurs rendements avec la poudre grossière par rapport à l'infusé, alors qu'avec la poudre fine c'est l'inverse qui s'est produit.

Les figures (7) et (8) donnent une nette appréciation des rendements et des concentrations.

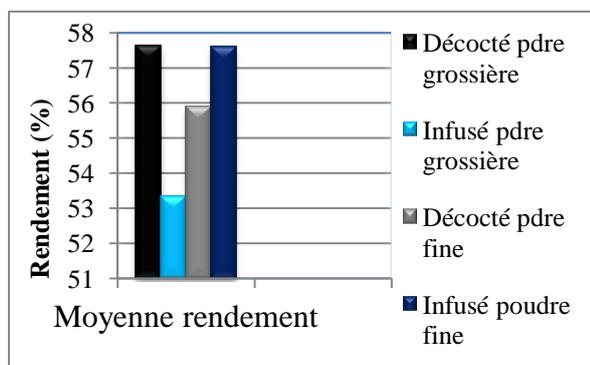


Figure 7 – Rendements des extraits

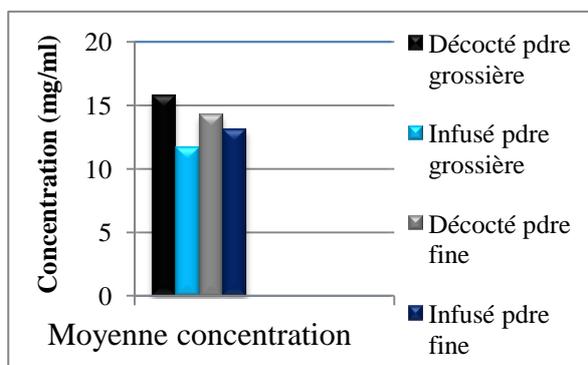


Figure 8 – Concentrations en constituants

3.2.3. Résultats de la caractérisation par la chromatographie sur couche mince

❖ Dans le système Butanol – Acide acétique – Eau (BAW) [60 : 15 : 25]

Les résultats de la CCM avant et après révélation sont consignés dans le **tableau XXX**

Tableau XXX - CCM des extraits de *H. sabdariffa* dans le système BAW

Extraits	Rf	Systèmes de révélations				
		Œil nu	254 nm	365 nm	Godin	FeCl ₃
Extrait obtenu à partir des calices de <i>H. sabdariffa</i> (Poudre Grossière)						
Décocté	0,13	Orange clair				Rouge clair
	0,25	Violet clair	Violet			Rouge
	0,34	Bleu violacé	Bleu			Rouge
	0,48	Bleu	Bleu clair			Jaunâtre
	0,56					
	0,66					
	0,75			Bleu fluorescent		
	0,84					
Infusé	0,12	Orange clair				Rouge clair
	0,25	Violet clair	Violet	Violet foncé		Rouge
	0,34	Bleu violacé	Violet clair	Gris clair		Rouge
	0,48	Bleu	Bleu clair			Jaunâtre
	0,56					
	0,66		Jaune	Bleu fluorescent		
	0,81		orangé			
Extrait obtenu à partir des calices de <i>H. sabdariffa</i> (Poudre fine)						
Décocté	0,13	Rose orangé				Rouge clair
	0,25	Violet foncée	Violet	Sombre		Rouge
	0,34	bleue	Violet clair	Gris clair		Rouge
	0,48	Bleu foncé	Bleu			Noir
	0,66					
	0,75					
	0,81			Bleu fluorescent		
Infusé	0,13	Rose orangé				Rouge clair
	0,25	Violet foncée	Violet	Sombre		Rouge
	0,34	Bleu	Violet clair	Gris clair		Rouge
	0,49	Bleu foncé	Bleu			Noir
	0,56					
	0,66					
	0,75			Bleu fluorescent		
	0,81					

La coloration jaune des taches avec le réactif de Godin, oriente vers les flavonoïdes, et la coloration rouge vers les anthocyanes. Avec le FeCl₃, la coloration noire des taches, oriente vers des substances polyphénoliques, spécifiquement les tanins.

La coloration violette et bleue des taches visible à l'œil nu oriente vers les anthocyanes.

Les figures 9, 10, 11, 12, 13 et 14 permettent une meilleure appréciation des différents chromatogrammes.

Figures 9 et 10 : Chromatogrammes des extraits polaires révélés par le réactif de Godin

Front du solvant : 8 cm

Support : plaque de silice G₆₀F₂₅₄

Dépôt : 10 µl

Eluant : Système BAW (60 – 15 – 25)

Révélateur : Réactif de Godin

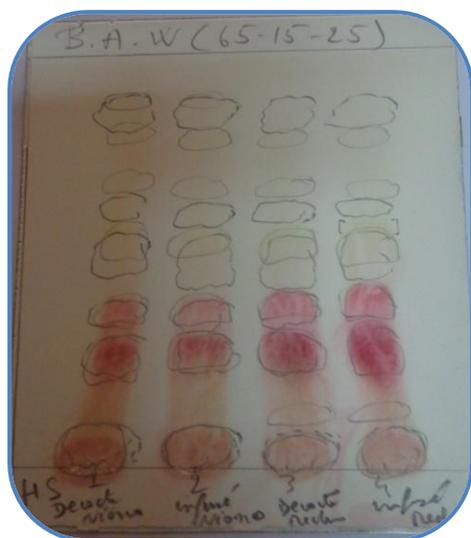


Figure 9 – Chromatogramme photographié

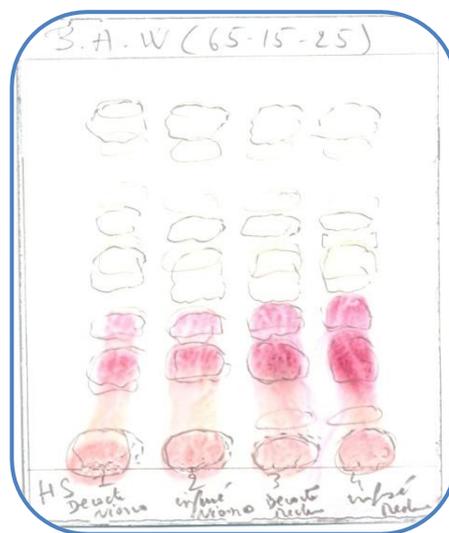


Figure 10 – Chromatogramme scanné

Figures 11 et 12 : Chromatogrammes des extraits polaires observés à l'œil nu

Front du solvant : 8 cm

Support : plaque de silice G₆₀F₂₅₄

Dépôt : 10 µl

Eluant : Système BAW (60 – 15 – 25)

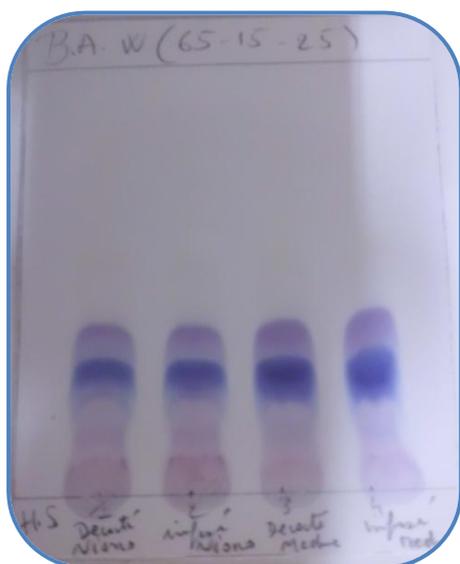


Figure 11 – Chromatogramme photographié

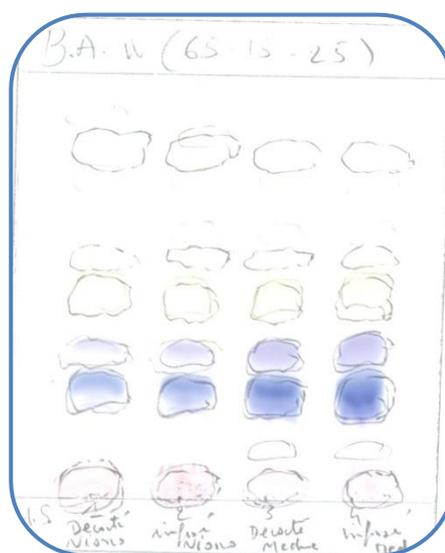


Figure 12 – Chromatogramme scanné

Figure 13: Chromatogramme des extraits polaires révélé par le FeCl_3
Front du solvant : 8 cm
Support : plaque de silice $\text{G}_{60}\text{F}_{254}$
Dépôt : 10 μl
Eluant : Système BAW (60 – 15 – 25)
Révéléteur : FeCl_3

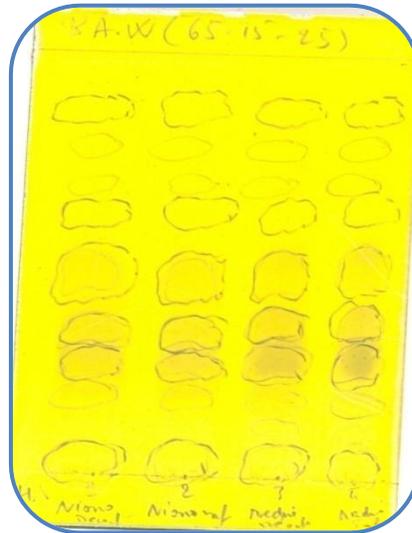


Figure 13 – Chromatogramme scanné

Figure 14: Chromatogramme des extraits polaires observé à l'UV 365 nm
Front du solvant : 8 cm
Support : plaque de silice $\text{G}_{60}\text{F}_{254}$
Dépôt : 10 μl
Eluant : Système BAW (60 – 15 – 25)
Révéléteur : UV 365 nm



