

MINISTERE DE L'EDUCATION NATIONALE

DIRECTION NATIONALE DE
L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ECOLE NATIONALE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple—Un But—Une Foi

n° 16

Année 1998

**CONTRIBUTION A L'ETUDE DE
BRYOPHYLLUM PINNATUM
(LAM) Oken Crassulaceae :**

*Mise en évidence des activités bactériostatique, bactéricide,
cicatrisante et antispasmodique ; toxicité aiguë.
Proposition d'une forme galénique, essais cliniques.*

THESE

*Présentée et soutenue publiquement le _____ devant
l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie du Mali par*

LEONARD NANCY WOUODJIWOUA TIDJISSA

*Pour obtenir le grade de DOCTEUR EN PHARMACIE
(DIPLOME D'ETAT)*

Composition du Jury :

Président : Professeur **ABDOULAYE AG RHALY**

Membres : Professeur **Boubacar Sidiki GIBSE**
Professeur **KONE BAMBA Djénéba**
Docteur **Saminta KEITA**

Directeur : Professeur **Arquna KEITA**

LISTE DES PROFESSEURS

ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DU MALI
ANNEE UNIVERSITAIRE 1992 - 1993

LISTE DES PROFESSEURS

Professeur	Issa TRAORE	Doyen
Professeur	Boubacar S.CISSE	Premier assesseur
Professeur	Amadou DOLO	Deuxième assesseur
Docteur	Bernard CHANFREAU	Conseiller technique
Professeur	Bakary M.CISSE	Secrétaire Général

D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALISTES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS AGREGES

Professeur	Abdel karim KOUMARE	Chef D E R de chirurgie
Professeur	Mamadou lamine TRAORE	Chirurgie générale
Professeur	Aliou BA	Ophtalmologie
Professeur	Bocar SALL	Ortho-Traumat.Secourisme
Professeur	Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Professeur	Abdou Alassane TOURE	Ortho-Traumato
Professeur	Amadou DOLO	Gynéco-obstétrique
Professeur	Djibril SANGARE	Chirurgie Générale

2. ASSISTANTS CHEF DE CLINIQUE

Docteur	Madame SY Aida SOW	Gynéco-obstétrique
Docteur	Kalilou OUATTARA	Urologie
Docteur	Mamadou L. DIOMBANA	Odontostomatologie
Docteur	Salif DIAKITE	Gynéco-obstétrique
Docteur	Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie
Docteur	Alhousseïni Ag MOHAMED	O.R.L
Docteur	Mme Diané F.S. DIABATE	Gynéco-obstétrique
Docteur	Abdoulalye DIALLO	Anesth.-Réanimation
Docteur	Sidi Yaya TOURE	Anesth.-Réanimation
Docteur	Gangaly DIALLO	Chirurgie Générale
Docteur	Sékou SIDIBE	Ortho-traumatologie
Docteur	A.K. TRAORE dit DIOP	Chirurgie Générale

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS AGREGES

Professeur	Bréhima KOUMARE	Microbiologie
Professeur	Siné BAYO	Anatomie-Path.
Professeur	Gaoussou KANOUTE	Chimie analytique
Professeur	Yaya FOFANA	Hématologie
Professeur	OGOBARA DOUMBO	Parasitologie

2. DOCTEURS D'ETAT

Professeur	Yéya Tiémoko TOURE	Biologie
Professeur	Amadou DIALLO	Chef D.E.R Sciences Fond.

3. DOCTEURS 3è CYCLE

Professeur	Moussa HARAMA	Chimie organique
Professeur	Massa SANOGO	Chimie analytique
Professeur	Bakary M. CISSE	Biochimie
Professeur	Mahamadou CISSE	Biologie
Professeur	Sekou F.M. TRAORE	Entomologie médicale
Professeur	Abdoulaye DABO	Malacologie. Biologie Animale
Professeur	N'yenigue S. KOITA	Chimie organique

4. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Docteur	Abderhamane.S. MAIGA	Parasitologie
Docteur	Anatole TOUNKARA	Immunologie
Docteur	Amadou TOURE	Histo-Embriologie

5. MAITRES ASSISTANTS

Docteur	Abderhamane TOUNKARA	Biochimie
Docteur	Flabou BOUGOUDOGO	Bactériologie

D.E.R DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS AGREGES

Professeur	Abdoulaye Ag RHALY	Chef D E R MEDECINE
Professeur	Souleymane SANGARE	Pneumo-phtisiologie
Professeur	Aly GUINDO	Gastro-entérologie
Professeur	Mamadou K. TOURE	Cardiologie
Professeur	Mhamane MAIGA	Néphrologie
Professeur	Ali Nouhoum DIALLO	Médecine Interne
Professeur	Baba KOUMARE	Psychiatre
Professeur	Moussa TRAORE	Neurologie
Professeur	Issa TRAORE	Radiologie
Professeur	Mamadou M. KEITA	Pédiatrie
Professeur	Eric PICHARD	Médecine Interne
Professeur	Toumani SIDIBE	Pédiatrie

2. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Docteur	Abdel kader TRAORE	Medecine Interne
Docteur	Moussa Y. MAIGA	Gastro-entérologie
Docteur	Bala COULIBALY	Pédiatrie
Docteur	Boubacar DIALLO	Cardiologie
Docteur	Dapa Ali DIALLO	Hémato-Médec. Interne
Docteur	Somita KEITA	Dermato-Leprologie
Docteur	Bah KEITA	Pneumo-phthisiologie
Docteur	Hamar A. TRAORE	Médecine Interne

D E R DE SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS AGREGES

Professeur	Boubacar CISSE	Toxicologie
Professeur	Arouna KEITA	Matières Médicales

2. MAITRES ASSISTANTS

Docteur	Boukassoum HAIDARA	Législ. Gest. Pharm.
Docteur	Elimane MARIKO	Pharmacodynamie
Docteur	Ousmane DOUMBIA	Chef D E R SCES.PHARM.
Docteur	Drissa DIALLO	Matières Médicales

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEURS AGREGES

Professeur	Sidi Yaya SIMAGA	Santé publique(chef D.E.R.)
Professeur	Moussa A. MAIGA	Santé Publique
Docteur	Hubert BALIQUE	Maître de conf. Santé Pub.

2. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Docteur	Bernard CHANFREAU	Santé Publique
Docteur	Pascal FABRE	Santé Publique
Docteur	Bocar G. TOURE	Santé Publique

CHARGES DE COURS

Docteur	Mme CISSE A. GAKOU	Galénique
Professeur	N'Golo DIARRA	Botanique
Professeur	Bouba DIARRA	Bactériologie
Professeur	Salikou SANOGO	Physique
Professeur	Daouda DIALLO	Chimie Générale et Min.
Professeur	Bakary I. SACKO	Biochimie
Professeur	Yoro DIAKITE	Maths
Professeur	Sidiki DIABATE	Bibliographie
Docteur	Aliou KEITA	Galénique
Docteur	Boubacar KANTE	Galénique
Docteur	Souleymane GUINDO	Gestion
Docteur	Mrs. Sira DEMBELE	Maths
Mr	Modibo DIARRA	Nutrition
Mrs	MAIGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du Milieu

ASSISTANTS

Docteur	Nouhoum ONGOIBA	Chirurgie
Docteur	Saharé FONGORO	Néphrologie
Docteur	Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Docteur	Benoit KOUMARE	Chimie Analytique
Docteur	Ababacar I. MAIGA	Toxicologie
Docteur	Mamadou DİEMBELE	Médecine Interne

C E S

Docteur	Georges YAYA (Centrafique)	Ophtalmologie
Docteur	Abdou ISSA (Niger)	Ophtalmologie
Docteur	Amadou DIALLO (Sénégal)	Ophtalmologie
Docteur	Askia Mohamed (Niger)	Ophtalmologie
Docteur	Oumar BORE	Ophtalmologie
Docteur	N'DJIKAM Jonas (Cameroun)	Ophtalmologie
Docteur	DEZOUBE Djoro (Tchad)	Ophtalmologie
Docteur	Aboubacrine A. MAIGA	Santé Publique
Docteur	Dababou SIMPARA	Chirurgie Générale
Docteur	Mahamane TRAORE	Chirurgie Générale
Docteur	Mohamed Ag BENDECH	Santé Publique
Docteur	Mamadou MAIGA	Dermatologie

PROFESSEURS MISSIONNAIRES

Professeur	J.P.BISSET	Biophysique
Professeur	F.ROUX	Biophysique
Professeur	G.FARNARIER	Physiologie
Professeur	G.GRAS	Hydrologie
Professeur	E.A. YAPO	Biochimie
Professeur	Babacar FAYE	Pharmacodynamie
Professeur	Mamadou BADIANE	Pharmacie Chimique
Professeur	Issa LO	Législation

PERSONNELS RESSOURCES

Docteur	Madani TOURE	H.G.T
Docteur	Tahirou BA	H.G.T
Docteur	Amadou MARIKO	H.G.T
Docteur	Badi KEITA	H.G.T
Docteur	Antoine NIANTAO	H.G.T
Docteur	Kassim SANOGO	H.G.T
Docteur	Yéya I. MAIGA	I.N.R.S.P
Docteur	Chompere KONE	I.N.R.S.P
Docteur	Adama SANOGO	I.N.R.S.P
Docteur	BA Marie P.DIALLO	I.N.R.S.P
Docteur	Almahdy DICKO	P.M.I SOGONIKO
Docteur	Mohamed TRAORE	KATI
Docteur	Ařkia DIALLO	P.M.I. CENTRALE
Docteur	Reznikoff	IOTA
Docteur	TRAORE J. Thomas	IOTA
Docteur	P. BOBIN	I. MARCHOUX
Docteur	A.DELAYE	H.P.G

DEDICACES

REMERCIEMENTS

SOMMAIRE

INTRODUCTION

DEDICACES

JE DEDIE CETTE THESE A

MA FAMILLE
ET AUX AMIS

Mon Père

Monsieur Ernest Martin Djonkam

Puisse ta modestie en souffrir que de rendre hommage à l'homme que tu es, au père que tu es, exemple de fermeté, de droiture et d'équité.

Tu nous as donné par ton abnégation, ton humilité, ton courage, le modèle d'un travail honnête et bien accompli.

Ma Mère

Madame Djonkam Tientcheu Jacqueline

Pour tous les sacrifices consentis et les souffrances endurées pour tous tes enfants morts ou vivants et plus particulièrement pour moi, De tout coeur, merci Maman.

les Frères aînés

Feu JOSEPH DJODJI

Tu m'as donné le meilleur de toi même en actes et en paroles pour m'élever à ce niveau.

Aujourd'hui que tu n'es plus, je te dédie ce modeste travail, en guise du profond respect et de la sympathie que je te dois, mais surtout en remerciement pour tous les nombreux sacrifices consentis à mon endroit. Que la terre te soit légère.

Madame Lucienne NGasseu

Femme calme, à coeur plein de bonté, tu n'as eu de cesse à me seconder comme maman.

Tes conseils m'ont beaucoup profité au cours de mes études.

Tes nombreux sacrifices ne sauraient rester vains.

Aussi recevez, Jean Mineur et toi, ce modeste ouvrage comme gage de ma profonde sympathie à votre égard, mais aussi de mon infinie gratitude.

Mes frères décédés

Feu Dieudonné Benjamin Singha

Feu Ernest Youdjeu Bouwé

La mort vous a privé de la joie que vous aurait procuré ce travail.

Le Seigneur seul détient le plan de vie de chacun de nous

Puisse-t-il garder vos âmes à jamais irrépréhensibles !

DEDE

Le 22 Décembre 1986 est une date souvenir,
Le tout premier jour évocateur d'un glorieux avenir,
C'était un Jeudi vers 11 h 45 mn à Pierre Pène que se fit la
promesse,
De chercher dans la joie comme dans les peines, cette richesse
De manière tâtilonne, nous en avons cherché la voie
La nature et le sujet de ce bien ont été trouvés à la fois.
De l'eau a coulé sous les ponts.
Et notre ambition n'a pas changé dans le fonds. Mieux, de bout en
bout tu m'as activement suivi.
De fil en aiguille, tu as supporté l'objectif poursuivi,
Défiant tes obligations, faisant corps avec moi dans mes peines,
Sous les regards envieux et cruels de quelques âmes pleines de haine.
Les douleurs de mes efforts soutenus,
Ont façonné en moi un être nu
J'ai eu besoin de patience, tu m'as nourri de persévérance
J'ai eu besoin d'abstinence tu as effacé mes excès avec aisance
La fatigue et le découragement ont trépassé
Chaque fois que tu est passée ;
Au terme de ce travail que nous avons mené, DEDEBOM est né
Ensemble, donnons lui VIE
Par une ardeur suivie
Car en réalité "Vivre est un bien précieux
Faire vivre pleinement DEDEBOM est un bien plus précieux encore pour
tous
Mais vivre pleinement à trois avec DEDEBOM est le plus précieux des
biens"
Là se trouve mon plus grand espoir.
Dédé, je te dédie cet ouvrage dont tu détiens en partie la paternité,
en souvenir de ton amour et de ta fidélité à mon endroit. Amour et
fidélité qui j'espère, animeront notre vie à jamais.

Papa et Maman DEMBELE

Vous avez été pour moi, amour,
Vous m'avez apporté tour à tour
la chaleur des familles unies,
la joie qui manque à celle qui sont désunies
Forçant ainsi mon admiration
Et relevant ma consolation
Rien d'étonnant alors que Dédé m'ait emballé
Avant que je ne lui eusse même parlé
L'éducation, la modestie, l'humilité,
L'amour, la simplicité et la charité
Que vous lui avez transmis,
Ont fait croître ma hantise
Mon amour et mon attachement pour elle ont cru,
A mesure que mes défauts ont décru,
Papa, Maman, cet ouvrage dont DEDE et moi sommes co-auteurs, nous
vous le dédions en souvenir du soutien moral que vous nous avez
régulièrement apporté, en raison de l'amour que vous avez toujours
manifesté pour Dédé et moi.

Madame Pauline Yamgoue

Très spontanée, tes interventions m'ont toujours marqué. Tes conseils et ton savoir faire pratiques m'ont beaucoup servi.
A Maurice et toi, recevez l'expression de ma profonde gratitude.

Monsieur Jean Jacques Rousseau Hapi

Ton calme et ta détermination m'ont servi de qualité dans la persévérance et dans l'élaboration de ce travail. Puisse le Seigneur notre Dieu te guider et te conduire sur le chemin de la réussite.

Mes Oncles

Feu Paul Yamga

Puissent ton amour, ton équité et ton humilité en souffrir que de te rendre hommage à l'homme que tu as été, au père que tu fus, exemple de fermeté de droiture et de charité.

Tu nous a légué par ton abnégation et ton esprit chrétien, l'exemple d'un travail accompli.

Feu Jean SINGA

Ton altruisme t'a suivi ta vie durant et par ce caractère, je me suis fait accepter partout où j'étais étranger.

Reçois ce modeste ouvrage en guise de ma profonde admiration pour toi.

Feu Jacques Nancy

Papa, notre Seigneur t'a rappelé alors que ce travail initié, et de bout en bout soutenu par le fruit de ton dur labeur, aboutissait déjà Hélas !

Le plan céleste que nous ignorons tous, en a décidé autrement.

Sache que sans toi ce travail n'aurait pas été. Aussi est-il l'oeuvre de ton indéfectible participation. Que le Seigneur tout puissant te garde en paix.

Monsieur Bouwe ROBERT

Reçois par cet ouvrage, mon attachement à ton endroit

Mes Cousins et Cousines

Vous avez tous et toutes contribué, chacun et chacune à sa manière à l'aboutissement de ce travail. Vous l'avez fait à coeur joie.
Tout mes remerciements.

Mes Neveux et Nièces

J'espère vous avoir fourni un document de réflexions sur la santé en Afrique. J'espère aussi que vous en serez stimulé afin de continuer ce qui n'a fait que commencer.

Que Dieu vous l'accorde.

Mes Tantes

Trouvez en ce modeste travail, le gage de votre soutien constant.

Tous mes Camarades de Promotion de l'ENMP

Dr. Nouhoum COULIBALY	Dr. Abdoulaye DOLO
Dr. Fatoumata Diallo	Dr. N'Diaye TALL
Dr. Rokja SANOGO	Dr. SANGARE Mantala
Dr. Rémy Ere ARAMA	Dr. Cécile BERTHE
Dr. Abdoulaye DJIMPE	Dr. Fatoumata DIALLO
Dr. El Mehdi	Dr. Ina DOLO
Dr. Amadoun MAIGA	Dr. Ousmane TOURE
Dr. Seydou SOW	Dr. Boubou COULIBALY
Dr. Ousmane KOITA	Dr. Mamadou TRAORE
Dr. Boubacar Thierno SOW	

pour ne citer que ceux-ci.

Vous m'avez beaucoup encouragé et soutenu au cours de ces travaux.
Puisse cet ouvrage vous apporter la preuve qu'un espoir pointe à
l'horizon de l'Afrique !

Tous mes Amis

Vous avez longtemps attendu cet ouvrage. Aujourd'hui, je vous le dédie en raison de votre patience et surtout de votre persévérance.

Mes Beaux Frères

Monsieur Jean Mineur Ngasseu

Tu es l'homme aux conseils pratiques et au courage à toute épreuve. D'une détermination irréductible, ton exemple m'a permis de franchir un à un, les obstacles que je n'énumère plus, qui se sont dressés sur mon parcours.

Puisse cet ouvrage en constituer le gage ?

Monsieur Maurice YAMGOUE

A coeur joie, je te remercie pour ta participation morale et matérielle tout au long de mes études.

Professeur Giono et Mme

Chers Maîtres,

Je tiens à vous dédier cet ouvrage en reconnaissance à tous les conseils que vous n'avez eu de cesse à m'apporter.

Je vous exprime ma profonde gratitude.

Professeur Omar SYLLA

Cher Maître,

Vous m'avez beaucoup encouragé dans la recherche, vous m'en avez ouvert les portes. Je vous dédie les résultats de mes premiers travaux en guise de reconnaissance envers le Maître que vous avez été pour moi, le Conseiller dont vous avez les qualités et l'exemple de chercheur universel que vous représentez.

Personnel de la Division Médecine Traditionnelle de l'INRSP à Bamako

Nous tenons à adresser notre profonde reconnaissance à tout le personnel de cette Division et plus particulièrement,

A Fanian SANOGO
A Kassim COULIBALY
A Adama CAMARA
A Cheick

pour ne citer que ces derniers.

Professeur Aliou BA

Voici enfin terminé l'ouvrage que vous attendiez et pour lequel vous n'avez eu de cesse à m'encourager, à m'encadrer de votre amour paternel.

Je vous dis merci de tout coeur en raison des égards et des soins dont vous nous avez entouré.

Docteur Ousmane DOUMBIA

DEA de Pharmacie Chimique
Enseignant à l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie
Chef du laboratoire de contrôle de l'INRSP.

J'ai pu mettre à l'épreuve les conseils que vous m'avez prodigués lors de mon séjour au sein de votre Division.

Retrouvez ici toute ma reconnaissance.

Personnel de la Pharmacie de la Cathédrale de BAMAKO.

Mr. KAMISSOKO Sayon
Mr. KAMISSOKO Fodé
Mr. Checkna Hammala SYLLA
Dr. Kassim COULIBALY
Mr. Moussa COULIBALY
Mr. Abdoulaye COULIBALY

Vos encouragements dans la phase terminale de ce travail m'ont permis de parfaire la finition de cet ouvrage.

Trouvez-y l'expression de ma profonde gratitude.

Docteur Tiki KOUM

Pharmacie SAPEURS - DOUALA

Je suis heureux d'avoir mis en pratique vos conseils et d'avoir pu proposer aux populations malades, cette pommade que vous attendiez.

Merci pour tous vos conseils.

Mademoiselle Nicole KADJI

Nicole, voici enfin le document pour lequel tu as contribué.

J'espère pouvoir réaliser par la suite ce qui manque à ce travail, et procurer à tous ceux qui, comme toi, encouragent la recherche, un voire deux médicaments tirés de cette plante. Une fois encore merci pour ta contribution.

Docteurs Tignokpa et Madame

Je vous remercie pour vos encouragements incessants :
Trouvez dans ce travail, ma profonde sympathie.

Professeur Jean Roger WATTEZ

Maître de Conférences Agrégé de Botanique Pharmaceutique
Professeur Titulaire de chaire à la Faculté de Pharmacie d'Amiens
Directeur de l'UER des Sciences Pharmaceutiques
Faculté de pharmacie
Université de Picardie
Professeur,

Ils sont encore présents en moi, l'intérêt et l'amour que vous avez stimulés en moi pour la Botanique en Général, et pour la Botanique Pharmaceutique en particulier.

Aussi dois-je vous dire avec sincérité que vous avez été constamment présent à mon esprit lors de mon enquête ethnopharmacognosique et surtout au moment de l'identification botanique de la drogue que j'ai étudiée.

Je vous rassure du constant intérêt que j'ai pour la Botanique et pour la recherche.

Au Peuple Malien

Chers aînés, chers amis, chers frères. Les mots me manquent, ceux par lesquels je peux vous exprimer l'extase qui m'anime au terme de ce travail.

Vous êtes un peuple de parole.

Vous êtes le peuple africain aux valeurs conservées.

Vous avez un coeur qui écoute et partage le cri des autres peuples.

Vous êtes et resterez encore la Terre d'Accueil de nombre de mes frères.

Puisse cette sensibilité particulière nous conduire à une coopération camerouno-malienne ?

De tout coeur merci.

A la Direction de l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie

Professeur Issa TRAORE
Professeur Boubacar Sidiki Cisse
Professeur Amadou Dolo INGRE
Docteur Bakary Cisse
Monsieur l'Econome
Mesdames les Secrétaires

J'ai été le premier Camerounais à bénéficier d'une inscription à l'ENMP.

Arrivé comme Etranger, vous m'avez offert une hospitalité à nulle de autre pareille, mieux, aujourd'hui une soixantaine de Camerounais sont inscrits à l'ENMP par vos bons soins et vos soucis constants d'accueillir les autres.

Progressivement vous m'avez intégré, encadré et formé. Les épreuves ont été longues et vos soutiens constants.

La joie que me procure ce travail est également la vôtre. La satisfaction que j'en tire, je la partage avec vous.

C'est de tout coeur que je vous adresse mes remerciements et à travers vous, tout le personnel qui m'a épaulé pendant ces années pénibles. Puisse ce travail augurer une véritable coopération Camerouno-Malienne.

Tel est mon souhait ardent.

r Modibo Koly KEITA,
: Bakary N'DIAYE

Je vous ai connus en difficultés et votre sensibilité vous a décidé à m'aider au terme de ce travail.

Je vous en suis particulièrement reconnaissant.

REMERCIEMENTS

Monsieur El hadj WADE

Je vous dédie ce travail dont vous avez été le premier à m'en fournir un document bibliographique.

Rassurez-vous de ma profonde gratitude.

Tous les Etudiants et Stagiaires Camerounais au Mali

J'espère que ce travail constituera pour vous une source inépuisable d'inspirations.

Rassurez-vous de mon indéfectible soutien à tous les partisans de l'effort en vue de l'édification de notre patrimoine phytocratique.

Professeur Paul KOUEKE

Maître de Conférences agrégé de Dermatologie
Département de Dermatologie Vénérologie
Centre Universitaire des Sciences de la Santé Yaoundé

Vos conseils et vos exigences m'ont beaucoup aidé pendant ce travail.

Trouvez ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Monsieur Picaud

Vos conseils m'ont grandi
Votre expérience m'a muri
De là est née un état d'esprit qui a prévalu lors de la rédaction de ce document.

Mes sincères remerciements.

Docteurs Foungré et Kablan

Docteur d'Etat ès Sciences Pharmaceutiques
Chargé de cours de Pharmacologie à la Faculté de Pharmacie d'ABIDJAN.

Nous tenons à vous dire à quel point notre joie a été grande dès le jour où vous avez résolu de nous encadrer dans votre laboratoire : c'est grâce à vous et à votre technicien DIGBEU, qu'ont pu être mis en évidence, les propriétés antispasmodiques et plus particulièrement antibronchospasmodiques respectivement chez le rat et chez la cobaye, de l'extrait de notre plante.

C'est grâce à vous Dr. Kablan, que la propriété cicatrisante de cet extrait a été démontrée.

Je vous en suis profondément reconnaissant.

Professeur Moriféré BAMBA

Maître de Conférence Agrégé à la Faculté de Pharmacie d'ABIDJAN
Professeur de Pharmacie Galénique à la Faculté de Pharmacie d'ABIDJAN
Chef du Département de Galénique à la Faculté
Pharmacien Chef au CHU de Cocody.

Je vous suis reconnaissant d'avoir accepté que ce travail se déroule en partie au sein de la Faculté dont vous avez été le Doyen.

Docteur Sabaly COULIBALY

Docteur d'Etat Es Sciences Pharmaceutiques
Maître Assistant de Galénique à la Faculté de Pharmacie d'ABIDJAN

Vous avez bien voulu mettre à ma disposition le matériel (appareils), les excipients et vos connaissances en vue de la formulation de la pommade dont nous avons esquissé des essais cliniques préliminaires.

Rassurez-vous de notre profonde reconnaissance.

NOUS TENONS A REMERCIER

Docteur Nouhoum KOITA

Docteur en Médecine Générale
PhD en Santé Publique (Université de Londres)
Médecin à la Clinique de la Division Médecine Traditionnelle
L'INRSF BAMAKO.

Vous avez bien voulu réaliser un essai clinique préliminaire de la pommade "DEDEBOM" que nous vous avons suggérée.

Tout au long de cette phase clinique, votre disponibilité a été frappante et votre rigueur constante.

Nous n'en voulons pour preuve que la reconnaissance par la Commission Kelta Sanvotologique à l'Institut Pasteur.

Nous vous sommes reconnaissants pour tout cela.

Professeur Loukou Yao GUILLAUME

Maître de conférence agrégé à la Faculté de Pharmacie d'Abidjan
Chef du Département de Microbiologie à la Faculté de Pharmacie
d'ABIDJAN
Chef du Département de Microbiologie au Laboratoire National
d'ABIDJAN
Directeur du Laboratoire National d'ABIDJAN

Vous m'avez ouvert les portes du Laboratoire de Microbiologie de la Faculté et celles du Laboratoire National et mis à ma disposition les techniciens qui s'y trouvent. Il ne m'a manqué de rien, car l'un ou l'autre laboratoire n'est pas parfait, que grâce à votre compétence, patience, et à votre aide, j'ai obtenu les résultats que je vous envoie.

Restons à l'écoute de vos suggestions et de vos remarques.

Professeur Dr. Djéjé BEKOU

Maître de Conférence Agrégé à la Faculté de Pharmacie d'Abidjan
Professeur de Microbiologie à la Faculté de Pharmacie d'Abidjan
Chef de Service d'Hygiène au Laboratoire National

C'est grâce à votre accueil et à vos conseils que nous avons pu déterminer la toxicité rigide de l'extrait de notre plante sur des rats. Nous vous remercions pour votre disponibilité et pour votre accueil.

A NOS JUGES ET MAITRES

A Notre Président de Jury de Thèse

**Monsieur le Professeur
Abdoulaye Ag RHALY**

Maître de Conférence Agrégé de Médecine Interne
Conseiller Technique du Ministre de la Santé et des Personnes Agées
Professeur à l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie de Bamako

C'est un honneur que vous nous accordez en acceptant la présidence de
cette thèse.

Soyez rassuré de notre profonde reconnaissance. Nous gardons un
précieux souvenir de vos cours de Sémiologie Médicale et de Santé
Publique.

Professeur KONE Bamba Djénéba

Maître de Conférence Agrégé à la Faculté de Pharmacie d'ABIDJAN
Chef du Département de Pharmacognosie à la Faculté de Pharmacie
d'ABIDJAN.

Chef de Service de Pharmacie du CHU de YOUPOUGON (ABIDJAN)

La pertinence de vos critiques tout au long de ce travail, la rigueur
et la méthodologie qui vous caractérisent, ont l'une et l'autre
contribué à la réalisation de ce travail. Aussi, nous vous devons
l'amour de la recherche et de la probité intellectuelle.

Rassurez-vous en plus de notre profonde gratitude, de
l'approfondissement des résultats de ce travail commencé sous vos
bons auspices.

Professeur Boubacar CISSE

Professeur de Toxicologie à l'ENMP

Chef de DER Toxicologie

Chef de Service de Toxicologie à l'INRSP

Au delà des cours de Toxicologie que vous avez eus à nous dispenser et qui nous ont inculqué la rigueur et la discipline dans la recherche, vous avez toujours été pour moi un modèle par votre rectitude en matière de science, un aîné par vos conseils, un maître par votre persévérance et votre amour pour la recherche.

Nous tenons à vous remercier pour votre présence et votre participation à ce jury de thèse.

Docteur Sominta KEITA

Dermatologue à l'Institut Marchoux, Diplôme d'Epidémiologie
Assistant Chef de Clinique à l'Ecole de Médecine et de Pharmacie de
BAMAKO.

Nous vous savons gré d'avoir accepté de tester l'activité anti-
infectieuse et cicatrisante de la pommade "DEBEBOM" à l'extrait de
Bryophyllum sur une trentaine de vos malades.

Les résultats obtenus vous ont emmené à m'encourager sans réserve.

Et nous voudrions vous dire notre profonde admiration pour votre
rigueur scientifique et pour vos qualités humaines.

Notre Directeur de Thèse
Professeur Arouna KEITA

Agrégé de Pharmacognosie

Chargé de cours à l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie de Bamako

Chef de la Division Médecine Traditionnelle de l'INRSP de Bamako.

Vous nous avez fait l'honneur de diriger ce travail au cours duquel, vous avez été infiniment disponible malgré pour vos lourdes responsabilités.

Puisse cet ouvrage constituer pour vous, le gage de mon engagement à la recherche sur les plantes africaines réputées médicinales.

Tous nos remerciements.

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE

TRAVAUX PERSONNELS SUR LE TERRAIN .

1ère PARTIE : Enquête Ethnopharmacologique Effectuée au Cameroun
Avril 1989 - Décembre 1989

CHAPITRE I : Le Cameroun, ses provinces, ses phytothérapeutes
traditionnels

CHAPITRE II : Provinces, villes visitées, densité du Bryophyllum

CHAPITRE III : Résultats de l'Enquête

- I. Provinces du Nord Ouest et du Sud Ouest
- II. Province du littoral
- III. Province de L'Ouest
- VI. Provinces du Centre et du Sud

IIème PARTIE : Etudes antérieures sur Bryophyllum pinnatum (Lam)
Oken.

CHAPITRE I : Etudes Botaniques : Aperçu Général sur la famille des
Crassulaceae particulièrement sur le genre Byophyllum.

CHAPITRE II : Usages en médecine traditionnelle

CONCLUSION

CHAPITRE III : Etudes phytochimiques

CHAPITRE IV : Etudes Microbiologiques et pharmacologiques

- I. Microbiologie
- II. Pharmacologie

IIIème PARTIE : TRAVAUX PERSONNELS

CHAPITRE I : Etudes Botaniques

- I. Description botanique de la drogue observée à l'oeil nu
- II. Etude de la coupe anatomique transversale de la drogue :
Structure de la feuille de Bryophyllum pinnatum, (Lam)
Oken. (Crassulaceae)
- III. Etude de la Poudre de feuilles.

CHAPITRE II : Screening chimique du jus de feuilles de Bryophyllum
pinnatum, (Lam) Oken Crassulaceae.

- I. Période de récolte des feuilles de Bryophyllum pinnatum
- II. Obtention du jus de feuilles de Bryophyllum pinnatum
(Lam) oken.
- III. Etudes Chimiques

- 1 - Réactions de groupe
- 2 - Chromatographie

CHAPITRE III : ESSAIS MICROBIOLOGIQUES

A - In Vitro

I. Méthode de diffusion en milieu solide : Détermination de la C.M.I.

- 1 - Généralités
- 2 - Souches de référence et souches hospitalières
- 3 - Les disques d'antibiotiques
- 4 - Matériel et méthodes

a/- Matériel

- Obtention du matériel végétal à tester
- Souches bactériennes

b/- Méthodes

- 5 - Résultats
- 6 - Discussions

II. Détermination de la CMB du lyophilisat et de l'extrait méthanolique du jus de feuille de Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken.

1. Matériel et Méthodes

a/- Préparation de l'inoculum

b/- Etablissement de la gamme de dilution du lyophilisat et de l'extrait méthanolique du lyophilisat

c/- Numération des germes

d/- Lecture des résultats

d/- Résultats

- 7 - Discussion
- 9 - Conclusion

B - IN VIVO : Mise en évidence in vivo de l'activité anti-infectueuse et cicatrisante du jus de Bryophyllum et de la pommade madécassol sur des rats blessés et infestés par des souches hospitalières et par leurs associations.

