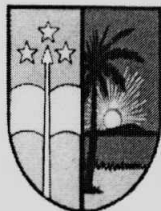


UNIVERSITE DE KISANGANI

FACULTE DES SCIENCES



*Département d'Ecologie et  
Gestions des Ressources Animales et Végétales.*

Plantes médicinales utilisées contre la drépanocytose à Kisangani et à Babogombe ( R.D.C.) : Contribution à l'inventaire et étude de l'activité des extraits des plantes sur la morphologie des drépanocytes.

Par :

**MAKELELE KAMBALE LEONARD.**

ASSISTANT A L'UNIVERSITE DE KISANGANI.

**DISSERTATION**

Présentée en vue de l'obtention du diplôme d'Etudes  
Approfondies ( D.E.A.) en Gestion de la Biodiversité .

Promoteur : Prof .Dr. Pius MPIANA TSHIMANKINDA ( UNIKIN).

Co-Promoteur : Prof. LEJOLY JEAN ( U.L.B.).

2008

## Dédicace .

A mon père , Prof Dr MAKELELE KAMBALE CYPRIEN ,

A ma mère , MALIRO KAHINDO Henriette ,

A tous mes frères et sœurs, oncles et cousins ,

A mon épouse bien aimée , ETOKWALA MAKELELE Charlotte

A tous mes enfants,

Je dédie ce travail.

## Remerciements.

A la fin de cette période de travail , la plus dure de ma vie , qu'il me soit permis de m'acquitter d'un agréable devoir :

Au Promoteur de cette étude , Mon Maître le Professeur Pius MPIANA TSHIMANKINDA , qui m'a orienté et formé en Biotechnologie des plantes antitumorales en plus de multiples conseils et corrections tant au laboratoire que dans la rédaction de cette dissertation de D.E.A. , j'exprime ma profonde gratitude.

Aux Professeurs LEJOLY JEAN (U.L.B.) et NDJELE MIANDA BUNGI ( UNIKIS ) , pour tant d'efforts et sacrifices consentis en vue de la mise sur pied du Programme DEA en 1 an ( une première ) à l'Université de Kisangani , soyez remerciés à travers ces mots.

A la Coopération Technique Belge , pour sa facilitation dans la mobilité de nos formateurs ( Professeurs Belges) et la bourse de recherche nous octroyée , nous en sommes reconnaissant.

Aux autorités académique de l'Université de Kisangani et à nos autorités décanales de la Faculté des Sciences, pour le soucis de formation des chercheurs congolais en général ainsi que pour la disponibilité et bienveillance dans la finalisation du programme DEA en 1 an à l'UNIKIS en particulier , nous vous disons merci.

Enfin , au Chef de Département de Biotechnologie de l'Université de Kisangani , Le Professeur RENE OLEKO WOTO , pour nous avoir fait confiance en nous acceptant comme Assistant au sein de son département en vue de notre formation , nous exprimons notre gratitude.

# Table des matières.

Dédicace	i
Remerciements	ii
Tables des matières	iv
Résumé	vii
Abstract	viii
<b>INTRODUCTION</b>	<b>1</b>
1. Problématique de l'étude	1
2. Objectif de l'étude.	3
2.1. Objectifs Généraux.	3
2.2. Objectifs spécifiques	4
3. Hypothèse de recherche	5
4. Intérêt de l'étude.	5
5. Brève revue de la littérature sur les plantes antidrèpanocytaires	5
<b>CHAPITRE PREMIER : GENERALITES</b>	<b>7</b>
1. GENERALITES SUR LA DREPANOCYTOSE.	7
1.1. Définition	7
1.2. Historique.	7
1.3. Prévalence à la naissance.	8
1.4. Bref aperçu sur l'hémoglobine	9
1.5. Génétique et physiologie de la drèpanocytose	11
1.6. Diagnostic biologique.	12
1.7. Traitement.	14
2. GENERALITES SUR LA SITUATION ACTUELLE DE LA MEDECINE TRADITIONNELLE EN AFRIQUE	16
<b>CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES.</b>	<b>17</b>
2.1. PRESENTATION DU MILIEU D'ETUDE.	17
2.1.1. Situation géographique.	17