Figure 14 – Chromatogramme observé sous UV à 365 nm

❖ Dans le système Acétate d'éthyle – Méthyl-éthyl-cétone – Acide formique – Eau
(Acoét – MEC – AF – Eau) [50 : 30 : 10 : 10]

Les résultats de la CCM avant et après révélation sont consignés dans le **tableau XXXI**

Tableau XXXI - CCM des extraits de *H. sabdariffa* dans le système Acoét –ME– AF - Eau

Extraits	Rf	Systèmes de révélations			
		Œil nu	254 nm	365 nm	FeCl ₃
Extrait obtenu à partir des calices de <i>H. sabdariffa</i> (Poudre Grossière)					
Décocté	0,08	Bleu clair	Violet	Violet foncé	Noir
	0,15		Violet clair		
	0,25	Violet clair			
	0,37				
	0,44		Jaune orangé	Bleu clair	
	0,59				
	0,69	Vert olive			
Infusé	0,14	Bleu clair	Violet	Violet foncé	Noir
	0,25	Bleu très clair	Violet clair		
	0,38	Violet			
	0,47	Orange			
	0,56				
	0,66	Vert olive	Jaune orangé	Bleu clair	
	0,90				
Extrait obtenu à partir des calices de <i>H. sabdariffa</i> (Poudre fine)					
Décocté	0,25	Bleu clair	Violet	Violet foncé	Noir
	0,33	Violet	Violet clair		
	0,44	Violet clair			
	0,53				Noir
	0,63		Jaune orangé	Bleu clair	
	0,88	Vert olive			
Infusé	0,21	Bleu clair	Violet	Violet foncé	Noir
	0,34	Violet	Violet clair		
	0,43	Violet clair			
	0,53				Noir
	0,63		Jaune orangé	Bleu clair	
	0,84	Vert olive			
	0,93				

La coloration noire des taches avec le FeCl₃, oriente vers des substances polyphénoliques spécifiquement des tanins.

Les figures 15, 16, 17, 18, et 19 permettent une meilleure appréciation des différents chromatogrammes.

Figures 15 et 16 : Chromatogrammes des extraits polaires observés à l'œil nu

Front du solvant : 8 cm

Support : plaque de silice G₆₀F₂₅₄

Dépôt : 10 µl

Eluant : Système Acoét – MEC – AF – Eau (50 : 30 : 10 : 10)

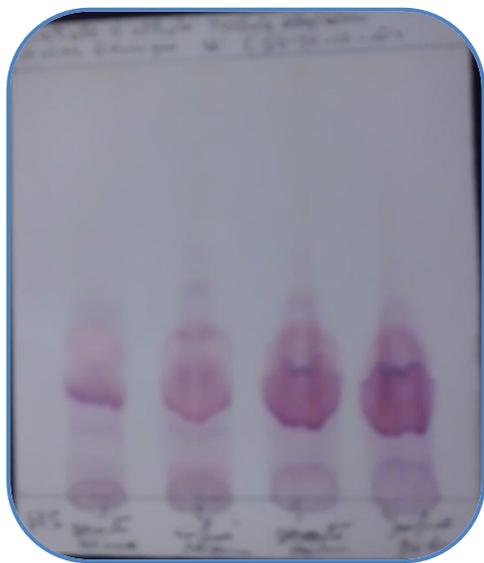


Figure 15 – Chromatogramme photographié

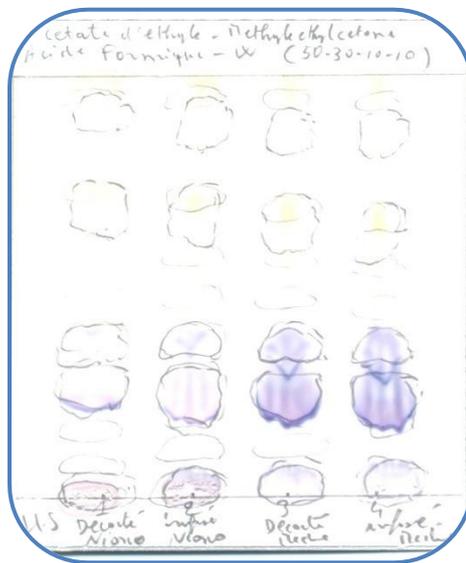


Figure 16 – Chromatogramme scanné

Figures 17 et 18 : Chromatogrammes des extraits polaires révélés par le FeCl₃

Front du solvant : 8 cm

Support : plaque de silice G₆₀F₂₅₄

Dépôt : 10 µl

Eluant : Système Acoét – MEC – AF – Eau (50 : 30 : 10 : 10)

Révéléteur : FeCl₃



Figure 17 – Chromatogramme photographié

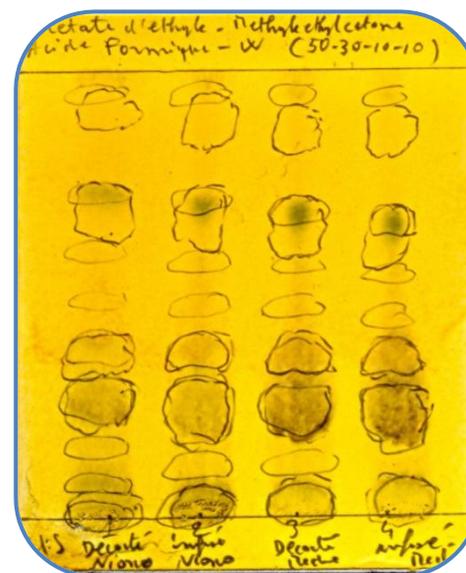


Figure 18 – Chromatogramme scanné

Figure 19: Chromatogramme des extraits polaires observé à l'UV 365 nm
Front du solvant : 8 cm
Support : plaque de silice G₆₀F₂₅₄
Dépôt : 10 µl
Eluant : Système Acoét – MEC – AF – Eau (50 : 30 : 10 : 10)
Révéléteur : UV 365 nm



Figure 19 – Chromatogramme observé sous UV à 365 nm

3.2.4. Résultats de la caractérisation des constituants antiradicalaires

Les chromatogrammes des extraits aqueux des calices de *Hibiscus sabdariffa* après révélation avec le DDPH, ont donné des spots de couleur jaune sur fond violet, indiquant la présence de substances à activités antiradicalaires.

Les taches à différents Rf (0,09 ; 0,24 ; 0,37 et 0,45) dans le système BAW, et celles dans le système (Acoét – MEC – AF – Eau), Rf (0,15 ; 0,25 ; 0,44 ; 0,55 et 0,88) des extraits aqueux de *H. sabdariffa* décolorent le DPPH (jaune sous fond violet) correspondant à des substances à potentiel antioxydant.

Les figures 20, 21, 22 et 23 correspondant aux chromatogrammes des extraits après révélation par le DDPH, dans les deux systèmes donnent une nette appréciation.

Figures 20 et 21 : Chromatogrammes des extraits polaires révélés par le DDPH

Front du solvant : 8 cm

Support : plaque de silice G₆₀F₂₅₄

Dépôt : 10 µl

Eluant : Système BAW (60 – 15 – 25)

Révélateur : DDPH



Figure 20 – Chromatogramme photographié



Figure 21 – Chromatogramme scanné

Figures 22 et 23 : Chromatogrammes des extraits polaires révélés par le DDPH

Front du solvant : 8 cm

Support : plaque de silice G₆₀F₂₅₄

Dépôt : 10 µl

Eluant : Système Acoét – MEC – AF – Eau (50 : 30 : 10 : 10)

Révélateur : DDPH

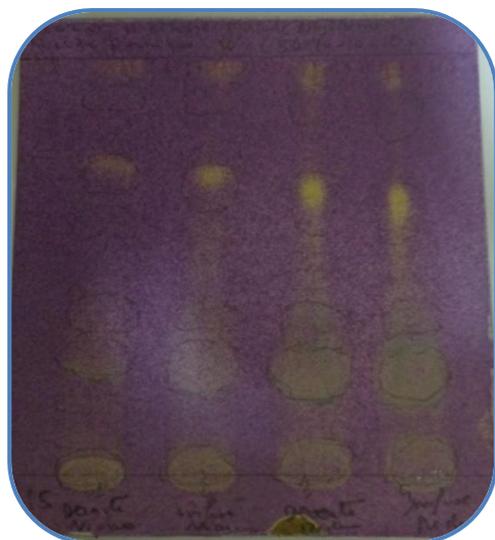


Figure 22 – Chromatogramme photographié

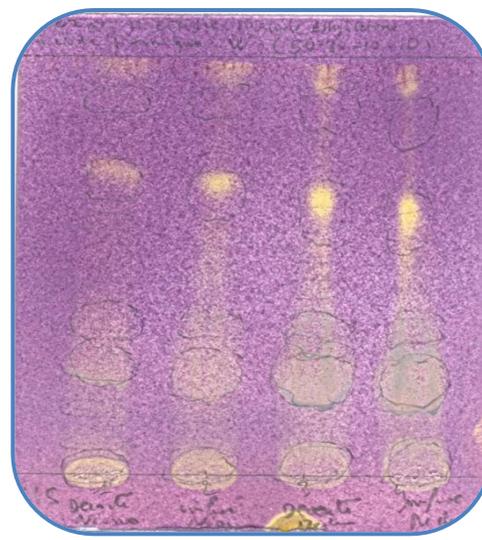


Figure 23 – Chromatogramme scanné

3.3. Nouveau médicament traditionnel amélioré antihypertenseur

3.3.1. Noms et étiquettes

Concernant la petite enquête sur les propositions de noms du produit : vingt une (21) personnes ont donné leurs avis, dont sept (7) pharmaciens, trois (3) médecins, six (6) personnels du DMT et cinq (5) autres qui n'étaient pas des professionnels de santé.