I. Matériel

1 - Pommades utilisées

a/- Pommade Madécassol Néomycine à hydrocortisone

b/- Pommade à base de l'extrait aqueux de Bryophyllum pinnatum (Lam) oken formulé pour un pot de 50 ml.

c/- Pommade aux excipients ou pommade témoin

2 - Réactif Animal

3 - Trousse à dissection

II. Protocole

III. Résultats

- Effets antimicrobiens

IV. Interprétations des résultats

V. Relation entre l'activité in vitro et l'activité in vivo des activités antibactériennes et cicatrisantes de l'extrait de feuilles de Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken.

C - ETUDES PHARMACOLOGIQUES

- I. Introduction
- II. Mise en Evidance de l'activité spasmolytique sur le duodénum isolé de rat.

1. Principe
2. Matériel et méthodes

- a/- Matériel
- b/- Méthodes
- c/- Conduite des essais
- d/- Manipulations, Résultats et Interprétations

- d.1 Mise en évidence de l'activité spasmolytique de la solution du lyophilisat à l'égard de l'acétycholine
- d.2. Mise en évidence de l'activité spasmolytique de la solution du lyophilisat à l'égard du chlorure de baryum sur le duodénum isolé de rat

D - ETUDE DE LA TOXICITE DU JUS DE BRYOPHYLLUM PINNATUM (LAM) OKEN

- I. Toxicité aiguë chez la souris swin par voie intrapéritonéale.
- II. Toxicité aiguë chez le rat de souche OFA par voie orale
 1. Détermination :
- III. Tolérance de la pommade au jus lyophilisé de Bryophyllum vis à vis des lapins.
 1. Matériel
 2. Protocole
 3. Résultats

Conclusion

E - TOLERANCE ET EFFICACITE D'UNE POMMADE DERMIQUE A L'EXTRAIT DE BRYOPHYLLUM PINATUM (LAM) OKEN (CRASSULACEAE)

- I. Matériel et Méthodes
 1. Matériel
 2. Méthodes
- II. Illustrations des résultats obtenus à la division médecine traditionnelle de l'IRNSP et au service de Dermatoléprologie de l'Institut Marchoux.
 - 1 - Résultats obtenus à la Division Médecine Traditionnelle
 - 2 - Résultats obtenus à l'Institut Marchoux
- III. Corrélation entre l'activité antiseptique et l'activité cicatrisante de la pommade dermique à l'extrait de Bryophyllum.

Illustration

Conclusion Générale

Bibliographie

INTRODUCTION

LE SEIGNEUR FAIT POUSSER DE TERRE
DES SIMPLES : L'homme sensé ne
les méprise pas.

Ecclésiaste Chap. 38
La Bible.

INTRODUCTION

Pendant longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales ont été le principal, voire l'unique recours du médecin pour la fabrication des médicaments.

En effet, un survol historique nous montre que l'homme a toujours accordé aux plantes, une importance toute particulière :

- La médecine Babylonienne (772 - 710 avant J.C) nous est connue grâce aux tablettes portant des listes de drogues végétales, soigneusement établies en écritures cunéiformes.
- Dans l'antiquité, Galien et Hyppocrate ont préparé eux-mêmes, à la base de plantes, leurs médicaments.
- Le plus célèbre Médecin arabe, Avicenne, décrit 811 produits végétaux et minéraux en expliquant leurs effets sur l'organisme.
- Du Moyen-Age à nos jours, Médecins, Pharmaciens découvrent l'intérêt des plantes médicinales.

Ce fondement très ancien qui attribue à la nature et plus particulièrement aux plantes, des vertus thérapeutiques indéniables, nous a incité à l'étude de l'une d'elles : BRYOPHYLLUM Pinnatum (Lam) Oken, plante utilisée de manière empirique dans diverses affections, nous nous sommes attelé, après une étude ethnopharmacognosique effectuée au Cameroun et un rappel des connaissances bibliographiques, à effectuer :

- un screening phytochimique ;
- des tests microbiologiques in vitro et in vivo d'appréciation de l'activité anti-infectieuse ;
- des tests in vivo d'évaluation de l'activité antispasmodique et particulièrement antibronchospasmodique d'abord sur le duodénum isolé de rat, puis sur les bronches du cobaye ;
- une étude toxicologique d'innocuité ;
- une formulation galénique qui nous a conduit à un essai clinique préliminaire.

Notre objectif est une approche visant à la rationalisation de l'usage de cette plante pantropicale pour sa transformation éventuelle en médicament(s).

Nous avons effectué une enquête auprès des Phytothérapeutes Traditionnels Camerounais, en vue de recueillir toutes les données susceptibles d'orienter nos recherches, tant aux plans botanique, chimique, microbiologique, pharmacologique que toxicologique, galénique et clinique.

Pour situer le cadre dans lequel ce travail a été effectué, un bref aperçu de la situation géographique du Cameroun nous a semblé nécessaire, de même qu'un rappel sur ses provinces et l'organisation de ses Phytothérapeutes Traditionnels.

Les planches 1 et 2 nous montrent la répartition du Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken au Cameroun et en Afrique.

PREMIERE PARTIE

**ENQUETE
ETHNOPHARMACOGNOSIQUE
EFFECTUEE AU CAMEROUN
(Avril 1989 - Décembre 1989)**

"Nier parcequ'on n'Explique pas,
rien n'est moins scientifique."

(Henri POINCARÉ)

Cité par Jean Valnet dans Aromathérapie : traitement des maladies par
les essences de plantes 10 ème Edition Maloine.

Plance n°2 : Carte Phytogéographique de Bryophyllum pinnatum (Lam)
Oken en AFRIQUE



Legende :

/// Aires de répartition

CHAPITRE I

LE CAMEROUN SES PROVINCES, SES PHYTOTHERAPEUTES TRADITIONNELS

Situé au Centre de l'Afrique et sur la côte Atlantique au niveau de l'Equateur, le Cameroun compte 11 millions d'habitants, occupant une superficie de 475.000 km².

Il est administrativement divisé en dix provinces dont chacune compte cinq villes en moyenne.

Les Phytothérapeutes Traditionnels forment une association dont le siège se trouve à Yaoundé, la Capitale administrative. Cette institution est représentée dans chacune des provinces par un comité qui coordonne ses activités et assure l'inscription des phytothérapeutes reconnus compétents.

L'Association Nationale des Phytothérapeutes compte 39 personnes dont un Président élu par les membres et proposé au Ministre de la Santé qui peut confirmer ou rejeter la candidature de celui-ci. Les autres membres sont ensuite désignés par un Comité restreint dont le Président est le Coordonnateur.

Les critères ethniques et les critères de compétence entrent en jeu dans cette sélection.

Le comité de cette association se répartit comme suit :

Tableau n° 1 : Comité de l'Association Nationale des phytothérapeutes

PROVINCES	NOMBRE DE MEMBRES
Nord et Sud-Ouest	9
Est	3
Ouest	11
Centre-Sud et Sud	9
Nord et Extrême Nord	3
Adamaoua	4
TOTAL	49

Au plan linguistique, le Cameroun est composé de 232 ethnies et dialectes différents. Cet aspect culturel a constitué un handicap lors de la collecte des informations ; nous étions obligés de nous servir d'un interprète local, s'exprimant dans le même dialecte que le Phytothérapeute Traditionnel, pour avoir accès à ses connaissances. Généralement ces derniers ne parlaient ni l'Anglais,

ni le Français mais leur langue maternelle et parfois, le "Pidgin", né du Français et de l'Anglais.

Dans chaque province, nous avons consulté les membres de l'Association des Phytothérapeutes, lesquels nous renseignaient sur l'existence ou non de la plante dans leur Province. Ceci a permis d'éviter les déplacements inutiles. Des dix provinces du pays, nous en avons visité 6 où se trouvait la plante dont :

Tableau n°2 : Les Provinces visitées

PROVINCES	NOMBRE DE REPRESENTANTS
Nord-Ouest et Sud-Ouest	9
Centre et Sud	9
Littoral	11
Ouest	10
TOTAL	39

Nous nous sommes rendus dans chacune des provinces, avec un échantillon, de la plante, préalablement identifié à Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken par le Département de Botanique systématique de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé et par le Directeur de l'Herbier National du Cameroun. A chaque fois, l'Enquête a été menée auprès des phytothérapeutes à partir d'un questionnaire standardisé. Tous ont reconnu la plante à la présentation de l'échantillon. Par la suite, nous nous sommes contentés des informations éparses recueillies auprès des originaires des provinces rencontrés dans les villes visitées.

CHAPITRE II

PROVINCES, VILLES VISITEES, DENSITE DU BRYOPHYLLUM

Le tableau n° 3 regroupe les provinces et villes visitées tout en précisant la présence abondante ou non du Bryophyllum.

Tableau n°3 :

PROVINCE	VILLES	PRESENCE
Sud-Ouest	Limbé Tiko Buéa Kumba Mutengéné	ABONDANT
Nord-Ouest	Bamenda Bali Santa Bengwi Bambili	ABONDANT
Littoral	Douala Mbanga Mpenja Njombe Loum Manjo Melong Nkongsamba	ABONDANT
Ouest	Bafang Bafoussam Banganté Foumbot MBouda Dschang	MOYENNEMENT ABONDANT
Centre	Yaoundé MBalmayo Eséka Obala Akonolinga	PEU ABONDANT
Sud	Ebolowa Sangmelima	PEU ABONDANT

Planche n° 3 : Fiche d'enquête

1. Nom du Phytothérapeute Traditionnel
2. Age
3. Nombre d'année d'expérience
4. Province d'origine
5. Province de fonction
6. Dénominations locales de Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken
7. Terminologie
8. Indications de la plante
9. Formes d'utilisation
10. Posologie
11. Expérience(s) personnelle(s)
12. Autres
 - a. Moments de récolte
 - b. Outil de récolte
 - c. Conservation
 - d. Mode d'administration
 - e. Durée du traitement
 - f. Tolérance.

CHAPITRE III

RESULTATS DE L'ENQUETE

Nous avons présenté les résultats de l'enquête, par province et suivant le plan du questionnaire auquel les phytothérapeutes traditionnels ont répondu. Lorsqu'il est utilisé par voie externe, le jus de feuilles de Bryophyllum pinnatum est dilué dans l'huile de palmiste.

Lorsqu'il est destiné à la voie orale, on lui ajoute du sucre ou du sel "pour en atténuer l'acidité dans le premier cas, ou pour le conserver dans le second".

Ce jus est utilisé tel quel, par les autres voies : nasale et auriculaire. Nos résultats figurent aux tableaux 4, 5, 6, 7 et 8.

I. Provinces du Nord-Ouest et du Sud-Ouest Dialecte : Bakuéri

Tableau n°4 :

Noms des Phytothéra- peutes Tra- ditionnels 1	Agés (ans) 2	Années d'expérien- ce (ans) 3	Provinces d'origine 4	Lieux d'exercice 5	Villes d'origine
Paul Owiba	37	15	Sud-Ouest	Limbé	Limbé
Atem Franck	40	7	Sud-Ouest	Buéa	Buéa
Moses Ndissoko	60	31	Sud-Ouest	Kumba	Kumba
Achu Peter	30	6	N-Ouest	Bamenda	Bamenda
Muteng Fritz	22	3	N-Ouest	Santa	Santa
Fobtene And.	37	13	N-Ouest	Bengwi	Bengwi
Ngu Peter	45	22	N-Ouest	Bali	Bali
Linus Awu					
Mofor	70	27	N-Ouest	Bambili	Bambili

6. Dénomination locale de Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken : YOHAE

7. Terminologie : Herbe ou médicament cicatrisant

8. Indications de la plante : Otites, plaies, ulcères, brûlures

9. Forme d'utilisation : Jus de feuilles fraîches flambées

10. Posologie :

OTITES

Envelopper cinq feuilles de Bryophyllum dans une feuille de bananier et les ramollir à la flamme. Presser à chaud. Instiller 2 gouttes de jus par oreille 2 fois par jour pendant 4 jours. Boucher l'Oreille à l'aide d'un coton.

Ulcères, Plaies et Brûlures

Faire deux applications du jus de feuilles par jour pendant 4 jours chez l'enfant, et pendant 7 jours chez l'adulte.

Tableau n°5 : Provinces du Nord-Ouest et du Sud-Ouest
Drogue et Mode d'Utilisation, Indications, Posologies
et Tolérance selon les phytothérapeutes interrogés.

NOM/ PRENOM	DROGUE ET MODE D'UTILI SATION	INDICATIONS	POSOLOGIES	TOLERANCE
ACHU NGU PETER 45ans et 22ans D'expérience	Jus de Feuilles Flambées	Quinte de toux	1 Cuillère à café 4 Fois par jour pendant 4jours (ora- les	B O N N E T O L E R A N C E
		Vomisse- ments	2 cuillérées à café/j. pen- dant 4 jours (voie orale)	
FRANCK ATEM 40 ans et 7 ans d'expérience	Jus de feuilles flambées	Cicatrisa- tions nombril et pénis des nouveaux nés	1 application par jour pendant 3 jours	
	Cataplasme de Feuilles Flambées	Inflamma- tions (Traumati- ques et post Infec- tieuses)	1 application par jour pendant 5 jours	

En conclusion, nous retiendrons que le Bryophyllum est utilisé dans les provinces du Nord-Ouest et Sud-Ouest pour traiter :

- . les infections (oreilles, plaies)
- . les spasmes (toux, vomissements)
- . les inflammations (traumatiques et/ou post infectueuses)

La récolte des feuilles se fait à la main, tôt le matin ; celles-ci doivent être épaisses.

Parmi les personnes interviewées, aucun cas d'intolérance n'a été signalé.

II - PROVINCE DU LITTORAL

Dialecte : Douala, Bassa

Tableau n°6 : Province du Littoral

Noms des Phytothé- rapeutes Tradi- tionnels	Âges(ans)	Années d'expérience	Province d'origine	Lieux d'exercice	Villes d'origine
1	2	3	4	5	
Diboum	50	25	Littoral	Douala	Douala
NGotti	35	12	Littoral	MBanga	MBanga
Mapoko	30	8	Littoral	Loum	Loum
Mahi	72	45	Littoral	Edéa	Edéa
Tiki	60	27	Littoral	MPenja	MPenja
Etiki	65	33	Littoral	Manjo	Manjo

6. Dénominations locales du Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken :

Douala : Edibédibé
Bassa : Yogok

7. Terminologie : Non précisée

8. Indications de la plante : (Otites, toux, céphalées, brûlures, plaies)

9. Formes d'utilisation : Jus de la feuille âgée puis flambée

10. Posologie

Otites

Instiller le jus de la feuille flambée et pressée à raison de deux gouttes par oreille, et les boucher à l'aide d'un coton tous les soirs pendant 4 jours.

Toux

Administrer une cuillère à café 4 fois par jour à l'enfant pendant 4 jours.

Plaies et brûlures

Faire un cataplasme avec les feuilles flambées une fois par jour pendant 3 à 7 jours suivant l'étendue de la plaie.

Tableau n° 7 : Provinces du Littoral
 Modes d'Utilisation, Indications, Posologie et
 Tolérance Selon les phytothérapeutes interrogés.

NOMS/PRENOMS	MODE D'UTILISATION	INDICATIONS	POSOLOGIE	TOLERANCE
N'Gotti 35 ans et 12 ans d'expérience	jus de feuilles	Cicatrisation nombril de nouveaux nés érythèmes fessiers des nourrissons	1 application de jus deux fois par jour x 3 jours	B O N N E T O L E R A N C E
TIKI 60 ans et 12 ans d'expérience	jus de feuilles flambées	Furoncles et nombril des nouveaux nés	Application de jus 2 fois par jour x 5 jours	
		Inflammations	2 applications de jus en massage par jour	
DIBOUM 50 ans et 25 ans d'expérience	Jus de Bryophyl- lum + sucre	Calme toux et vomisse- ments des jeunes en- fants.	1 cuillerée à café par jour pendant trois jours.	

Dans cette province, les indications majeures du jus sont :

- . Les infections (cutanées, auriculaires)
- . Les spasmes (toux et vomissements)
- . Les inflammations

Ici aussi les phytothérapeutes font remarquer que le broyage des
 feuilles se fait tôt le matin.

III. PROVINCE DE L'OUEST

Dialecte : Bafoussam, Bangangté, MBouda, Nufi, Bamoun, Dschang

Tableau n°8 : Province de l'Ouest

Noms des Phytothé- rapeutes Tra- ditionnels 1	Âges (ans) 2	Années d'expé- rience 3	Provinces d'origine 4	Lieux d'exercice 5	Villes d'origine
Nji Molluh	55	30	Ouest	Foumban	Foumban
Meli Anne	60	20	Ouest	MBouda	MBouda
Happy Noé	60	25	Ouest	Bafang	Bafang
Wandji	61	28	Ouest	Bangangté	Bangangté
Ndjike	35	16	Ouest	Bafoussam	Bafoussam
Demgne	43	23	Ouest	Bangwa	Bangwa
Dongmo	61	31	Ouest	Dschang	Dschang

6 - DENOMINATIONS LOCALES DU BRYOPHYLLUM PINNATUM (LAM) OKEN

Bafoussam	Tenkeyou
Batoufam	To ke you
Bagangte	Bibounfou
MBouda	Joujou
Bafang	Tek you
Foumban	Ma Tût
Dschang	Joujou

7. Terminologie

La plante a une traduction littérale unique : "Herbe de l'oreille malade", bien que largement utilisée dans d'autres pathologies.

Tableau N°9 : Province de l'Ouest
 Modes d'Utilisation, Indications, Posologie et
 Tolérance Le nom des personnes intermédiaires n'a pas
 été relevé.

NOM PRENOM	MODES D'UTILISATION	INDICATIONS	POSOLOGIES	TOLERANCE
I N T E R M E D I A I R E	Jus de Feuilles	Toux et Coqueluche	Jeune : 1 cuillère à café 4 fois par jour pendant 4 jours	B O N N E T O L E R A N C E
			Adulte : 1 cuillère à soupe 3 fois par jour pendant 4 jours	
	Jus de Feuilles	Otites	Instiller deux gouttes par jour pendant 7 jours	
	Jus de Feuilles	Otites	Enfants : Instiller deux gouttes par jour pendant 7 jours	

Nous retiendrons alors comme propriétés :

- la propriété antispasmodique (antibronchospasmodique)
- la propriété anti infectieuse.

Ils précisent que les feuilles doivent être récoltées à la main, tôt le matin. D'autres part font-ils remarquer, elles doivent être bien épaisses.

IV.- Provinces du Centre et Province du Sud :

Dialectes : Ewondo, Eton

Tableau n°10 : Provinces du Centre et du Sud.

Noms des Phytothérapeu- tes tradition- nels 1	Agés (ans) 2	Années d'expérience (ans) 3	Provinces d'Origine 4	Lieux d'exercice 5	Ville d'origine
Attangana Jules	23	6	Centre	Yaoundé	Yaoundé
Fouda Yves	32	10	Centre	Obala	Obala
Ondoa Paul	50	23	Centre	MBalmayo	MBalmayo
Esso Marie	40	13	Centre	Otéélé	Otéélé
Mayi Elise	28	9	Centre	Eséka	Eséka
MBi Ya Léon	19	17	Sud	Ebolowa	Ebolowa
Tsougui Alin	30	10	Sud	Sangmelima	Sangmelima

Dénomination locale de Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken.

6. Nom vernaculaire de la plante : Ewondo et Eton : Edok
7. Terminologie (Traduction littérale) : Nom précisée
8. Indications : (Otites, plaies, brûlures, toux, vomissements)
9. Posologie :

Tableau n°11 : Provinces du Centre et Provinces du Sud.
Mode d'utilisation, Indications, Posologie, Tolérance

NOM PRENOM	MODES D'UTILISATION	INDICATIONS	POSOLOGIES	TOLERANCE
INTER- VIEW des	Jus de Feuilles flambées	Otites	Instiller 2 gouttes dans l'oreille malade 2 fois par jour pendant 3 jours	INDETER- MINEE
PHYTO- THERA- PEUTES de la	Cataplasme de feuilles flambées	Plaies brûlures	Faire un cataplasme à l'aide des feuilles flambées tous les jours pendant 5 jours	
PRO- VINCE	Jus de feuilles flambées + sucre	Toux et Vomissements	Administrer 4 cuillerées à café par jour, pendant 4 jours	
		-Plaies ulcériformes -Ulcères Phadégé- niques -Ulcères chroniques de la jambe	Non précisée	BONNE TOLERANCE

Nous retiendrons 3 Indications :

- infections (plaies, otites, brûlures)
- spasme (toux et vomissements)
- inflammations

Tsoungui insiste sur le moment de la récolte qui se fait tôt le matin avant le lever du soleil.

CONCLUSION DE L'ENQUETE

Au terme de cette enquête ethnopharmacognosique, nous pouvons retenir qu'à travers les provinces Camerounaises visitées :

- La drogue est la feuille âgée de Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken
- La récolte est manuelle et se fait très tôt le matin
- La forme d'utilisation est le jus de la feuille âgée, ramollie par flambage
- Les indications de ce jus sont :
 - . les spasmes (toux et vomissements)
 - . les infections (plaies, otites)
 - . les inflammations.

Il est donc possible que ce jus contienne des composés à visées anti-infectieuse, anti-inflammatoire, cicatrisante et anti-spasmodique. Nous le vérifierons d'abord dans les travaux antérieurs consacrés à cette plante, puis, en comparant les résultats de ces travaux à ceux de notre enquête, enfin nous formulerons des hypothèses de recherches.

DEUXIEME PARTIE :
ETUDES ANTERIEURES SUR
BRYOPHYLLUM PINNATUM
(LAM) OKEN

CHAPITRE I

APERÇU GÉNÉRAL SUR LA FAMILLE DES CRASSULACEAE PARTICULIÈREMENT SUR LE GENRE BRYOPHYLLUM

Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken, Métaphyte, appartient à l'Embranchement des Angiospermes, au Sous-Embranchement des Dicotylédons, à la Classe des Gamopétales, à l'Ordre des Rosales et à la Famille des Crassulaceae.

1.a.- Famille des Crassulaceae :

Les Crassulaceae constituent une famille de 35 genres et de 1500 espèces, principalement xérophiles que l'on rencontre surtout en Afrique au Sud du Sahara, dans la Région Méditerranéenne, en Asie Centrale et en Asie du Sud.

la Famille des Crassulaceae est relativement primitive, et compte des plantes herbacées, vivaces ou annuelles (ligneuse ou lianescentes) souvent xérophiles et saxicoles, plus ou moins succulentes, parfois bulbeuses.

Leurs feuilles sont alternes, opposées ou verticillées, le plus souvent généralement persistantes, simples et entières, ex-stipulées.

Les fleurs mâles sont généralement pentamères, légèrement périgynes, parfois fortement pléiomères, obdiplostémones, actinomorphes, hypogynes. Le gynécée est constitué de carpelles libres ou partiellement soudés, avec une glande nectarifère à la base (le plus souvent en nombre égal à celui des pétales).

Les ovules sont nombreux, rarement réduits à un, anatropes, crassinulés. La placentation est pariétale, chaque carpelle avec son style et son stigmate.

Le fruit est un follicule possédant plusieurs graines albumineuses minces et ayant un embryon droit.

1.b.- Le Genre Bryophyllum :

Le nom du genre, Bryophyllum a une origine Grecque. Beruein (pousser) et phyllon (feuilles). Il fait allusion à la faculté qu'ont les dents des feuilles de donner des bourgeons, futures plantes (43).

1.c - Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken

Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken a des feuilles profondément dentées. Les feuilles inférieures sont composées de 3 à 5 folioles charnues profondément crénelées. Les feuilles supérieures sont simples, larges oblongues, avec des folioles ovales, obtuses, crénelées. A l'état frais, un filet rouge borde le limbe, qui porte 4 à 5 nervures.

Au niveau de l'inflorescence, Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken a des fleurs brunâtres et campanulées.

Ses fruits sont des follicules. En Afrique, certains l'assimilent à *Malanthea pinnata* (Haw.) une espèce différente, comme le font constater Baillon, A. et Debray M. (20) du fait de leurs vertus thérapeutiques communes.

1.6 - Synonymie

Bryophyllum pinnatum (Lam.) Oken, a pour la première fois été nommé par Lamark.

Ses synonymes sont :

Synonymie de Genre

Bryophyllum calycinum (Salists)
Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken

Synonymie d'espèce

Malanthea pinnata
Crassula pinnata
Cotyledon pinnatum (Lam) Oken

CHAPITRE II

USAGES EN MEDECINE TRADITIONNELLE

Les usages empiriques du Bryophyllum sont nombreux. La plante existe et est connue en Asie, en Amérique et en Afrique au Sud du Sahara (14).

Les usages sont variés. Le tableau n°17 énumère les emplois du jus de feuilles de cette plante, par pays.

TABLEAU N°12 : Usages du jus de Bryophyllum en Phytothérapie
Trotter et Saxe

PAYS	DROGUE	FORMES D'UTILISATION	PROPRIÉTÉS	INDICATIONS	REFERENCES
BURKINA FASO	Feuilles âgées et flambées	Jus	Antifébrileux Antispasmodique	Otitis Toux	76
CARABES	Feuilles âgées et flambées	Jus	Antifébrileux Antispasmodique	Angines, Infections Troncales auriculaires, Oculaires, Toux, Gastrites, Gastralgies	75 79 77 80
CHINE	Feuilles âgées et flambées	Jus	Antifébrileux Antirhumatoïde Antispasmodique	Furoncle, Blessure, Brûlure, Gâle, Arthrite, Rhumatisme, Toux	49
COMORES	Feuilles âgées et flambées	Jus	Cicatrisant	Gastrite, Ulcère gastrique	8
CONGO	Feuilles âgées et flambées	Jus	Antifébrileux Cicatrisant	Arthrite rhumatismale, Brûlure grave, Plaies, Ulcères	70 47
COTE D'IVOIRE	Feuilles âgées et flambées	Jus	Spasmodique Antifébrileux Antipneumatique	Toux, Vomissements, Epilepsie, Asthme, Angine, Muguet des bébés, Affections Oculaires, Fièvre	8 53,1
ILE MAURICE ET RODRIGUES	Feuilles âgées et flambées	Jus	Analgésique Cicatrisant	Allergie au poisson, Ulcères trophiques de la jambe	8 28
INDONÉSIE	Feuilles âgées et flambées	Jus	Spasmodique Antifébrileux Antalgique et Antiinflammatoire	Toux, Infection urinaires, Panaris, Dysenterie, Gâle, Arthrites rhumatismales, Céphalées	48 10, 11 87 10, 14
MADAGASCAR	Feuilles âgées et flambées	Jus	Antiinflammatoire	Organe enflammé	65 88 9
SENEGAL	Feuilles âgées et flambées	Jus	Antifébrileux Antispasmodique Antiinflammatoire	Gâle, Conjonctivite, Otitis, Toux, Nervosité, Epilepsie, Rhumatisme articulaire	48 10
SEYCHELLES	Feuilles âgées et flambées	Jus	Cicatrisant Antifébrileux	Plaies, Infections, Ulcères phagéniques, Ulcères trophiques de la jambe	7

CONCLUSION

Dans les pays autres que le Cameroun, Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken est utilisé sous forme de jus de feuilles âgées, flambées pour ses propriétés :

Antiinfectieuse (43)
Antiinflammatoire et antalgique (67)
Cicatrisante (67)
et Antispasmodique (78).

CHAPITRE III

ETUDES PHYTOCHIMIQUES

Plusieurs groupes de composés ont été identifiés dans le jus de feuilles de Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken Crassulaceae, au nombre desquels :

1. Les Acides Organiques (43) (47) (58) (68) (75) (59) (76)

l'acide citrique (43) (41)
 l'acide malique (43) (63)
 l'acide fumarique (34)
 l'acide isocitrique (69)

2. Les Alcools Aliphatiques (43)

3. Les Stérols et Triterpènes (43) (55)

l'Alpha Amyrine, la Béta Amyrine, la Béta sitostérol

4. Les Flavonoïdes (43) (75) (46) (44)

le Diarabinoside - 3 de Quercétol
 le Glucoside - 5 de Kaempférol (63)

5. Les Acides Phénoliques (43) (45) (63) (39)

l'acide coumarique
 l'acide férulique
 l'acide syringique
 l'acide caféique
 l'acide parahydroxybenzoïque

6. Les Prostaglandines (43) (29)

La Prostaglandine F2 Alpha (80) (18)

7. Bufadiénolide et Bersaldégénine (81)

CHAPITRE IV

ETUDES MICROBIOLOGIQUE ET PHARMACOLOGIQUE

I. MICROBIOLOGIE (43)

Les essais in vitro du jus de feuilles de Bryophyllum pinnatum révèlent une activité antimicrobienne sur :

- Bacillus aureus
- Bacillus substilis
- Escherichia coli
- Pseudomona aeruginosa

L'extrait aqueux des feuilles possèderait une activité antifongique in vitro (78).

L'efficacité du jus (43) a également été démontrée sur :

- Sarcinea lutea N°8340
- Escherichia coli N°1346 F Hoffman, La Roche Basle
- Staphylococcus aureus
- Klebsiella pneumoniae.

D'autres travaux ont démontré une activité antiinflammatoire et cicatrisante du jus de la feuille de Bryophyllum.

II. Pharmacologie

Bershteijn (15) a soigné 53 malades par une pommade à base du jus de feuilles de cette plante. Ces malades souffraient d'ulcères de la jambe. L'activité antiinflammatoire est de 37,40% correspondant à une dose de 1600 mg/Kg de poids per os (29 (43)).

Lorsque cette dose passe à 3200 mg/Kg de poids per os, le taux d'inhibition de l'oedème provoqué par la carrhagénine sur le coussinet plantaire du rat est de 48,35 % (29) (43).

Deux puissants antitumoraux ont été isolés récemment : la Bersaldégénine et la Bryophylline A (72).

La Bryophylline A, manifestant son activité à 14 ng/ml. Elle est cytotoxique sur les cellules tumorales de type Kb. A la dose de 10mg/ml, elle détruit le carcinosarcome A - 549 du poumon. A 30 mg/Kg de poids, sa cytotoxicité se manifeste sur la tumeur HCT-8 du côlon (72).

En 1989, deux auteurs indiens (72) on mis en évidence la propriété dépressive du système nerveux central d'un extrait méthanolique de feuilles de Bryophyllum pinnatum à la dose de 100 mg/Kg de poids par voie intrapéritonéale. Par la même voie la DL50 est de 3,11 g/Kg de poids chez la souris. Cet extrait potentialise les effets hypnotiques du pentobarbital administré aux souris à la dose de 100 mg/Kg de poids par voie intrapéritonéale.

A la même dose et par voie intrapéritonéale, on observe chez la souris algésiée par l'acide acétique, un effet analgésique.

Par contre, les doses supérieures ou égales à 50 mg/Kg font observer une hypothermie chez le rat mâle.

100 mg d'extrait par Kg de poids par voie intrapéritonéale provoque un effet antiinflammatoire chez le rat préalablement traité par la carrhagénine.

S. Pal et coll (72) ont mesuré chez 30 rats, les taux d'inhibition par l'extrait, des médiateurs chimiques naturels impliqués dans tout processus inflammatoire : l'histamine, la sérotonine, la bradykinine, la prostaglandine E2 et la hyaluronidase. Le tableau n°13 nous présente les valeurs des inhibitions obtenues.

TABLEAU N°13 : inhibitions Obtenues (72)

Drogues	Doses (mg/kg : g)	Moyenne de l'inhibition de l'œdème induit dans le sous-jacent plantaire du rat. Mesure (ml ± écart type)														
		Histamine			Sérotonine			Bradykinine			Prostaglandine E2			Hyaluronidase		
		Dose	Volume	Temps	Dose	Volume	Temps	Dose	Volume	Temps	Dose	Volume	Temps	Dose	Volume	Temps
Contrôle	-	10 ⁻⁴	0,1ml	30 mn	10 ⁻⁴	0,1ml	30 mn	10 ⁻⁴	0,1ml	30 mn	10 ⁻⁶	0,1ml	30 mn	2400	0,1ml	30 mn
		0,313 ± 0,033			0,403 ± 0,027			0,210 ± 0,023			0,216 ± 0,022			0,225 ± 0,046		
Bryophyllum pinnatum	300	0,076 ± 0,016			0,152 ± 0,008			0,028 ± 0,004			0,258 ± 0,042			0,045 ± 0,006		

La hyaluronidase est une enzyme qui polymérise l'acide hyaluronique contenu dans l'endothélium capillaire. Cette polymérisation a pour effet, la distension des parois endothéliales avec pour corollaire une augmentation de la perméabilité capillaire, un afflux sanguin, aqueux et lymphatique riche en protéines et en cellules (leucocytes et cellules endothéliales desquamées) ; il y a œdème post lésionnel.

Si cet afflux est trop important, les liquides seront chargés de protéines (20 g/litre), et l'œdème ainsi provoqué par la lésion, devient pathologique. L'extrait de Bryophyllum corrige cette pathologie en diminuant les taux des substances œdemogènes que sont : l'histamine, la sérotonine, la bradykinine, la prostaglandine E2 et la hyaluronidase.

Après ce rappel des études antérieures sur le Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken, nous allons maintenant présenter nos travaux personnels axés sur la botanique, la chimie, la microbiologie, la pharmacologie, la toxicologie et enfin sur la proposition d'une forme galénique, ayant fait l'objet d'un essai clinique préliminaire ; ceci en vue de la mise en évidence éventuelle des activités antiseptique, cicatrisante et antispasmodique de l'extrait de Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken.