2.1.2. Climat	17
2.1.3. Végétation	18
2.2.. METHODOLOGIE DE LA RECOLTE ET DE LA CONSERVATION DES ECHANTILLONS	19
2.2.1. Récolte des plantes antidrèpanocytaires.	19
2.2.2. Conservation des échantillons de plantes.	21
2.2.3. Obtention et conservation des échantillons de sang drèpanocytaire	22
2.3. EXPERIMENTATION AU LABORATOIRE.	22
2.3.1. Préparation des extrait végétaux.	22
2.3.2. Etude de l'activité biologique antidrèpanocytaire des extraits végétaux.	25
<b>CHAPITRE 3 : RESULTATS.</b>	<b>28</b>
3.1. RESULTATS DES ENQUETES SUR LES PLANTES ANTIDREPANOCYTAIRES.	28
A. Plantes antidrèpanocytaires utilisées dans le Village de Babogombe	28
B. Plantes antidrèpanocytaires utilisées par les Habitants de Kisangani.	31
3.2. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIDREPANOCYTAIRES DES PLANTES.	34
3.2.1. Plantes antidrèpanocytaires de kisangani.	34
3.2.1.1. Test de falciformation.	34
3.2.1.2. Détermination de la Concentration Minimale de Normalisation	36
3.2.1.3. Mesures des diamètres des drèpanocytes avant et après traitement aux extraits des plantes	39
3.2.2. PLANTES ANTIDREPANOCYTAIRE DE BABOGOMBE .	42
3.2.2.1. Test de Falciformation.	42
3.2.2.2. Mesures des diamètres des drèpanocytes avant et après traitement aux extraits des plantes	44
3.2.2.3. Détermination de la Concentration Minimale de Normalisation	46
<b>CHAPITRE 4 : DISCUSSIONS</b>	<b>48</b>
4.1. ENQUETES SUR LES PLANTES ANTIDREPANOCYTAIRES.	48
4.2. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIDREPANOCYTAIRE DES PLANTES.	52
4.2.1. Test de falciformation.	52
4.2.2. La concentration minimale de normalisation.	55

4.3. MOYENNES DE DIAMETRES DES DREPANOCYTES AVANT ET APRES TRAITEMENT AUX EXTRAITS DES PLANTES ANTIDREPANOCYTAIRES.	57
<b>CHAPITRE 5 : CONCLUSIONS ET SUGGESTIONS.</b>	<b>59</b>
5.1. Enquête sur les plantes antidrèpanocytaires.	59
5.2 . Etude de l'activité antidrèpanocytaire des plantes.	60
5.2.1. Test de falciformation <i>in vitro</i> .	60
5.2.2. La Concentration Minimale de Normalisation.	61
5.2.3. Diamètres moyens des drèpanocytes avant et après traitements aux extraits	61
<b>REFERÈNCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	<b>63</b>
<b>ANNEXES.</b>	<b>70</b>

## Résumé.

Les populations de Kisangani et de Babogombe ( R.D.Congo ) utilisent des plantes médicinales pour se soigner de la drépanocytose.

Dans le but de recenser ces plantes et de vérifier leur activités antidrèpanocytaires , une enquête préalable suivie d' une étude *in vitro* des extraits des plantes sur la morphologie des drépanocytes a été conduite.

Sur les 18 plantes antidrèpanocytaires citées par nos informateurs, 33 % appartiennent à la famille des Euphorbiaceae.

58 % de l'ensemble des plantes antidrèpanocytaires de notre région sont classées comme vulnérables.

90 % de nos plantes ont montré une activité antidrèpanocytaire qui se traduit par une réversibilité des drépanocytes falciformés en forme ovales. Nos extraits de plantes sont donc actifs sur la morphologie des érythrocytes falciformes.

L'espèce *Ricinodendron heudelotii* ( Bail ) , appartenant à la famille des Euphorbiaceae , a montré un fort taux de normalisation des drépanocytes ( 76 %) et la plus faible Concentration Minimale de Normalisation des drépanocytes (C.M.N. =0,3924 mg/ml).

Les drogues isolées à partir des plantes antidrèpanocytaires seraient une voie de recherche intéressante en pharmacie en vue d'une solution dans le traitement de la drépanocytose.

- Mots clés : Antidrèpanocytaire ; Drépanocytes, Normalisation ; Kisangani ; Babogombe ; R.D.Congo.



## Abstract

The inhabitants of Kisangani and Babogombe (D.R.Congo) use medicinal plants to cure several diseases that effect them, specifically they can cure sickle cell anaemia.

We want to perform a survey followed by an in vitro research to identify these plants and to investigate their antisickling activity against sickle cell anaemia.

On 18 plants cited as helpful against sickle cell anaemia by our informants, 33 % belong to the Euphorbiaceae family. 58 % of the helpful plants in our region are classified as vulnerable.

90 % of these plants have shown already an antisickling activity , notably they reverse the sickled cells in oval cells. Our plant extracts are thus active on the morphology itself of the sickled erythrocytes.

The species *Ricinodendron heudelotii* (Bail), belonging to the Euphorbiaceae family, has shown a high normalization rate to normal erythrocytes (76 %) and the lowest Minimal Normalization Concentration of sickled erythrocytes (M.N.C. = 0,3924 mg/ml)

Drugs isolated on the basis of these medicinal plants against sickle cell anaemia could help to find a treatment for sickle cell anaemia.

- Keywords : Sickle cell anaemia, antisickling activity, normalization, Kisangani, Babogombe, D.R.Congo.