Le nom le plus cité a été Hypotisane, suivi de *Dah* tisane et de Tension *Kala*, toutefois *Dah* Anti-HTA a été rarement cité. C'est ainsi que nous avons choisi Hypotisane, pour faire les étiquettes et les notices (figures 24, 25, 26).

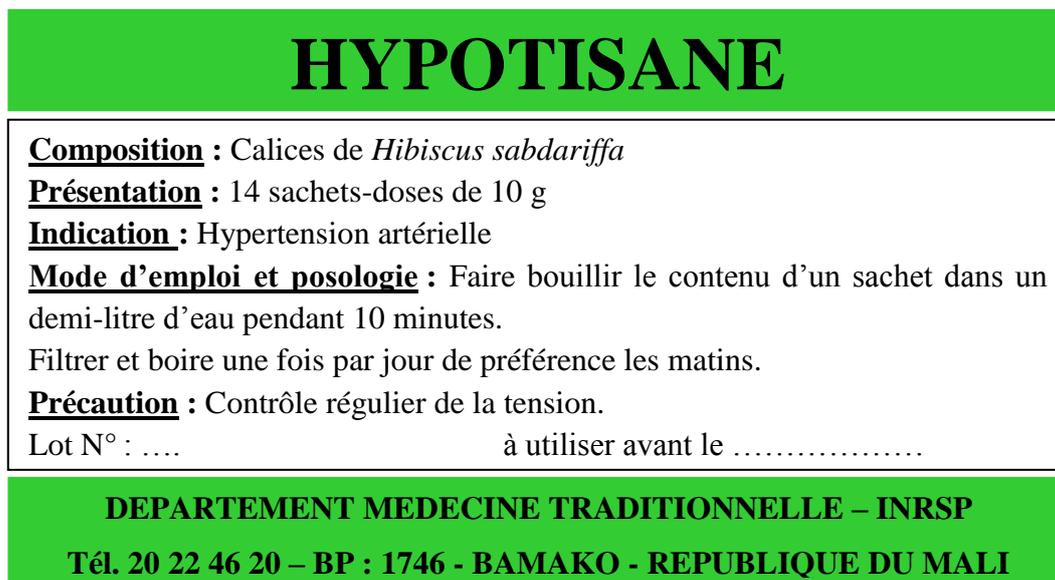


Figure 24 – Etiquette de HYPOTISANE (Sachets pour le décocté)

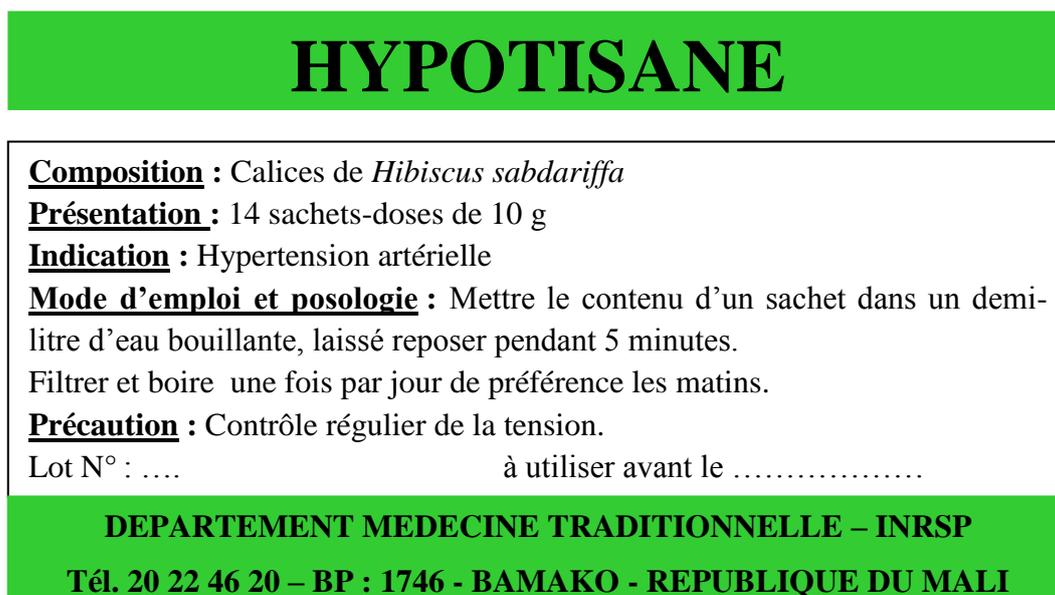


Figure 25 – Etiquette de HYPOTISANE (Sachets pour l'infusé)

HYPOTISANE

Composition : Calices de *Hibiscus sabdariffa*

Présentation : Paquet de 28 infusettes de 5 g

Indication : Hypertension artérielle

Mode d'emploi et posologie : Mettre deux (2) infusettes dans un demi-litre d'eau bouillante, laissé reposer pendant 5 minutes.

Filter et boire une fois par jour de préférence les matins.

Précaution : Contrôle régulier de la tension.

Lot N° : à utiliser avant le

DEPARTEMENT MEDECINE TRADITIONNELLE – INRSP

Tél. 20 22 46 20 – BP : 1746 - BAMAKO - REPUBLIQUE DU MALI

Figure 26 – Etiquette de HYPOTISANE (infusette)

3.3.2. Rendements des préparations

Concernant les valeurs des rendements et des concentrations, elles ont été déterminantes dans la proposition de la forme galénique finale. L'infusé obtenu à partir des poudres fines de calices de *H. sabdariffa* avec un rendement moyen élevé de 57,60 % et une concentration moyenne la plus petite (13,09 mg/ml), donne un goût acceptable par rapport à l'acidité, peut être une forme d'utilisation la plus convenable pour le patient.

3.3.3. Formes de présentation

Par rapport à la disponibilité des moyens, nous sommes parvenus à faire les formes suivantes :

- HYPOTISANE, les sachets-doses de 10 g conditionnés par paquets de 14 en poudres fines et grossières (Figures 27 a, et 27 b) ;
- HYPOTISANE, les infusettes conditionnées dans un bocal (Figure 28).

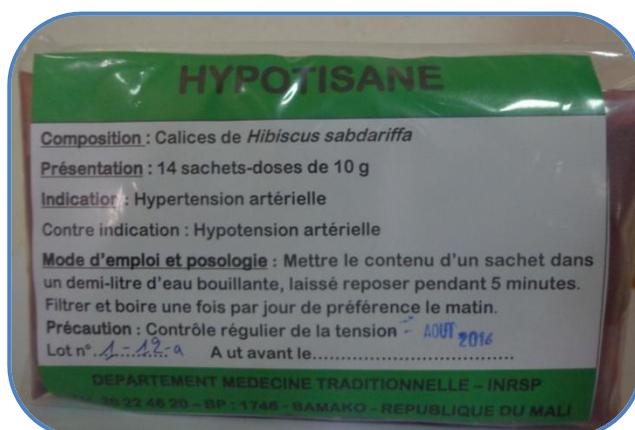


Figure 27a - HYPOTISANE vue de face



Figure 27b – HYPOTISANE vue de dos



Figure 28 – HYPOTISANE : Infusettes présentées dans des bocaux

3.4. Résultats du contrôle de qualité sur le produit fini

3.4.1. Résultats des essais d'uniformité de poids sur les infusettes

Les résultats sont consignés dans le (tableau XXXII), le poids des papiers filtre a été 0,16 g.

Tableau XXXII - Résultats des essais d'uniformité de poids sur les infusettes

N° échantillon	Poids de l'infusette (g)	Poids net de la poudre dans l'infusette (g)
Infusette 1	4,82	4,66
Infusette 2	4,73	4,57
Infusette 3	4,75	4,59
Infusette 4	4,81	4,65
Infusette 5	4,58	4,42
Infusette 6	4,74	4,58
Infusette 7	4,61	4,45
Infusette 8	4,70	4,54
Infusette 9	4,79	4,63
Infusette 10	4,76	4,60
Infusette 11	4,71	4,55
Infusette 12	4,69	4,53
Infusette 13	4,79	4,63
Infusette 14	4,82	4,66
Infusette 15	4,72	4,56
Infusette 16	4,80	4,64
Infusette 17	4,83	4,67
Infusette 18	4,75	4,59
Infusette 19	4,88	4,72
Infusette 20	4,77	4,61
Moyenne	4,75	4,59

Nous constatons que les plus petites valeurs ont été obtenues avec l'infusette 5 respectivement 4,58 g et 4,42 g pour le poids de l'infusette et le poids net de poudre contenue dans l'infusette, alors que les plus grandes valeurs obtenues ont été celles de l'infusette 19 (4,88 g et 4,72 g).