TROISIEME PARTIE
TRAVAUX PERSONNELS

"Pour atteindre la vérité il faut une fois dans sa vie se défaire de toutes les opinions que l'on a reçues, et reconstruire de nouveau et dès le fondement, les systèmes de ses connaissances".

(DESCARTES)

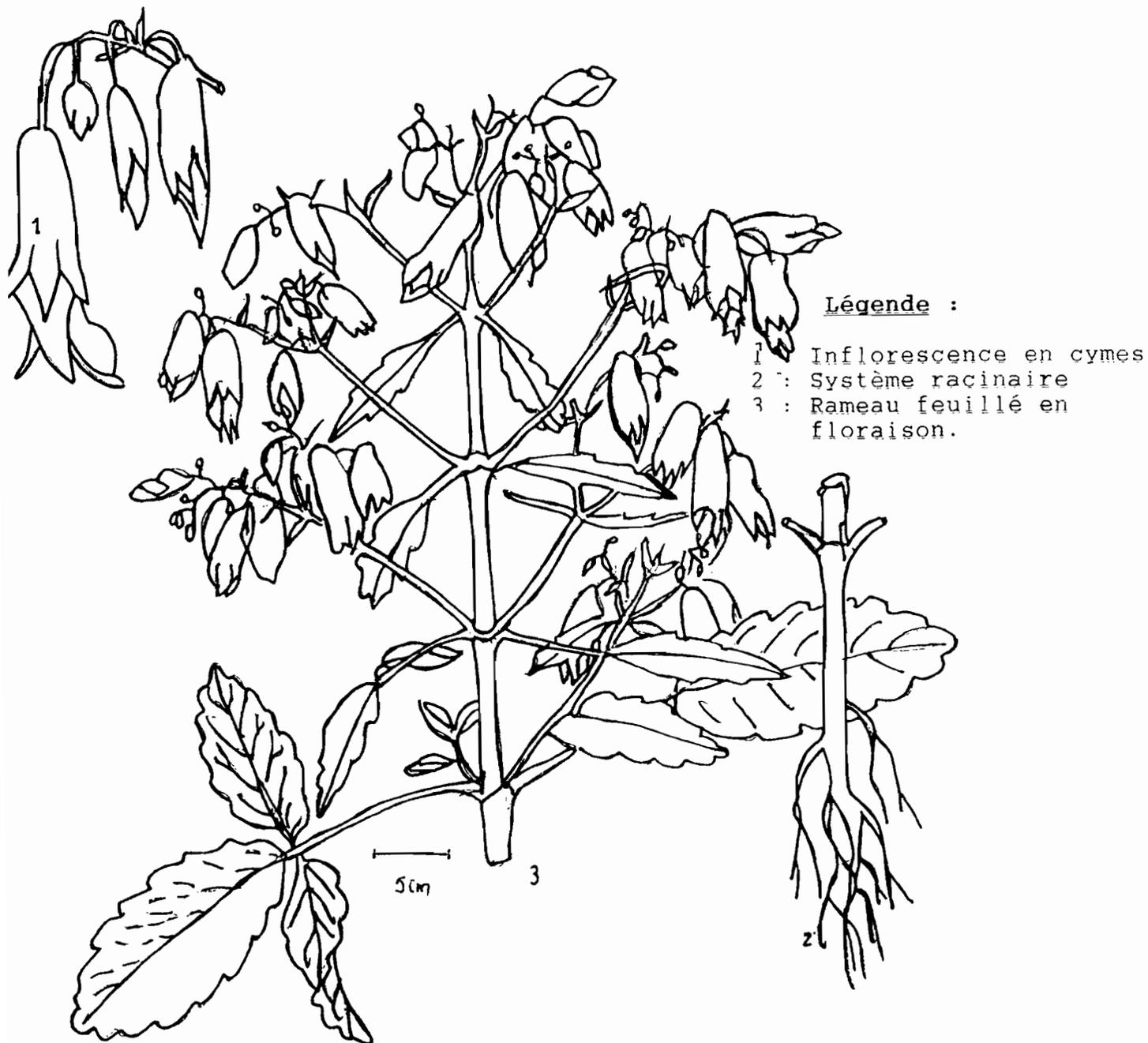
ETUDES BOTANIKES

CHAPITRE I

ETUDES BOTANIQUES

La description de la famille et du genre a déjà été faite (cf. IIème partie Chapitre I. Nous nous limiterons à la planche n°3.

Planche n°3 : Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken : Inflorescence en cymes, système racinaire, rameau feuillé en floraison.

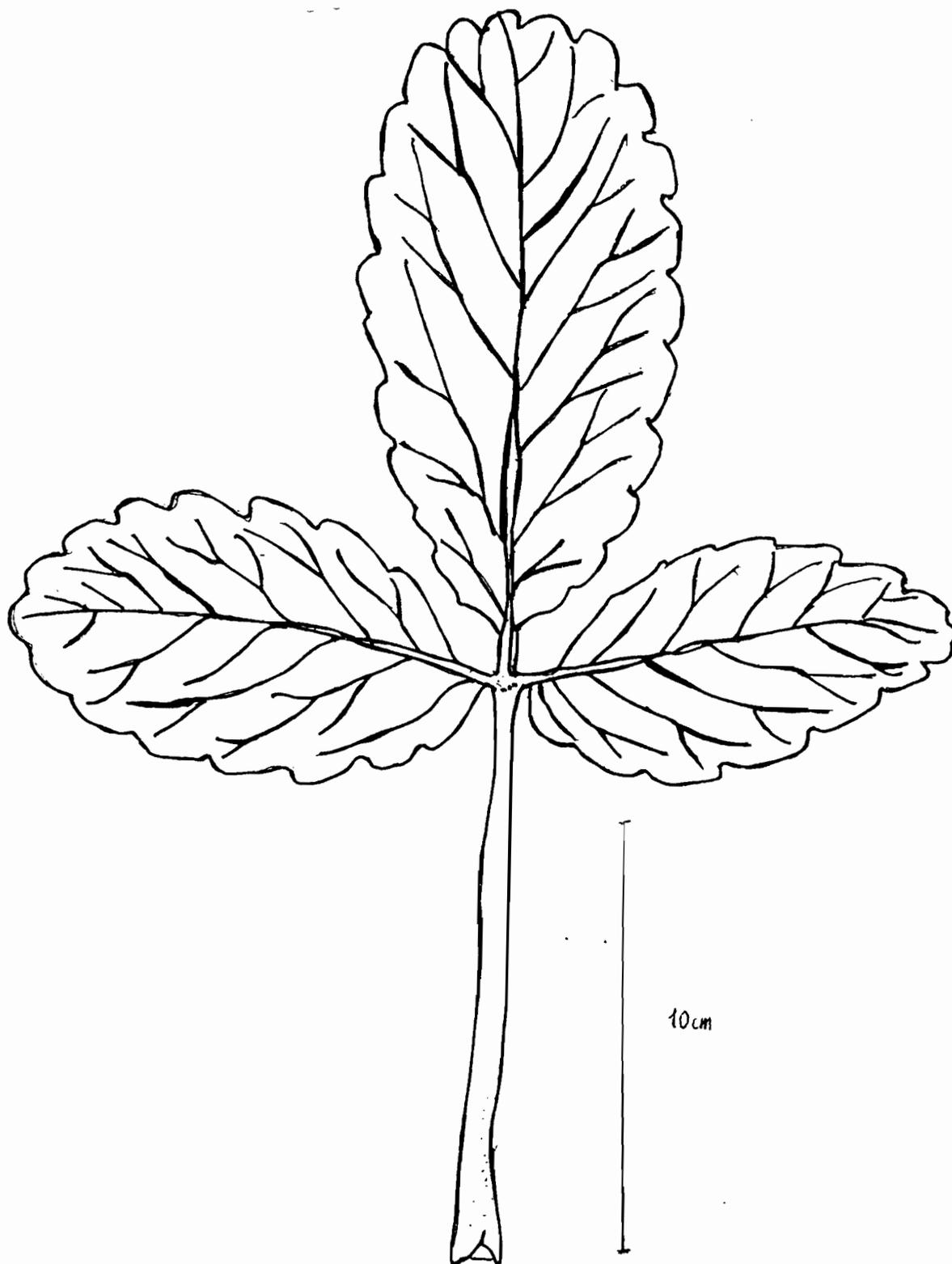


Légende :

- 1 : Inflorescence en cymes
- 2 : Système racinaire
- 3 : Rameau feuillé en floraison.

I. DESCRIPTION BOTANIQUE DE LA DROGUE OBSERVEE À L'OEIL NU

Planche n°4 : La drogue



La drogue de Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken est constituée par les feuilles âgées et non encore jaunies.

Ces feuilles sont opposées, glabres, prolifères sur les marges, profondément dentées.

Les feuilles inférieures sont composées avec 3 à 5 folioles charnues et profondément crénelées. Les feuilles supérieures sont simples, larges, oblongues. Les folioles sont ovales ou elliptiques, obtuses et crénelées. A partir de chaque dent, pousse une jeune plante. Une feuille âgée compte 30 à 35 dents.

Une plante âgée peut avoir jusqu'à 30 feuilles ayant atteint leur plein épanouissement. Ce qui représente, au plan de la reproduction asexuée (marcottage) 900 à 1050 jeunes plantes.

A l'état frais, un filet rouge borde le limbe qui porte 4 à 6 nervures latérales saillantes.

III. ETUDE DE LA COUPE ANATOMIQUE TRANSVERSALE DE LA DROGUE : STRUCTURE DE LA FEUILLE DE Bryophyllum pinnatum (LAM) OKEN (CRASSULACEAE).

1. Montage des Coupes

a). Colorant utilisé : Carmino-vert-aluné de Mirande

Sa formule est :

Solution A

Alun de potassium	140 g
Carmin	40 g
Eau distillée	750 g

Solution B

Vert d'iode	1 g
Eau distillée	800 g

b). Préparation

Solution A : Dans une fiole conique de 1 litre, dissoudre, 140g d'alun de potassium, dans 750 ml d'eau distillée. Ajouter 40 g de Carmin. Porter à ébullition pendant vingt minutes.

Solution B : Dans une fiole conique de 1 litre dissoudre 1 g de vert d'iode dans 800 cc d'eau distillée.

Mélanger les solutions A et B dans les proportions de 2/3 de A pour 1/3 de B.

c). Préparation des Coupes

Les coupes transversales de la feuille se font perpendiculairement à l'axe principal.

Inclusion : On incorpore l'échantillon dans un morceau de moelle de sureau préalablement fendu longitudinalement et partiellement évidé. Puis on effectue des coupes aussi fines que possibles à l'aide d'un rasoir.

Nettoyage : On plonge immédiatement les coupes dans l'eau de Javel, et on laisse en contact pendant dix minutes, en agitant de temps en temps. Après ce temps, les coupes sont retirées de ce milieu, lavées deux fois à l'eau distillée.

Coloration : On plonge les coupes dans le colorant. Le contact dure trois minutes.

Lavage : Il se fait deux fois à l'eau distillée.

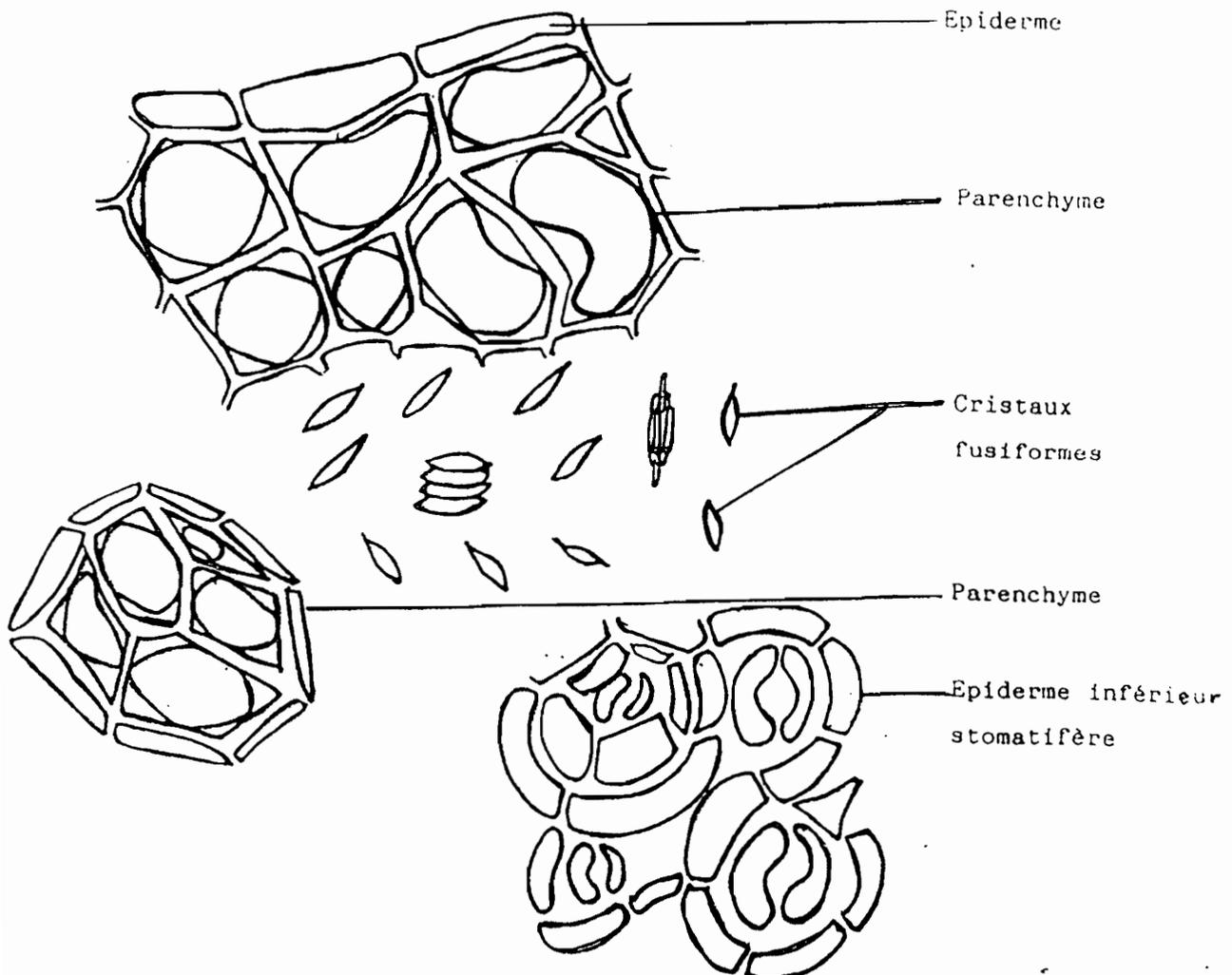
Montage : Sur une lame porte-objet, on verse une goutte de glycérine, sur laquelle on dépose doucement la coupe nettoyée et colorée. On recouvre l'ensemble, à l'aide d'une lamelle en évitant la formation de bulles d'air.

2. Examen de la Coupe de feuilles de Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken (Crassulaceae)

Celle-ci est d'abord observée au faible grossissement, puis à un grossissement plus fort.

3. Observations

Planche n°5 : Coupe anatomique transversale au microscope "Leitz" de la feuille de Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken grossissement 10/0,25.



A l'aide d'un microscope de type LEITZ WETZLAR et à un grossissement fort (10/0,25), on observe, du bord libre du limbe, à la nervure principale :

- des vaisseaux de bois primaire.

Au niveau du limbe :

- un épiderme cuticularisé coloré en bleu vert
- un parenchyme coloré en rose
- un épiderme inférieur stomatifère.

Au niveau de la nervure :

On retrouve les mêmes éléments auxquels s'ajoutent

- un faisceau en forme d'arc libéro-ligneux coloré en rose (le liber se trouvant sous le bois).

La saillie qui représente la nervure dans la feuille est due à la présence de la formation conductrice. Ces formations secondaires sont susceptibles d'être le siège des différenciations, lesquelles sont constantes pour chaque espèce.

Au niveau de l'épiderme :

La composition de la paroi externe des cellules de feuilles révèle la présence de cire imprégnée de cutine. L'ensemble forme la cuticule. Les cellules de l'épiderme des feuilles sont mamelonnées et turgescents.

Au niveau des parenchymes :

Les parois cellulaires s'épaississent et forment un tissu de soutien. L'épaississement des feuilles de Bryophyllum modifie sa nature cellulosique. Il forme alors un parenchyme.

Au niveau du tissu sécréteur :

On trouve ici des cristaux fusiformes et prismatiques qui font penser aux sels de calcium. Ils sont élaborés dans les cellules morphologiquement différenciées (cellules sécrétrices).

On n'observe pas de poils sécréteurs.

IV. ETUDE DE LA POUDRE DE FEUILLES

1. Montage des poudres :

Les poudres sont obtenues par contusion des feuilles fraîches et séchage à l'étuve pendant 24 heures.

a) Solution utilisée :a. 1/. Composition de la solution :

Réactif de Gazet du Chatelier.

Formule :

Acide lactique pur	60 g
Acide lactique saturé à froid de SOUDAN III et filtré	4 g
Sulfate d'aniline	1,1g
Iode bisublimé	0,1g
Iodure de potassium	1g
Alcool à 95°	10g
Acide chlorhydrique pur	6g
Eau distillée	80g

Préparation :

Mélanger les deux acides dans une fiole conique de 250 cc. Faire dissoudre à part le sulfate d'aniline dans 70 cc d'eau distillée chaude : laisser refroidir, mélanger cette solution à la solution acide. Faire dissoudre l'iodure de potassium dans 10 cc d'eau distillée. Ajouter l'alcool, puis l'iode et mélanger.

Ajouter 6 cc d'HCl pur. Agiter, mélanger les différentes solutions et filtrer.

a. 2/- Colorant utilisé :

On utilise pour la coloration, de la potasse alcoolique diluée, de formule :

KOH (Pastille)	1 g
Alcool 90°	100 g

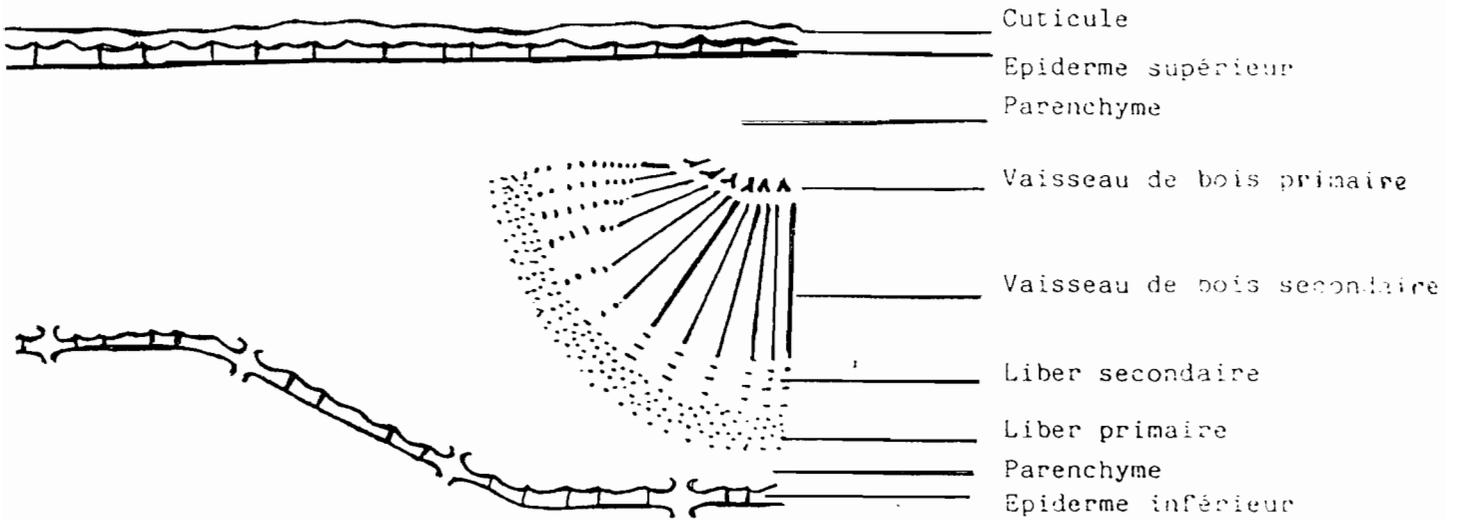
a. 3/- Montage des poudres :

Sur une lame porte-objet, verser une goutte de réactif ; incorporer une très petite quantité de poudre. Disposer une goutte de réactif sur une lamelle. Recouvrir la lamelle en mettant en contact les deux gouttes de réactif.

L'examen se fait au faible, puis au fort grossissement. La poudre de feuille de Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken (Crassulaceae) présente :

- un épiderme coloré en jaune pâle rosé
- un parenchyme incolore
- des cristaux fusiformes et prismatiques (sels de calcium)
- un épiderme inférieur stomatifère. (planche n°6).

Planche n°6 : Poudre sèche de la feuille de Bryophyllium pinnatum
(Lam) Oken au microscope optique "wetzlar" fort
grossissement 10/0.25.



" Il faut toujours revenir à la nature pour s'assurer de la vérité".

(Leon POIRET)

CHAPITRE II

SCREENING CHIMIQUE DU JUS DE FEUILLES DE BRYOPHYLLUM PINNATUM (LAM) OKEN (CRASSULACEAE)

I. PERIODE DE RÉCOLTE DES FEUILLES DE *Bryophyllum pinnatum*

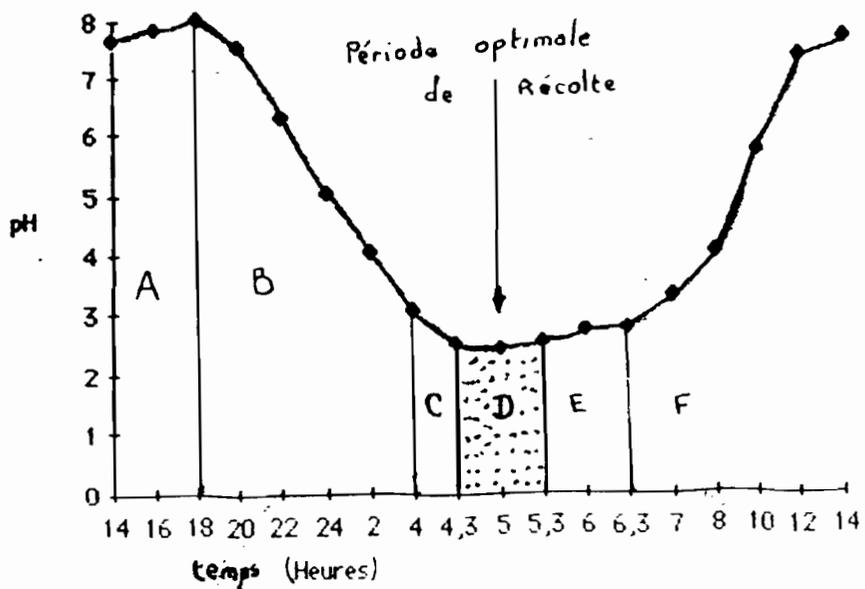
Les "Tradipraticiens" que nous avons rencontrés nous ont recommandé d'utiliser le jus de la feuille récoltée au petit matin. Or déjà en 1975, Mayer cité par HEMA (43) constatait que les constituants acides des feuilles de certaines Crassulaceae subissaient d'importantes variations journalières. Elles s'appauvriraient en acides organiques dès qu'elles sont illuminées, et s'en enrichiraient dans la nuit. Si les diverses indications de ce jus sont dûes, du moins en partie, à ces constituants acides, il serait intéressant, avons-nous pensé, de mesurer les variations du pH de ce dernier (78), tout au long de la journée. Nos résultats, obtenus sur des récoltes effectuées quotidiennement en avril 1989 et sur des plantes de 4 mois sont objectivés par le tableau n°14 et la planche n°8.

Tableau n°14 : Variations du pH en fonction du temps (Récolte du mois d'Avril 1989 effectuée au Cameroun).

Heures de la journée	PH
14	7,6
16	7,8
18	8
20	7,5
22	6,3
24	5
2	4
4	3
4,3	2,5
5	2,4
5,3	2,5
6	2,6
6,3	2,75
7	3,3
8	4
10	5,7
12	7,3
14	7,6

Interprétations :

Planche n°7 : Variations quotidiennes du pH de jus de Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken



Données du pH de la sève :

- Une phase A allant de 4 h à 10 h pendant laquelle le pH passe de 7,6 à 3,8, le jus de Bryophyllum est donc légèrement bas pendant cette phase.
- Une phase B allant de 10 h à 18 h pendant laquelle le pH devient plus faible passant de 3,8 à 2,5 le jus de feuilles de Bryophyllum se comporte donc comme une phase d'abord comme un acide très faible, ensuite comme un acide faible.
- Une phase C pendant laquelle le pH passe de 3 à 2,5 entre 4 h et 4 h 30.
- Une phase D au cours de laquelle le pH est passé de 2,5 à 2,1 avant 5 h, prend le point de 2,6 entre 4 h 30 et 6 h ; puis 2,7 entre 6 h et 6 h 30.
- Une phase E marquée par le passage du pH de 2,5 à 1,5.
- Une phase F au cours de laquelle le pH passe de 3,3 à 3,6.

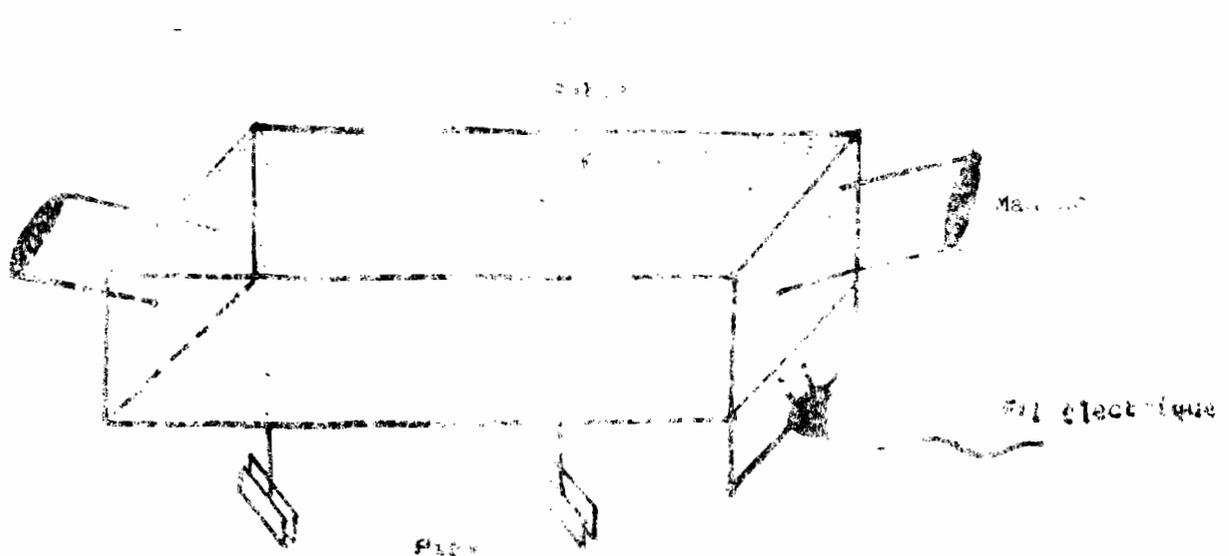
CONCLUSION

Les activités au niveau de la sève successive du jus de Bryophyllum sont fonction de son cycle de vie, la période optimale de récolte de celles-ci se situe entre 4 h et 5 h 30 du matin.

1.1. OBTENTION DE JUS DE FEUILLES DE BRYOPHYLLUM PINNATUM (LAM) (1984)

Dans le but de déterminer la composition du jus de feuilles de Bryophyllum pinnatum (récolté à la matin de bonne heure) sous la forme dont il est fait usage en phytothérapie, nous nous sommes servis au laboratoire de pharmacognosie de la faculté de pharmacie d'Apiti, d'un banc de sève chauffé électriquement pour obtenir le jus. L'appareil se présente comme l'indique la planche n°2 :

Planche n°2 : Banc de sève électrique



Les feuilles sont déposées sur le banc de sable chaud. Au bout d'une minute, elles sont ramollies. On les débarasse de grains de sable et on les broie à l'aide d'un broyeur électrique. La pâte obtenue est pressée et filtrée. On recueille un jus jaune or, de saveur acide $2 < \text{pH} < 3$ et astringente.

A partir de 1600 g de feuilles fraîches, nous avons obtenu 745 ml de jus par ce procédé. Puis ce volume de jus a été réparti dans des ballons à col rodé 29/32 de 300 ml avant d'être congelé, en vue de la lyophilisation.

Nous avons utilisé un lyophilisateur de type Alpha Christ sur lequel on pouvait monter 8 ballons à col rodé de 300 ml. Ceci nous a permis d'obtenir 66 g de lyophilisat à partir de 745 ml de jus.

A partir de 1600 g de feuille, le filtre presse de la Division Médecine Traditionnelle de Bamako nous a fourni 770 ml de jus.

Par ce procédé le rendement en jus est plus élevé qu'avec le procédé du banc de sable.

III. ETUDES CHIMIQUES

1. Essais préliminaires :

L'ensemble de ces essais a pour but, la mise en évidence de groupes chimiques dans le lyophilisat. Nous exposerons d'abord les techniques utilisées, puis les résultats obtenus.

Techniques utilisées

. Recherche des stérois et triterpènes Réaction de Liebermann - Burchard (Stérois)

1 g de lyophilisat est agité avec 15 ml de chloroforme durant 30 mn. Le mélange est filtré. Le filtrat est concentré à 2 ml et additionné de 1 ml d'anhydride acétique, puis de 1 ml d'acide sulfurique concentré. La présence de composés stéroliques est objectivée par l'apparition d'une coloration rouge-brun, virant au brun violacé.

Réaction de Brieskorn et Briener (Réaction spécifique des triterpènes)

1 ml de filtrat chloroformique obtenu précédemment est additionné de 1 ml d'acide chlorosulfurique.

Une coloration rouge-violacée indique la présence de composés triterpéniques.

. Recherche des composés polyphénoliques

Elle est réalisée sur une solution aqueuse du lyophilisat au 1/5ème.

. Recherche générale des phénols

2 ml de solution aqueuse de lyophilisat au 1/5ème sont additionnés de 1 ml d'une solution de chlorure ferrique à 3% dans l'acide chlorhydrique 0,5 N.

Une réaction positive se traduit par l'apparition d'une coloration bleue virant au noir.

. Recherche des flavonoïdes : Réaction de Shinoda

2 ml de solution aqueuse de lyophilisat sont additionnés de 2 ml d'alcool chlorhydrique et de 0,2 g (2 à 3 copeaux) de magnésium.

Une coloration orange à rouge apparaît en présence de flavonoïdes.

. Recherche des alcaloïdes

Elle est effectuée par des réactions de précipitation avec des réactifs généraux de ce groupe sur une solution aqueuse de lyophilisat au 1/5ème.

- 2 ml de solution sont additionnées de quelques gouttes de réactif à l'iodobismuthate de potassium (Réactif de Dragendorff).

Un précipité orangé apparaît en présence d'alcaloïdes.

- 2 ml de solution sont additionnés de quelques gouttes de réactif iodo-ioduré (Réactif de Bouchardat).

En présence d'alcaloïdes, il apparaît un précipité brun.

- 2 ml de solution aqueuse de lyophilisat au 1/5ème sont additionnés de quelques gouttes de réactif mercuri-ioduré de potassium (Réactif de Valser-Mayer).

En présence d'alcaloïdes, un précipité blanc-crème apparaît.

2. Résultats des essais préliminaires :

Tableau n°15 : Résultats des essais préliminaires

GROUPES CHIMIQUES	EXTRAIT AQUEUX LYOPHILISE DES FEUILLES DU BRYOPHYLLUM
Stérols	+
Triterpènes	+
Composés phénoliques	+
Flavonoïdes	+
Alcaloïdes	-

Le signe + signifie présence du groupe chimique

Le signe - signifie absence du groupe chimique

Pour confirmer la présence des composés mis en évidence par les réactions en tubes, nous avons réalisé quelques chromatographies sur couches minces.

Pour chacune d'elles, nous présentons :

- l'obtention des échantillons à chromatographier
- les systèmes de solvants utilisés (nature des solvants et volumes, le support, la technique et les révélateurs)
- le mode opératoire
- et enfin les chromatogrammes obtenus.

3. Etudes Chromatographiques :

a. Echantillons à chromatographier : obtention

Trois échantillons dénommés E_A , E_M et E ont été soumis à la chromatographie.

L'échantillon E_M est obtenu par extraction au soxhlet de 5 g de lyophilisat dans 100 ml de méthanol.

L'extrait E_A est obtenu par extraction liquide-liquide du jus avec l'acétate d'éthyle.

L'échantillon E est le jus de feuilles de Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken obtenu par expression.