I N T R O D U C T I O N

# INTRODUCTION

## 1. PROBLEMATIQUE DE L'ETUDE

La drépanocytose est une pathologie héréditaire caractérisée par une anomalie structurale de l'hémoglobine S (S pour sickle). Dans des conditions de désoxygénation, cette hémoglobine se polymérise, ce qui rigidifie les érythrocytes et les déforme en faucilles. La polymérisation provoque chez les patients homozygotes une déformation des globules rouges. Ces derniers deviennent rigides donc enclin à s'agréger et à entraîner l'occlusion des petits vaisseaux, source de manifestations cliniques grave de cette maladie (GULBIS et al.,2005 ; COULOMBEL, 2002).

Il y'a une dizaine d'années , la répartition géographique de la maladie était confinée dans la ceinture « sicklémique » qui s'étendait du 15<sup>e</sup> parallèle de latitude nord au 20<sup>e</sup> parallèle de latitude sud (GENTILLINI , 1993). Aujourd'hui, la drépanocytose est une maladie de santé publique : Il existe aujourd'hui environ 50 millions de malades drépanocytaires homozygotes Hb SS et 250 millions d'hétérozygotes Hb AS dans le monde (WAJCMAN, 2004).

Selon GALACTEROS ( 2007) , la cause de ce boom sicklémique est imputée aux migrations des populations post-coloniales modernes dans les ex-métropoles d'Europe. En France métropolitaine , l'Ile de France est la région de prédominance avec 1/700 nouveaux-nés atteints soit , 3,5 % de porteurs du trait drépanocytaire. En 2005 en Belgique , le dépistage néonatal systématique réalisé dans toutes les maternités Bruxelloises et dans quelques maternité de Liège a permis de relever une prévalence de 0,06 % (72 /123.113 naissances) soit 1 drépanocytaire pour 1.710 naissances à Bruxelles et 0,11% de malades ( 5/4.713 naissances ) ,soit 1 drépanocytaire pour 943 naissances à Liège (GULBIS et al,2005).

La situation est encore plus dramatique en Afrique Noire avec 150.000 à 300.000 enfants drépanocytaires à la naissance par an. En RDCongo, la prévalence est

estimée à 2 % représentant approximativement un million de personnes drépanocytaires (MPIANA et al , 2007 ; WAJCMAN , 2004 ).

Le traitement de fond reste à découvrir. Les transfusion sanguine répétées freinent la synthèse de l'hémoglobine S, réduisent la fréquence des crises vaso occlusives et des surinfections mais exposent à l'hépatite transfusionnelle et à la transmission du virus de l'immunodéficience humaine ( VIH) ( GENTILLINI , 1993). Il est à noter que l'hydroxyurée a une action bien établie dans le traitement de la drépanocytose car elle augmente la production de l'hémoglobine fœtale F et améliore le phénotype érythrocytaire mais son utilisation prolongée pose le problème de toxicité (BRUGNARA et al, 2006).

La recherche de pointe dans la thérapie de la drépanocytose nous indique deux voies différentes d'essais cliniques qui sont entreprises pour combattre cette hémoglobinopathie :

### **1. La thérapie génique.**

La thérapie génique vise à intégrer dans la cellule souche hématopoïétique un gène codant une chaîne de globine thérapeutique remplaçant en partie la chaîne  $\beta^S$  et inhibant la polymérisation de l'hémoglobine S( HbS) dans le plus grand nombre possible de globules rouges (BRUGNARA et al , 2006).

### **2. Les stratégies pharmacologiques.**

Les différentes approches pharmacologiques pour traiter la drépanocytose sont les suivantes (DE FRANCHESCI et al, 2004):

- 2.1 Prévenir la déshydratation des globules rouges drépanocytaires : le clotrimazole (antimycotique) est un inhibiteur spécifique du canal à potassium , qui joue un rôle essentiel dans la déshydratation des drépanocytes.
- 2.2 Diminuer l'interaction et l'adhérence entre les globules rouges et les cellules endothéliales. : le RheothRx (copolymère poloxamère) inhibe les interactions

hydrophobes de l'adhésion dans le sang, ayant pour résultats la réduction de l'agrégation des drépanocytes et l'adhérence des drépanocytes à la paroi vasculaire.

- 2.3 Utiliser l'oxyde nitrique ( NO , Monoxyde d'azote) ou des composés donneurs de NO , dont les effets bénéfiques doivent être multiples : le NO est un vasodilatateur puissant et un inhibiteur du remodelage vasculaire.

La drépanocytose est aujourd'hui une maladie incurable dont le traitement est inaccessible pour les populations des pays à faible revenus. En RDCongo , du fait des guerres de « libérations » ( 1996-1997) et « d'agressions » ( 1998-2001) les infrastructures sanitaires , datant pour la plupart de l'époque coloniale Belge, ont été complètement détruites. Aussi, la population recourt à la phytothérapie car le pays regorge d'une biodiversité végétale remarquable et accessible, l'écosystème de nos forêts étant parmi les moins perturbées de la planète.