3.4.2. Résultat de la détermination de rendement et de concentration sur les infusettes

Les résultats de la détermination de rendement et de concentration sur les infusettes sont consignés dans le (tableau XXXIII)

Tableau XXXIII- Résultat de la détermination de rendement et de concentration sur les infusettes

Infusette						
	Poids infusette (g)	Volume (ml)		Masse du lyophilisat (g)	Rendement (%)	Concentration (mg/ml)
		Avant	Après			
Essai 1	9,55	477	433	1,93	20,21	4,46
Essai 2	9,57	478,50	437	2,49	26,02	5,70
Essai 3	9,56	478	435	2,22	23,22	5,10
Moyenne	9,56	477,83	435	6,64	23,15	5,09

Nous remarquons que tous les rendements ont été supérieurs à 20 %, et que les concentrations sont inférieures à 10 mg/ml de constituants de calices de *H. sabdariffa*.

4. COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS

Avant de passer aux commentaires et discussions nous allons évoquer les difficultés rencontrées au cours de notre étude notamment :

- l'absence de protocole sur le contrôle de qualité microbiologique spécifique aux médicaments à bases de plantes au Laboratoire National de la Santé (LNS). C'est pour cela que nous nous sommes limités à déterminer un certain nombre de paramètres faisables au LNS pour la recherche des microorganismes sur les aliments.
- les infusettes confectionnées auprès d'un industriel de fabrication des infusettes pour un usage alimentaire ne correspondaient pas au dosage proposé pour le nouveau médicament traditionnel amélioré (MTA). Il serait donc nécessaire de doter la section galénique du Département de Médecine Traditionnelle (DMT) en équipements et accessoires de fabrication d'infusettes pour un usage pharmaceutique.

Notre travail a porté sur la formulation d'un MTA à partir des calices de *Hibiscus sabdariffa*.

Dans le processus de mise au point du MTA, il était important de s'assurer de la qualité de la drogue, des extraits et des produits finis.

Pour les caractères organoleptiques et macroscopiques, nous n'avons pas observé de différences significatives entre les deux échantillons de calices de *H. sabdariffa* en fonction de l'année de récolte. C'est pour cela que l'échantillon de 2010 a été retenu pour les analyses supplémentaires, même si nous avons comparé la qualité des préparations des deux échantillons.

La teneur en eau a été de 10,86 %, il saurait été mieux une valeur inférieure à 10 %, pour minimiser les différentes réactions d'oxydation, de fermentation et de développement des moisissures. En effet dans le cas précis, cette teneur élevée n'a pas été favorable à une dégradation de la drogue. Ce résultat est en bon accord avec le nombre de levures et moisissures dénombré pendant le contrôle de qualité microbiologique.

Le taux en cendres totales a été de 14,39 % ce qui pourrait expliquer la richesse en éléments minéraux des calices de *H. sabdariffa*. La teneur en cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique a été de 6,56 % des cendres totales, cette valeur étant un peu élevée, nécessiterait des études supplémentaires sur les éléments minéraux de la drogue.

Au niveau du contrôle de qualité microbiologique, le nombre de coliformes totaux dénombrés est négligeable, et le nombre de coliformes fécaux est nul, ce qui pourrait expliquer une absence de contamination par des germes en provenance de la matière fécale.

Par ailleurs, la recherche pour les Salmonelles a été négative, et le dénombrement des levures et moisissures totaux inférieur à 10^4 et 10^5 UFC/g ou ml, respectivement selon que l'emploi fait intervenir ou non de l'eau bouillante, suivant les dispositions spéciales de la pharmacopée européenne pour la préparation des médicaments à bases des plantes (**Ph Eu, 2008**).

Dans nos conditions expérimentales, l'ensemble des résultats du contrôle de qualité microbiologique montre qu'il serait possible de faire des MTA avec une forte qualité et sécurité d'emploi.

Toutefois, au contrôle de qualité microbiologique, les milieux de cultures et les méthodes utilisées sont ceux destinés à la recherche des germes dans les aliments et les denrées alimentaires. Donc il faudra tenir compte des limites de validation du procédé de ce contrôle de qualité microbiologique sur les médicaments à base de plante, dont le cas est exclusivement traité en catégorie 4 (**Ph Eu, 2008**). Dans le cadre de contrôle de qualité des MTA, **Coulibaly (2008)** avait rapporté les mêmes difficultés concernant le contrôle de qualité microbiologique des médicaments à bases de plantes.

Nous tenons à rappeler que la validation du procédé de contrôle de qualité microbiologique des médicaments à base de plante selon la pharmacopée européenne, ne serait pas nécessaire dans le cas de calices de *H. sabdariffa* dans la mesure où, nous avons à faire à une plante alimentaire, le nouveau MTA HYPOTISANE pourrait être qualifié d'aliment (aliment médicament).

L'étude phytochimique a mis en évidence la richesse des calices de *H. sabdariffa* en anthocyanes, en flavonoïdes, en stérols et triterpènes, en oses et holosides, en tanins.

Ces résultats sont en bon accord avec ceux de **Ouassa (2009)** qui avait caractérisé les mêmes groupes chimiques présents dans les échantillons de calices de *H. sabdariffa*.

D'autres auteurs ont démontré que les anthocyanes dans les calices de *H. sabdariffa*, sont doués de propriétés antioxydantes (**Tsai et al., 2002 ; Ali et al., 2005**).

En outre, une étude mexicaine a montré que les anthocyanes contenus dans l'extrait aqueux des calices de *H. sabdariffa* réduisent la pression artérielle (PA) chez l'homme, et que ces anthocyanes sont les constituants responsables de l'activité d'inhibition de l'enzyme convertissant l'angiotensine par compétition enzymatique avec le substrat pour le site actif. Les anthocyanes delphinidine-3-O-sambubioside (1) et la cyanidine-3-O-sambubioside ont été isolés des calices de *H. sabdariffa* (Ojeda et al., 2010).

Les flavonoïdes possèdent de nombreuses propriétés en faveur de la prise en charge des affections cardiovasculaires et de l'HTA. Les flavonoïdes ont entre autres la capacité de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et augmenter leur résistance « action vitaminique P », des propriétés antioxydantes et inhibitrices de certaines enzymes. En plus de ces actions, certains flavonoïdes présentent des activités diurétiques (Axel et al., 2001).

En effet, une étude mexicaine a montré que l'effet diurétique de l'extrait aqueux de *H. sabdariffa* est dû à la quercétine qui est un flavonoïde (Alonso, 2012).

Les constituants antiradicalaires, caractérisés dans les extraits aqueux de nos échantillons, pourraient être capables de piéger les radicaux libres, et empêcher également le dépôt de graisse au niveau des artères (Chevally, 2000).

Le nouveau MTA HYPOTISANE, à base de calices de *H. sabdariffa*, pour sa richesse entre autres en anthocyanes et en flavonoïdes, sera bénéfique dans la prise en charge de l'HTA et dans l'éviction de ses nombreuses complications surtout cardiovasculaires.

Les résultats de l'extraction aqueuse ont donné des bons rendements avec la forme décocté qu'avec celle de l'infusé. Il serait préférable de faire la forme décocté préparée avec la poudre grossière et la forme infusé préparée avec la poudre fine. Les meilleurs rendements pour la décoction et l'infusion ont été respectivement 57,63 % et 57,60 % ; et pour les concentrations respectives ont été de 15,74 mg/ml et 13,09 mg/ml. Il serait préférable d'utiliser la forme infusé où le risque de détruire les substances thermolabiles est moindre et la préparation est facile par rapport à la forme décocté.

La teneur des substances extractibles par l'eau et la concentration des filtrats, selon la forme de préparation de la drogue nous a permis de proposer les formes d'utilisation thérapeutique. Nous avons pu apprécier l'écart de rendement entre l'infusé et le décocté, le mode de préparation le plus pratique et plus efficace pour l'utilisation thérapeutique. C'est ainsi que l'infusion permet d'obtenir un bon rendement et peut éviter la destruction de constituants thermolabiles de la drogue.

C'est sur la base de ces informations que nous proposons l'infusion comme mode de préparation de HYPOTISANE, en vue d'une utilisation par voie orale en thérapeutique.

Au départ, nous avons voulu faire des infusettes de 10 g avec les poudres grossières et les poudres fines des calices de *H. sabdariffa*. Cependant nous avons été confrontés à deux (2) problèmes d'ordre technique par rapport à la disponibilité des moyens au niveau de la société Douteni, à savoir les difficultés de faire des infusettes avec les poudres fines et l'impossibilité matérielle à faire des infusettes de 10 g.

Cependant après les formulations galéniques, les infusettes ont présenté une grande variabilité de poids, avec un poids moyen de 4,59 g de poudre contenant les infusettes, alors que nous avons demandé une contenance de 3,5 g de poudre par infusette. Vu l'écart de poids important entre les infusettes, il serait difficile de prévoir une bonne posologie avoisinant la posologie de départ qui était de 10 g.

Nous avons constaté un rendement moyen sur les infusettes de 23,15 % et la concentration moyenne de 5,09 mg/ml largement inférieur respectivement aux 53,33 % et 11,64 mg/ml obtenue avec l'infusion de la poudre grossière sans infusette.