Après évaporation de l'extrait méthanolique, nous obtenons environ 1 g d'extrait sec. L'extrait acétate d'éthyle nous donne 0,5 g de produit sec.

b. Systèmes de solvants utilisés pour les échantillons E_A , E_M et E par CCm sur silice 60 F 254 Merck 5554

Tableau n°16 : Système de solvants utilisés pour les échantillons

NUMERO DES SYSTEMES	MELANGES DE SOLVANTS (ml)
I	Chloroforme 95 Méthanol 5
II	Benzène 90 Méthanol 20 Acide acétique 10
III	Benzène 90 Méthanol 30 Acide acétique 10

Les composés polaires migrent bien dans le système III. Les composés peu polaires migrent bien dans le système I. Les composés à polarité intermédiaire migrent dans le système II.

c. Les révélateurs :

Stéroïls et Triterpènes :

Pour les révéler, on pulvérise le réactif sur la plaque de chromatographie par le trichlorure d'antimoine dans l'acide chlorhydrique. Cette révélation est suivie d'un chauffage à 100° durant 30 mn à l'étuve.

Flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont révélés par le réactif citroborique et chauffage à 100°C pendant 10 mn à l'étuve.

Composés phénoliques :

Le perchlorure de fer à 10% est utilisé.

Dépôts des produits étudiés :

Les produits étudiés sont déposés à l'aide d'une micropipette de 10ul, sur une plaque de silice 60 F 254 Merck 5554.

Pour chaque échantillon on fait un dépôt de 10ul et un autre de 20ul.

d. Chromatogrammes obtenus :Composés flavonoïques :

Trois chromatogrammes correspondant aux extraits méthanoliques, acétate d'éthyle et jus de feuilles ont été obtenus dans le système de solvant II décrit plus haut. Leur observation se fait sous lumière Ultra Violet.

Les chromatogrammes correspondant figurent aux planches n°10 et 11.

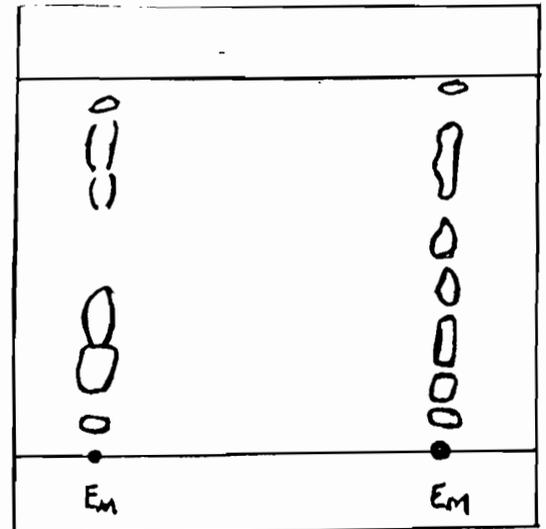
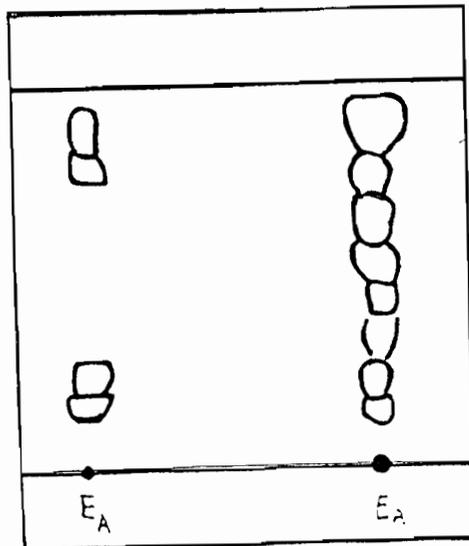
Planche n°9 : FlavonoïdesPlanche n°10 : Composés phénoliques

Tableau n°17 : Migration des composés flavonoïques

		10 ul			20 ul			
	Nombre de composés ayant migré	Nombre de composés réagissant au réactif citrobo- rique		Rf	Nombre de composés ayant migré	Nombre de composés réagissant au réactif citrobo- rique		Rf
R A	4 A B C D	0		A 0,37	8	2	A'	A' 0,24
				B 0,40			B'	B' 0,40
				C 0,83			C'	C' 0,49
				D 0,91			D'	D' 0,54
							E'	E' 0,81
							F'	F' 0,89
							G'	G' 0,94
							H'	H' 1
E M	6 A B C D E F G	1 A''		A'' 0,12	7	2	A'''	A''' 0,19
				B'' 0,25			B'''	B''' 0,29
				C'' 0,34			C'''	C''' 0,34
				D'' 0,86			D'''	D''' 0,49
				E'' 0,89			E'''	E''' 0,74
				F'' 0,90			F'''	F''' 0,87
				G'' 0,92			G'''	G''' 0,97
F	3 A	1 Ao		Ao 0,13	3	2	A1	A1 0,10
							B1	B1 0,16
							C1	C1 0,27

Elle nous donne des indications sur les composés flavonoïques ayant migré sur ceux ayant réagi au réactif citroborique et pour chacun, précise son rayon frontal.

Dans les extraits à acétate d'éthyle, et au méthanol et dans le jus de feuilles, il est intéressant de constater que malgré le nombre de composés qui migrent à partir des spots de 20ul, il n'existe que deux d'entre eux dans chaque cas qui réagissent au réactif citroborique.

Tableau n°18 : Migration des composés phénoliques

10 ul				20 ul				
	Nombre de composés ayant migré	Nombre de composés réagissant au perchlorure de fer	Rf		Nombre de composés ayant migré	Nombre de composés réagissant au perchlorure de fer	Rf	
E A	5	-	A	0,2	7	7	A'	0,20
			B	0,42			B'	0,35
			C	0,57			C'	0,47
			D	0,75			D'	0,55
			E	0,85			E'	0,65
					F'	0,82		
					G'	0,92		
F M	5	-	A''	0,25	7	7	A'''	0,25
			B''	0,42			B'''	0,32
			C''	0,57			C'''	0,45
			D''	0,70			D'''	0,55
			E''	0,87			E'''	0,60
					F'''	0,85		
					G'''	0,9		
F	3	-	-		0	-	-	

Composés phénoliques

Trois chromatogrammes correspondant aux extraits méthanolique, acetate d'éthyle et au jus de feuilles ont été obtenus dans le système III décrit précédemment. Les chromatogrammes correspondant figurent au tableau n°18 ci-dessus.

CONCLUSION :

composés flavonoïques :

Pour un dépôt correspondant à 20ul d'extrait à l'acétate d'éthyle, sur 8 composés qui migrent, seuls 2 composés flavonoïques réagissent au réactif citroborique.

Pour le même volume d'extrait méthanolique, 7 composés migrent dont 2 seulement se colorent en noir en présence du réactif citroborique.

Enfin, pour 20 ul de jus, 3 composés migrent dont deux colorent le réactif citroborique. Le système de solvants utilisé ne permet que la migration de deux composés flavonoïques, qui pourraient être, le Diarabinoside -3- de Quercétol et le Glucoside -5- de Kaempférol décrits dans la littérature (43).

Composés phénoliques

Nous constatons que dans l'extrait à l'acétate d'éthyle comme dans l'extrait méthanolique, 7 composés migrent et réagissent au perchlorure de fer, dans chacun des cas. Le système de solvants utilisé permet la migration de 7 composés phénoliques. La littérature en signale 5 (43).

Les résultats des réactions en tubes et des études chromatographiques nous permettent d'affirmer que le jus de feuilles de Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken contient des composés flavonoïque et phénolique.

Les quantités d'extraits secs obtenues pour les extraits méthanoliques (* 1g) et (*0,5 g) pour l'extrait à l'acétate d'éthyle ne nous ont permis de vérifier l'action antimicrobienne qu'à partir de l'extrait méthanolique par rapport au lyophilisat du jus de feuilles.

"Les études cytologiques - grâce à la découverte des microscopes-la biochimie cellulaire, et enfin les techniques classiques et modernes de la microbiologie, nous ont fait acquérir d'amples connaissances aussi bien sur la nature des germes (bactéries, virus, champignons), que sur leur sensibilité, et leur résistance."

(MARCHAN)

Cité par Jean Valnet dans Aromathérapie, Traitement des maladies par les essences de plantes - 10 ème Edition Maloine.

CHAPITRE III
ESSAIS MICROBIOLOGIQUES

A - IN VITRO

Nous nous sommes proposé au cours des études microbiologiques, 51
tester l'activité du lyophilisat du jus de feuilles et de l'extrait
méthanolique, afin de justifier son emploi comme antimicrobien (49)
en phytothérapie traditionnelle. Pour ce faire, nous avons choisi les
germes en fonction des indications que notre enquête a révélées. Ont
été retenus :

- le colibacille
- le bacille pyocyanique
- le staphylocoque
- le streptocoque (16).

Ces germes sont fréquemment retrouvés au niveau des plaies, brûlures
et infections de l'oreille.

Notre travail a consisté dans un premier temps, à effectuer un
screening en vue de la détermination de l'activité de nos produits
sur les souches choisies (résistance, bactériostase ou bactéricidie)
(2) (15) (22) (23) (27) (31).

Ensuite, nous avons déterminé, les dilutions correspondant
secondairement, nous avons déterminé, les dilutions correspondant
concentrations minima inhibitrices (C.M.I.) de nos deux
concentrations minima inhibitrices (C.M.I.) de nos deux

Enfin, conjointement à cette détermination
nous avons déterminé, les dilutions correspondant
concentrations minima inhibitrices (C.M.I.) de nos deux
concentrations minima inhibitrices (C.M.I.) de nos deux



A - IN VITRO

Nous nous sommes proposé au cours des études microbiologiques, de tester l'activité du lyophilisat du jus de feuilles et de l'extrait méthanolique, afin de justifier son emploi comme antimicrobien (49) en phytothérapie traditionnelle. Pour ce faire, nous avons choisi les germes en fonction des indications que notre enquête a révélées. Ont été retenus :

- le colibacille
- le bacille pyocyanique
- le staphylocoque
- le streptocoque (16).

ces germes sont fréquemment retrouvés au niveau des plaies, brûlures et infections de l'oreille.

Notre travail a consisté dans un premier temps, à effectuer un screening en vue de la détermination de l'activité de nos produits sur les souches choisies (résistance, bactériostase ou bactéricidie) (2) (13) (22) (23) (27) (31).

secondairement, nous avons déterminé, les dilutions correspondant aux concentrations minima inhibitrices (C.M.I.) de nos deux produits.

Enfin, conjointement à cette détermination, nous avons recherché la plus faible concentration de produit ne laissant subsister qu'un nombre de survivants inférieur ou égal à 0,01% de l'inoculum (soit 1 survivant sur 10 000 germes) : c'est la concentration minimale bactéricide C.M.B.

Les antibiotiques mentionnés au cours de cette étude ont été utilisés comme témoins.

Pour l'étude de la détermination de la CMI, nous nous sommes servi de la méthode de diffusion en milieu gélosé solide, méthode de référence. Dans cette partie de nos travaux, nous envisagerons successivement :

- * la méthode de diffusion en milieu gélosé solide : (CMI)
- * la méthode de diffusion en milieu liquide : (CMB)

I. METHODE DE DIFFUSION EN MILIEU SOLIDE : DETERMINATION DE LA CMI

1. Généralités :

Elle est basée sur le fait qu'un agent anti-infectieux sur une gélose nutritive, va diffuser selon un gradient de concentration : diffusion horizontale, diffusion verticale.

La bactérie ensemencée ne se développera pas pour des concentrations d'antibiotique supérieures ou égales à la CMI. Ce qui se traduit par un cercle vierge de tout développement microbien : c'est la zone d'inhibition. La mesure du diamètre de cette zone permet d'apprécier la sensibilité du germe à l'agent antibactérien (23). Plusieurs facteurs influencent le diamètre d'inhibition :

- la concentration de l'antibiotique,
- la nature de la gélose,
- l'épaisseur de la gélose,
- la concentration de l'inoculum (73, 74).

Il faut donc standardiser au maximum les conditions expérimentales :
 Le milieu : Il doit avoir une composition constante.
 L'inoculum : Il faut une croissance dense mais non confluyente.
 Le temps de pousse : Il doit être de 18 h à 37°C.

La technique de diffusion en ce milieu présente néanmoins quelques limites :

- Elle ne convient pas aux bactéries à croissance lente,
- Elle ne convient pas aux antibiotiques qui ne diffusent pas bien (73).

Lorsque les conditions suivantes sont établies, l'utilisation de la méthode de diffusion en milieu gélosé solide est possible.

Ce sont :

- La constance de la composition du milieu ;
- Les résultats des épreuves de sensibilité à l'aide des souches de référence appropriées doivent être satisfaisants ;
- Le milieu doit être capable, sans enrichissement d'assurer une bonne croissance de la majorité des germes pathogènes ;
- Le pH ne doit pas varier sensiblement au cours de la croissance des germes ;
- Le milieu doit être approximativement isotonique au sang et pouvoir lui être additionné, ce qui est nécessaire pour assurer la croissance des microorganismes à croissance lente.
- Enfin le milieu doit être reproductible afin que les lots provenant de différentes sources donnent des résultats similaires et qu'on puisse s'en procurer partout (60).

C'est le milieu de Mueller-Hinton que nous avons choisi car il satisfait à la plupart de ces critères (60).

2. SOUCHES DE REFERENCE ET SOUCHES HOSPITALIERES : (1) (2) (11) (22) (33) (34) (37) (38)

Nous avons utilisé des souches de germes de l'American Type Culture Collection (ATCC), les plus couramment rencontrées dans les infections cutanées et auriculaires ;

Escherichia coli	ATCC 25 922
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 27 853
Staphylococcus aureus	ATCC 25 923
Streptococcus faecalis	ATCC 19 433

dont la pureté a été vérifiée par une coloration de Gram. Nous avons également testé nos extraits sur les souches hospitalières prélevées au Centre Hospitalier Universitaire de Cocody.

<i>Escherichia coli</i>	N = 8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	N = 11
<i>Staphylococcus aureus</i>	N = 10
<i>Streptococcus faecalis</i>	N = 7

3. LES DISQUES D'ANTIBIOTIQUE

Ce sont des papiers absorbants, plats, circulaires, d'un diamètre uniforme, contenant une quantité d'antibiotique répartie de manière homogène. Ils portent à leur surface un code permettant l'identification de l'antibiotique qu'ils contiennent.

L'antibiotique diffuse à partir du disque placé sur un milieu gélosé solide dont la surface a été ensemencée par le germe à étudier. La sensibilité du germe est mesurée par le diamètre de la zone d'inhibition (51) (61) (62).

Nous avons choisi les disques en fonction des antibiotiques couramment prescrits dans les infections dont les germes précités sont responsables d'une part et d'autre part en fonction des antibiotiques disponibles au Laboratoire de Microbiologie de la Faculté de Médecine d'Abidjan.

Le Céfamandole
La Pipéracilline
La Nétilmicine
et l'Acide fusidique ont été choisis.

4. MATERIEL ET METHODE

a. Matériel :

a.1. Obtention du Matériel Végétal des Produits à tester :

Deux produits ont été testés : le lyophilisat brut et l'extrait méthanolique de ce lyophilisat.

Nous avons décrit le procédé d'obtention du lyophilisat dans la partie chimie de nos travaux personnels.

L'extrait méthanolique est obtenu au soxhlet par épuisement du lyophilisat du jus de feuilles.

a.2.- Souches Bactériennes :

Notre étude a porté sur 36 souches hospitalières du CHU de Cocody réparties comme suit :

- 17 souches de cocci gram positifs dont 10 souches de Staphylococcus aureus et 7 souches de Streptococcus faecalis
- 19 bacilles gram négatifs dont 11 souches de Pseudomonas aeruginosa et 8 souches d'Escherichia coli.

Ces diverses souches sauvages ont été obtenues à partir de prélèvements pathologiques divers : plaies cutanées, selles, ulcères trophiques de la jambe, urines, pus de l'oreille, sang, et identifiées selon les critères bactériologiques classiques.

A titre de référence, nous avons inclus 4 souches de collection (60):

- *Escherichia coli* (American Type Culture Collection : A.T.C.C. 25 922)
- *Pseudomonas aeruginosa* : A.T.C.C. 27 852
- *Staphylococcus aureus* : A.T.C.C. 25 923
- *Streptococcus faecalis* : A.T.C.C. 19 433

a.3.- Milieux de Culture Utilisés (56)

Nous avons cultivé des germes sur les milieux de culture usuels (61) (65), composés comme suit :

Le bouillon Coeur-cervelle	17,5 g
Tryptose	10 g
Glucose	2 g
Chlorure de sodium	5 g
Phosphate disodique	2,5 g
Eau distillée QSP	1 litre

Préparation :

On pese 37 g de poudre de bouillon que l'on introduit dans un ballon d'un litre. On complète jusqu'au goulot par un litre d'eau distillée, en l'ajoutant par petites quantités, sous agitation. Le ballon est porté au bain-marie à 100°C et à l'aide d'un agitateur stérile, on remue la suspension jusqu'à l'obtention d'une homogénéisation complète. La stérilisation se fait pendant 15 mn à 121° à l'autoclave. Puis on répartit le bouillon en tubes grâce à un distributeur automatique type "Perifill Peristaltic Dispenser".

Gélose Nutritive en pente (31 g) :

Sa composition est :

Biogélytone	5 g
Extrait de viande de boeuf	3 g
Chlorure de sodium	8 g
Gélose	15 g

Préparation :

On fait dissoudre 31 g de poudre de gélose dans un litre d'eau distillée stérile. Puis on porte le mélange au bain-marie bouillant en agitant à l'aide d'un agitateur stérile pour obtenir une solution homogène.

Après stérilisation automatique dans les tubes, ces derniers sont renversés sur un plan légèrement incliné à la température de 22°C. Au bout d'une heure, la gélose se prend en masse, en pente.

On peut aussi couler la gélose sous une hotte à flux laminaire gazeuse de type Biohazard dans des boîtes. Le plan de la gélose est alors horizontal.

Milieu Mueller Hinton :

C'est un milieu qui permet de déterminer la résistance des germes pathogènes aux sulfamides antibiotiques, et aux agents antibactériens.

Sa composition est la suivante :

- Infusion de viande de boeuf	300 g
- Hydrolysat acide de caséine	17,5 g
- Amidon	1,5 g
- Agar N°2	1,5 g
- PH	0,4 g

Préparation :

ce milieu s'obtient par dissolution de 33 g par litre de poudre dans de l'eau distillée stérile. Puis on stérilise à 116°C pendant 10 mn. La répartition se fait dans des boîtes circulaires ou carrées.

Inoculum :

Il est préparé à partir de culture en bouillon de 18 H à 37°C, par dilution en eau distillée stérile de manière à obtenir 10^5 à 10^8 germes par ml.

Les Antibiotiques (73) (74) :

Ils ont été choisis en fonction de la disponibilité du laboratoire de Microbiologie de la Faculté de Pharmacie d'Abidjan.

Ce sont :

- l'acide fusidique (Fucidine R) ayant une charge de 10 ug/ml. Il est de la famille des fusidamines.
- le cefamandazole (Kefandole R) charge à 30 ug/ml. C'est une céfalosporine de deuxième génération.
- la netilmicine (Nétromicine R) ayant une charge de 30 ug/ml. Elle est de la famille des aminosides.
- la piperacilline (Pipérilline R) sous forme de solution à 10 ug/ml, obtenue après dissolution dans du méthanol (0,5 ml) et dilution dans de l'eau distillée. C'est une bêta-lactamine, du groupe des pénicillines et du type uréidopénicilline.

b. Méthodes (70) :

L'antibiogramme en milieu gélosé solide a été utilisé.

Après ensemencement du bouillon coeur-cervelle, et incubation à 37°C pendant 18 h des inocula, nous avons effectué un repiquage sur la gélose en pente, et ce, dans les mêmes conditions que celles décrites ci-dessus ; nous avons ensuite, à partir de la gélose en pente, incubé à 37°C pendant 18 h, effectué un ensemencement sur le milieu Mueller Hinton, par une suspension de ces différents germes.

Les cupules effectuées dans ce milieu à l'aide de la pipette pasteur renversée, ont été aseptiquement remplies par 60 ul de solution de lyophilisat et d'extrait méthanolique de ce dernier. Les disques d'antibiotique sont déposés sur la gélose.

La lecture a été effectuée après 24 h d'incubation à 37°C.

Pour la détermination des C.M.I. nous avons utilisé la technique suivante :

A partir des solutions mères de lyophilisat et d'extrait méthanolique, nous avons réalisé des dilutions au 1/5ème à partir de laquelle nous avons effectué une série de dilution de raison géométrique 1.

Les dilutions homogénéisées par agitateur, sont incorporées à la gélose Mueller Hinton en surfusion de telle sorte que l'on obtienne des dilutions finales allant de 1/5 à 1/80.

Les boîtes ont été ensemencées avec les inocula au moyen d'un multi-inoculateur dérivé de l'appareil de STEERS (DENLEY), dont chaque tige dépose 0,1 ul soit 10⁶ germes par spot.

Parallèlement, nous avons vérifié que l'eau distillée stérile utilisée pour la dilution de nos produits ne possède aucune activité intrinsèque sur les souches étudiées, aux dilutions 1/10, 1/20, 1/40.

La CMI correspond à la dilution ne permettant le développement d'aucune culture visible après 10 h d'incubation à 37°C.

5. Résultats

Les résultats sont consignés dans les tableaux n°19, 20, 21, 22, 23. Nous avons considéré dans les différents cas que :

- la bactérie est sensible pour un diamètre d'inhibition supérieure à 15 mm (la CMI est nettement inférieure aux concentrations humorales pouvant être atteintes avec un traitement aux doses usuelles).
- lorsque ce diamètre est inférieur à 15 mm, la bactérie est dite résistante (la CMI est trop élevée pour être atteinte in vivo).
- Entre ces deux bornes, la sensibilité de la bactérie est intermédiaire.

Tableau n°19 : Activité du lyophilisat brut et de l'extrait méthanolique du lyophilisat du jus de feuilles de Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken sur 4 souches de collection par rapport à celle de 4 antibiotiques (35) (36)

Souches de collection	DIAMETRE D'INHIBITION (mm)			
	Escherichia coli ATCC 25922	Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	Staphylococcus aureus ATCC 25923	Streptococcus faecalis ATCC 19433
Produits				
Solution aqueuse du lyophilisat brut au 1/5ème	25	33	29	31
Solution aqueuse de l'extrait méthanolique du lyophilisat brut au 1/5ème	25	32	28	30
Cefamandazole (30 µg)	26-32	+	26-34	+
Pipéracilline (10 µg)	16-22	27-33,2	27-35	+
Nétilmicine (30 µg)	27-36	+	28-32	+
Acide Fusique (10 µg)	+	+	+	+

Le signe + signifie pousse bactérienne

Tableau n°20 : Activité bactériostatique du lyophilisat brut et de l'extrait méthanolique du lyophilisat du jus de feuilles de *Bryophyllum pinnatum* (Lam) Oken sur 4 souches de collection.

Souches de collection	Diamètre d'inhibition (mm)									
	Dilution du lyophilisat brut					Dilution de l'extrait méthanolique du lyophilisat				
	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	25	15	+	+	+	25	15	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	33	24	17	+	+	32	22	15	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	29	20	+	+	+	28	18	+	+	+
<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC 19433	31	14	12	+	+	30	13	10	+	+

Le signe + signifie pousse bactérienne

Tableau n°21 : Dilutions et CMI du lyophilisat et de l'extrait méthanolique du lyophilisat du jus de feuilles de *Bryophyllum pinnatum* (Lam) Oken vis à vis de 4 souches de collection.

SOUCHES DE COLLECTION	Extraits CMI mg/ml				Antibiotiques CMI mg/ml de référence			
	Lyophilisat Brut		Extrait méthanolique du Lyophilisat		Céfaman dazole	Nétil- micine	Acide fusidi- que	Pipe- racil- line
	Dilu- tion	CMI (mg/ml)	Dilu- tion	CMI (mg/ml)	CMI (mg/ml)	CMI (mg/ml)	CMI (mg/ml)	CMI (mg/ml)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	1/10	20	1/10	20	0,5-1	0,25 -0,5	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	1/20	10	1/20	10	+	0,5-1 50 %	+	2-4 50 %
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1/10	20	1/10	20	0,5	0,12 -0,25	+	2
<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC 19433	1/20	10	1/20	10	+	+	1-4	1-4

Le signe + signifie pousse bactérienne.

Tableau n°22 : Activités exprimées par le diamètre d'inhibition (mm) du lyophilisat brut et de l'extrait méthanolique du Lyophilisat du jus de feuilles de *Bryophyllum pinnatum* (Lam) Oken vis à vis des souches hospitalières

SOUCHES HOSPITA- LIERES	EXTRAITS		ANTIBIOTIQUES DE REFERENCE		
	Lyophilisat brut	Extrait méthanolique du Lyophilisat	Céfamanda- zole	Nétilmi- cine	Acide fusidique
<i>Escherichia coli</i> N = 8 100%	28-30 28,9	26-35 27	25-40 27	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> N = 11 100%	35-37 35,5	32-34 32,5	+	21-30 24,55	+
<i>Staphylococcus aureus</i> N = 10 100%	31,5-33 31,7	32-34 33	+		0-40 26,44
<i>Streptococcus faecalis</i> N = 7 100%	32-36 32,8	30-33 31	+	+	+
TOTAL N = 36 100%	30 83,3	6 16,7	0	-	-

Le signe + signifie pousse bactérienne.

Tableau n°23 : Répartition des souches hospitalières en fonction des CMI du lyophilisat brut et de l'extrait méthanolique du lyophilisat du jus de feuilles de *Bryophyllum pinnatum* (Lam) Oken et le pourcentage des souches hospitalières inhibées.

Souches de collection	lyophilisat brut						Extrait Méthanolique du lyophilisat			
	>1/10 (20)		1/10 (20)		1/20 (10)		>1/5 (40)		1/5 (40)	
	nbre de germes	%	nbre de germes	%	nbre de germes	%	nbre de germes	%	nbre de germes	%
<i>Escherichia coli</i> N = 8 100%	7	87,5	1	12,5	0	0	8	100	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> N = 11 100%	9	81,8	2	18,2	0	0	11	100	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i> N = 10 100%	7	70	3	30	0	0	10	100	0	0
<i>Streptococcus faecalis</i> N = 7 100%	7	100	0	0	-	-	7	100	0	0
TOTAL N = 36/100	30	83,3	6	16,7	0	0	-	-	-	-

6. Discussion

A la suite des premiers essais, nous avons observé que le lyophilisat et l'extrait méthanolique du jus de feuilles de Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken, étaient actifs sur les souches testées. Les lyophilisats ayant une activité meilleure à celle de l'extrait méthanolique.

Après détermination des CMI, nous remarquons que sur l'ensemble des souches hospitalières, les cocci gram positifs sont plus sensibles au lyophilisat que les bacilles gram négatifs.

Le diamètre d'inhibition le plus élevé est obtenu avec le lyophilisat respectivement sur les souches de collections de streptocoque, de pseudomonas et de staphylocoque. La souche de collection d'Escherichia est la moins sensible des souches au lyophilisat. Dans tous les cas, l'extrait méthanolique est moins actif que le lyophilisat, sur l'ensemble des souches de collection, aux concentrations indiquées dans le tableau n°23.

Les CMI du lyophilisat sur les souches de collection de Pseudomonas et de Streptocoque sont de 10 mg/ml pour chacune d'elles, alors qu'elles s'élèvent à 20 mg/ml pour les souches de Staphylocoque et d'Escherichia coli.

Pour ce qui est de l'extrait méthanolique, autant actif que le lyophilisat, la variation des CMI est la même que celle du lyophilisat.

Sur toutes les souches hospitalières la CMI de l'extrait méthanolique est de 40 mg/ml alors que pour le lyophilisat, elle est de 20 mg/ml pour le Streptocoque et de 10 mg/ml pour les autres souches.

L'activité du lyophilisat est supérieure à celle de l'extrait methanolique.

Parmi les souches hospitalières étudiées, le Staphylocoque et le Pseudomonas, connus pour leurs résistances aux antibiotiques présentent une bonne sensibilité au lyophilisat.

Ce dernier est plus actif sur les souches hospitalières que sur les souches de collection. Ces résultats nous ont permis d'envisager la détermination des concentrations minima bactéricides du lyophilisat et de l'extrait méthanolique de ce dernier.

II. DETERMINATION DE LA CONCENTRATION MINIMALE BACTERICIDE (CMB) DU LYOPHILISAT ET DE L'EXTRAIT MÉTHANOLIQUE DU JUS DE FEUILLES DE BRYOPHYLLUM PINNATUM (LAM) OKEN.

La concentration minimale bactéricide (CMB) est la plus faible concentration d'agents anti-infectieux ne laissant subsister qu'un nombre de survivants, inférieur ou égal à 0,01% de l'inoculum (soit un survivant sur 10.000 ; Norme Française). La détermination de la CMB se fait conjointement à celle de la CMI (23).

La bactéricidie est une mort accélérée des bactéries sous l'effet de l'antibiotique. Elle correspond à la plus faible concentration en antibiotique qui entraîne une diminution du nombre de bactéries vivantes (CMB).

La bactériostase est la concentration d'antibiotique qui porte atteinte à la croissance bactérienne telle que le nombre de bactéries formées est inférieur à celui de la croissance sans antibiotiques mais supérieur, ou à la limite égal au nombre de bactéries ensemencées (CMI) (31).

En clinique humaine, au cours des infections aiguës, on a le plus souvent recours aux antibiotiques bactériostatiques afin d'empêcher au mieux la diffusion du germe et circonscrire ainsi le foyer infectieux.

Mais dans les infections chroniques et particulièrement sévères, (septicémies, endocardites bactériennes), un simple effet bactériostatique ne suffit plus. Il est alors très important d'utiliser un traitement antibiotique exerçant un effet bactéricide.

Les deux notions de CMI et CMB permettent de distinguer :

- Les antibiotiques pour lesquels les concentrations permettant d'obtenir un effet bactéricide important (CMB) sont proches de leur CMI et facilement atteintes dans l'organisme : Ils sont dits bactéricides.
- Les antibiotiques dont les CMB sont très supérieures aux CMI et difficiles à atteindre in vivo. Ils sont dits bactériostatiques.
- Les bactéries pour lesquelles le rapport CMB/CMI > 32 sont dites tolérantes.

Nous avons utilisé pour la détermination de la CMB, la technique de diffusion en milieu liquide.

Le milieu utilisé est le bouillon coeur-cervelle (BCC).

1. Matériel et Méthode :

a. Préparation de l'Inoculum :

Il est obtenu par dilution d'une culture de 24 h à raison de 4 gouttes d'un bouillon de culture dans 90 ml de BCC.

b. Etablissement de la gamme de dilution du lyophilisat et de l'extrait méthanolique du lyophilisat.

A partir des solutions mères du lyophilisat et de l'extrait méthanolique diluées au 1/5ème, nous avons réalisé des séries de dilutions allant de 1/2 à 1/16 dans le Bouillon coeur-cervelle ensemencé.

Nous avons inclus dans la gamme, un tube témoin contenant un B.C.C. non ensemencé.

Après incubation à 37° à partir de chaque dilution, nous avons ensemencé un milieu gélosé par strie de 5 cm de long. L'incubation s'est faite à 37°C pendant 18 h.

c. Numération des germes :

A partir d'un bouillon de culture de 18 h, nous avons réalisé une série de dilutions de 10 en 10 jusqu'à 10⁻⁴. Chacune de ces dilutions nous a servi à ensemencer un milieu gélosé par strie de 5 cm de long.

L'incubation a duré 18 h à 37°C.

Les boîtes ont été ensemencées avec les inocula au moyen d'un multi-inoculateur dérivé de l'appareil de Steers (Denley) dont chaque tige dépose 1 ul, soit 10⁷ germes par spot.

d. Lecture et Expression des Résultats :

Pour chaque strie, on compare la densité des colonies de germes survivants à la densité des colonies obtenues avec chacune des dilutions de l'inoculum initial.

Si la densité est égale à celle obtenue avec :

- le bouillon ensemencé pur, il y a 100% de survivants
- le bouillon dilué à 10⁻², il y a 10% de survivants
- le bouillon dilué à 10⁻³, il y a 0,1% de survivants
- le bouillon dilué à 10⁻⁴, il y a 0,01% de survivants

La C.M.B correspond à la plus grande dilution du lyophilisat ayant laissé 0,01 % de survivants dans le milieu.

e. Résultats :

Les résultats de l'activité bactéricide (% de survivants) sont contenus dans les tableaux n°24, 25, 26, 27.

E₁ Désigne l'extrait méthanolique

E₂ l'extrait lyophilisé

Ces deux extraits ont été testés in vitro sur 4 souches hospitalières de :

Staphylococcus aureus (N = 10)
Streptococcus faecalis (N = 7)
Pseudomonas aeruginosa (N = 11)
Escherichia coli (N = 7)

et sur les souches de collection correspondantes.