## 2. OBJECTIF DE L'ETUDE.

### 2.1. Objectifs généraux.

Les plantes médicinales offrent aux populations vivant aux environs de nos forêts l'opportunité de tirer de cette végétation les plantes médicinales dont les vertus curatives sont reconnues. Cependant, aucune étude scientifique (inventaire et activité biologique) des plantes médicinales antidrépanocytaires de la région de Kisangani n'a été conduite jusqu'à ce jour. Le but de notre recherche sera donc :

- A. De contribuer à l'inventaire des plantes médicinales et des recettes des médicaments traditionnels utilisés par les habitants de la région de Kisangani dans le traitement de la drépanocytose.
- B. D'étudier *in vitro* l'activité biologique des extraits des plantes antidrépanocytaires sur la morphologie des drépanocytes.

## 2.2.Objectifs spécifiques

Pour atteindre nos objectifs de recherche nous avons adopté la méthodologie suivante :

### A) Recherche des informations relatives aux plantes antidrèpanocytaires :

- Enquête ethnobotanique ( recenser les plantes médicinales + recettes des médicaments traditionnels) ,
- Récoltes des plantes , constitution d'herbiers et Identification taxonomiques des plantes médicinales récoltées au laboratoire de Botanique de la Faculté des Sciences de l'Université de Kisangani. ( RDCongo).

### B) Etude de l'activité biologique des plantes antidrèpanocytaires

- Extraction des principes actifs des plantes au laboratoire :
- Avant traitement de l'échantillon de sang drèpanocytaire aux extraits des plantes, dénombrer les drèpanocytes falciformés de notre échantillon.
- Pour vérifier *in vitro* l'efficacité de nos plantes antidrèpanocytaire, traiter l'échantillon de sang drèpanocytaire aux extraits et faire le test d'Emmel (test de falciformation).
- Procéder au comptage des drèpanocytes après traitement aux extraits des plantes.
- Mesurer le diamètre des drèpanocytes avant et après traitement aux extraits des plantes.
- Déterminer la Concentration Minimale de Normalisation des drèpanocytes traités aux extraits de plantes antidrèpanocytaires.

### 3. HYPOTHESE DE RECHERCHE

Les drépanocytes, allongés, ont un diamètre supérieur à celui des hématies normales. L'activité biologique des plantes antidrépanocytaires se traduirait par une réversibilité de drépanocytes de la forme faucille allongée vers une forme ovale plus moins arrondie ressemblant à ceux des hématies normales. Les drépanocytes traités aux extraits auraient donc un diamètre inférieur à ceux des drépanocytes non traité aux extraits des plantes.

### 4. INTERET DE L'ETUDE.

Ce travail est une d'abord une contribution à l'inventaire des plantes médicinales antidrépanocytaires de la région de Kisangani en RDCongo. En outre il s'inscrit dans le cadre de la revalorisation de la biodiversité végétale de notre région. Les résultats de nos recherches pourraient enfin constituer une voie exploratoire pour les pharmaciens dans la découverte de nouvelles molécules aux vertus curatives pouvant traiter la drépanocytose.

### 5. BREVE REVUE DE LA LITTERATURE SUR LES PLANTES ANTIDREPANOCYTAIRES.

La physiopathologie de la drépanocytose a démontré que suite à la désoxygénation, la polymérisation de l'hémoglobine S induit une déshydratation cellulaire par perte d'ions et d'eau. Ces drépanocytes sont ensuite falciformés entraînant ainsi une cascade de conséquences tels que les vaso-occlusion et la réduction du flux sanguin dans les petits vaisseaux.

*In vitro*, la mise en évidence de l'activité biologique des plantes antidrépanocytaires est orientée en plusieurs axes :

- **L'anti-falciformation suite à l'activité des extraits des plantes sur des drépanocytes :**

Nous pouvons citer plusieurs publications tels que « In vitro antisickling activity of Anthocyanins from *Ocimum basilicum* L. ( Lamiaceae) » et « In vitro antisickling activity of anthocyanins extract of a congolese plant : *Alchornea cordifolia* M.Arg.

de MPIANA THIMANKINDA et son équipe (2007). Une autre publication intéressante est « In vitro antisickling activity of rearranged limonoid isolated from *Khaya senegalensis* » de FALL et son équipe (2005).