Ce grand écart de rendement entre les deux infusions pourrait s'expliquer par différents facteurs, entre autre la qualité des papiers filtre qui a servi pour la confection des infusettes, la granulométrie de la poudre et le problème de colmatage empêchant une bonne diffusion des substances actives de la drogue.

Le contrôle de qualité des solutions aqueuses pour usage thérapeutique, a permis de constater que les colorations des taches sont les moins intenses pour l'échantillon de calices de *H. sabdariffa* récolté en 2010 que pour l'échantillon récolté en 2011, ceci correspondrait à une diminution en teneur des constituants chimiques des calices de *H. sabdariffa* avec le temps.

Sur la base de cette différence d'intensité des constituants des préparations, il serait préférable d'utiliser la matière première la plus récente pour la préparation du MTA HYPOTISANE.

5. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

5.1. Conclusion

Notre travail a porté sur la formulation d'un nouveau médicament traditionnel amélioré à partir des calices de *Hibiscus sabdariffa*.

A l'issue de ce travail, il ressort qu'il est possible d'acheter des échantillons de matières premières de bonne qualité physicochimique, exemptes de microorganismes avec une grande sécurité d'emploi.

Les anthocyanosides et les flavonoïdes des solutions aqueuses dans les calices de *H. sabdariffa* peuvent être utilisés comme des marqueurs chimiques de contrôle de qualité et d'activité antiradicalaire.

Ainsi l'étude phytochimique a mis en évidence la richesse des calices de *H. sabdariffa* en anthocyanes, en flavonoïdes, en stérols et triterpènes, en oses et holosides, en tanins et en constituants antiradicalaires.

Nous conseillons des échantillons de calices de *H. sabdariffa* plus récents pour la préparation de l'infusé du MTA HYPOTISANE, en vue d'une utilisation par voie orale en thérapeutique.

Nous retenons la présentation des formes sachets-unidoses de 10 g en infusion pour les poudres fines et en décoction pour les poudres grossières qui ont donné les meilleurs rendements respectivement 57,60 % et 57,63 %.

Ainsi, donc le nouveau MTA HYPOTISANE, à base de calices de *H. sabdariffa*, sera bénéfique dans la prise en charge de l'HTA et dans la prévention de ses nombreuses complications surtout cardiovasculaires. Il faudra cependant effectuer des essais cliniques chez des patients hypertendus afin de compléter le dossier technique de HYPOTISANE en vue d'autorisation de mise sur le marché.

5.2. Recommandations

Au regard de notre étude, nous avons recommandé les points ci-dessous :

❖ Au Laboratoire National de la Santé

- ✓ D'intégrer dans ses missions le contrôle de qualité des MTA.

❖ Au Département de Médecine Traditionnelle

- ✓ De faire des tests de stabilités sur l'HYPOTYSANE
- ✓ De produire un lot pilote qui servira de mener des essais cliniques pour observer l'efficacité de l'HYPOTISANE.
- ✓ De mettre à dispositions les moyens nécessaires pour explorer d'autres formes galéniques.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AHMED, AW. K., HUDSON, B.J.F., 1982. The fatty acid composition of *Hibiscus sabdariffa* seed oil. *J. Sei. Food Agr.* 33, 1305-1309.
- Aide-mémoire sur les maladies cardio-vasculaires – OMS. Septembre 2011, Source <http://www.who.int/fr/>
- Ajay M., Chai H.J., Mustafa A.M., Gilani A.H, Mustafa M.R., Mechanisms of the antihypertensive effect of *Hibiscus sabdariffa* L. calyces, *J. Ethnopharmacol.* 109 (2007) 388–393.
- Ali B.H., Mousa H.M., El-Mougy S., The effect of a water extract and anthocyanins of *Hibiscus sabdariffa* L. on paracetamol-induced hepatotoxicity in rats, *Phytother. Res.* 17 (1) (2003) 56–59.
- Ali BH, Al Wabel N, Blunden G. Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of *Hibiscus sabdariffa* L. a review. *Phytother Research.* 19 (5) (2005) 369-75.
- Amar J., Chamontrin B., Salvador M : Traitement de l'HTA chez le diabétique. *Presse Med.*, 2000, 29, 749-755
- Arama Rémi. Contribution au traitement traditionnel de l'hypertension artérielle. Thèse de pharmacie. Bamako. FMPOS – Université de Bamako, 1988.
- Axel Ghestem, Elisabeth Seguin, Michel Paris et al. Le préparateur en pharmacie. Dossier 2. Paris : Edition Technique & Documentation, 2001, p 110 (Pharmacognosie)
- Babalola S.O., Babalola A.O., Aworh O.C., Compositional attributes of the calyces of roselle (*Hibiscus sabdariffa*), *J. Food Technol. Afr.* 6 (4) (2001) 133–134.
- BELMIN J., VALLEE J.-P. les médicaments de l'HTA du sujet âgé : la querelle des anciens et des modernes. *Presse Med.*, 2000, 29, 1177-1179.
- Bloomfield N., Preparation of sorrel ketchup from the red calyces of the roselle fruit (*H. sabdariffa*), *Res. Proj. Rep., Food Sci. Technol. Unit, Fac. Eng., Univ. West Indies, St. Augustine, Trinidad Tobago*, 1976.
- BORRIE G. les plurithérapies fixes microdosées en première intention dans le traitement de l'hypertension artérielle : rationnel et méthodologie de développement. *Lettre Pharmacologue*, 1998, 12, 133-138.
- Brown MJ, Palmer CR, Castaigne A, De Leeuw PW, Mancia G, Rosenthal T, Ruilope LM. - Morbidity and mortality in patients randomised to double-blind treatment with a long-acting calcium-channel blocker or diuretic in the International Nifedipine GITS study: Intervention as a Goal in Hypertension Treatment (INSIGHT). *Lancet* 2000, 356, 366-372.
- CAMBOU J.P - Risque absolu et décision d'intervention chez le malade hypertendu. *Rev. Praticien*, 1999, 49, 503-509.
- Chang Y.C., Huang K.X., Huang A.C., Ho Y.C., Wang C.J., *Hibiscus* anthocyanins-rich extract inhibited LDL oxidation and oxLDL-mediated macrophages apoptosis, *Food Chem. Toxicol.* 44 (2006) 1015–1023.
- Chen C.C., Chou F.P., Ho Y.C., Lin W.L., Kao E.S., Huang A.C., Wang C.J., Inhibitory effects of *Hibiscus sabdariffa* L. extract on low-density lipoprotein oxidation and anti-hyperlipidemia in fructose-fed and cholesterol-fed rats, *J. Sci. Food Agric.* 84 (2004) 1989–1996.
- Chevalley Isabelle. Contribution à l'étude phytochimique des Saxifragacées : Isolement d'antioxydants à partir de *Saxifraga stellaris* et *Saxifraga cuneifolia* et d'un composé antifongique de *Ribes rubum* L. Thèse de Doctorat, Lausanne, 2000, 175 p.
- CLY DESDALE, F.M., FRANCIS, F.J., MAIN, J.H., 1979. Roselle (*Hibiscus sabdariffa*). Anthocyanins colorants for beverages and gelatin dessert. *J. food protection.*, (42) 3, 204-207

- Communiqué de presse 16 mai 2012. Genève - Le rapport intitulé *Statistiques sanitaires mondiales 2012 - OMS*
- Communiqué de presse 19 mai 2008. Genève - *Statistiques sanitaires mondiales 2008 – OMS*. Source <http://www.who.int/fr/>
- Coulibaly Seydou Lahaye. Contribution à l'évaluation de la qualité des médicaments traditionnels améliorés. Thèse de pharmacie. Bamako. FMPOS – Université de Bamako, 2009, p 78, p 81.
- Cuspidi C., Macca G., Sampieri L., Michev I., Salerno M., Fusi V. et al. - High prevalence of cardiac and extracardiac target organ damage in refractory hypertension. *Journal of hypertension* 2000, 19, 2063-2070.
- Cuspidi C., Muiesan ML., Valagussa L., Salvetti A., Di Biagio C., Agabiti-Rosei E. et al. on behalf of the CATCH investigators.- *Comparative effects of candesartan and enalapril on left ventricular hypertrophy in patients with essential hypertension: the candesartan assessment in the treatment of cardiac hypertrophy (CATCH) study*. *J.Hypertens.* 2002, 20, 2293-2300.
- Dafallah A.A., al-Mustafa Z., Investigation of the anti-inflammatory activity of *Acacia nilotica* and *Hibiscus sabdariffa*, *Am. J. Chin. Med.* 24 (1) (1996) 263–269.
- Dahlöf B., Devereux RB., Kjeldsen SE., Julius S., Beevers G., de Faire U. et al. - Cardiovascular morbidity and mortality in the Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomised trial against atenolol. *Lancet.* 2002, 359, 995-1003.
- Dahlöf B., Zanchetti A., Diez J., Nixholls MG., Yu CM., Barrios V. et al. - Effects of losartan and atenolol on left ventricular mass and neurohormonal profile in patients with essential hypertension and left ventricular hypertrophy. *J.Hypertens.* 2002, 20, 1855-1864
- De sweet M. – Maternal blood pressure and birthweight. *Lancet*, 2000, 355, 81-82
- Dekker G., Sibai B. - Primary, secondary, and tertiary prevention of pre-eclampsia. *Lancet.* 2001, 357, 209-215.
- DENOLLE T. - *La mesure de la pression artérielle. Cardiologie pratique*, 1996, 375.
- Devereux RB, Palmieri V, Sharpe N, De Quattro V, Bella JN, De Simone G et al: Effects on once-daily angiotensin-converting enzyme inhibition and calcium channel blockade-based antihypertensive treatment regimens on left ventricular hypertrophy and diastolic filling in hypertension. The prospective Randomized Enalapril Study Evaluating Regression of Ventricular Enlargement Trial. *Circulation* 2001; 104: 1248–1254.
- Dickel M.L., Rates S.M.K., Ritter M.R., Plants popularly used for losing weight purposes in Porto Alegre, South Brazil, *J. Ethnopharmacol.* 109 (2007) 60–71.
- Dictionnaire Vidal, 2007.
- Du C.T., Francis F.J., Anthocyanins of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.), *J. Food Sci.* 38 (1973) 810–812.
- DUFOUR P., SUBTIL D., PUECH F. - L'hypertension artérielle de la grossesse. *Rev. Prat.*, 2000, 50, 1231-1238.
- El-Adawy T.A., Khalil A.H., Characteristics of roselle seeds as a new source of protein and lipid, *J. Agric. Food Chem* 42 (1994) 1896– 1900.
- ENDRIAS Abraham. Bio-raffinage de plantes aromatiques et médicinales appliqué à l'*Hibiscus sabdariffa* L. et à l'*Artemisia annua*. Thèse de doctorat en Sciences des Agroressources. Toulouse. Institut National Polytechnique de Toulouse, 2006, 69, 71 p.
- Estacio RO., Jeffers BW., Gifford N., Schrier RW. – Effect of blood pressure control on diabetic microvascular complications in patients with hypertension and type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2000, 23 (suppl 2), B54-B64.
- Fagard RH. - Exercise characteristics and the blood pressure response to dynamic physical training. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 2001; 33 (Suppl), S484–S492