Tableau n°24 : Activité bactéricide du lyophilisat brut sur les quatre souches hospitalières :

SOUCHES HOSPITA- LIERES	Pourcentage de survivants					
	Dilutions du lyophilisat					
	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160
Escherichia coli N = 8	< 0,01	0,1	1	10	100	100
Pseudomonas aeruginosa N = 11 100%	0,01	0,01	0,01	<0,01	0,1	1
Staphylococcus aureus N = 10 100%	< 0,01	0,01	0,1	1	10	100
Streptococcus faecalis N = 7 100%	< 0,01	0,01	0,1	1	10	100

Tableau n°25 : Activité bactéricide du lyophilisat brut sur les souches de collection.

SOUCHES DE COLLECTION	Pourcentage de survivants					
	Dilutions du lyophilisat					
	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160
Escherichia coli ATCC 25922	< 0,01	0,1	1	10	100	100
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	0,01	0,01	0,01	<0,01	0,1	10
Staphylococcus aureus ATCC 25923	0,01	<0,01	0,1	1	10	100
Streptococcus faecalis ATCC 19433	0,01	<0,01	0,1	1	10	100

Discussion

Action bactéricide du lyophilisat :

Sur les souches hospitalières :

Le lyophilisat a une CMB supérieure à 1/5ème sur la souche de *Escherichia coli*.

Sur les cocci gram positifs (*Staphylocoques* et *Streptocoques*), cette CMB est de 1/5ème correspondant à une concentration de 40 mg/ml.

Sur les souches de collection

L'extrait E. a une CMB supérieure à 1/5ème c'est-à-dire 40 mg/ml, sur la souche d'*Escherichia coli*.

Sur le streptocoque et sur le staphylocoque, cette CMB est de 1/10ème en moyenne (20 mg/ml), pour chacun des deux germes.

Enfin la CMB de l'extrait sur le *Pseudomonas* est de 1/20ème en moyenne c'est-à-dire 10 mg/ml.

Tableau n°26 : Activité bactéricide de l'extrait méthanolique du lyophilisat sur 4 souches hospitalières :

SOUCHES DE COLLECTION	Pourcentage de survivants					
	Dilutions de l'extrait méthanolique du Lyophilisat					
	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	< 0,01	0,1	1	10	100	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	0,01	0,01	<0,01	0,01	1	10
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0,01	<0,01	0,1	1	10	100
<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC 19433	0,01	<0,1	1	10	100	100

Tableau n°27 : Activité bactéricide de l'extrait méthanolique du lyophilisat sur les souches de collection.

SOUCHES HOSPITA- LIERES	Pourcentage de survivants					
	Dilutions de l'extrait methanolique du Lyophilisat					
	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160
Escherichia coli N = 7	< 0,01	0,1	1	10	100	100
Pseudomonas aeruginosa N = 11	0,01	0,01	< 0,01	0,1	1	10
Staphylococcus aureus N = 10	<0,01	0,01	0,1	1	10	100
Streptococcus faecalis N = 7	<0,01	0,1	1	10	100	100

Action de l'extrait méthanolique :

Sur les souches de collection

La CMB de cet extrait sur Escherichia coli est supérieure à 1/5ème (40 mg/ml).

Sur la souche de Streptococcus faecalis, la CMB est de 1/10 ème (20mg/ml).

Sur la souche de staphylococcus aureus, cette CMB est de 1/10 ème (20 mg/ml).

Enfin sur le Pseudomonas, la CMB est de 1/20ème (10mg/ml).

Sur les souches hospitalières :

L'extrait est plus actif sur Pseudomonas aeruginosa 1/10ème (20 mg/ml), ensuite sur Staphylococcus aureus 1/5 ème (40 mg/ml), sur Streptococcus faecalis et Escherichia coli, la CMB est supérieure à 1/5ème (40 mg/ml).

Ces résultats concourent à une constatation :

La fraction antibiotique du lyophilisat serait plus concentrée dans le lyophilisat que dans l'extrait méthanolique au regard des CMB obtenues sur les souches hospitalières.

CONCLUSION :

En conclusion, les extraits lyophilisés et méthanoliques du lyophilisat des feuilles de Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken ont une activité antibiotique in vitro certaine vis à vis des souches étudiées.

Les dilutions auxquelles l'activité des extraits est observée sont grandes sauf pour *Pseudomonas aeruginosa*, pour lequel les extraits restent actifs jusqu'à la dilution de 1/20ème.

Nous ne pouvons toutefois passer à une application thérapeutique et encourager l'utilisation du jus de ces feuilles sans confirmer ces résultats par des tests in vivo. Nous y sommes appelés, car la tendance thérapeutique actuelle incite à l'utilisation des plantes médicinales.

Les germes testés se rencontrent assez fréquemment au niveau des plaies dont elles retardent la cicatrisation. Plaie infectée et cicatrisation sont de ce fait, étroitement liées et nous ne saurons envisager une étude in vivo sans rappeler ce qu'est la cicatrisation, qui garantit non seulement la détersion et la stérilisation du foyer infectieux mais aussi une bonne multiplication cellulaire.

Si donc la cicatrisation et le processus terminal des plaies infectées ou non, nous ne devons plus tenir compte de l'extrait méthanolique du lyophilisat pour les raisons suivantes :

- Le phénomène général qu'est la cicatrisation comporte 3 phases:
 - . la détersion et la stérilisation du foyer infectieux
 - . Le bourgeonnement (régénération des cellules lésées)
 - . et l'épithélialisation.

Si comme l'a montré Ibrahim R.K. (59) le méthanol est le solvant de choix des acides phénoliques, par ailleurs réputés antiinfectieux (43)-, l'extrait du lyophilisat par ce solvant ne devrait contenir en majorité que des composés phénoliques à fonction acide. Cet extrait n'aurait d'action - du moins théoriquement - que sur la phase de détersion. Or un bourgeonnement intense peut entraîner la formation de chéloïdes disgracieux et- inesthétiques. Ce développement exagéré du tissu conjonctif peut être modéré par un antiinflammatoire : Le Lyophilisat et le jus de feuilles de Bryophyllum pinnatum en contiennent (le B sitostérol, les alcools aliphatiques supérieurs) (43).

C'est pourquoi dans notre étude in vivo, nous ne testerons plus l'extrait méthanolique du lyophilisat. Mais avant, nous compléterons nos études in vitro par un test de 3 formules galéniques que nous utiliserons in vivo :

- une pommade à base de lyophilisat.
- une pommade ne contenant que les excipients,
- la pommade Madécassol Néomycine à l'hydrocortisone composé de:

Acide asiatique et néomycine : antiseptiques

Hydrocortisone : antiinflammatoire

Asiaticoside : principe régénérateur de la trophicité du tissu conjonctif.

On pourrait établir une relation entre cette pommade et une pommade à base de l'extrait lyophilisé du Bryophyllum car ce dernier est aussi antiseptique par ses composés acides (43), antiinflammatoire (43) par ses alcools supérieurs et le B sitostérol et actif dans la restauration du tissu conjonctif lésé (15).

B - IN VIVO

MISE EN EVIDENCE IN VIVO DE L'ACTIVITE ANTIINFECTIONNEUSE ET CICATRISANTE DU JUS DE BRYOPHYLLUM ET DE LA POMMADE MADECASSOL SUR DES RATS BLESSES ET INFECTES PAR DES SOUCHES HOSPITALIERES ET PAR LEURS ASSOCIATIONS

I. MATERIEL

1. Pommades Utilisées

a. Pommade Madécassol Néomycine à l'hydrocortisone

Nous avons choisi comme produit de référence, la Pommade Madécassol dont la formulation est :

- Néomycine : 0,35 g (antibiotique bactéricide de la famille des aminosides)
- Hydrocortisone : 1 g (antiinflammatoire (corticoïde de la classe IV d'activité modérée).
- Extrait titré de Centella asiatica 1 g (Ombellifère)
- Excipient : PEG 400 et 4000, vaseline, stéarate de zinc QSP 100g
- Conservateur : paraoxybenzoates de méthyle et de propyle.

Cet extrait contient : l'acide asiatique, l'acide madécassique, et l'asiaticoside, antiseptiques doués d'une activité nette sur la trophicité du tissu conjonctif.

La pommade contient en plus de l'extrait, un antibiotique la Néomycine, un antiinflammatoire l'hydrocortisone et un principe qui agit sur la trophicité du tissu conjonctif.

De même le lyophilisat, comme le jus, contiennent un antiinflammatoire (B sitostérol) (43), un ou des antibiotiques comme nous le révèlent les études bactériologiques précédentes, enfin un principe actif sur la trophicité du tissu conjonctif d'après les études réalisées par BERSHTEIJN et citées par le Pr. POUSSET. (15) (67).

En tenant compte du coût d'un lyophilisateur et de l'urgence du credo "Santé pour tous d'ici à l'an 2.000", nous avons choisi de formuler la pommade au Bryophyllum à partir de son jus.

b. Pommade à base de l'extrait aqueux de Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken Formule pour un pot de 50 ml :

- Extrait aqueux de Bryophyllum pinnatum 29,3 ml = 2,344g de lyophilisat
- Lanoline 15 g
- Vaseline 4 g
- Stéarate de zinc 1 g
- Paraoxybenzoate de méthyle sodique 0,05 %

Les mélanges sont effectués dans l'ordre suivant :

Lanoline fondue + Extrait tiédi (phase 1)

Le stéarate de zinc est dissout dans la vaseline à chaud ; (phase 2)

Puis on mélange par petites portions les phases 1 et 2. (10) (12)
(30) (51)

c. Pommade aux excipients :

Elle n'est constituée que par les excipients des deux autres pommades. Sa formule est :

Vaseline	4 g
Lanoline	15 g (66)
Stéarate de zinc	1 g
Paraoxybenzoate de méthyle sodique	0,05 %

2. Réactif Animal :

Nous avons utilisé des rats de souche Whistar, de poids variant entre 150 g et 200 g, tous âgés de 1 mois 20 jours à 2 mois.

Les animaux sont répartis dans des cages dont la litière est une épaisse couche de sciure de bois. Ils sont regroupés par 4. Ces cages mesurent 50 cm de long sur 25 cm de large.

Les animaux sont régulièrement nourris aux granulés contenant 17 à 19% de protéines, des glucides et des lipides. Ils sont constamment alimentés en eau. Chaque lot contient 4 rats de poids sensiblement égal. Nous avons constitué 14 lots de 4 rats, et un lot de 14 rats dont 8 infectés par un germe et 6 par une association de germes.

3. Trousse à dissection :

Nous nous sommes servi d'une trousse à dissection contenant :

- un scalpel
- une paire de ciseaux
- un rasoir
- un rouleau de fil
- un bistouri
- du coton et du sparadrap pour panser les plaies. Les animaux ont été anesthésiés à l'éther éthylique.

II. PROTOCOLE

Le rat est anesthésié dans un bocal dont l'atmosphère est préalablement saturé d'éther éthylique.

A l'aide d'une paire de ciseaux, il est tondu d'une épaule à l'autre sur une largeur de 4 cm. Puis on découpe de part et d'autre de la colonne vertébrale, une rondelle de peau d'environ 1,5 cm de diamètre.

La plaie est éponagée à l'aide de coton imbibé de sérum physiologique. L'infestation proprement dite se réalise d'après la technique de Rivalier modifiée (69).

Au niveau de la partie rasée et blessée, on applique une solution de la suspension de germes dans un millilitre d'eau physiologique ou du miel. On l'étale à l'aide d'un abaisse-langue en bois. Ces germes proviennent d'une culture de 24 h sur milieu Mueller-Hinton. Après

étalement, on effectue un pansement avec des compresses et du sparadrap perforé de façon à mieux conserver la pâte bactérienne sur l'animal (21). 48 h après, le pansement est défait et l'on peut constater :

- l'apparition d'odeurs désagréables
- une inflammation
- un erythème.

La teinte blanc-lait des compresses ayant servi au pansement révèle la présence de pus. Toutefois, nous avons effectué des prélèvements aseptiques au niveau des effractions, et une coloration de Gram nous a permis de confirmer l'infestation.

Nous avons traité les animaux au Madécassol, à la pommade au jus de Bryophyllum, et à la pommade aux excipients.

Traitement des animaux infectés

Les 15 lots sont répartis comme suit :

Tableau n°28 : Répartition des 15 lots

N° DE Lt	INFESTATION PAR	TRAITEMENT
1	Staphylococcus aureus	Madecassol
2	Staphylococcus aureus	Pommade au Lyophilisat
3	Pseudomonas aeruginosa	Madecassol
4	Pseudomonas aeruginosa	Pommade au Lyophilisat
5	Streptococcus faecalis	Madecassol
6	Streptococcus faecalis	Pommade au Lyophilisat
7	Escherichia coli	Madecassol
8	Escherichia coli	Pommade au Lyophilisat
9	Escherichia coli+ Staphylococcus aureus	Madecassol
10	Escherichia coli+ Staphylococcus aureus	Pommade au Lyophilisat
11	Escherichia coli+Pseudomonas aeruginosa	Madecassol
12	Escherichia coli+Pseudomonas aeruginosa	Pommade au Lyophilisat
13	Escherichia coli+Streptococcus faecalis	Madecassol
14	Escherichia coli+Streptococcus faecalis	Pommade au Lyophilisat
15	8 sous lots de 4 rats infestés par chacun des germes ** 6 sous lots de rats infestés leur association	Pommade aux excipients

NB Lt = Lot

** = témoin

Les animaux sont à nouveau anesthésiés à l'éther et couchés sur un plateau. On applique la pommade à tester sur la lésion. Ces applications sont quotidiennes jusqu'à disparition des signes macroscopiques et olfactifs d'infestation (érythème, pus, odeur, inflammation).

L'épaule droite reçoit le produit à tester (pommade au jus lyophilisé de Bryophyllum, l'épaule gauche, le produit de référence (Madécassol à l'hydrocortisone) sauf pour les rats du lot 15 traités par la pommade aux excipients.

Les lots 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 sont traités par la pommade Madecassol et ont pour témoins les rats n°1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 du lot n°15 traités par la pommade aux excipients.

Les lots 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 sont traités par la pommade au Bryophyllum et ont pour témoins les rats n°2, 4, 6, 8, 10, 12 et 14 du lot 15, traités par la pommade aux excipients.

Sur les rats des lots 1 à 14, on peut apprécier les effets de la pommade Madécassol et de la pommade au jus de Bryophyllum, car ces deux pommades sont appliquées aux épaules gauche et droite du même rat.

III. Résultats :

Effets antimicrobiens :

Deux jours après traitement, des squames sont prélevés sur des rats de chaque lot traité et cultivés sur les milieux usuels précédemment décrits. Les résultats obtenus figurent aux tableaux n°28 et 29.

Les prélèvements des rats traités par la pommade aux excipients sont faits trois jours après infestation et traitement. Les résultats figurent au tableau N°29.

Ces résultats sont relatifs à la pousse des germes. Ils sont donc qualitatifs.

Les résultats quantitatifs indiquant le nombre de rats dans la phase de détersion après 3 jours de traitement figurent aux tableaux n°30 et 31.

Tableau n°28 : Test de contrôle antibiotique après traitement des rats par la pommade Madécassol néomycine à l'hydrocortisone après 24 h et 48 h.

MILIEUX DE CULTURE			
Squames	Bouillon Coeur-cervelle	Gélose en pente	Gélose Mueller Hinton
Lot n°1	-	-	-
Lot n°3	-	-	-
Lot n°5	-	-	-
Lot n°7	-	-	-
Lot n°9	-	-	-
Lot n°11	-	-	-
Lot n°13	-	-	-

- Signifie absence de pousse bactérienne.

Tableau N°29 : Test de contrôle antibiotique après traitement des rats par la pommade au Bryophyllum après 24 H ET 48 h.

MILIEUX DE CULTURE			
Squames	Bouillon Coeur-cervelle	Gélose en pente	Gélose Mueller Hinton
Lot n°2	-	-	-
Lot n°4	-	-	-
Lot n°6	-	-	-
Lot n°8	-	-	-
Lot n°10	-	-	-
Lot n°12	-	-	-
Lot n°14	-	-	-

- Signifie absence de pousse bactérienne

Tableau n°30 : Test de contrôle antibiotique après traitement des rats par la pommade aux excipients après 3 jours.

MILIEUX DE CULTURE			
Squames	Bouillon Coeur-cervelle	Gélose en pente	Gélose Müller Hinton
Tout le Lot 15 (14 rats)	+	+	+

+ Signifie pousse des bactéries

Tableau n°31 : Activité antibactérienne de la pommade aux excipients et de la pommade Madécassol sur des rats infectés par: E. coli, P. aeruginosa, St. aureus, Str. faecalis et 3 de leurs association avec E. coli après 3 jours de traitement.

Lots N°	Nombre	Poids moyen en grammes	Germe	Pommade Madécassol		Pommade aux Excipients	
				N° de Lots	Nombre de rats dans la phase de déterision	Lot N°15 sous lot N°	Nombre de rats dans la phase de déterision
1	N = 4	152-157	St. aureus	1	0	A	4
3	N = 4	158-165	P. aeruginosa	3	0	B	4
5	N = 4	165-171	Str. faecalis	5	0	C	4
7	N = 4	172-177	E. coli	7	0	D	4
9	N = 4	178-183	E. coli + St. aureus	9	0	E	4
11	N = 4	184-190	E. coli + P. aeruginosa	11	0	F	4
13	N = 4	191-200	E. coli + Str. faecalis	13	0	G	4

Tableau n° 32 : Activité antibactérienne de la pommade aux excipients et de la pommade au jus de Bryophyllum sur des rats infectés par : St. aureus, Str. faecalis, E. coli, P. aeruginosa et 3 de leurs associations avec E. coli après 3 jours de traitement.

Lots N°	Nombre	Poids moyen en grammes	Germes	Pommade au Lyophilisat de Bryophyllum		Pommade aux Excipients	
				N° de Lots	Nombre de rats dans la phase de déterSION	Lot N°15 sous lot N°	Nombre de rats dans la phase de déterSION
2	N = 4	150-155	St. aureus	2	0	A	4
4	N = 4	155-160	P. aeruginosa	4	0	B	4
6	N = 4	161-170	Str. faecalis	6	0	C	4
8	N = 4	171-175	E. coli	8	0	D	4
10	N = 4	176-180	E. coli + St. aureus	10	0	E	4
12	N = 4	181-190	E. coli + P. aeruginosa	12	1	F	4
14	N = 4	191-195	E. coli + S. faecalis	14	0	G	4

Interprétation des résultats

Au plan qualitatif, le fait que les cultures des squames (sur milieux usuels) prélevés sur les rats traités par le Madécassol et par la pommade au jus de Bryophyllum soient négatives après 48 h de traitement, nous suggère que ces deux pommades exercent un effet antimicrobien sur les germes étudiés, par rapport à la pommade aux excipients. En effet, la culture des squames prélevés sur des rats traités par cette pommade, sur milieux usuels dans les conditions décrites plus haut, étant positive, suggère l'inactivité de celle-ci sur les germes étudiés.

Au plan quantitatif, tous les rats traités par la pommade témoin restent dans la phase de détersion alors qu'un seul rat traité au jus de Bryophyllum et infecté par l'association E. coli + P. aeruginosa est encore en phase de détersion.

En ce qui concerne le Madécassol néomycine à l'hydrocortisone son activité vis-à-vis des mêmes germes se confirme à 100% dans la même phase et par rapport aux mêmes germes.

Activité cicatrisante du jus de feuilles de Bryophyllum :

La pommade au jus de feuilles de Bryophyllum comme nous le suggérait l'étude in vitro, a une activité antimicrobienne vis-à-vis des germes

testés.

Nous avons poursuivi nos essais dans la vérification de l'activité cicatrisante de la pommade au jus de feuilles de Bryophyllum en utilisant comme produit de référence, le Madécassol néomycine à l'hydrocortisone et la pommade aux excipients comme témoin.

Nous avons utilisé cette fois des rats blessés, mais non infectés que nous avons traités par le témoin.

Nous avons suivi et traité les rats soumis au Madécassol, au jus de feuilles de Bryophyllum et à la pommade aux excipients dans les phases de bourgeonnement et d'épithélialisation.

Les résultats objectivant cette activité cicatrisante figurent aux tableaux n°30, 31, 32, 33, 34.

Tableau N°33 : Etude de l'activité cicatrisante de la pommade au jus de feuilles de Bryophyllum sur des rats blessés et infectés par 4 souches hospitalières et 3 de leurs associations : *Staphylococcus aureus* ; *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *S. faecalis* et leur association avec *E. coli* après cinq jours de traitement.

Lots	Lots	Poids moyen en grammes	Germes	Nombre de rats dans chaque phase					
				Pommade au jus de feuille de Bryophyllum : A			Pommade Madécassol L'hydrocortisone Néomycine		
				Détersion (après 3 jours)	Bougeonnement (après 5 jours)	Epithélialisation (après 5 jours)	Détersion (après 3 jours)	Bougeonnement (après 5 jours)	Epithélialisation (après 5 jours)
A	B								
2	1	170	<i>E. coli</i>	0	2	2	0	2	2
4	3	161	<i>P. aeruginosa</i>	0	2	2	0	3	1
6	5	153	<i>St. auréus</i>	0	2	2	0	3	1
8	7	179	<i>S. faecali</i>	0	2	2	0	3	1
10	9	188	<i>E. coli</i> + <i>St. auréus</i>	0	3	1	0	2	2
12	11	195	<i>E. coli</i> + <i>S. faecalis</i>	0	2	2	0	2	2
14	13	200	<i>E. coli</i> + <i>P. aeruginosa</i>	1	3	1	0	2	2
				T = 1	T = 16	T = 12	T = 0	T = 17	T = 11

Les résultats portant sur la détersion ont été relevés 3 jours après le traitement et ceux relatifs au bourgeonnement, 5 jours après la détersion. Enfin, ceux portant sur l'épithélialisation ont été relevés 5 jours après le bourgeonnement.

Tableau n° 34 : Etude de l'activité cicatrisante de la pommade au jus de feuilles de Bryophyllum sur des rats blessés et infectés par 4 souches hospitalières : Staphylococcus aureus, E. coli, Str. faecalis et P. aeruginosa et leur association avec E. coli, 8 jours après la détersion et la stérilisation du foyer infectieux.

Lots	Lots	Poids moyen en grammes	Germes	Nombre de rats dans chaque phase					
				Pommade au jus de feuille de Bryophyllum : A			Pommade Madécassol L'hydrocortisone		
				Détersion (après 3 jours)	Bourgeonnement (après 5 jours)	Epithéliation (après 5 jours)	Détersion (après 3 jours)	Bourgeonnement (après 5 jours)	Epithéliation (après 5 jours)
A	B								
2	1	153	E. coli	0	1	3	0	0	4
3	4	161	P. aeruginosa	0	0	4	0	1	3
6	5	170	St. auréus	0	1	3	0	1	3
8	7	179	S. faecali	0	0	4	0	0	4
10	9	188	E. coli + St. auréus	0	2	2	0	1	3
12	11	195	E. coli + S. faecalis	0	2	2	0	1	3
14	13	200	E. coli + P.aeruginosa	0	1	3	0	1	3
				T = 0	T = 7	T = 21	T = 0	T = 5	T = 23

Tableau n° 35 : Etude de l'activité cicatrisante du témoin sur des rats blessés et infectés par : E. coli. Staphylocoques aureus, streptococcus faecalis, Pseudomonas aeruginosa et leur association avec E. coli, 6 jours après le début du traitement.

LOT N° 5	Nombre de rats dans chaque phase		
	Pommade aux excipients		
	Détersion et stér. foyer infect	Bougeonnement	Epithéliation
Tous les rats du lot N=28	28	0	0

Tableau n°36 : Nombre de rats dans chaque phase après 21 jours

NOMBRE TOTAL DE RATS	Nombre de rats dans chaque phase		
	Pommade aux excipients		
	Détersion	Bourgeonnement	Epithéliation
Tous les rats du lot N=28	12	16	0
Pourcentage de guérison (nombre de rats dans la phase d'épithéliation sur le nombre total de rats)	0/28 = 0 %		

Tableau n°37 : Pourcentage de guérison dûe aux pommades au Bryophyllum et au Madécassol

	Pommade au jus de feuille Bryophyllum			Pommade Madécassol		
	Détersion	Bourgeonnement	Epithéliation	Détersion	Bourgeonnement	Epithéliation
Nombre total de rats N = 56	0	5	23	0	3	25
Pourcentage de guérison (Nombre de rats dans la phase d'épithéliation sur nombre de rats total)	23/28 = 82,14 %			25/28 = 89,28 %		

IV - INTERPRETATIONS

Tableau n°33 : La détersion s'étalant sur 4 à 5 jours, au bout de 3 jours, un seul rat du lot 11 infecté par l'association E. coli + Pseudomona aeruginosa et traité par la pommade au jus de Bryophyllum reste dans la phase de détersion. Alors qu'aucun rat traité par le Madécassol n'est plus infecté.

L'action de ces deux pommades sur cette phase est presque égale. Il en est de même de cette action sur les phases de bourgeonnement (où l'on compte 16 rats traités à la pommade au jus de feuilles et 17 au Madécassol) et d'épithéliation (12 contre 11).

Tableau n°34 : 8 jours après la détersion, on a 21 rats traités au jus de Bryophyllum, en phase d'épithéliation contre 23 traités au Madécassol dans la même phase. L'action de la pommade madécassol est meilleure à celle à base du jus.

Chacune de ces pommades réduit sensiblement la durée du bourgeonnement. L'action du Madécassol étant toujours plus importante que celle du jus de Bryophyllum.

Tableau n°35 : Le fait que 6 jours après le traitement par le témoin, tous les animaux soient restés dans la phase de déterision prouve que cette pommade s'influence pas cette phase de la cicatrisation. Au 21ème jour 16 rats sur 28 sont en bourgeonnement et aucun dans la phase d'épithélialisation :

Tableau n°36 : 21 jours après le traitement, nous obtenons 23 rats sur 28 traités à la pommade au jus de feuilles qui sont dans la phase d'épithélialisation contre 25 sur 28 pour les rats traités au Madécassol. Ce qui nous donne les pourcentages de guérison respectifs de 82,14% contre 89,28% et 0% de guérison chez les rats traités par le témoin.

Ces résultats attestent l'activité antimicrobienne d'une part, et cicatrisante d'autre part de la pommade au jus de feuilles de Bryophyllum. Toutefois cette activité demeure légèrement moins importante que celle obtenue avec la pommade Madécassol.

D'après ces données, on se rend compte que la pommade au jus de feuilles de Bryophyllum active autant la cicatrisation que la pommade Madécassol néomycine à l'hydrocortisone. En effet, aucun rat traité à la pommade de jus de feuilles de Bryophyllum n'est plus infecté après 21 jours de traitement : Tel est aussi le cas des rats traités au Madécassol.

De même, après ce temps de traitement, 5 rats bourgeonnent dans le premier cas coentre 3 dans le second.

Enfin, 23 rats traités au lyophilisat cicatrisent contre 25 rats traités au Madécassol au bout de 21 jours. Ce qui donne des rapports de 82,14 % dans le premier cas contre 89,28% dans le second.

On peut donc dire que la pommade au jus de feuilles de Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken cicatrise un peu moins vite que la pommade Madécassol néomycine hydrocortisone, du moins dans les conditions opératoires que nous avons décrites.

Pour ce qui est du témoin, après 21 jours de traitement, 16 rats sur 28 bourgeonnent et aucun ne cicatrise : les constituants du témoin auraient un comportement neutre vis-à-vis de la cicatrisation.

V - RELATION ENTRE L'ACTIVITE IN VITRO ET L'ACTIVITE IN VIVO DES ACTIVITÉS ANTIBACTERIENNE ET CICATRISANTE DE L'EXTRAIT DE FEUILLES DE BRYOPHYLLUM pinnatum (LAM) OKEN.

Lors du screening effectué en vue de la recherche de l'activité antibactérienne, nous nous sommes rendu compte que l'extrait lyophilisé était très actif sur les souches de *Pseudomona aeruginosa*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* et peu actif sur la souche d'*Escherichia coli*.

Nous avons retrouvé cette activité in vivo après traitement des rats infectés. Il y a donc un rapport entre les diamètres d'inhibition trouvés expérimentalement et le temps de déterision des animaux. En effet plus le diamètre d'inhibition est grand, plus courte est la déterision et inversement, plus il est faible, plus longue est la déterision.

Quant à l'activité cicatrisante, on peut dire que l'effet antimicrobien du jus de Bryophyllum écourte la cicatrisation car cet effet est détersif, or la détersion est la première phase, de la cicatrisation. Donc plus grand est le diamètre d'inhibition, plus courtes sont la détersion et donc la cicatrisation (du moins dans sa première phase car le bourgeonnement et l'épithélialisation dépendraient eux, des processus inflammatoires régulés par le bêta sitostérol et les alcools aliphatiques supérieurs tels que nous l'ont prouvés les travaux de Mme Diallo Djénéba) (43).

Après ces essais sur les activités cicatrisante et antiinfectieuse, nous avons également vérifié la toxicité et la propriété antispasmodique du jus dont nous nous étions proposé l'étude. C'est à cette étude pharmacologique que nous avons consacré le deuxième chapitre de cette troisième partie.

"Tout est poison, rien n'est
poison, seule la dose compte".

(PARACELSE)

CHAPITRE II :

ETUDES PHARMACOLOGIQUES

I - INTRODUCTION

Les feuilles de *Bryophyllum pinnatum* ne figurent pas à la pharmacopée française. Elles ne figurent pas dans la première édition de la Pharmacopée Africaine. Les propriétés spasmolytiques et plus particulièrement antibronchospasmodiques, de même que les propriétés cicatrisantes sont mises à profit dans de nombreux pays africains et américains. Pourtant, aucune étude pharmacologique de cette propriété spasmolytique n'a été effectuée jusqu'à présent, du moins à notre connaissance. En nous référant au protocole d'étude de l'activité antispasmodique, décrite par Magnus et Cordier (26) sur le duodénum de rat, nous avons recherché l'activité du jus de feuilles de *Bryophyllum*, sur les spasmes induits par le BaCl_2 et l'acétylcholine. Puis nous avons vérifié l'action bronchospasmodique chez le cobaye.

II - MISE EN EVIDENCE DE L'ACTIVITE SPASMOLYTIQUE SUR LE DUODENUM ISOLE DE RAT

1. Principe :

L'activité spasmolytique du jus de feuilles de *Bryophyllum* a été testée en montrant son effet antagoniste vis à vis d'un contracturant l'acétylcholine, sur le duodénum de rat. Le chlorure de baryum a également été étudié.

2. Matériel et Méthode :

a). Matériel :

a.1). Réactif animal :

Nous avons travaillé sur deux séries de 6 rats dont 3 mâles et 3 femelles. Les rats avaient un poids compris entre 150 et 250 g et étaient tous de souche whistar.

Préparation des animaux :

Chaque rat servait à une série de 7 essais. Nous avons ainsi réalisé 84 essais pour les 12 rats. Les animaux sont soumis à une alimentation de composition déterminée. Nous avons adopté une alimentation d'entretien contenant 17 à 19 % de protéines sous forme de granules fabriqués par la Société de fabrication d'aliments composés en Côte d'Ivoire.

Outre les protéines, ces granules renferment des glucides et des lipides.

Les rats mâles étaient logés dans la même cage, les rats femelles dans des cages différentes, ceci pour éviter d'éventuels accouplements qui auraient pu nuire à l'expérimentation. L'animalerie avait une température de 22°C.

L'animal à utiliser est soumis à un jeûne non hydrique de 18 h à 24 h avant l'expérimentation.

Isolément du duodénum :

Nous avons utilisé :

- Une trousse à dissection comprenant une paire de ciseaux, une paire de pinces, un bistouri, un scalpel et du fil.
- Une seringue à usage unique
- Une pipette de 1 ml.

a.2) - Appareillage : Planche n°12

Il comprend 2 parties : une cuve et un système enregistreur.

La cuve :

Elle est de contenance déterminée : 10, 20, 30 ml. La nôtre avait un volume de 20 ml. Cette cuve plonge dans un bain-marie maintenu à 37° ± 0,50°C, grâce à un flacon contenant un liquide de survie (Liquide de Tyrode), par l'intermédiaire d'un serpentin.

L'organe isolé baigne dans la cuve ou il est fixé, dans sa partie inférieure au moyen d'une ligature, à un crochet. Dans sa partie supérieure, il est relié par un fil au stylet, lequel inscrit sur un cylindre enregistreur, les mouvements du duodénum.

La cuve est remplie du liquide de survie par ouverture d'un robinet, situé en avant du serpentin de réchauffement placé dans le bain thermostaté, maintenu à la température de 37°C.

La vidange ou le remplissage de la cuve se fait par ouverture ou fermeture du robinet.

L'organe isolé peut respirer au moyen d'un bulleur d'oxygène qui baigne dans la cuve et débite une bulle d'air par seconde.

Le Système d'enregistrement.