- **Essai clinique de l'efficacité des médicaments traditionnels améliorés**

L'Ajawaron (HF) et le Niprisan ( Nix-0699) sont deux médicaments traditionnels améliorés utilisés dans le traitement de la drépanocytose au Nigeria. IYAMU et son équipe ( 2003) démontre dans un article que le pourcentage des drépanocytes est faible dans les capillaires sanguins de la souris transgénique drépanocytaire traitée préalablement au Niprisan et exposée ensuite dans un milieu pauvre en oxygène. Le pourcentage drépanocytes des souris drépanocytaires reste élevé pour les souris drépanocytaires exposées à l'hypoxie et non traité au Niprisan.

- **Réhydratation des drépanocytes falciformés en utilisant des extraits des plantes**

SAMIR et son équipe aux Etats -Unis ( 2000) ont étudié l'effet de l'hydratation des drépanocytes en utilisant un extrait de plante ( *Pfaffia paniculata*)in vitro. Il ressort de cette étude que certains extraits de plantes antidrépanocytaires ont la propriété d'ouvrir la canal à sodium (Na) permettant ainsi aux drépanocytes de se réhydrater. La réhydratation des drépanocytes permet ainsi une réversibilité des drépanocytes, de la forme faucille à la forme ovale normale.



# CHAPITRE 1 : G E N E R A L I T E S

## CHAPITRE PREMIER : GENERALITES

### 1. GENERALITES SUR LA DREPANOCYTOSE.

#### 1.1. Définition

La drépanocytose est une maladie autosomique récessive due à la présence d'une hémoglobine anormale (HbS) (ALVIN et al., 2005). Dans des conditions de désoxygénation, cette hémoglobine se polymérise provoquant une falciformation des globules rouges qui deviennent rigides donc enclin à s'agréger et à entraîner l'occlusion des petits vaisseaux, source de manifestations cliniques grave de cette maladie. (GULBIS et al., 2005).

Les formes homozygotes SS sont responsables de la maladie alors que les porteurs du trait Hb AS sont habituellement asymptomatiques. La drépanocytose est responsable d'une hémolyse chronique, de crises vaso-occlusives aiguës et des complications organiques dégénératives. Ces phénomènes surviennent particulièrement pendant l'adolescence. (ALVIN et al., 2005).

#### 1.2. Historique.

Dès 1910, Herrick remarque la déformation en faucille des hématies. En 1949, Pauling et Itano découvrent l'anomalie de la migration électrophorétique de l'hémoglobine S. Huit ans plus tard, Ingram montre que l'hémoglobine S adulte ne diffère de l'hémoglobine adulte A que par un acide aminé, décrivant ainsi la première maladie moléculaire.

Depuis, de nombreux travaux ont précisé la physiopathologie, la symptomatologie et le diagnostic dont le traitement reste malheureusement décevant. (GENTILLINI, 1993).

### 1.3. Prévalence à la naissance.

Les mouvements migratoires successifs, notamment en direction des grands centres urbains, ont profondément modifié la perception de la maladie. En effet, il y'a 30 ans , la drépanocytose était considérée comme une pathologie exotique en France. ( ALVIN et al., 2005). D'après GALACTEROS (2002), la prévalence à la naissance varie selon les populations. Dans certains pays, la prévalence de la drépanocytose à la naissance peut présenter de fortes hétérogénéités en fonction de la région considérée ou de l'origine ethnique.

Le tableau 1 illustre le taux des prévalences de la drépanocytose à la naissance dans certaines régions du monde .( MPIANA et al. , 2007 ; GULBIS et al. , 2005 ; GALACTEROS , 2002).

Tableau 1 : Taux des prévalences de la drépanocytose à la naissance.

Pays à prévalence homogène	Taux ( % )
Afrique Centrale	1,65
R.D.Congo ( Afrique Centrale)	2,00
<b>Afrique Béninoise</b>	<b>3,00</b>
Afrique Malienne	2,00
Antilles Française	0,35
Ile de La Réunion ( D.O.M.)	0,05
Ile Maurice	0,05
Pays à prévalence hétérogène	Taux ( % )
Afrique du Nord	0,04
Europe du Sud ( Grèce et Sicile)	0,02
France (Ile de France)	0,20
France ( dans le Nord et le Sud)	0,05
Belgique ( Liège)	0,11
Belgique ( Bruxelles)	0,06
Etats - Unis	0,02
Brésil	0,20

## 1.4. Bref aperçu sur l'hémoglobine

### A. Définition

L'hémoglobine est une protéine multimérique constituée de quatre monomères de globulines et de quatre molécules d'hèmes. Constituant essentiel de l'hématie, cette protéine multimérique possède la capacité de fixer l'oxygène destiné à la respiration cellulaire, d'une manière réversible, et d'en assurer le transport du milieu extérieur aux cellules de l'organisme. (STRYER, 1985).

### B. Structure.

L'hémoglobine est une grosse molécule protéique de 64.000 daltons. Ce tétramère est constituée de 4 sous unités identiques deux à deux et qui se distinguent en type alpha et bêta le plus souvent. Il en existe, en effet, différentes formes, en particulier plusieurs formes foetales et adultes. La globine est associée à un hème (protoporphyrine III). Elle contient un atome de fer ferreux, enserré par les quatre cycles pyrroliques et capable de se lier à l'O<sub>2</sub> (ADER, 2006).