- Fauvel J.P., Laville M. - La néphropathie hypertensive : une cause croissante d'insuffisance rénale. *Presse Med.*, 2001,30, 81-86.
- Fortin Daniel, Modou Lô, Maynard. Plantes medecinales du sahel. Dakar, Enda editions, 2000, p 84.
- Francis F.J., Colour analysis, in: Nielsen N.N., Food Analysis, Aspen Publ., Gaithersburg, MD, USA, 1990, pp. 599–612.
- Girerd X. et al. - Évaluation de l'observance du traitement antihypertenseur. *Presse Med.*, 2001, 30, 1044-1048.
- GIRERD X., HANON O. — Prise en charge du malade dont l'hypertension résiste aux traitements. *Rev. Praticien* 1999, 49, 527-531
- Gosse P., Sheridan D.J., Zannad F., Dubourg O., Gueret P., Karpov Y. et al. - Regression of left ventricular hypertrophy in hypertensive patients treated with indapamide SR 1.5 mg versus enalapril 20 mg: the LIVE Study. *J.Hypertens.*, 2000, 18, 1465-1475.
- Guindo Issiaka. Etude du traitement traditionnel de l'hypertension artérielle au Mali. Thèse de pharmacie. Bamako. FMPOS – Université de Bamako, 2006.
- Haïdara Mahamane. Etude de quatre plantes et d'une recette utilisée dans le traitement traditionnel de l'hypertension artérielle. Thèse de pharmacie. Bamako. FMPOS – Université de Bamako, 2008.
- Haider S., Naithani V., Barthawal J., Kakkar P., Heavy metal content in some therapeutically important medicinal plants, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 72 (2004) 119–127.
- Halimatou Karadji Ayarga. Etude de la phytochimie et des activités biologiques de deux recettes utilisées dans le traitement traditionnel de l'hypertension artérielle au Mali. Thèse de pharmacie. Bamako. FMPOS – Université de Bamako, 2007.
- Hansson L., Hedner T., Lund-Johansen P., Kjeldsen S.E., Lindholm L.H., Syvertsen J.O. et al. - Randomised trial of effects of calcium antagonists compared with diuretics and beta-blockers on cardiovascular morbidity and mortality in hypertension: the Nordic Diltiazem (NORDIL) study. *Lancet*, 2000, 356, 359-365.
- Herpin D. – Retentissement de l'hypertension artérielle sur le cœur. *Rev. Praticien*, 1999, 49, 491 – 494
- Herrera-Arellano A., Flores-Romero S., Chavez-Sotoc M., Tortoriello J., Effectiveness and tolerability of a standardized extract from *Hibiscus sabdariffa* in patients with mild to moderate hypertension: a controlled and randomized clinical trial, *Phytomed.* 11 (2004) 375–382.
- Hirunpanich V., Utaipat A., Morales N.P., Bunyapraphatsara N., Sato H., Herunsale A., Suthisisang C., Hypocholesterolemic and antioxidant effects of aqueous extracts from the dried calyx of *Hibiscus sabdariffa* L. in hypercholesterolemic rats, *J. Ethnopharmacol.* 103 (2006) 252–260.
- JEUNEMAITRE X. - Génétique humaine de l'hypertension artérielle. In : *Cardiologie pratique*, 1996, 375.
- Jobbe Duval M. - Fréquence cardiaque, facteur de risque de morbi-mortalité chez l'hypertendue. *Cardiologie pratique*, 1996, 372.
- Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. - The 6th Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Arch. Intern. Med.*, 1997, 157, 2413-2446.
- Joly D., Anglicheau D., Grünfeld J.P. - Mécanismes de l'hypertension artérielle. *Rev. Praticien*, 1999, 49, 477-481.
- Julien J. – Hypertension réfractaire. *Cardiologie pratique*, 1997, 396.
- Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J, « Global Burden of hypertension : analysis of worldwide data », *The Lancet*, 15 janvier 2005, Vol. 365, No 9455, 217-23. PMID: 15652604 [archive] (wikipedia 19 10 2011)

- Kerharo J., Adam J.G., La pharmacopée sénégalaise traditionnelle – Plantes médicinales et toxiques, Vigot Frères, Paris, France, 1974.
- Knight M., Duley L., Henderson-Smart DJ., King JF. - Antiplatelet agents for preventing and treating pre-eclampsia. (Cochrane Review). *In: Cochrane library, issue I.* Oxford, Update software, 2000.
- KONE Sidiki. Epidémiologie de l'hypertension artérielle dans le service de cardiologie A du CHU Point G (de 2004 à 2006). Thèse de Médecine. Bamako. FMPOS – Université de Bamako, 2009.
- LAURENT S, BOUTOUYRIE P. - *Retentissement de l'hypertension artérielle sur les artères.* *Rev. Praticien*, 1999, 49, 495-502.
- LE Roux A., MONTAGNE O. - *Crise aiguë hypertensive.* *Rev. Prat.*, 2000, 50, 317- 320.
- Levine RJ., Ewell M.G., Hauth J.C., Curet L.B., Catalano P.M., Morris C.D. Et al. - Should the definition of preeclampsia include a rise in diastolic blood pressure of ≥ 15 mm Hg to a level > 90 mm Hg in association with proteinuria? *Am J Obstet Gynecol.* 2000, 183, 787-792.
- Lin W.L., Hsieh Y.J., Chou F.P., Wang, C.J., Cheng M.T., Tseng T.H., *Hibiscus* protocatechuic acid inhibits lipopolysaccharide-induced rat hepatic damage, *Arch. Toxicol.* 77 (2003) 42–47.
- Liu J.Y., Chen C.C., Wang W.H., Hsu J.D., Yang M.Y., Wang C.J., The protective effects of *Hibiscus sabdariffa* extract on CCl₄- induced liver fibrosis in rats, *Food Chem. Toxicol.* 44 (2006) 336–343.
- LRP - Association alpha-bloquant à visée urologique aux alpha-bloquants antiHTA : déconseillée. *Prescr.*, 2001, 20, 537-538.
- LRP - *Choix d'un hypertenseur après 70 ans.* *Prescr.*, 2000, 20, 537-538.
- LRP - HTA : *Penser aux actions non médicamenteuses.* *Prescr*, 2001, 27457-458
- LRP - *Latanoprost collyre et HTA ; Mieux prendre en charge l'HTA ; l'HTA après 80 ans ; les activités physiques en prévention cardiovasculaire.* *Prescr.*, 2000, 20, 41-56.
- LRP - *Les recommandations contestables et contestées de l'OMS dans l'HTA.* *Prescr .*, 1999, 19, 378-381
- LRP - *Mortalité accrue sous moxonidine chez des insuffisants cardiaques.* *Prescr.*, 2000, 20, 280-281.
- LRP- *Anémie due aux 1EC et au losartan chez les insuffisants rénaux.* *Prescr.*, 1999, 19, 597-598.
- Maiga A., Diallo D., Bye R., Paulsen B.S., Determination of some toxic and essential metal ions in medicinal and edible plants from Mali, *J. Agric. Food Chem.* 53 (2005) 2316–2321
- Mazza G., Miniati E., Anthocyanin in fruits, vegetables and grains, CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 2000.
- McKay DL, Chen CY, Saltzman E, Blumberg JB. *Source Les antioxydants* Laboratoire de recherche, Laboratoire du métabolisme ; Jean Mayer USDA Centre Recherche en Nutrition Humaine sur le vieillissement à l'Université Tufts, Boston, 2011
- MM Lawes C, Vander Hoorn S, Rodgers A, *Global burden of blood-pressure-related disease, 2001*
- Mohamed R., Fernandez J., Pineda M., Aguilar M., Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) seed oil is a rich source of γ -tocopherol, *J. Food Sci.* 72 (3) (2007) 207–211.
- MOURAUD J.J. - *Hypertension artérielle essentielle : pour la pratique.* *Rev. Praticien*, 1999, 49, 532-535.
- O'Brien E, Asmar R, Beilin L, Imai Y, Mancia G, Mengden T, et al. on behalf of the European Society of Hypertension Working Group on Blood Pressure Monitoring. European Society of Hypertension recommendations for conventional, ambulatory and home blood pressure measurement. *J.Hypertens* 2003, 21, 821– 848.