Il comprend un levier auquel est attachée une partie supérieure de l'organe à étudier. Au bout de ce levier, un stylet inscripteur se déplace sur le cylindre enregistreur recouvert de noir de fumée et à vitesse de rotation réglable.

a.3.) Liquide de survie

La solution de survie du duodénum est la solution de Tyrode (concentrée en sels minéraux). La composition de celle-ci pour un litre est la suivante :

Solution A :

NaCl	180 g
HCl	0,4 g
CaCl ₂	2,4 g
MgCl ₂	0,1 g
QSP eau	1000 ml

Solution B :

CO ₃ Na	50 g
Eau Q.SP	1000 ML

La solution de survie a la composition suivante :

Solution A	50 ml
Solution B	10 ml
Glucose	1 g
Eau distillée	940 ml

a.4) Dilutions du Lyophilisat, de l'acétylcholine et du Chlorure de Baryum

La solution mère du Lyophilisat est dosée à 500 mg/ml. Nous avons effectué une gamme de dilutions de raison 2, allant de 500 mg/ml à 15,625 mg/ml.

Les concentrations correspondantes dans la cuve allaient de 5 mg/ml à 0,15625 mg/ml.

Nous avons également effectué une gamme de dilutions du chlorure de baryum et de l'acétylcholine allant de 10^{-1} à 10^{-7} (concentrations finales dans la cuve).

b. Méthode :

. Préparation de la cuve :

On branche et on règle le thermostat à 37°C. La cuve est remplie du liquide de Tyrode. Ensuite on règle le bulleur d'oxygène de manière à ce qu'il débite une bulle par seconde.

. Préparation du duodénum :

Le rat est assommé et saigné. Puis on fait une laparotomie médiane, pince à la main gauche, tenant la paroi abdominale, ciseau à la main droite pour l'incision.

On repère l'estomac et on délimite une portion de 10 cm du duodénum, à partir de l'estomac. On le coupe sur cette longueur et on le prélève rapidement. Ce fragment du duodénum est plongé dans un récipient contenant la solution de survie préalablement portée à 37°C dans le bain-marie.

On coupe le duodénum sur une longueur de 2 cm, on le dégage du mésentère. La portion restante est replacée dans la solution de survie pour recommencer la manipulation si l'organe en cours d'expérimentation meurt.

On manipule en évitant de toucher à la partie du duodénum devant être montée dans la cuve. Celui-ci devra toujours être tenu par les pinces à la même extrémité non utilisée véritablement lors de l'expérience afin de ne pas lésier les fibres musculaires.

. Montage de l'organe :

Pour monter l'organe sans altérer ses propriétés, il a été nécessaire de ne pas l'étirer, de ne pas le traumatiser. Nous avons opéré assez rapidement pour éviter un séjour prolongé hors du liquide de survie, et ceci, afin d'empêcher la mort du duodénum prélevé.

A l'aide d'un fil très court, on fait une boucle à l'extrémité du morceau d'organe, en perforant la paroi intestinale, afin de fixer ce fragment au crochet plongeant dans la cuve.

A l'autre extrémité du fragment du duodénum, on fait une ligature au moyen d'un long fil dont on enroule la partie libre au stylet en relation avec le cylindre enregistreur.

L'organe ainsi monté est plongé de façon à ce qu'il immerge dans la cuve, préalablement remplie de 20 ml de liquide de Tyrode, suivant l'axe de cette dernière.

La tension qu'exerce le fil sur l'organe est réglée au moyen d'une petite masse à modeler disposée sur le stylet. Cette tension ne doit être ni trop forte, (ceci afin de conserver la liberté de contraction) ni trop faible, (car dans ce cas les contractions du duodénum ne provoqueront pas le déplacement du stylet).

Le fil reliant le duodénum au stylet ne doit pas être en contact avec la paroi de la cuve, car ceci gênerait la transmission des contractions au stylet.

Le cylindre est rapproché du stylet de manière à former un angle droit.

Précautions :

- Vérifier la constance de la température (37°C)
- Eviter de fumer, car la présence de la nicotine sur les doigts pourrait contaminer la seringue à injecter le produit et induire ainsi un effet nicotinique.

c.) Conduite des essais :

On laisse le duodénum se stabiliser pendant environ 3 minutes. Les contractions naturelles de ce dernier commencent 10, 15 ou 30 minutes après le montage, en fonction de la rapidité de la manipulation et des précautions décrites plus haut.

Pendant ce temps, on note sur le cylindre, la nature de l'animal, son poids, le volume de la cuve et la température du bain-marie.

On fixe le regard sur le stylet et dès que les premières contractions commencent, on met le cylindre en marche, puis on le met en contact avec le stylet.

d). Manipulations :

1. Mise en évidence de l'activité spasmodique de la solution du lyophilisat à l'égard de l'acétylcholine (26)

. Mise en condition du duodénum par l'acétylcholine :

Nous avons commencé par provoquer plusieurs contractions du duodénum avec l'acétylcholine. Ces contractions constituent des témoins pour les calculs ultérieurs.

La solution d'acétylcholine injectée a un volume de 0,2 ml et a une concentration de 10^{-5} g/l. Sa concentration finale dans la cuve c'est-à-dire la dose effective qui produit les contractions est de 10^{-7} g/l.

On note l'amplitude de la contraction à cette dose. La contraction terminée, on éloigne le cylindre, on rince immédiatement après, à 3 reprises successives, le fragment de duodénum à l'aide du Tyrode par vidange-remplissage.

On attend le retour d'une contraction normale, puis on recommence tout ce processus plusieurs fois de suite de façon à avoir trois contractions successives de même amplitude : les amplitudes de ces dernières serviront de référence : tableau n°39, planches n°13 et n°15b.

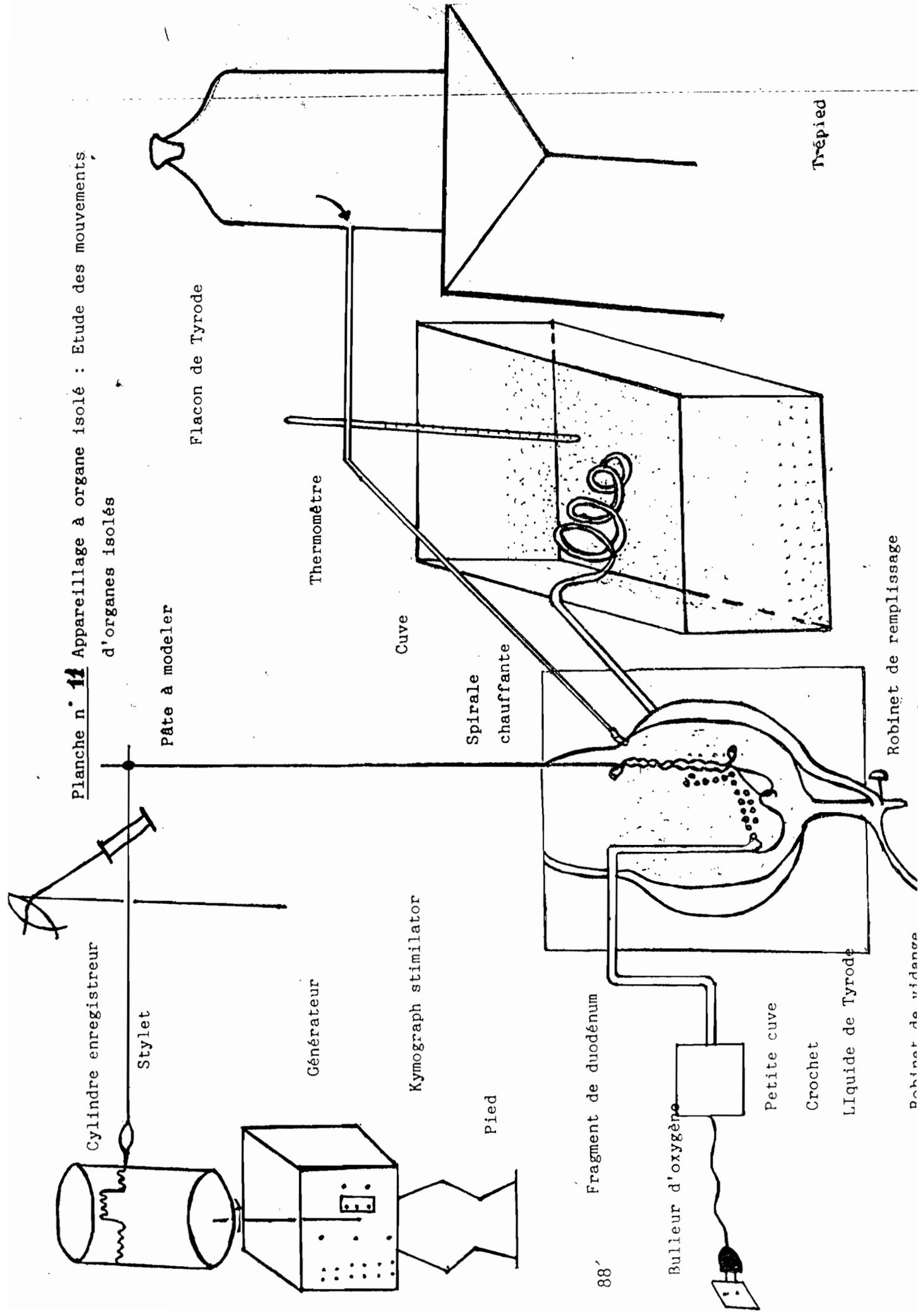
* Action de la solution de Lyophilisat du jus de feuilles de Bryophyllum

On injecte 0,2 ml d'acétylcholine et immédiatement après 0,2 ml d'une solution du lyophilisat de manière à obtenir une concentration finale dans la cuve égale à 0,15625 mg/ml.

Sans laver le duodénum, on administre à nouveau l'acétylcholine, comme précédemment, et on note l'inhibition partielle ou totale de la contraction acétylcholinique.

Au préalable, nous avons établi avec l'acétylcholine une courbe action-dose de son action contracturante. Les concentrations variant de 10^{-1} à 10^{-7} g/l. La courbe que nous avons obtenue à partir du tableau n°41 figure à la planche n°15a.

Planche n° 11 Appareillage à organe isolé : Etude des mouvements d'organes isolés



Cylindre enregistreur

Stylet

Générateur

Kymograph stimulator

Pied

Fragment de duodénum

Bulleur d'oxygène

Petite cuve

Crochet

Liquide de Tyrode

Pâte à modeler

Flacon de Tyrode

Thermomètre

Cuve

Spirale chauffante

Trépied

Robinet de remplissage

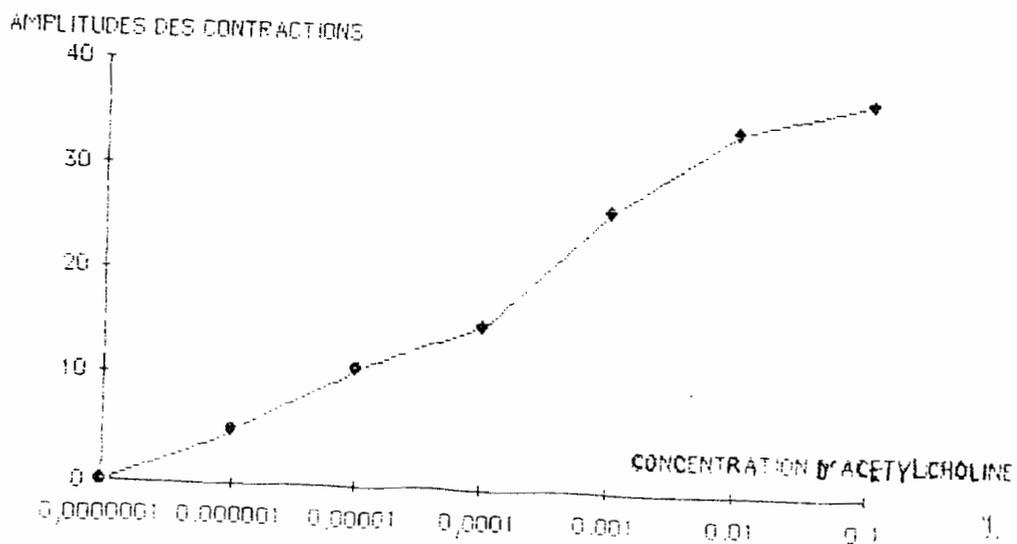
Robinet de vidange

Tableau n°39 : Amplitudes des contractions du duodénum de rat provoquées par l'acétylcholine.

CONCENTRATION D'ACÉTYLCHOLINE g/l	AMPLITUDES DES CONTRACTIONS en mm						MOYENNES	
	Séries						en mm	en %
	1	2	3	4	5	6		
-7 10	-	-	-	-	-	-	-	-
-6 10	3	3	6	5	6	6	4,9	13,2
-5 10	9	10	9	8	9	10	10,7	29
-4 10	16	15	14	16	14	15	15	41
-3 10	27	25	24	26	27	27	26	71
-2 10	34	33	33	34	34	34	34	94,5
-1 10	37	37	36,8	38	37	37	37	100

Le signe - signifie : pas de réaction

Planche n°12 : Action contracturante de l'acétylcholine sur le duodénum isolé du rat.



2. Mise en évidence de l'activité spasmodique de la solution du lyophilisat à l'égard du chlorure de baryum sur le duodénum isolé de rat :

- . Mise en condition du duodénum par le chlorure de baryum : Elle s'est déroulée dans les mêmes conditions que celle effectuée avec l'acétylcholine ; les concentrations et les volumes sont également les mêmes. Les amplitudes successives de même valeur servent de référence : tableau n°38, planche n°14.
- . Action de la solution du lyophilisat du jus de Bryophyllum sur le chlorure de baryum : On injecte 0,2 ml de $BaCl_2$ et immédiatement après 0,2 ml d'une solution du lyophilisat, de manière à obtenir une concentration finale dans la cuve égale à 0,15625 mg/ml.

Sans laver le duodénum, on administre à nouveau le chlorure de baryum comme précédemment, et on note l'inhibition partielle ou totale de la contraction provoquée par le chlorure de baryum.

Au préalable, nous avons établi avec le chlorure de baryum, une action-dose de son action contracturante. Les concentrations variant de 10^{-1} à 10^{-7} . La courbe que nous avons obtenue à partir du tableau n°40 figure à la planche 14c.

Tableau n° 13 - Amplitudes des contractions du duodénum de rat provoquées par le chlorure de baryum.

Concentrations du BaCl ₂	Amplitudes des contractions en mm						Moyennes	
	Séries						en mm	en %
	1	2	3	4	5	6		
-7 10	-	-	-	-	-	-	-	-
-6 10	4	3	7	6	5	5	5	8,45
-5 10	8	9	6	11	9	11	9	15,5
-4 10	15	17	16	19	18	17	17	29
-3 10	26	27	24	24	21	22	24	41
-2 10	33	34	33	32	36	30	33	94
-1 10	35	35,1	35	35	35	35	35	100

Le signe - signifie : pas de réaction

Planche n° 13 : Action contracturante du chlorure de baryum sur le duodénum isolé du rat.

Calcul du pourcentage d'inhibition

Il se fait par la formule :

$$\frac{H - h}{H} \times 100$$

H = Amplitude des contractions dues au spasmogène (mm)
 h = Amplitude des contractions après traitement (mm)

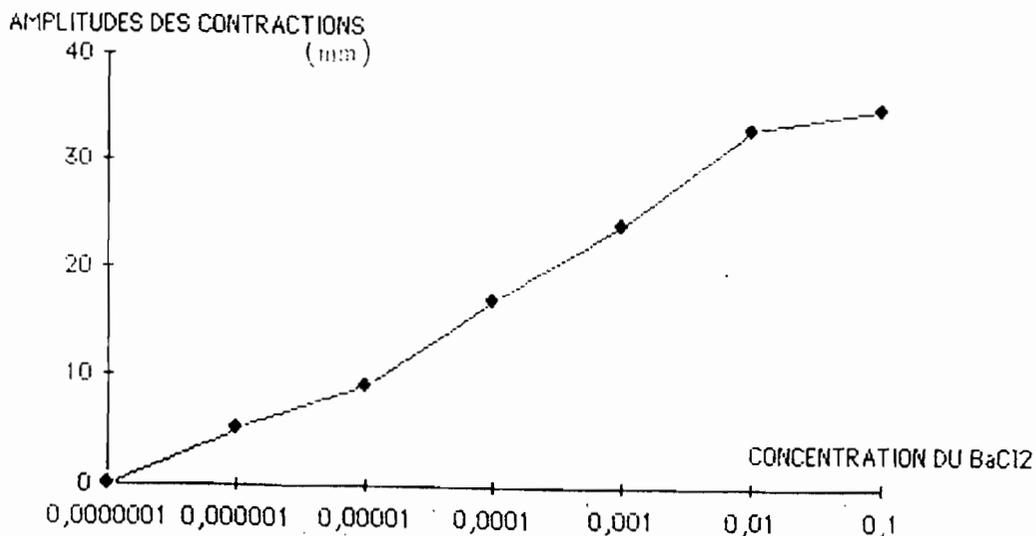


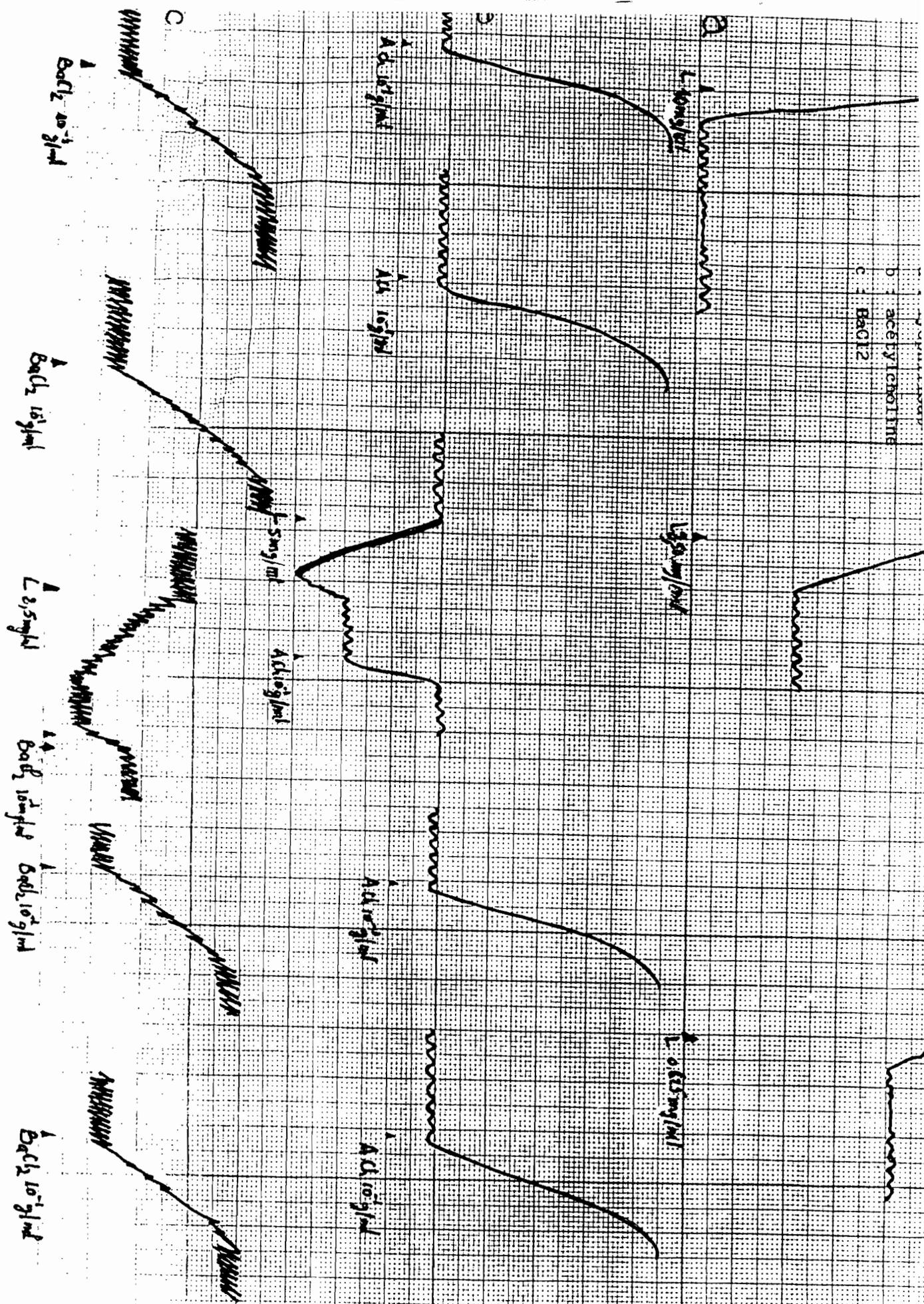
Tableau n°41 : Inhibition des contractions du duodénum ($BaCl_2$) par le lyophilisat du jus de feuilles de Bryophyllum

Concentrations du lyophilisat mg/ml	Concentrations $BaCl_2$ g/ml	Moyennes des Amplitudes des contractions		Amplitude après traitement par le Lyophilisat		% D'inhibition
		en mm	en %	en mm	en %	
0,156	10^{-7}		-	-	-	-
0,3125	10^{-6}	5	8,45	4	8,3	20
0,625	10^{-5}	9	15,5	7	25	22
1,25	10^{-4}	17	29	11	41	35
2,5	10^{-3}	24	41	14	66	41
5	10^{-2}	33	94	13	83	60
10	10^{-1}	35	100	12	100	65

Tableau n°42 : Inhibition des contractions duodénales (rat) provoquées par l'acétylcholine par le lyophilisat du jus de Bryophyllum.

Concentrations du lyophilisat mg/ml	Concentrations $BaCl_2$ g/ml	Moyennes des Amplitudes des contractions		Amplitude après traitement par le Lyophilisat		% D'inhibition
		en mm	en %	en mm	en %	
0,156	10^{-7}		-	-	-	-
0,3125	10^{-6}	4,9	13,2	37	14	24,4
0,625	10^{-5}	10,7	29	8	28,5	25,2
1,25	10^{-4}	15	41	9	42,5	40
2,5	10^{-3}	26	71	13	57,1	50
5	10^{-2}	34	94,5	11	64,4	58,8
10	10^{-1}	37	100	14	100	62,7

Planche n°14 : Inhibition du chlorure de baryum et de l'acétylcholine sur le duodénum de rat par le lyophilisat.



. a : lyophilisat, b : Acétylcholine, c : BaCl₂

Interprétations :

Action de l'acétylcholine seule sur le duodénum isolé de rat :

L'acétylcholine contracte le duodénum isolé de rat aux doses supérieures à 10⁻⁷ g/l. L'amplitude de contraction maximale est de 37mm pour une concentration de 10⁻⁷ g/l d'acétylcholine. Cette action est dose-dépendante.

Action du lyophilisat par rapport à l'acétylcholine :

La concentration du lyophilisat n'ayant pas d'effets sur 10⁻⁷ g/l d'acétylcholine est de 0,156 mg/ml.

La concentration de lyophilisat inhibant 10⁻¹ g/l d'acétylcholine est de 10 mg/ml. Cette action est dose-dépendante.

La concentration 1,25 < X < 2,25 mg/ml inhibe de moitié la plus forte concentration d'acétylcholine qui est de 10⁻¹ g/l.

Après administration du lyophilisat, la plus forte inhibition 62,7% est obtenue avec 10 mg/ml de lyophilisat. Ce qui, pour un produit naturel, est une concentration intéressante.

Action du BaCl₂ seul sur le duodénum isolé de rat :

Le chlorure de baryum contracte le duodénum isolé de rat aux doses supérieures à 10⁻⁷ g/l. L'amplitude de contraction maximale est de 37mm, pour une concentration de 10⁻¹ g/l de BaCl₂. Cette action est dose-dépendante.

Action du lyophilisat par rapport au chlorure de baryum :

La concentration du lyophilisat n'ayant pas d'effets sur 10⁻⁷ g/l de BaCl₂ est de 0,156 mg/ml. Par contre 10 mg/ml de lyophilisat inhibe 10⁻¹ g/l de BaCl₂. Cette action est dose-dépendante.

La concentration 1,25 < Y < 2,5 mg/ml inhibe de moitié la plus forte concentration de BaCl₂.

Après administration du lyophilisat, la plus forte inhibition 65% est obtenue avec 10 mg/ml de lyophilisat. Ce qui, pour un produit naturel est une concentration intéressante.

Chaque fois le lyophilisat a été testé après une épreuve de reproductibilité de la sensibilité du duodénum au BaCl₂ et à l'acétylcholine.

Nous nous rendons compte qu'aux doses administrées, le lyophilisat du jus de feuilles de *Bryophyllum pinnatum* a une activité spasmolytique intéressante sur le duodénum isolé de rat.

CONCLUSION :

Ces effets du lyophilisat (10 mg/ml) sur le duodénum isolé du rat par rapport à 10^{-1} g/l d'acétylcholine et à 10^{-1} g/l chlorure de baryum laissent supposer que le lyophilisat est un spasmolytique de type neurotrope, car il inhibe les effets de l'acétylcholine sur le duodénum et de type musculotrope, car il inhibe les contractions de chlorure de baryum sur le même organe.

Afin de préciser cet effet spasmolytique, nous avons étudié l'effet d'une solution de lyophilisat sur un rat anesthésié et préalablement traité par l'histamine.

III. RECHERCHE D'UNE ACTIVITE ANTIBRONCHOSPASMIQUE SUR LE RAT ANESTHÉSIÉ (50)

La solution aqueuse du lyophilisat a été étudiée par rapport à une solution d'histamine, selon la méthode de HALPERN (50).

1. Matériel et Méthode :

Nous avons utilisé la technique de KOBSETT et ROSSCHER, modifiée par HALPERN (50).

a.) Réactif animal :

Rat OFA de 250 g

b) Matériel (Appareillage) planche n°15

- canule à 3 branches reliant une pompe à respiration, une soupape à mercure et un flacon barbotteur.
- manomètre reliant le flacon barbotteur et la soupape à mercure.

c.) Protocole expérimental :

L'animal est anesthésié à l'uréthane (1g/kg), par voie intrapéritonéale.

La canule est introduite dans la trachée. A chaque mouvement d'insufflation, l'air pénètre dans les poumons, dilate les bronches à un maximum déterminé par la hauteur de l'eau dans le flacon barbotteur ; l'excès d'air envoyé par la pompe actionne le manomètre. Simultanément, sous la pression de l'air, se produit un dénivellement de la colonne de mercure qui vient obturer la branche inférieure du tube, tant que la pompe est à sa période d'insufflation.

A la période d'expiration, le cylindre de la pompe vient en communication avec l'air atmosphérique. Les poumons se vident de leur air par leur élasticité propre. Le mercure revient à l'état d'équilibre et le manomètre ainsi que le flacon se vident de l'air en excès. Le même mécanisme se reproduit à chaque mouvement respiratoire. Le débit de la pompe est constant, ce qui se traduit par la même hauteur de course du flotteur du manomètre.

Quand on produit un bronchospasme, l'air ne pouvant plus pénétrer dans les poumons, s'engage en grande partie dans le système barbotteur du manomètre. Cela se traduit par une augmentation de la hauteur de course du flotteur du manomètre à eau.

Après enregistrement du tonus des bronches chez le cobaye, l'animal reçoit successivement par voie intraveineuse :

- Au temps 0 : 15 µg/kg de poids corporel d'une solution d'histamine (40).

Il se produit un bronchospasme violent.

- Au temps 1' : 1 mn après, 5 mg/ml/kg de poids corporel de solution de lyophilisat correspondant à un volume de 0,1 ml/100 g, par la veine jugulaire : il y a bronchospasmolyse.
- Au temps 5' : 5 mn après l'animal reçoit 5 mg/ml/kg de poids corporel de solution de lyophilisat.

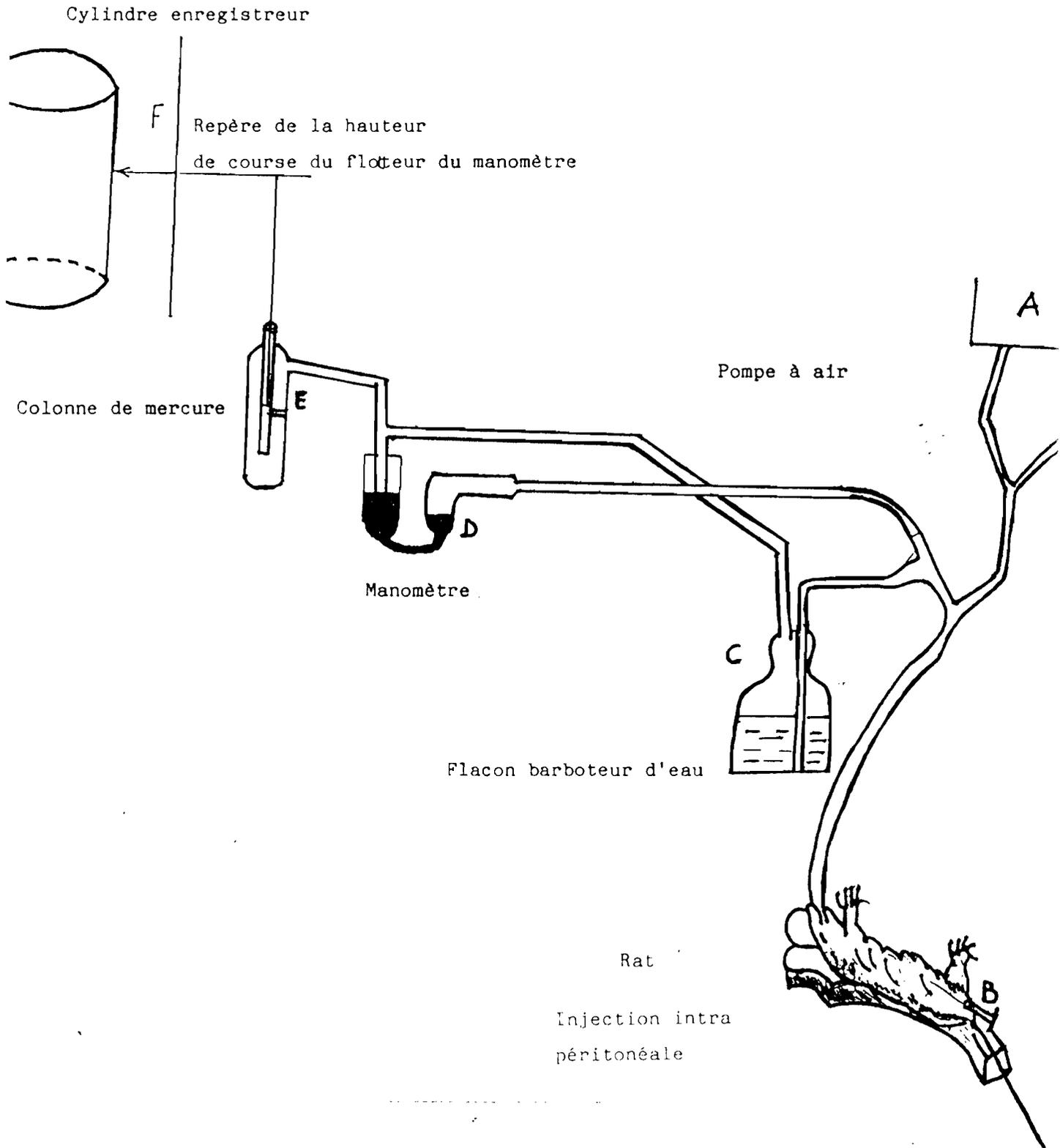
- Au temps 6' : 6 mn après, 25 mg/kg de poids corporel d'une solution d'histamine. Le bronchospasme diminue sensiblement.

3 CONCLUSION :

La solution de lyophilisat, administrée à la dose de 5 mg/kg par voie intraveineuse, diminue de façon importante (Planche 17) le spasme provoqué par une injection de 25 µg/kg d'histamine.

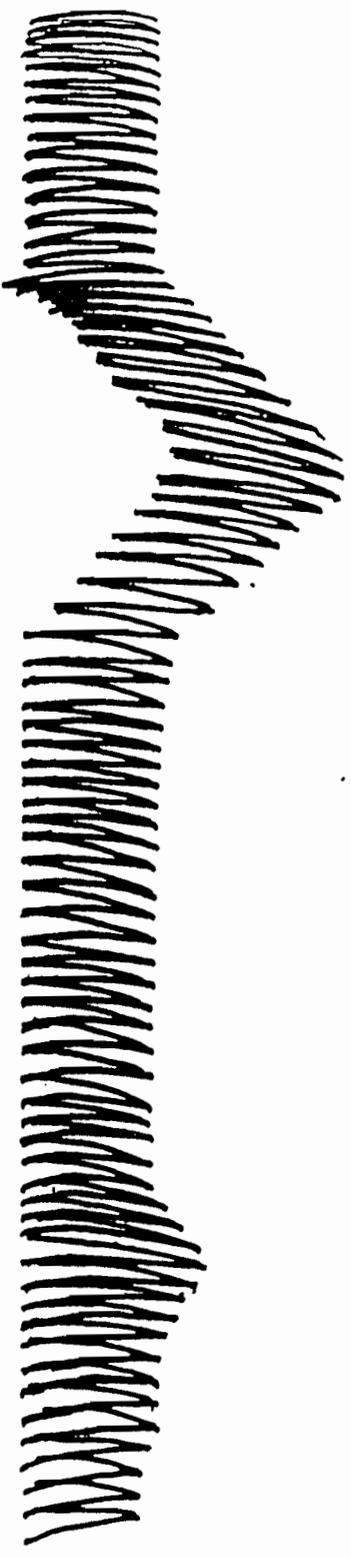
La solution de lyophilisat possède des propriétés anti bronchospasmiques. Ces résultats pourraient justifier l'emploi du jus de feuilles de *Bryophyllum pinnatum* comme antitussif.