La figure 1 ci dessous montre le schéma de l'hémoglobine.

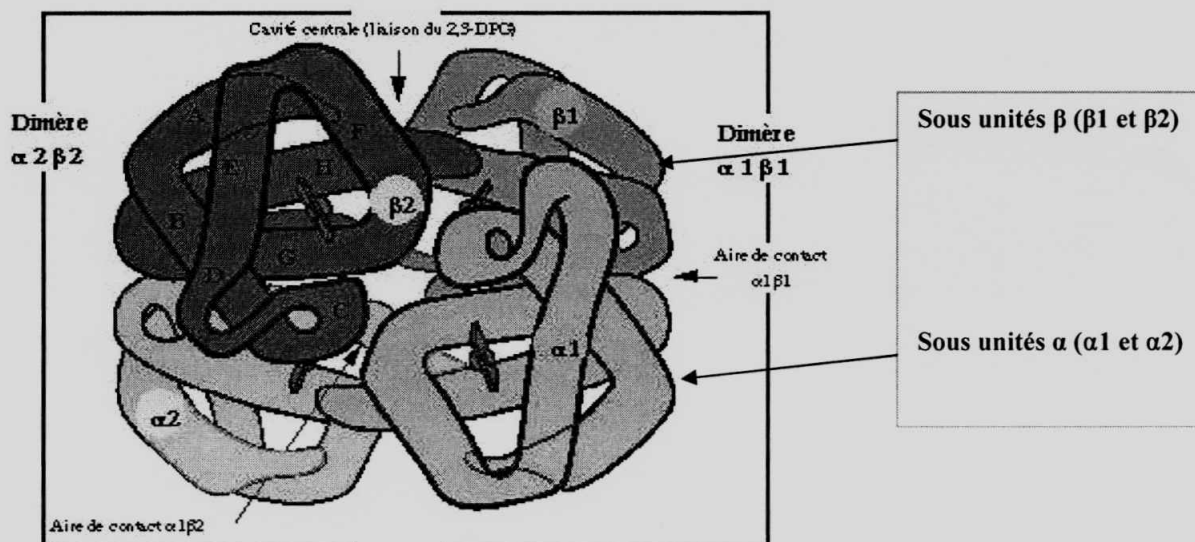


Figure 1 : structure de l'hémoglobine. ( Ader et al. , 2006 ).

### C. Fonction

La fonction principale de l'hémoglobine est la fixation et le transport d'oxygène du milieu extérieur vers les cellules. Cet oxygène est destiné à la respiration cellulaire. La capacité de transport d'un décilitre de sang est d'environ 20 ml d'oxygène. Ce même volume de plasma ne peut transporter sous forme dissoute que 0,5 ml d'oxygène.

L'hémoglobine est une hétéroprotéine constituée de globine et d'une petite molécule non protéique, l'hème. Sur l'hème se fixe, transitoirement :

- soit un atome d'oxygène, pour former l'oxyhémoglobine  $HbO_2$ . L'oxygène est libéré par simple dissociation de la molécule d'oxyhémoglobine.
- soit une molécule de dioxyde de carbone venant de la respiration cellulaire pour la transporter vers les poumons sous forme de carbohémoglobine.

La carboxyhémoglobine, formée par association d'hémoglobine et de monoxyde de carbone, est plus stable, ce qui explique sa toxicité. Lorsque la pression partielle en oxygène  $P_{O_2}$  chute de 100mm de Hg (dans les artères) à 40 mm de Hg (dans les capillaires veineux), un décilitre de sang libère entre 4 à 5 ml d'oxygène. Dans le globule rouge humain, le 2,3-diphosphoglycérate joue un rôle régulateur fondamental dans le transport de l'oxygène. Il se lie à l'hémoglobine désoxygénée. En stabilisant cette conformation il facilite la libération d'oxygène dans les tissus ( ADER et al. , 2006).

La figure 2 illustre la courbe de dissociation de l'hémoglobine.

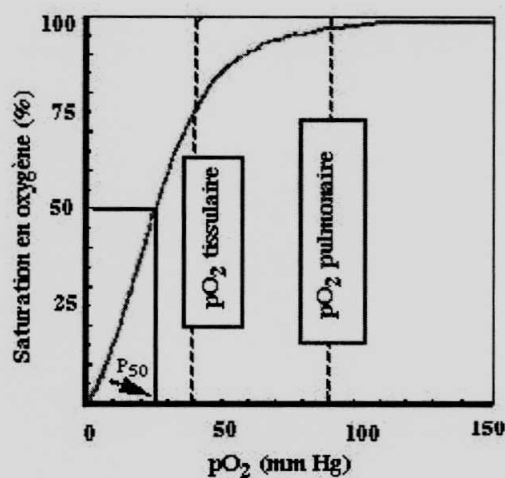


Figure 2 : Courbe de dissociation de l'hémoglobine .( Ader et al. , 2006).