- Oates J.-A. - « Les médicaments antihypertenseurs et le traitement de l'hypertension ». In ! Googman & Gilman : les bases pharmacologiques de l'utilisation des médicaments, 9^e édition, Tillement J.-P. ; McGraw-Hill, 1998, 785-812.
- Odigie I.P., Ettarh R.R., Adigun S.A., Chronic administration of aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa* attenuates hypertension and reverses cardiac hypertrophy in 2K-1C hypertensive rats, *J. Ethnopharmacol.* 86 (2003) 181–185.
- Organisation Mondiale de la Santé. – la lutte contre l'hypertension. Rapport d'un comité d'experts. Genève 1996, n° 862.
- Ouassa Dembélé. Etude de la phytochimie et de l'activité diurétique des calices de *Hibiscus sabdariffa* et de la recette " Nitrokoudang" utilisés dans le traitement traditionnel de l'hypertension artérielle au Mali.
- Palé É., Kouda-Bonafos M., Nacro M., Caractérisation et mesure des activités antiradicalaires d'anthocyanes de plantes du Burkina Faso, *C.R. Chimie* 7 (2004) 973-980.
- Pharmacopée européenne, 6eme édition Tome1. 2008, p 178-179, p 181-182 ; p 568.
- POUGET, M.P, VENNAT, B., et al. 1990. Identification of Anthocyanins of *Hibiscus sabdariffa* L. *Lebensmittel Wissenschaft and Techn.* 23 (2), 101 - 102.
- Pr Daniel Lemogoum, Université Libre de Bruxelles. – Aspects épidémiologiques de l'HTA en Belgique, au Canada et en Afrique. 5 JANVIER 2010,
- Primates P, Falaschetti E, Gupta S, Marmot MG, Poulter NR. Association between smoking and blood pressure: evidence from the health survey for England. *Hypertension*, 2001, 37, 187–193.
- Ruilope LM, Salvetti A, Jamerson K, Hansson L, Warnold I, Wedel H, Zanchetti A. Renal function and intensive lowering of blood pressure in hypertensive participants of the Hypertension Optimal Treatment study. *J.Am. Soc. Nephrol.*, 2001, 12, 218 – 225.
- RUZICKA M., LEENEN F. *Monothérapies* versus associations thérapeutiques dans le traitement de 1^{re} intention de l'HTA non compliquée. *Drugs*, 2001, 61 (7), 943 - 954.
- Sacks F.M. et al. - Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet. DASH Sodium Collaborative Research Group. *N. Engl. J. Med.*, 2001, 344, 3–10.
- SAFAR M., BLACHER J. - *L'hypertension* artérielle et sa thérapeutique. *Presse Med.*, 2000, 29, 756-759.
- SENA, L.P., VANDERJAGT, D.J., RIVERA, C., TSIN, A.T.C., MUHAMADOU, O., MILLSON, M., 1 998. Analysis of nutritional components of eight famine foods of the Republic of Niger. *Plant Foods Hum. Nut.* 52, 17-30.
- Sever PS, Dahlof B, Poulter NR, Wedel H, Beevers G, Caulfield M, et al. for the ASCOT investigators. The prevention of coronary events and stroke with atorvastatin in hypertensive subjects with average or below average cholesterol levels. The Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial: Lipid Lowering Arm (ASCOT:LLA). *Lancet* 2003, 361, 1149 – 1158.
- Sira BA Haby Gueda. Enquête en Mauritanie : Etude de la phytochimie et activités antidiabétiques et antihypertensives des feuilles de *Zizyphus mauritiana*. Thèse de pharmacie. Bamako. FMPOS – Université de Bamako, 2006.
- Source : <http://www.theheart.org/fr/article/1037693.do>
- TCHERDAKOFF Ph. - Comment choisir un traitement antihypertenseur. In : *Médicorama*. 1 990, 289.
- The Tobacco Use and Dependence Clinical Practice Guideline Panel, Staff, and Consortium Representatives. - A clinical practice guideline for treating tobacco use and dependence: A US Public Health Service report. *JAMA*, 2000, 283, 3244–3254.
- Tonstad S, Farsang C, Kläne, Lewis K, Manolis A, Perrouhoud AP, et al. Bupropion SR for smoking cessation in smokers with cardiovascular disease: a multicentre, randomised study. *Eur Heart J.*, 2003, 24, 947–956.

- TOURNIER B., GIRERD X., SAFAR M.* - Hypertension artérielle systolique. *Lettre Pharmacologue*, 12, 2, 23-28
- Traore D, 1983. *Medecine et magie africaines ou comment le moir se soihne til ? PRESENCE AFRICAINE*, 569 P.
- Tsai P.J., McIntosh J., Pearce P., Camden B., Jordan B.R., Anthocyanin and antioxidant capacity in roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract, *Food Res. Int.* 35 (2002) 351–356
- VALLEE J. P.* - *Sixième rapport du Joint National Committee sur la prévention, la détection, l'évaluation et le traitement de l'hypertension artérielle. Presse Méd.*, 1999, 28 (16), 853 – 858.
- WAEBER B.* - Stratégies de traitement dans l'hypertension artérielle essentielle. *Rev. Praticien*, 1999, 49, 520-525.
- WAEBER B., BRUNNER H.R.* – *Antihypertenseurs. In : Pharmacologie : des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques. Shorderet M., Frison-Roche/Slatkine, Paris/Genève, 1998, 131-154.*
- Wahabi HA, Alansary LA, Al-Sabban AH, p Glasziuo, 2010 à retrouver.
- Wong P.K., Yusof S., Ghazali H.M., Che Man Y.B., Physicochemical characteristics of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.), *Nutr. Food Sci.* 32 (2002) 68–73.
- Wright J.T., Bakris G, Greene T, Agodoa L.Y, Appel L.J, Charleston J. et al. for the African American Study of Kidney Disease and Hypertension Study Group. -Effect of blood pressure lowering and antihypertensive drug class on progression of hypertensive kidney disease: results from the AASK Trial. *JAMA*, 2002, 288, 2421–2431.
- www.santé_gov état de recherche en Médecine Traditionnelle au Mali de 1960 à nos jours
- Zanchetti A, Crepaldi G, Bond G, Gallus G, Veglia M, Mancia G. - Effects of fosinopril and pravastatin on progression of asymptomatic karotid atherosclerosis in hypertension: results of the Plaque Hypertension Lipid Lowering Italian Study (PHYLLIS). *J.Hypertens.*, 2003, 21 (suppl 4), S346.
- Zanchetti A, Hansson L, Dahlof B, Julius S, Menard J, Warnold I, Wedel H. Benefit and harm of low-dose aspirin in well-treated hypertensives at different baseline cardiovascular risk. *J.Hypertension*, 2002, 20, 2301 – 2307.
- Zanchetti A, Ruilope LM, Cuspidi C, Macca G, Verschuren J, Kerselaers W. Comparative effects of the ACE inhibitor fosinopril and the calcium antagonist amlodipine on left ventricular hypertrophy and urinary albumin excretion in hypertensive patients. Results of FOAM, a multicenter European study. *J.Hypertens.*, 2001, 19 (suppl

ANNEXES

Composition des réactifs**[1] Réactif de BALJET**

- Acide picrique 1 g
- Ethanol à 50° alcoolique q s p 100 ml

[2] Réactif de DRAGENDORFF

- Nitrate de bismuth pulvérisé 20,80 g
- Iode 38,10 g
- Iodure de sodium anhydre 200 g
- Eau distillée q s p 1000 ml
- Agiter pendant 30 mn

[3] Réactif du DPPH

- 1,1 diphényl 2 picrylhydrazyle en solution méthanolique 2 mg/ml

[4] Réactif de FEHLING**Solution A :**

- CuSO₄ 35 g
- Eau distillée 500 ml
- H₂SO₄ 5 ml

Laisser refroidir et compléter à 1 litre avec de l'eau distillée.

Solution B :

- Sel de Seignette 150 g
- Eau distillée 500 ml

Refroidir et ajouter 300 ml de lessive non carbonatée à un (1) litre avec de l'eau distillée.

NB : Mélanger les deux solutions à volume égal au moment de l'emploi.

[5] Réactif de GODIN**Solution A :**

- Vanilline 1 g
- Ethanol à 95 ° alcoolique 1000 ml

Solution B :

- Acide perchlorique 3 ml
- Eau distillée 100 ml

Mélanger les deux solutions au moment de l'emploi, ensuite pulvériser sur les plaques CCM avec une solution de H₂SO₄ à 4 %.