Planche n° 15 : Appareillage



2. Résultat (planche n° 16)

Planche n° 17 : Mise en évidence de l'activité antibronchospasmodique chez le rat.



▲	Histamine	▲	Lyophilisat	▲	▲	▲	Lyophilisat	▲	▲	Histamine
	25 µg/kg de poids corporel		5 mg/kg de poids corporel				5 mg/kg de poids corporel			25 µg/kg de poids corporel
	Temps 0		Temps 1'				Temps 5'			Temps 6'

D - ETUDE DE LA TOXICITE DU JUS
DE FEUILLES DE BRYOPHYLLUM
PINNATUM (LAM) OKEN

I. TOXICITE AIGUE CHEZ LA SOURIS DE SOUCHE SWIN PAR VOIE INTRAPERITONEALE

Nous ne l'avons pas reprise, car pendant nos essais, nous avons reçu une publication de S. Pal (71) qui l'avait étudiée. La DL50 chez la souris de cette souche est de 3111,76 mg/kg de poids corporel par voie intrapéritonéale.

II. TOXICITE AIGUE CHEZ LE RAT DE SOUCHE OFA PAR VOIE ORALE

Le jus de feuilles de Bryophyllum s'utilise par voie orale et par voie cutanée, selon les usages empiriques (3) (4) (5) (6) (15). Aussi sa toxicité aiguë est faible.

1. Détermination:

La toxicité aiguë est une mesure quantitative (calcul de la DL50) et qualitative permettant d'apprécier la dose qui, en une administration unique provoque des altérations organiques et/ou fonctionnelles.

a. La DL50

a.1. Interêt : La DL50 est la dose entraînant la mort de 50% des animaux en expérimentation après administration unique. Elle permet d'apprécier la toxicité aiguë d'un produit. Plusieurs auteurs la définissent comme étant une étude quantitative des phénomènes toxiques qu'on peut rencontrer après administration unique (28).

Elle est également susceptible de fournir des indications sur les effets probables du surdosage d'une substance chez l'homme.

Les conditions de sa réalisation ont été déterminées pour les pays de la Communauté Européenne. Ce sont :

- Utiliser au moins deux sortes de mammifères de souches différentes ;
 - Préciser l'âge, le sexe, le poids et l'origine des souches utilisées ;
 - Deux sexes (mâle et femelle) ;
 - Deux voies d'administration différentes :
- . celles utilisées chez l'homme
 - . et celles susceptibles d'assurer la résorption du produit.

a.2. Matériel et Méthode

Nous avons utilisé des rats de souche OFA. Les animaux ont été regroupés par quatre dans des cages 7 jours avant le début des expériences. Nous avons pris le soin de séparer les mâles des femelles afin d'éviter les accouplements qui gêneraient l'expérience.

Les animaux âgés de 35 jours à 56 jours, ont reçu différentes doses de solution de lyophilisat du produit testé, par voie orale. Leur poids variait de 98 à 120 g pour les rats mâles. Ils ont été soumis à un jeûne non hydrique de 18 h.

L'observation s'est faite aux temps :

t = 30 minutes

t = 1 heure

t = 2 heures

t = 1 jour après l'administration.

Nous avons identifié les rats par marquage et numérotation comme l'indique le tableau n°37. Un lot témoin lot1 recevant de l'eau distillée, et 4 lots (2, 3, 4 et 5) recevant le produit, ont été testés.

Chaque lot contenait 4 rats mâles et 4 rats femelles.

Tableau n°37 :

Répartition des lots	Numérotation des animaux		Marquage
	Rats mâles	Rats femelles	
Lot 1 Témoin	1	A	Queue Oreille Museau Dos
	2	B	
	3	C	
	4	D	
Lot 2	5	E	Queue Oreille Museau Dos
	6	F	
	7	G	
	8	H	
Lot 3	9	I	Queue Oreille Museau Dos
	10	J	
	11	K	
	12	L	
Lot 4	13	M	Queue Oreille Museau Dos
	14	N	
	15	O	
	16	P	
Lot 5	17	Q	Queue Oreille Museau Dos
	18	R	
	19	S	
	20	T	

a.3. Détermination quantitative de la DL50

Calcul de la DL50 :

Nous l'avons calculée par la méthode de Karber et Behrens à partir du tableau n°38.

Tableau n°38 :

	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 5	Lot 6
Dose mg/kg de poids corporel	0	1200	3200	5200	7200	9200
Nombre d'animaux en expérimentation	8	8	8	8	8	
Nombre de morts	0	0	1	2	4	8
X = Différence entre 2 doses	-	-	2000	2000	2000	2000
Y = Moyenne de morts entre deux doses successives	-	-	0,5	1,5	3	6
X x Y	-	-	1000	3000	6000	12000

Si n'est la moyenne du nombre d'animaux par dose,

$$n' = \frac{40}{5} = 8 \text{ et } \Sigma X \times Y = 22.000$$

$$DL50 = DL100 - \frac{\Sigma X \times Y}{n'}$$

Application numérique :

$$DL50 = 9.200 - \frac{22.000}{8}$$

$$= 9.200 - 2.750 = 6.450 \text{ mg/kg de poids corporel}$$

soit 6,450g/Kg de poids corporel.

a.4. Détermination qualitative de la DL50 chez le rat par administration orale du jus lyophilisé de Bryophyllum

Signes cliniques et mortalité

Le premier animal est mort trois minutes après traitement par la dose de 9,2 g/kg de poids corporel. Le maximum de rats décédés a été obtenu 24 heures après l'administration du produit à cette dose.

Les signes cliniques observés pour ceux que nous avons vu mourir étaient :

- hyperexcitabilité
- hypertonie
- accélération du rythme cardiaque
- dépression et enfin mort.

Chez les survivants, aucun signe pathologique macroscopique n'a été observé. Des rats morts ont été autopsiés. Le foie, les reins, l'estomac et les poumons ont été prélevés et conservés dans du chloroforme à 40 %.

Une étude de la toxicité subaiguë nous aurait mené à des examens cytologiques, histologiques et biologiques, de ces prélèvements. Malheureusement, le professeur chargé du cours d'anatomie-pathologie à la faculté de Médecine d'Abidjan était en mission hors de la COTE D'IVOIRE.

III. TOLÉRANCE DE LA POMMADE AU JUS LYOPHILISÉ DE BRYOPHYLLUM VIS À VIS DES LAPINS.

1. Matériel :

Nous avons testé deux lots de 2 lapins chacun : un lot témoin A, constitué d'un lapin mâle et d'un lapin femelle. Un lot à tester B, constitué d'un lapin mâle et d'un lapin femelle.

2. Protocole :

Ces derniers sont épilés au niveau de la région lombaire et scarifiés de certaines plages épidermiques. Le lot témoin A reçoit la pommade aux excipients, le lot à traiter B, reçoit la pommade au jus lyophilisé.

3. Résultats :

Au bout de 72 heures et après trois applications quotidiennes, les plages épilées et scarifiées des lots A et B ont le même aspect :

pas d'érythème
pas d'inflammation
pas de nécrose épidermique

Cette constatation nous suggère que la pommade au lyophilisat est bien tolérée par les animaux en expérimentation.

CONCLUSION :

L'extrait lyophilisé de Bryophyllum pinnatum a une DL50 élevée par voie orale (6,450 g/kg de poids corporel chez le rat de souche OFA). La toxicité par voie intrapéritonéale chez la souris de souche Swin l'est aussi : 3,111 g/kg de poids corporel.

Enfin, les lapins en expérimentation semblent bien tolérer la pommade au Bryophyllum.

Ces données nous suggèrent que cette pommade peut également être tolérée chez l'homme, aux doses thérapeutiques, et constituer de ce fait une source de médicaments, sous réserve de la détermination de la toxicité subaiguë.

Nous avons également étudié les effets spasmolytiques chez le rat et le cobaye, puis les effets cicatrisants chez le rat.

"LES CHOSES, EN MEDECINE, NE SE
MESURENT ET CONSIDERENT QUE PAR
LEURS SENS ET EFFETS".

(Ambroise PARE)

Cité par Jean Valnet dans *Aromathérapie, Traitement des maladies par les essences de plantes* - 10^{ème} Edition Maloine.

E - TOLERANCE ET EFFICACITE D'UNE
POMMADE DERMIQUE A L'EXTRAIT DE
BRYOPHYLLUM
PINNATUM (LAM) OKEN
(CRASSULACEAE)

I. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Matériel

a. Cadre de l'étude

Notre étude a été menée dans deux instituts du District de Bamako :

- Institut National de Recherche en Santé Publique (Division Médecine Traditionnelle, Laboratoire de Microbiologie et de Mycologie).
- Institut Marchoux (Service de Dermato-léprologie).

Le recrutement des patients s'est déroulé à l'INRSP d'Août à Janvier 1991. Par contre à l'Institut Marchoux cette période a été de Janvier 1991 à Avril 1991.

Aussi, les 2 essais consécutifs avaient pour objectif de vérifier la tolérance et l'efficacité de la pommade pour son action antiseptique et cicatrisante.

b. Echantillon

L'étude a porté sur 90 patients, dont 59 à la Division Médecine Traditionnelle et 31 au service de Dermato-léprologie. Elle s'est faite sans témoins (expérimentation phase II).

Le recrutement des patients a été effectué par choix raisonné. Seuls étaient retenus, les patients dont le prélèvement était positif aux germes étudiés, n'ayant reçu aucun traitement antérieur. Ceux des patients irréguliers ont été exclus de nos travaux.

c. Formulation de la pommade à l'extrait de Bryophyllum : "DEDEBOM"

Définition d'une pommade.

Sous le terme pommade, on désigne des préparations de consistance molle, destinées à être appliquées sur la peau ou sur les muqueuses.

Elles sont constituées d'un excipient simple ou complexe au sein duquel se trouve(nt) dispersé(s), un ou plusieurs principe(s) actifs (30).

Caractéristiques physico-chimiques de l'extrait de Bryophyllum

- L'extrait sec de feuilles de Bryophyllum est acide ($2,6 < \text{pH} < 3,1$)
- Il est soluble dans les huiles et les graisses, insoluble dans l'acétone, le chloroforme, le tétrahydrofur, le méthanol, le méthylecétyle, le propylène glycol et la glycérine.
- L'extrait est une poudre brunâtre, de saveur acide et salée.
- Il se conserve bien qu'à l'abri de l'humidité.

En fonction de ces caractéristiques, nous avons choisi des excipients compatibles avec l'extrait sec de Bryophyllum.

Caractéristiques physicochimiques des excipients

La Lanoline : C'est une graisse d'origine animale, très hygroscopique (elle absorbe plus du double de son poids en eau). Elle est de couleur d'une pâle et fond vers 41°C. Son pouvoir pénétrant est important (30).

La Vaseline : C'est une graisse dérivée du pétrole, de couleur blanche, fondant vers 46°. Elle absorbe peu d'eau et pénètre peu la peau (30).

Le Stéarate de zinc : C'est une poudre amorphe, d'un blanc sale soluble dans la lanoline, et la vaseline. Il constitue un isolant protecteur de l'épiderme (30).

Formulation proprement dite

La concentration minimale inhibitrice la plus élevée vis à vis des germes étudiés est de 40 mg/ml. Pour un pot de 50 ml de pommade, nous aurions dû utiliser 2000 mg d'extrait sec, soit 2 g d'extrait.

Afin de pallier aux éventuelles résistances, parfois imputables à la concentration du principe actif, nous avons utilisé 2,35 g d'extrait sec pour 50 ml de pommade, soit 4,70 g pour 100 ml. La formule de la pommade est :

Par pot de 50 ml : Par pot de 100 ml

Extrait sec de Bryophyllum pinnatum	2,35 g	:	4,70 g
Lanoline	15 g	:	30 g
Vaseline	4 g	:	8 g
Stéarate de zinc	1 g	:	2 g
Paraoxybenzoate de méthyle sodique	0,50%	:	1 %

V.3.3.3 Réalisation de la préparation

Nous avons pesé

- 160 g de lanoline
- 50 g de vaseline
- 11 g de stéarate de zinc
- 25 g d'extrait sec
- 1 g de paraoxybenzoate de méthyle sodique

pour 10 pots de 50 ml chacun.

Pour chaque pesée, nous avons majoré les quantités nécessaires de produit afin de pallier à la quantité de pommade non récupérable dans le mortier. En fonction des différents critères de solubilité et de compatibilité des excipients, nous avons procédé comme suit :

Dans un bain-marie chauffé à 50° C, nous avons dissout la lanoline et la vaseline. Puis dans un mortier contenant la moitié de la poudre de l'extrait, nous avons mélangé le stéarate de zinc et le conservateur. Ensuite nous avons versé par petites quantités le mélange lanoline-vaseline en triturant énergiquement, jusqu'à dissolution complète du mélange pulvérulent. Puis nous avons ajouté la lanoline et la vaseline maintenues à 50°C, en triturant jusqu'à l'obtention d'une masse solide de couleur brune.

Contrôles

ACIDITE : L'acidité de la pommade a été vérifiée à l'aide d'un pH mètre. Elle est de 3,5.

Grosueur des particules : A l'oeil nu, nous n'avons pas pu distinguer de particules grossières dans la pommade. Nous n'avons pas pu effectuer tous les contrôles réglementaires par manque d'appareils.

Essais bactériologiques de la pommade

Afin de vérifier l'activité antimicrobienne de la préparation, nous avons réalisé une étude bactériologique identique à celle effectuée au cours de l'essai préliminaire.

2. Méthodes

Le matériel et la méthode ont été décrits au paragraphe consacré à l'activité du jus de Bryophyllum.

Nous avons réalisé des dilutions au 1/2, au 1/4 et au 1/8ème dans la diméthylsulfoxyde, qui elle-même diluée au 1/20ème est inactive sur les souches testées. Les dilutions préparées ont été déposées dans des cupules de 60 ml de diamètre.

Résultats

Les résultats de l'étude de la sensibilité des souches hospitalières et des souches de référence à la préparation sont regroupés dans les tableaux n°43 et 44.

Tableau n°43 : Sensibilité de souches de référence à la pommade à l'extrait sec de Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken Crassulaceae

DILUTION DE LA SOLUTION MÈRE	Diméthyl sulfoxyde (DMSO) Diluée au 1/20	Solution mère pommade	Dilution au 1/2	Dilution au 1/4	Dilut. au 1/8
Souches de collection					
Eschérichia coli ATCC 259030	R	S	S	R	R
Pseudomonas aeruginosa ATCC 12292	R	S	S	S	R
Staphylococcus aureus ATCC 25922	R	S	S	R	R
Streptococ. faecalis ATCC 19433	R	S	S	R	R

S : Sensible (diamètre d'inhibition > 15 mm)

R : Résistant (diamètre d'inhibition < 15 mm)

Tableau 44 : Sensibilité des couches hospitalières à la pommade dermique à l'extrait sec de Bryophyllum pinnatum (Lam) OKEN.

DILUTION MÈRE	DE LA SOLUTION	Diméthylsulfoxyde (DMSO) Diluée au 1/20	Solution mère pommade	Dilution au 1/2	Dilut. au 1/4	Dilut. au 1/8
Staphylococcus aureus	de collection					
Escherichia coli N = 2		R	S	S	R	R
Pseudomonas aeruginosa N = 2		R	S	S	S	R
Staphylococcus aureus N = 2		R	S	S	R	R
Streptococcus faecalis N = 2		R	S	S	R	R

S : Sensible (diamètre d'inhibition >15 mm)

R : Résistant (diamètre d'inhibition < 15 mm)

Commentaires et Discussions

Les Cocc gram + (Streptocoques et Staphylocoques) sont sensibles à l'action de la préparation. La limite d'activité correspond à la dilution 1/2 pour les deux germes.

En ce qui concerne les bacilles gram -, (Pseudomona et Colibacille), ils sont sensibles à l'activité de la pommade. La limite d'activité de la préparation étant la dilution au 1/4 pour le Pseudomona et 1/2 pour le Colibacille. Ces résultats sont valables aussi bien pour les souches de collection que pour les souches hospitalières.

SURVEILLANCE CLINIQUE

Conduite des essais

Les malades retenus après prélèvement de leurs lésions et examen bactériologique des prélèvements de celle-ci étaient suivis tous les jours et au cinquième jour, un second prélèvement de leurs ulcérations était réalisé pour vérifier après analyse, l'action antiseptique de la pommade. Le traitement consistait en un nettoyage à l'eau distillée des lésions et à l'application de la pommade. Le douzième jour du traitement, les observations cliniques permettaient de distinguer les malades en phase de bourgeonnement ou alors en phase d'épithélialisation. Nous arrêtons le traitement au vingt deuxième jour et non plus au vingt cinquième comme en expérimentation animale.

Efficacité de la pommade.

La détermination et la stérilisation du foyer infectieux, le bourgeonnement et l'épithélialisation, le nombre de malade dans chacune de ces phases en fonction du temps ont été les principaux critères d'efficacité de la pommade.

Cinq, onze et vingt deux jours après le début du traitement, nous comptons le nombre de malades dans chaque phase de la cicatrisation. L'évaluation de la stérilisation était objectivée par un examen bactériologique, celle du bourgeonnement par un examen cytologique. L'aggravation ou l'amélioration des lésions était appréciée au cours des surveillances cliniques.

Limites et justifications de la méthodologie

L'absence d'un groupe témoin dans cette étude se justifie dans le fait que notre objectif était la recherche en pathologie infectieuse cutanée, de l'activité d'une pommade dermique à l'extrait de Bryophyllum pinnatum dans le traitement des lésions cutanées par l'un des germes étudiés ou leur association. De ce fait, notre étude se classe parmi les essais cliniques de type II. Par ailleurs il ne nous a pas été possible de rendre compte de tous les échecs, car nos malades étaient suivis en externe.

Personne associé

Les travaux ont débuté en Avril 1989 au Cameroun avec l'aide des "TRADIPRATICIENS" Camerounais, desquels nous avons reçu des informations qui ont orienté notre recherche. Puis les études relative :

- A la pharmacognosie ont été effectuées à la Faculté de Pharmacie d'Abidjan et à la Division Médecine Traditionnelle de l'INRSP de BAMAKO.
- A la Toxicologie, à la Pharmacologie, à la Microbiologie et, à la Galénique ont été réalisées à la Faculté de Pharmacie D'ABIDJAN.
- Enfin, les essais cliniques ont été réalisés à la Division Médecine Traditionnelle de l'INRSP et à l'Institut Marchoux de BAMAKO.

II - ILLUSTRATION DES RESULTATS OBTENUS À LA DIVISION MÉDECINE TRADITIONNELLE DE L'INRSP ET AU SERVICE DE DERMATOLEPROLOGIE DE L'INSTITUT MARCHOUX.

Au service de Dermatolèprologie de l'Institut Marchoux, nous nous sommes fixés comme objectif d'illustrer les résultats que nous avons obtenus à la Division Médecine Traditionnelle. Les lésions les plus illustratives ont été filmées avant, pendant et après le traitement.

Au bout de 22 jours, 29 malades sur 31 reçus au premier jour ont été guéris.

1. Résultats obtenus à la division Médecine traditionnelle (vérification de l'activité antiseptique de la pommade dermique au Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken

Nous avons présenté nos résultats sous forme de tableaux et de graphes.

Tableau n°45 : Répartition des malades en fonction de l'âge et du sexe.

CLASSE D'AGE (ANS)	SEXE		TOTAL
	MASCULIN	FEMININ	
0 - 5	6	6	12
6 - 10	14	13	27
11 - 15	1	4	5
16 - 20	3	2	5
> 20	9	1	10
TOTAL	33	26	59

Commentaires :

Parmi les 59 patients, plus de la moitié avait un âge inférieur ou égal à 10 ans. Nous avons noté une prédominance du sexe masculin par rapport au sexe féminin : 33 contre 26.

Tableau N°46 : Répartition des germes en fonction du sexe (J₂)

GERMES SEXE	STAPHY.	STREPT.	PSEUDOM.	STAPHYL. STREPTO. COLIBAC.	STAPHYL. PSEUDOM.	STAPHY. STREPT.	TOT.
Masculin	7	7	4	3	4	8	33
Féminin	11	7	2	0	1	5	26
TOTAL	18	14	6	3	5	13	59

Commentaires :

Le staphylococcus, le streptococcus et leur association sont les germes les plus couramment rencontrés. Les deux premiers sont plus fréquents dans le sexe féminin. L'association Staphylococcus - Streptococcus se rencontre plus dans le sexe masculin.

Tableau N°47 : Répartition des malades en fonction des deux premières phases de la cicatrisation (Détersion et Bourgeonnement) après 5 jours de traitement (J₅)

GERMES PHASE DE CICATRISATION	Staphy- lococ.	Strep- tococ.	Pseudo- monas	Staphy- lococ. Strep- tococ. Coli- bacil.	Staphy- lococ. Pseudo- monas	Staphy- lococ. Strep- tococ.	TOTAL
Détersion et Stérilisation du foyer infectueux	3	2	2	1	1	2	11
Bourgeonnement	15	12	4	2	4	11	48
TOTAL	18	14	6	3	5	13	59

Commentaires :

Après cinq jours de traitement plus de la moitié des malades se trouvent dans la phase de bourgeonnement.

Tableau n° 48 : Répartition des germes après 12 jours de traitement (J₁₂)

GERMES	Staphylococ.	Streptococ.	Pseudo monas	Staphylococ. Strep-tococ. Colib.	Staphylococ. Pseudo monas	Staphylococ. Strep-tococ.	TOTAL
PHASE DE CICATRISATION							
Détection et stérilisation du foyer infectieux	1	0	0	0	0	0	1
Bourgeonnement	2	2	2	1	3	3	13
Épithélialisation	15	12	4	2	2	10	45
TOTAL	18	14	6	3	5	13	59

Commentaires :

A J₁₂, 41 malades sur 59 sont dans la phase d'épithélialisation. A cette date, les malades porteurs de staphylocoques, streptocoques, Pseudomonas et l'association Streptocoques - staphylocoques sont les plus nombreux dans la phase d'épithélialisation.

Tableau n° 49 : Répartition des germes après 22 jours de traitement (J₂₂)

GERMES	Staphylococ.	Streptococ.	Pseud.	Staph. Strep. Colib.	Staph. Pseud.	Staph. Strep.	TOTAL
PHASE DE LA CICATRISATION							
Détection et stérilisation du foyer infectieux	0	0	0	0	0	0	0
Bourgeonnement	1	2	2	0	1	3	9
Épithélialisation	17	12	4	3	4	10	50
TOTAL	18	14	6	3	5	13	59

Commentaires :

A J₂₂, 50 malades sur 59 sont dans la phase d'épithélialisation. L'association Staphylocoques - Streptocoques, les cas de Streptocoques et Pseudomonas présentent des résistances.

Les planches suivantes montrent les courbes de répartition des malades par germe en fonction de la durée du traitement.

Planche n° 17 : Nombre de malades porteurs de lésions cutanées infectées par le Staphylocoque par rapport à la durée du traitement.

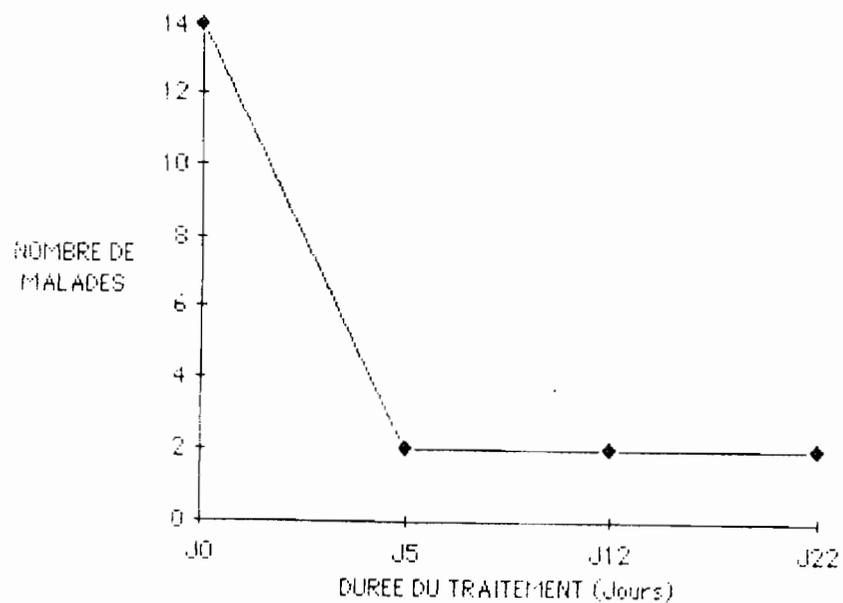
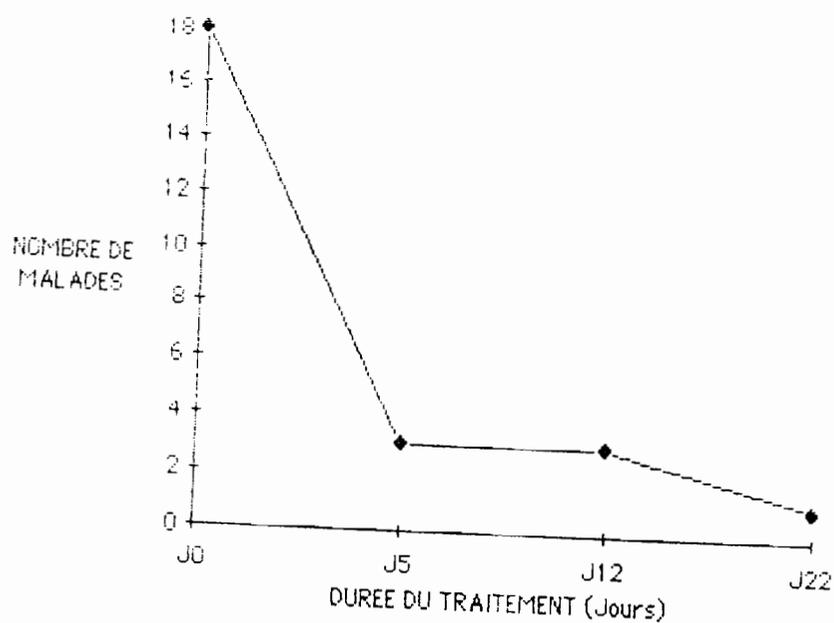
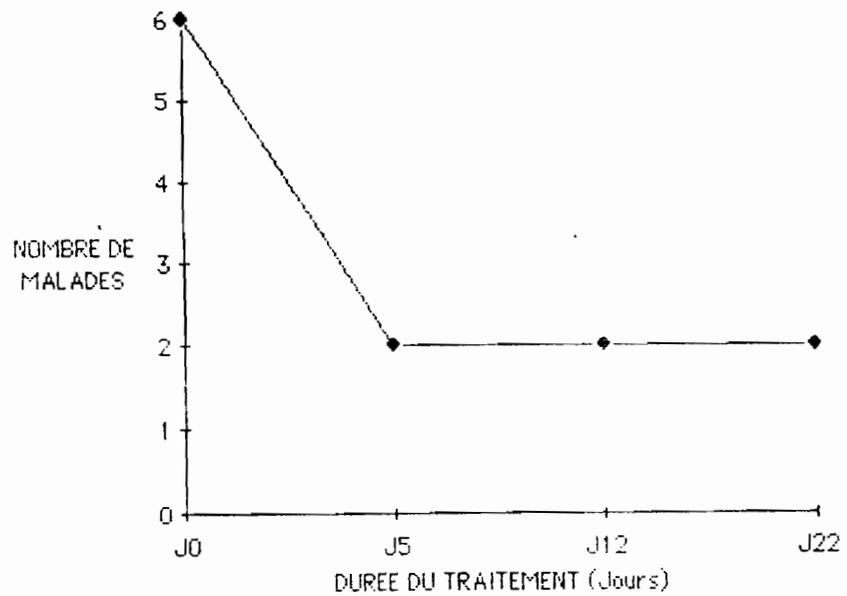


Planche N° 18 : Nombre de malades porteurs de lésions cutanées infectées par le Streptocoque par rapport à la durée du traitement.



Plaque n° 19 : Nombre de malades porteurs de lésions cutanées infectées par le Pseudomonas par rapport à la durée du traitement.



Plaque n° 20 : Nombre de malades porteurs de lésions cutanées infectées par le Staphylocoque, le Streptocoque et le Colibacille en fonction de la durée du traitement.

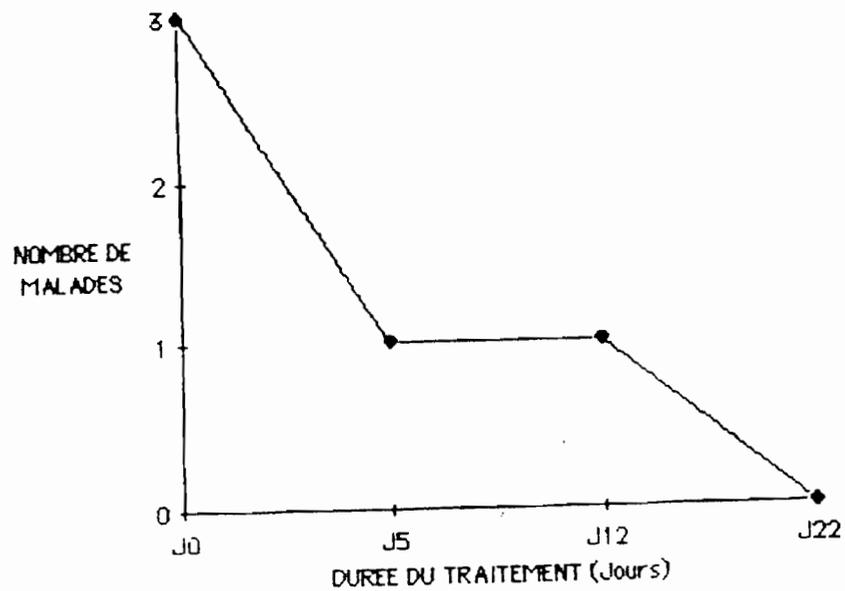


Planche n° 21 : Nombre de porteurs de lésions cutanées infectées par le Staphylocoque et le Pseudomonas en fonction de la durée du traitement.