### 1.5. Génétique et physiologie de la drépanocytose

Une mutation ponctuelle dans le gène de la  $\beta$ -globine , sous unité de l'hémoglobine A est responsable de la drépanocytose. La substitution de l'adénine par la thymine au niveau du codon 6 du gène de la  $\beta$ -globine (GAG  $\rightarrow$  GTG ), induit l'insertion d'une valine , hydrophobe, à la place d'un acide glutamique , hydrophile , dans la chaîne de  $\beta$ -globine (  $\beta^{\text{glu}\rightarrow\text{val}}$  ) qui est alors appelée  $\beta^S$ .

L'hémoglobine S a ainsi la propriété de polymériser à l'état désoxygénée induisant ainsi la falciformation des hématies. La polymérisation de l'HbS est favorisée par l'hyperthermie , l'acidose , la désaturation artérielle en oxygène , la déshydratation , ainsi que l'allongement du temps de passage dans la microcirculation , donc par l'hyperviscosité des syndromes infectieux et inflammatoires et par la vasoconstriction. ( GARBAN et al., 2003)

La polymérisation intervient essentiellement chez les patients homozygotes pour l'hémoglobine S ( Hb SS). Chez les hétérozygotes HbAS, en raison d'un taux de HbA proche de 60 %, la polymérisation de l'HbS existant reste une exception.

Brugnara et Franceschi ( 2006 ) illustrent schématiquement dans la figure 3 la physiopathologie de la drépanocytose.

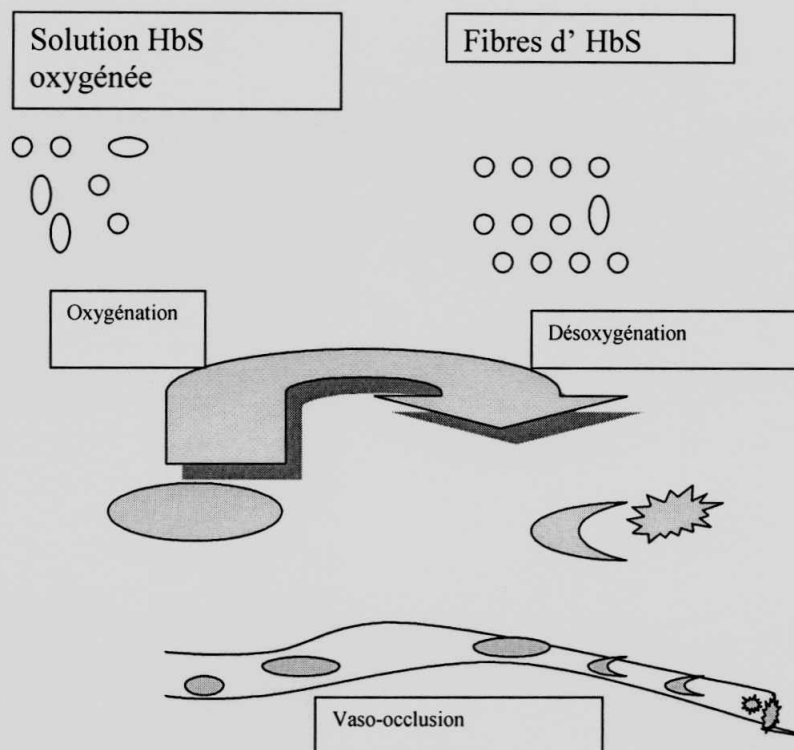


Figure 3 . Physiopathologie de la drépanocytose ( Brugnara et al., 2006)

La désoxygénation des globules rouges induit la polymérisation de l'hémoglobine S (Hb S) conduisant à des modifications morphologiques des érythrocytes (falciformation) , à une augmentation de la densité cellulaire et à la déshydratation des globules rouges. Ces derniers peuvent être piégés dans les vaisseaux sanguins de petits calibres. L'augmentation de l'adhérence des GR aux cellules endothéliales activées peut induire des vaso-occlusions avec comme conséquences des crises douloureuses drépanocytaires vaso-occlusives, des dommages de l'endothélium des organes et le syndrome thoracique aigu ( BRUGNARA et al., 2006).

### 1.6. Diagnostic biologique.

- **Données hématologiques courantes.**

L'anémie est constante mais variable. A l'état basal, elle est normochrome, normocytaire ou macrocytaire, régénérative, autour de 60 à 80 g / l d'hémoglobine. Dans les crises de séquestration aiguë, l'anémie est profonde, vers

20 à 30 g / l d'hémoglobine , elle est arégénérative ( réticulocytose basse) dans les crises erythroblastopéniques. Une hyperleucocytose est habituelle (  $12 \times 10^9$  à  $16 \times 10^9$  / l) en l'absence de toute surinfection ( GENTILLINI, 1993).