[6] Réactif de GUIGNARD (Papier picrosodé)

- Acide picrique 1 g
- Carbonate de sodium 10 g
- Eau distillée q s p 100 ml

[7] Réactif de KEDDE

- Acide dinitro 3,5 benzoïque 1 g
- Ethanol à 95 ° alcoolique q s p 100 ml

[8] Réactif de MAYER

- Iodure de potassium 25 g
- Chlorure mercurique 6,77 g
- Eau distillée q s p 50 ml

[9] Réactif de RAYMOND MARTHOUD

- 1,3 dinitrobenzène 1 g
- Ethanol à 96° alcoolique 100 ml

Composition des milieux de cultures**[1] Eau peptonée tamponnée (EPT)**

- Peptone pancréatique de viande	10 g
- Chlorure de sodium	5 g
- Phosphate dissodique	9 g
- Phosphate monopotassique	1,5 g
- Eau	1000 ml
- pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,2 ± 0,1	

[2] Bouillon de Rappaport-Vassiliadis avec Soja (BRVS)

- Triptone	5 g
- Chlorure de sodium	8 g
- Phosphate dipotassique	0,8 g
- Chlorure de magnésium	40 g
- Soja	0,5 g
- Eau	1000 ml
- pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 5,8 ± 0,2	

[3] Milieu urée-indole

- L-triptophane	3 g
- Dihydrogénophosphate de potassium	1 g
- Hydrogénophosphate dipotassique	1 g
- Chlorure de sodium	5 g
- Urée	20 g
- Rouge de phénol	0,025 g
- Eau	1000 ml

[4] Gélose Hektoen

- Peptone pepsique de viande	12 g
- Extrait de levure	3 g
- Sels biliaires	9 g
- Lactose	12 g
- Saccharose	12 g
- Salicine	2 g
- Chlorure de sodium	5 g
- Thiosulfate de sodium	5 g
- Citrate ferrique ammoniacal	1,5 g
- Bleu de bromothymol	65 mg
- Fuchsine acide	40 mg
- Agar agar	13,5 g
- Eau	1000 ml
- pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,6 ± 0,2	

[5] Gélose Sabouraud

- Peptone	10 g
- Glucose	20 g
- Agar-agar	15 g
- Eau distillée (qsp)	1000 ml
- vitamines et facteurs de croissance	
- pH = 6,0	

[6] Gélose lactosé bilié au Violet de cristal et au rouge neutre (VRBL)

- Extrait de levure	3 g
- Peptone	7 g
- Lactose	10 g
- Chlorure de sodium	5 g
- Sels biliaires	1,5 g
- Glucose	10 g
- Rouge neutre	0,03 g
- Cristal violet	0,002 g
- Agar	15 g
- pH 7,4 ± 0,2	

[7] Gélose au citrate de fer et aux trois sucres (TSI)

- Peptones de caséine	15 g/L
- Peptones de viande	5 g
- Extraits de viande	3 g
- Peptones de levure	3 g
- NaCl	5 g
- Lactose	10 g
- Saccharose	10 g
- Glucose	1 g
- Citrate ammoniacal de Fer (III)	0,5 g
- Thiosulfate de sodium	0,5 g
- Rouge de phénol	0,024 g
- Agar	12 g

[8] Gélose Nutritive

- Extrait de viande	1 g
- Extrait de levure	2,5 g
- peptone	5 g
- chlorure de sodium	5 g
- Agar	15 g
- pH = 7,0	

[9] Gélose Muller Kaufman au tétrathionate de neobicine (MKKTn)

- Tryptone	7 g
- peptone de soja	2,3 g
- bile de bœuf	4,8 g
- vert brillant	9,5 mg
- chlorure de sodium	2,3 g
- thiosulfate	24 g
- tétrathionate	6,7 g
- sodium	11,8 g
- potassium	1,15 g
- iodures	7,4 g
- iode	0,0 g
- carbonate de calcium	25 g
- Neobicine	0,5 g
- pH = 7,3	

[10] Gélose xylose, lysine, désoxycholate (XLD)

- Xylose	3,5 g
- L-lysine	5 g
- Lactose monohydraté	7,5 g
- Saccharose	7,5 g
- Chlorure de sodium	5 g
- Extrait de levure	3 g
- Rouge de phénol	80 mg
- Gélose	13,5 g
- Désoxycholate sodique	2,5 g
- Thiosulfate de sodium	6,8 g
- Citrate ferrique et d'ammonium	0,8 g
- Eau	1000 ml

Critères d'acceptation sur la base du DGAT et du DLMT

Les Critères d'acceptation sur la base du dénombrement des germes aérobie totaux (DGAT), et du dénombrement des levures et moisissures totaux (DLMT), sont donnés par les dispositions spéciales de la Pharmacopée Européenne (2008), pour les préparations à base de plantes exclusivement composés d'une ou plusieurs drogues végétales.

Ces critères sont consignés dans le **tableau XXXIV**.

- Médicaments à base de plantes dont l'emploi fait intervenir de l'eau bouillante :
 - Dénombrements des germes aérobies viables totaux (DGAT) : Au maximum 10^7 bactéries et 10^5 moisissures et levures par grammes ou par millilitre.
 - Au maximum 10^2 *Escherichia coli* par gramme ou par millilitre.
- Médicaments à base de plantes dont l'emploi ne fait pas intervenir de l'eau bouillante :
 - Dénombrements des germes aérobies viables totaux : Au maximum 10^5 bactéries et 10^4 moisissures et levures par grammes ou par millilitre.
 - Entérobactéries et certaines autres bactéries gram-négatives : Au maximum 10^3 bactéries par grammes ou par millilitre.
 - Absence de *Escherichia coli* (g ou ml)
 - Absences des Salmonelles (10 g ou 10 ml)

Tableau XXXIV - Critères d'acceptation sur la base du dénombrement des germes aérobie totaux (DGAT) et du dénombrement des levures et moisissures totaux (DLMT).

Disposition spéciale de la Ph Eu pour les préparations à base de plantes exclusivement composés d'une ou plusieurs drogues végétales	DGAT (UFC ⁴ /g ou UFC/ml)	DLMT (UFC/g ou UFC/ml)	Microorganismes spécifiées
Médicament à base de plantes dont l'emploi fait intervenir de l'eau bouillante	10^7	10^5	Au maximum 10^2 UFC de <i>Escherichia coli</i> 1 g ou 1 ml
Médicament à base de plantes dont l'emploi ne fait pas intervenir de l'eau bouillante	10^5	10^4	Au maximum 10^3 UFC de BGN ⁵ résistantes aux sels biliaires (1 g ou 1 ml) Absence de <i>Escherichia coli</i> (1 g ou 1 ml) Absence de Salmonelles (10 g ou 10 ml)

Adapté de Pharmacopée Européenne (6^e édition 2008, p. 178)

⁴ UFC : Unité formant des colonies

⁵ BGN : Bacille gram négatif

FICHE SIGNALÉTIQUE**Prénom :** Seydou**Nom :** TANGARA**Titre de thèse :** Essais sur un médicament traditionnel amélioré à base des calices de *Hibiscus sabdariffa* utilisé contre l'hypertension artérielle : formulation et dénomination commerciale**Année universitaire :** 2011-2012**Ville de soutenance :** Bamako**Pays d'origine :** Mali**Lieu de dépôt :** Bibliothèque de la Faculté de Pharmacie**Secteur d'intérêt :** Médecine Traditionnelle, Plantes médicinales**Résumé :**

La présente étude s'inscrit dans le cadre de la prise en charge de l'hypertension artérielle par les calices de *Hibiscus sabdariffa*. L'objectif général est la formulation et la dénomination commerciale d'un MTA à base des calices de *H. sabdariffa*.

Le contrôle de qualité microbiologique a révélé l'absence de salmonelles et un dénombrement des levures et moisissures totaux répondant aux normes exigées ($>$ à 10^4 et 10^5 UFC/g ou ml).

Les études phytochimiques par les réactions colorées et par chromatographie sur couche mince, ont permis de mettre en évidence la présence des flavonoïdes, des anthocyanes, des tanins, des stérols et triterpènes dans les calices. Le test de l'activité antiradicalaire par le DDPH sur des chromatogrammes a donné des taches jaunes sur fond violet, indiquant la présence de substances à activités antiradicalaires dans tous les extraits.

Les extraits aqueux (décocté et infusé) obtenus avec les poudres grossières et fines des calices de *H. sabdariffa* ont donné tous des rendements supérieurs à 50 %. Les meilleurs rendements ont été obtenus avec le décocté poudre grossière (57,63 %) et l'infusé poudre fine (57,60 %).

A l'issue de ce travail, il ressort qu'il est possible de s'approvisionner au marché en échantillons de calices de *H. sabdariffa* de bonne qualité physicochimique et microbiologique. Pour cela, nous conseillons des échantillons de calices de *H. sabdariffa* plus récents pour la préparation du MTA HYPOTISANE.

Nous retenons la présentation des formes sachets-unidoses de 10 g en infusion pour les poudres fines et en décoction pour les poudres grossières.

Mots clés : Médicament Traditionnel Amélioré, *Hibiscus sabdariffa*, contrôle de qualité microbiologique, formulation galénique, HYPOTISANE.