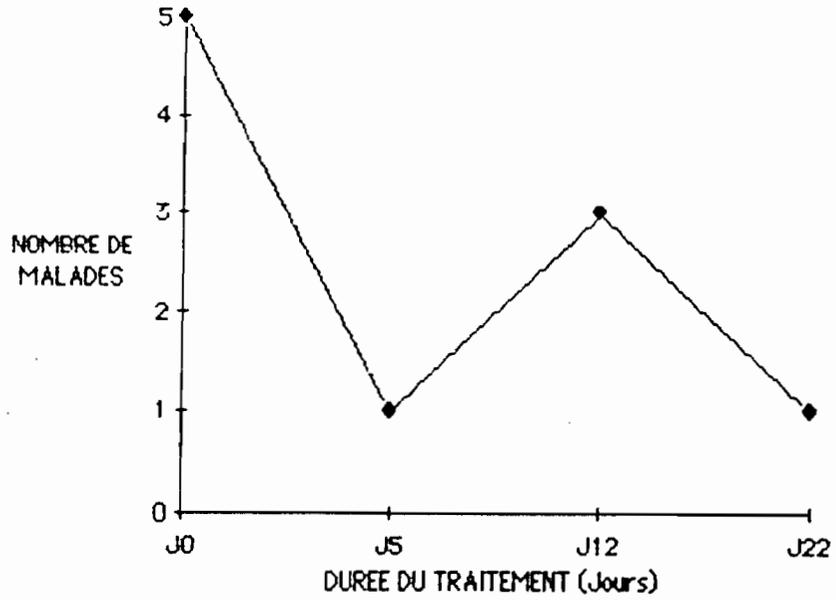
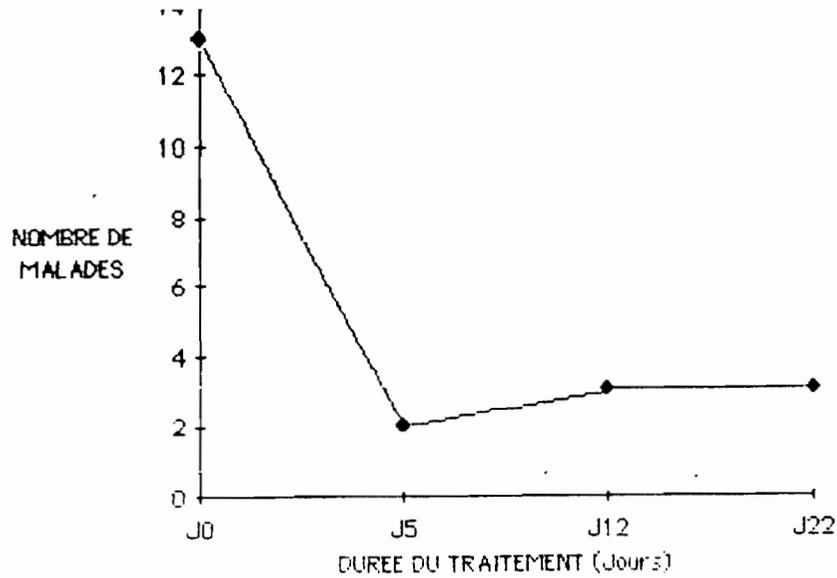
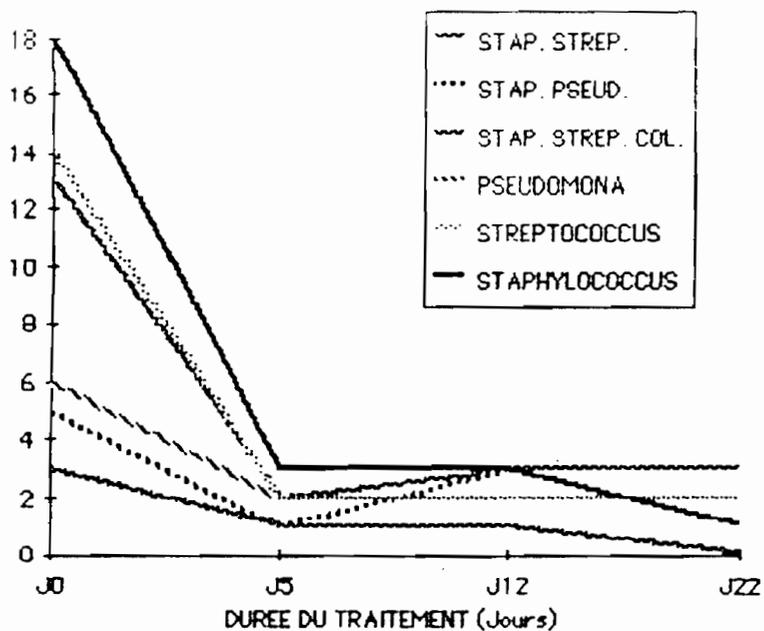


Planche n° 22 : Nombre de malades porteurs de lésions cutanées infectées par le Staphylocoque et le Streptocoque par rapport à la durée du traitement.



Planch. n° 23 : Nombre de malades porteurs de lésions cutanées infectées par rapport à la durée du traitement.

NOMBRE DE MALADES



DISCUSSIONS

Cas de germes isolés

$J_1 - J_2$ correspond à la période de détersion et de stérilisation du foyer infectieux. Au cours de cette période, la population microbienne des germes isolés décroît très sensiblement. Or cette étape de la cicatrisation conditionne les deux autres : le bourgeonnement et l'épithélialisation du fait que, les germes sont à l'origine non seulement des lésions, mais aussi de l'afflux des médiateurs algogènes et inflammatoires, tels que l'histamine, la prostaglandine E, la bradykinine, l'hyaluronidase, la sérotonine au niveau du foyer. La cicatrisation se trouve ainsi retardée. La décroissance microbienne observée au cours de cette phase, explique le bon déroulement des autres étapes de la cicatrisation.

$J_2 - J_3$ est la phase de bourgeonnement. C'est une phase relativement constante.

$J_3 - J_4$ est la phase d'épithélialisation. A la fin de cette phase le seul porteur de Staphylocoque est encore malade, deux porteurs de streptocoque et de Pseudomonas également.

On constate qu'au delà de la phase de détersion et de stérilisation du foyer infectieux, les individus ne se réinfectent plus. C'est pourquoi la cicatrisation se déroule bien. Une bonne cicatrisation dépendrait donc d'une stérilisation totale du foyer infectieux.

D'autre part, les individus porteurs d'un seul de ces germes (Streptocoque, Staphylocoque, Pseudomonas) cicatrisent sans formation de chéloïdes. Or la phase de bourgeonnement des courbes correspondant à ces malades est stationnaire. Le bourgeonnement se déroule alors sans troubles inflammatoires qui conduisent à la formation de chéloïdes. Ceci confirme les résultats obtenus par S Pal et Coll (7) sur l'action de l'extrait de Byophyllum vis-à-vis des médiateurs chimiques de l'inflammation.

Cas des germes associés

De J_1 à J_2 , les courbes des germes associés, présentent également une décroissance, certes peu marquée, le nombre d'individus étant faible. La détersion et la stérilisation du foyer infectieux sont plus lents dans ce cas.

J_2 à J_3 est la phase de bourgeonnement. Dans ce cas il y a des variations. Au delà du cinquième jour, certains malades se croyant guéris reprennent leurs activités et se réinfectent, d'où la croissance observée sur les courbes de staphylocoque - Pseudomonas ; Staphylocoques - Streptococcus. L'association Staphylocoques - Streptococcus - Escherichia n'est pas perturbée au cours de cette phase.

J_3 à J_4 est la phase d'épithélialisation. Elle est conditionnée par les deux premières phases. Le degré de réinfection à la phase de bourgeonnement, retarde l'épithélialisation et conditionne l'aspect de la peau à la fin de la cicatrisation.

2. Illustrations des résultats obtenus à l'Institut Marchoux

31 Malades ont été traités au Service de Dermatolérologie de l'Institut Marchoux. Ces malades, de sexe masculin et féminin et d'âge variant de 2 à 34 ans, présentaient tous des ulcères cutanés infectés.

Au bout de 22 jours de traitement, 29 malades ont été guéris. Pour illustrer l'action de la pommade dermique à l'extrait de Bryophyllum, nous avons filmé les lésions des malades aux jour J_0 , J_{12} et J_{22} . Les photos des pages consacrées à l'illustration, représentent les images de quelques unes de ces lésions, à différentes périodes de la cicatrisation.

Résultats obtenus au Service de Dermatolérologie de l'Institut Marchoux :

Tableau n°50 : Répartition des malades en fonction du sexe

AFFECTIONS	SEXE	MASCULIN	FEMININ	TOTAL
Brûlures		3	2	5
Blessures		2	2	4
Ulcères de la jambe		16	6	22
TOTAL		21	10	31

Commentaires :

Sur 31 malades reçus à l'Institut Marchoux, 21 étaient de sexe masculin et 10 de sexe féminin. Ces malades souffraient de brûlures, de blessures et d'ulcères de la jambe. Les cas d'ulcères étaient les plus nombreux.

Tableau n°51 : Répartition des malades (au bout de 5 jours de traitement) dans les différentes phases de la cicatrisation : DéterSION, Bourgeonnement, Epithélialisation.

PHASE DE LA CICATRISATION	DETERSION	BOURGEONNEMENT.	EPITHELIALIS.	TOTAL
AFFECTIONS				
Brûlures	1	4	0	5
Blessures	0	4	0	4
Ulcères de la jambe	2	20	0	22
TOTAL	3	28	0	31

Commentaires :

Après cinq jours de traitement, 4 cas de brûlures sur 5 se trouvent dans la phase de bourgeonnement, 4 cas de blessures sur 4 aussi, enfin sur 22 cas d'ulcères, 20 se trouvent dans cette phase.

Tableau n°52 : Répartition des malades (au bout de 12 jours de traitement) dans les différentes phases de la cicatrisation : Détersion, Bourgeonnement, Epithélialisation

PHASE DE LA CICATRI.	DETERSION	BOURGEONNE.	EPITHELIA.	TOTAL
AFFECTIONS				
Brûlures	0	1	4	5
Blessures	0	0	4	4
Ulceres de la jambe	2	0	20	22
TOTAL	2	1	28	31

Commentaires :

Douze jours après le traitement, 4 cas de brûlures, 4 cas de blessures et 20 cas d'ulcères se trouvent dans la phase d'épithélialisation. Dans le même temps, 1 cas de brûlure se trouve dans la phase de bourgeonnement, 2 cas d'ulcères, dans la phase de détersion.

Tableau n°53 : Répartition des malades (après 22 jours de traitement) dans les différentes phases de la cicatrisation : Détersion, Bourgeonnement, épithélialisation.

PHASE DE LA CICATRISATION	DETERS.	BOURGEONN.	EPITHELIALI.	GUERIS	TOTAL
AFFECTIONS					
Brûlures	0	0	0	5	5
Blessures	0	0	0	4	4
Ulceres de la jambe	0	2	0	20	22
TOTAL	0	2	0	29	31

Commentaires :

Au bout de 22 jours de traitement, 29 malades sur 31 sont guéris. Seuls 2 cas d'ulcères se trouvent dans la phase de bourgeonnement.

Discussion

En expérimentation, les rats traités par la pommade aux excipients inertes n'étaient pas guéris au bout de 25 jours de traitement.

En pathologie infectieuse cutanée chez l'homme, au bout de 22 jours de traitement, nous avons 84,74% de guérison à la Division Médecine Traditionnelle et 93,54% à l'Institut Marchoux. La pommade à l'extrait de Bryophyllum a donc une activité antibactérienne et une activité cicatrisante aussi bien dans les lésions infectées par les germes étudiés que dans les phénomènes de reconstruction tissulaire.

III - CORRELATION ENTRE L'ACTIVITÉ ANTISEPTIQUE ET L'ACTIVITE CICATRISANTE DE LA POMMADE DERMIQUE À L'EXTRAIT DE BRYOPHYLLUM

Toute lésion cutanée ouverte est susceptible de s'infecter. La cicatrisation dépend de la destruction totale des germes qu'elle porte.

Les essais cliniques effectués à la Division Médecine Traditionnelle sur 59 cas d'infections ont conduit à 50 guérisons au bout de 22 jours de traitement. D'autre part, l'utilisation de la pommade à l'Institut Marchoux, nous a conduit à 29 guérisons sur 31 cas de lésions ouvertes.

Les fréquences relatives de guérison obtenues nous permettent de conclure qu'une lésion cutanée ouverte qui est bien désinfectée, cicatrise bien.

CONCLUSION

Ces résultats attestent l'activité de la pommade à l'extrait de Bryophyllum sur les germes étudiés. 50 malades sur 59 ont été traités en 22 jours.

La persistance des lésions, ("échecs") pourrait s'expliquer soit par une infection systémique, une réinfection (souillures) (et ou enfin) par les germes non retenus par l'étude y compris les champignons, une résistance, et ou une tare associée.

ILLUSTRATIONS



PERFORATION PLANTAIRE
SURINFECTEE PAR
Staphylococcus aureus
Pseudomonas aeruginosa

J 0



J 12



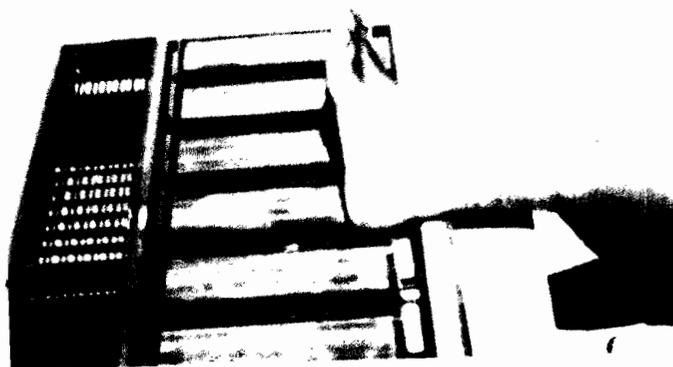
FURONCULOSE DU COU DU PIED
INFECTEE PAR

Staphylococcus aureus
Streptococcus faecalis
Pseudomonas aeruginosa

J e



J 12



ECZEMA VESTIMENTAIRE UNILATERAL
DE LA JAMBE SURINFECTE
PAR

Escherichia coli
Staphylococcus aureus

J 0



J 5



J 22



"LE MONDE EN DEVELOPPEMENT NE
DOIT PAS S'EN REMETTRE
EXCLUSIVEMENT À UNE MÉDECINE DE
TYPE OCCIDENTAL NI À DES MÉDECINS
FORMÉS EN OCCIDENT, POUR
PRODIGUER DES SOINS DE SANTE À LA
TOTALITE DE SES POPULATIONS, IL A
BESOIN D'UNE SYNTHÈSE ENTRE LES
MÉDECINES MODERNE ET
TRADITIONNELLE".

(O.M.S.)

Cité par Jean Valnet dans Aromathérapie, Traitement des maladies par
Les essences de plantes - 10 ème Edition Maloine.

CONCLUSION GENERALE

Notre travail a porté sur l'étude de Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken, plante pantropicale, largement utilisée en Afrique, en Inde et en Chine, de manière empirique dans diverses pathologies.

Pour vérifier les propriétés signalées et envisager un usage codifié de la plante, nous avons effectué une enquête ethnopharmacognosique dans toutes les provinces du Cameroun, d'Avril 1989 à fin Novembre 1989. Cette recherche de données préliminaires nous a révélé plusieurs points importants :

Les feuilles de Bryophyllum doivent être récoltées âgées, très tôt le matin avant l'apparition du soleil.

- Le jus est extrait par expression des feuilles ramollies par fléttage.

Celui-ci est utilisé dans les pathologies relevant des états infectieux et les états spasmodiques. Il est également réputé abortif et anti-inflammatoire.

Les propriétés abortives du jus de feuilles de Bryophyllum ont été rapportées par plusieurs auteurs comme nous ont montré les études préliminaires de la plante.

La propriété anti-inflammatoire (43) ayant déjà été mise en évidence, nous avons choisi de vérifier les trois autres propriétés : abortive, analgésique et antispasmodique.

Après une étude anatomique (coupe transversale et micrographie) de la feuille de Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken préalablement identifiée au Herbier National du Cameroun, nous avons procédé à un screening chimique. Le composé chimique signalée dans la littérature, nous révèle la présence dans le jus de feuilles âgées de la plante, des composés phénoliques, acides, de flavonoïdes, de stéroïdes et triterpènes.

Le phénol ayant longtemps été utilisé comme substance de référence au cours des études bactériologiques de nouveaux antibiotiques, nous avons émis l'hypothèse, d'après laquelle, les composés phénoliques du jus de feuilles de Bryophyllum seraient responsables des activités antibactérienne et cicatrisante.

Cette hypothèse formulée, nous nous sommes référés à la littérature qui précise que les composés phénoliques du jus de feuilles migrent dans la plante en fonction de l'insolation (29) (58) (76). Nous avons donc procédé à des récoltes espacées d'une à deux heures d'intervalle et nous avons gardé pendant un mois.

Il nous est apparu que le pH le plus bas correspond à l'extrait obtenu avec les plantes récoltées en 4 heures 30 et 5 h 30 du matin. C'est ce dernier échantillon qui ont porté le screening chimique, bactériologique, pharmacologique, toxicologique et galénique.

- Au plan cultural, le Bryophyllum se reproduit facilement soit en plantant sa tige dans le sol, soit en enfouissant ses feuilles sous terre. Ce dernier procédé permet d'obtenir 30 à 35 nouveaux plants à partir d'une seule feuille. Comme une plante de 4 mois porte jusqu'à 20 feuilles, chaque feuille ayant 30 à 35 dents,

on pourrait obtenir par reproduction asexuée 900 à 1050 plants à partir d'une seule plante âgée.

- Au plan microbiologique, les valeurs des CMI obtenues avec l'extrait aqueux lyophilisé : 2,5 mg/ml pour *Pseudomonas aeruginosa*
 10 mg/ml pour *Staphylococcus aureus*
 10 mg/ml pour *Streptococcus faecalis*
 20 mg/ml pour *Escherichia coli*, ont permis de poursuivre ces essais in vivo, sur des rats de souche Whistar blessés et infectés par ces germes. Les résultats obtenus sont sensiblement les mêmes que ceux obtenus in vitro.
- Au plan pharmacologique, l'effet constricteur de 10^{-1} mg/ml d'acétylcholine a été antagonisé de moitié par 5 mg/m/kg de poids d'extrait lyophilisé. La même dose de chlorure de baryum est antagonisée par 2,5 mg/ml de lyophilisat. L'extrait lyophilisé est donc un spasmolytique de type neurotrope et musculotrope, donc un spasmolytique mixte. Cet extrait à la dose de 5 mg/ml antagonise l'effet de 25 µg/ml d'histamine chez le cobaye. Il est bronchospasmolytique.
- Au plan toxicologique, la DL50 chez le rat de souche OFA par voie orale est de 6,450 g/kg de poids corporel. Par voie intrapéritoréale chez la souris de souche Swin, elle est de 3,111 g/kg poids corporel (71). L'extrait lyophilisé a une faible toxicité.
- En clinique humaine 50 malades sur 59 portant des lésions cutanées infectées par les germes testés, ont reçu leur guérison en 22 jours de traitement par une pommade à base de l'extrait de Bryophyllum à la Clinique de la Division Médecine Traditionnelle.

A l'Institut Marchoux, 29 malades sur 31 porteurs d'ulcères de la jambe ont été soignés par la pommade à base de l'extrait de Bryophyllum.

Bryophyllum pinnatum (Lam) Oken, présente des facilités culturales et un bon rendement. Son extrait aqueux lyophilisé est antimicrobien, cicatrisant et bronchospasmolytique.

Nous avons préparé une pommade à base de cette extrait ; un sirop ou une poudre pour sirop aurait pu être préparé. Un soluté aqueux et moussant peut être formulé à base de cet extrait.

Toutefois malgré tous ces acquis, nous pensons qu'une étude phytochimique plus poussée ainsi que l'étude de la toxicité chronique complèteraient ce travail. L'ensemble de ces données offrirait à l'arsenal des thérapeutiques anti-infectieuse et antitussive, un ou deux médicaments nouveaux, à doses réduites. Les formes galéniques de ces composés pourraient être ainsi améliorées et la prise des médicaments serait plus aisée.

Ce travail qui nous a conduit de la plante à une pommade dermique dont l'efficacité en clinique animale et humaine s'accorde avec ses usages empiriques, permettra, nous l'espérons, de réfléchir d'avantage au concept de "santé pour tous d'ici avant l'an 2.000" tant galvaudé ces dernières années par nos Etats.

De "la plante au médicament", tel est également le vœux formulé par le "sénégalais" le Chef d'Etat Ivoirien, le Président Félix Houphouët BOIGNON lors du VIIème congrès du Parti Démocratique de Côte d'Ivoire.

- L'Assemblée Démocratique Africain, je cite : "Le champ de la pharmacopée Africain ne est très vaste. Il n'a pas encore été suffisamment exploité et nous avons le devoir d'enrichir la science qui est universelle, puisque nous profitons largement de ses acquis et de ses retombées".

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - ABED L., BENOUCHE N., FARSI L. et ABED M.
Les antibiotiques à l'hôpital
Pharm. Maginet 1985, 14, 8 - 13.
- 2 - ACAR J.F., BOUANCHAUD D. A. et BUU-HOI A.
La résistance bactérienne aux antibiotiques.
In Le Miror : Bactériologie médicale.
Paris, Ed. Flammarion, 1982.
- 3 - ADJANOHOOUN E. J.
Contribution à l'identification et au recensement des plantes
utilisées en Médecine Traditionnelle et la Pharmacopée en
République Centrafricaine.
3ème Ed., ACCT, 1981, pp 42.
- 4 - ADJANOHOOUN E. J.
Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en
République Populaire du Congo.
Paris, Ed., ACCT, 1988, pp 177.
- 5 - ADJANOHOOUN E. J. et coll.
Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques aux
Comores.
Paris, Ed. ACCT, 1983
- 6 - ADJANOHOOUN E. J. et coll.
Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte
D'Ivoire.
ABIDJAN, Ed. CNF, 1979.
- 7- ADJANOHOOUN E. J., et coll.
Médecine Traditionnelle et Pharmacopée.
Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques aux
Seychelles.
Paris, Ed. ACCT, 1983.
- 8 - ADJANOHOOUN E. J. et coll.
Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques à
Maurice.
5ème Vol. Ed. ACCT. 1983, pp 65.
- 9 - ADJANOHOOUN E. J. et coll.
Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques à
MADAGASCAR.
Paris Ed. ACCT 1981.
- 10 - ASTRUC A.
Traité de Pharmacie Galénique
Paris, Ed. Maloine T. II, 2ème Ed., 1928.
- 11 - BAYLET R., DIOP S. , BAYLET M., et MAROC
Streptocoques : Infections locales, dentaires et cutanées.
Med. Afr. Noire. 1980, 27 3, 457 - 460
- 12 - BENTEJAC R.
Rôle de la galénique dans le développement des médicaments.
Pharm. Hosp. Fr., 1983, 65, 139 - 143.

- 13 - BERGOGNE B. E.
L'avenir de l'antibiothérapie. Que peut on en attendre ?
Actual. Pharm., 1982, 44 - 48.
- 14 - BERHAUT T.
Flore illustrée du SENEGAL 51975)
Tome III, pp 209 - 210.
- 15 - BERSHTEJN E.I.
Utilisation du jus de Kalanchoe pinnata dans le traitement des
ulcères trophiques de la jambe.
Vest. Khir., SSSR, 1972 108, 3, 116 - 118.
- 16 - BINGE A.
Critères du choix d'un traitement antibiotique en milieu
hospitalier.
Pharm. Hosp. Fr. 1987, 79, 709 - 715.
- 17 - BOAKYE - YADOM K.
"Antimicrobial properties of some West African plants".
Quant. J. Crud. Drug. Res., 1977, 15, 4, 201 - 202.
- 18 - BORIS J.
Gas Chromatographic - Mass spectroscopic identification of
prostaglandin F₂ in Flowering Kalanchoe Blossfeldiana V.
Poelln
- 19 - BOUKEF M. K.
Médecine Traditionnelle et Pharmacopée. Les plantes dans la
Médecine Traditionnelle Tunisienne.
Paris, Ed. ACCT, 1982.
- 20 - BOUQUET A. et DEBRAY M.
Plantes Médicinales de Côte D'Ivoire
Paris, Trv. et doc. de l'ORSTOM 1974.
- 21 - BOUREE P.
Aide Mémoire de parasitologie et de pathologie tropicale
Paris, Ed. Flammarion, 1982.
- 22 - BOUSQUET J. C. et JACOBÉ.
Notion d'antibiothérapie
Doc., Lat., Bristol., Paris, 1980.
- 23 - CHABBERT Y. A.
Sensibilité bactérienne aux antibiotiques.
In Le Minol : Bactériologie médicale
Paris, ed. Flammarion, 1982.
- 24 - CHARAUX C., R. PARIS
"Sur quelques plantes de Nouvelle Galédonie",
Plantes médicinales et phytothérapie IV, 63, 1970.
- 25 - CHOPRA R.N., NAYAR S.L. and CHOPRA I.C.
Glosserry of Indian medicinal plants
CSIR (1956), p 147.
- 26 - CORDIER D., DRIVEAU A.
"Sensibilité à l'adrénaline et à l'acétylcholine de diverses
parties de l'intestin grêle du rat et du cobaye".
C.R., Soc. Biol. 1956 150, 697.

- 27 - COUVERLAIN F., GOLDSTEIN, A. PHILIPPON, SIROT J.
"L'antibiogramme".
Paris 1ère Ed. MPC - Videon 1985.
- 28 - DANO D. S.
Etude comparative de la toxicité par voie orale les analgésiques
suivants : aspirine, glafénine, phénacétine, paracétamol,
amidopyrine et noramidopyrine, pendant quatre semaines chez le
rat OFA.
DEA Toxic. Pharm., Lyon, 1991.
- 29 - DJENEBA DIALLO, EPOUSE HEMA
"Essai de mise au point d'un médicament antiinflammatoire à
partir de Bryophyllum pinnatum (Lam) OKEN (Crassulaceae)
Thèse Doct. Pharm., 1981, Fac. Med. et Pharm. Schar, 1980.
- 30 - DOROSZ P.H.
Guide pratique des médicaments.
Paris, ed. Maloine, 7ème ed., 1982.
- 31 - DUVAL J. et SOUSSY C.J.
Abrégé d'antibiothérapie
Paris Ed. Masson. 1980
- 32 - ENAIFER M., KECHRID A, BENRE DJEB J. et BOUJNAH A.
Streptocoques isolés à l'hôpital Charles-Nicholas (Tunis)
Répartition des différentes espèces.
Pharm. Maghreb. 1985, 14, 27 - 36.
- 33 ERICSSON H. M. and SCHERRIS J. C.
Antibiotic sensitivity testing. Report of an international
collaborative study.
Act. Pathol. Microbiol. Scand., 1971, Section B Sppl.,
217,1 - 90.
- 34 - ERICSSON H. M. SCH. SCHERRIS J. C.
Microbiol, Scand, 1971, Suppl. 217, 11.
- 35 - EYCMAN S. L.
Les infections à Staphylocoques.
Med. Afr. Noire 1979, 26, 2, 153 - 155.
- 36 - FERNANDEZ DE LA PRADILLA C.
"Des plantes qui nous ont guéris", (1991) pp90 et 100.
- 37 - FERRON AZELE
Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine
Paris Ed. C et R. 12ème Ed., 1984
- 38 - FLEURETTE J
Staphylocoques et microcoques.
In Le Minor : Bactériologie médicale.
Paris, Ed. Flammarion, 1982
- 39 - FOURASTE I.
Contribution à l'étude botanique et chimique de Monnieria
trifolia.
Thèse de Doctorat d'Etat, Toulouse, 1973.

- 40 - HALPERN B. N.
"Les antihistaminiques de synthèse. Essai de chimiothérapie des états allergiques"
Arch., Int., Pharmacodyn., 68, 1942, 339.
- 41 - HASTINGS A. B. and SLYKE D.D.
The determination of three dissociation constants of citric acid.
J. Biol. Chem. (1922), 53, 269.
- 42 - HAXAIRE
Phytothérapie et médecine familiale chez les Gbaya (République Centrafricaine).
Thèse, Pharm., Montpellier, 1979.
- 43 - HEMA D., TIDJIANI M., BASSENE E., POUSSET J. L. et GIONO BARBER H.
"Plantes médicinales africaines XXIV. Etude de l'action anti inflammatoire de Kalanchoe pinnata (Crassulaceae)".
Pl. Med. et Phytotherapie, 1986, XX, 3, 231.
- 44 - HARBORNE
"Comparative biochemistry of flavonoids".
Chapman an Hall, London, 1974.
- 45 - IBRAHIM R. K.
The identification, by chromatography, of plants phenolic acids ; ARCH. Biochem. Biophys. (1960), 87, 125.
- 46 - JURD L.
A spectrophotometric method for the detection of O - Dihydroxyl groups in flavonoids compounds.
Arch. Biochem. Biophys. (1956), 63, 376.
- 47 - KERHARO J. et BOUQUET A.
"Plantes médicinales et toxiques de COTE D'IVOIRE et de HAUTE-VOLTA".
Paris, Ed. Vigot. 1973.
- 48 - KERNBAUN S.
Eléments de pathologie infectieuse.
PARIS? Ed. Spécia., 1982.
- 49 - KIRPTIKAR K. R. and BASU B. D.
Indian medicinal plants.
(1935), Vol. 2, pp 998 - 999.
- 50 - KONSETT H. and ROSSIER R.
Versuchung in untersuchungen an der bronchial.
Arch. Exp. Path. Pharmacol, 199, 71, 1949.
- 51 - LE GRAND D.
Manuel du préparateur en pharmacie
Paris, Ed. Masson, 12 Ed, 1982.
- 52 - LITCHFIELD J.T. and VILCOXON F.
Simplified method of evaluating dose effect experiment
J. Pharmacol., 1949, 96, 99 - 115.

- 53 - MANDJA O. A.
Contribution à l'inventaire des plantes médicinales utilisées
dans la région Sud-Est de la Côte D'Ivoire.
DEA, Sci., ABIDJAN 1983.
- 54 - MAGNERS R.
"Versuche an überdunden dünn darm von sungetieren"
Arch. Ges. Physio, 102, 123.
- 55 - MARCY R. CITE GIONO et CHEVILLAND dans
"Produits pharmaceutiques". "Les méthodes d'études
pharmacologiques des stéroïdes antiinflammatoires" (1961), 15,
9 pp 402 - 423.
- 56 - MILIEU ET REACTIFS DE LABORATOIRES PASTEUR.
Paris. Ed. Publifab. 1ère Ed., 1978.
- 57 - NADKARNI A. K
Nadkarni's Indian Materia Medica
(1954), pp 716 - 717, Popular book Depot, Bombay.
- 58 - NEYLAND M., LIN NG. Y. and THMANN K. V.
Formation of anthocyanin in leaves of Kalanchoe Blossfeldiana,
a photoperiodic response.
Plant Physiol (1963), 38, p 447.
- 59 - ODUTOLA F. A. et EKONG D. E. V.
"La chimie de certaines drogues antitussives traditionnelles
Nigéria".
Premier symposium interafricain sur les pharmacopées
traditionnelles et les plantes médicinales africaines.
Dakar 25 - 29 Mars (1968) p.47.
- 60 - OMS.
Comité d'experts de la standardisation biologique
Genève, série de rapports techniques, 610, 1977.
- 61 - OMS
Comité d'experts de la standardisation biologique.
genève, série de rapports techniques, 673, 1982.
- 62 - ONAVAUNMIGO YSAK V. ET OGUNLANA E. O.
Antibacterial constituents in essential oils of Cymbopogon
citratus
(DC) Staff.
J. Ethnopharm 1984, 12, 279 - 286.
- 63 - PARIS R., DURET.
"Sur quelques flavonoïdes et acides phénols de quelques
espèces de Rauwolfia".
Plantes médicinales et phytothérapie, 4, 318.
- 64 - PHARMACOPEE FRANCAISE 9ème EDITION.
- 65 - PILET C., BOURDON J.L. et MARCHA N.
Le laboratoire de bactériologie
Paris, Ed. Doin, 1972.

- 66 - PIQUET L. MK, METZGER J
Medicinal plants of East and South-East Asia attributed
properties and uses.
Mit Presse (1980), pp 109 - 110.
- 67 - POUSSET J. L.
Plantes médicinales africaines : utilisation pratique
Ed. ACCT., 1989, 92, 3 Marketing.
- 68 - PUCHER G. V., ABRAHAM M. D. and VICKEY H. B.
The preparation of optically active isocitric acid from
Bryophyllum leaf tissue.
J. Biol.K Chem. (1947), 172, 579.
- 69 - PUCHER G. V and VICKERY H.
The synthesis of isocitric acid.
J. Biol. Chemm. (1946), 1963, 169.
- 70 - RIOS J. L., RECIO M. C. and VILLAR A.
Secreening methods for natural products with antimicrobial
activity : a review of the litterature.
J. Ethnopharm., 1988, 23, 127 - 149.
- 71 - SANDBERG F., CRONLUND A.
An ethnopharmacological inventory and toxic plants from
Equatorial Africa.
Journal of ethnopharmacology (1982), N°5, pp 1897 - 204.
- 72 - S. PAL. and A. K., NAK CHAUDHURI
Some pharmacological actions of Bryophyllum pinnatum
Planta Medica (1989) 55.
- 73 - SIDDHARTA PAL A. K., NAG CHAUDHURI
Antiinflammatory action of Bryophyllum pinnatum leaf extract
Division of Pharmacology, Departement of Pharmacie,
Post box N°17013 PO JADAVPUR University.
- 74 - TRAVAUX PRATIQUES DE BACTERIOLOGIE
Fac. Pharm. ABIDJAN, 4ème A 1988.
- 75 - TRAVAUX PRATIQUES DE MICROBIOLOGIE
UER Sci. Pharm., Nantes, 3ème A, 1986.
- 76 - TRONCHET J.
Localisation of Flavonoïds substances in various regions of the
leaves of Bryophyllum crenatum (K. Laxiflora) at different
developpment stages.
- 77 - VICKERY H. B., HARGREAVES C.A., II an NOLAN L.S.
The metabolism of the organic acids of tobacco leaves.
The effect of culture of excised leaves in solutions of DL
Malate.
J. Biol. Chem. (1952), 197, 133.
- 78 - WENIGER B. cite SINGH et CRONLUND dans
"Recherches scientifiques et usage populaire des plantes
médicinales dans la Caraïbe".
Ed. Télé 2ème Ed., 1986 pp 122.

- 79 - WENIGER B., ROBINEAU L.
Recherches scientifiques et usage populaire des plantes
médicinales dans la Caraïbe.
Ed. Télé 3. 2ème Ed., 1986, pp 122.
- 80 - WOFL J.
Oxygen metabolism of succulent Crassulaceae, variations in
total, malic and citric acid contents.
Planta 29, 314 (1939), Chem. Abstr. (1939), 33, 4628.
- 81 - YAMAGISHI TAKASHI, XIU - THEN YAU.
"Eufadienolides isolated from an extract of Bryophyllum
pinnatum".
J. Of pharm. USA Feb. , 15 th, 1988.

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens, et de mes condisciples ;

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer dans l'intérêt de la Santé Publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ;

Que je sois couvert d'approbre et méprisé de mes confrères si j'y manque ./.