▪ **Mise en évidence des drépanocytes.**

Les drépanocytes sont des hématies déformées en faucilles, parfois prolongées de longs filaments comme illustré sur la figure ci-dessous. Ils sont inconstants sur un frottis standard. ( Fig.4)



Figure 4 : Drépanocytes examinés au microscope à balayage( Encyclopédie Encarta ,2006).

Le Test d'Emmel , l'électrophorèse de l'hémoglobine et le test d'Itano sont des examens de routines au laboratoire pour la mise en évidence de la drépanocytose . ( Caquet , 2004 ).

**A. Test de falciformation *in vitro* ( Test d'Emmel.)**

Ce test consiste à priver les globules rouges en oxygène , entraînant ainsi la falciformation des globules rouges :

C'est le test le plus simple. Il consiste à placer une goutte de sang entre lame et lamelle et luter la préparation à la paraffine ou à la vaseline , déposer la préparation à la température ambiante sur la paillasse du laboratoire et lire au microscope à l'objectif X 40 après 24 heures ou 48 heures.

Pour un test positif , les érythrocytes falciformés sont visibles au microscope.

Selon GENTILLINI (1993), le test de falciformation ne permet pas de différencier les homozygotes Hb SS et les hétérozygotes Hb AS. Pour ce faire , GULBIS ( 2005 )



préconise la technique de séparation des fractions de l'hémoglobine car le test de falciformation n'est pas un bon moyen de dépistage des drépanocytes . En effet , le test d'Emmel peut être négatif après lecture au microscope alors que le patient est en fait Hb S positif.

### **B. Electrophorèse de l'hémoglobine.**

La plupart des hémoglobines anormales ( HbS) ont une charge électrique différente de l'hémoglobine adulte normale (HbA). En soumettant une hémoglobine suspecte à une migration électrophorétique dans un système adéquat, on peut reconnaître son caractère anormal et faire ainsi le diagnostic étiologique de la maladie .  
( CAQUET , 2004).

L'électrophorèse de l'hémoglobine s'effectue à différents pH sur papier , acétate de cellulose , gel d'amidon d'agar,etc. L' électrophorèse standard de dépistage s'effectue sur acétate de cellulose en tampon Tris-EDTA-acide borique , pH 8,2 - 8,6.Chez les drépanocytaires homozygotes , on découvre 90 à 97 % d'Hb S et 3 % HbF. ( GENTILLINI , 2003).

### **C. Test de solubilité sur le sang total. ( Test d'Itano).**

L'hémoglobine S , réduite par action de l'hydrosulfite de sodium , précipite dans une solution tampon phosphate de 2,24 M.

La technique de la mise en évidence de l'hémoglobine S par la méthode d'Itano est repris en annexe. ( Cfr Annexe 4 ).

### **1.7. Traitement.**

Le traitement passe d'abord par la prévention : éviction des facteurs précipitant une crise vaso-occlusive ( CVO) , prévention de l'infection , prévention des carences nutritionnelles etc.

Les conseils afin de prévenir les crises vaso-occlusives sont reprises dans le tableau ci-dessous :

Tableau 2 : Conseils pour prévention des crises vaso-occlusives chez les drépanocytaires ( GULBIS , 2005).

A éviter	A conseiller
Le froid	L'apport en eau, minimum 2, 5 l / j
La déshydratation	Alimentation salée, surtout lors des fièvres
L'hypoxie	Prise d'antipyrétiques lors des épisodes fébriles
Le stress	
Les efforts répétitifs	
La chaleur	
Les séjours en altitudes	
Les voyages en avions	
Le tabagisme	
L'alcool	

Aujourd'hui, le traitement de la drépanocytose a évolué rapidement avec la compréhension des mécanismes de la physiopathologie responsable de la symptomatologie (GARBAN et BARRO , 2003). L'amélioration de la qualité de la vie a été obtenue par une meilleure utilisation de la transfusion et des opiacés associés aux nouvelles thérapeutiques comme l'hydroxyurée et la greffe de moelle osseuse.

Les principales thérapeutiques sont données dans le tableau suivant :

Tableau 3 :. Principales thérapeutiques soignant la drépanocytose (BRUGNARA , 2006, GARBAN , 2003)

Principales thérapeutiques	Mécanismes d'actions
Transfusion sanguine	Permet d'abaisser le taux de HbS
Transplantation de la moelle osseuse	Traitement curatif, augmente le taux des HbA.
Thérapie génique (Stade expérimentale)	Inhibe la polymérisation des HbS dans un grand nombre des globules rouges.
Clotrimazole (antimycotique) .	Prévient la déshydratation des drépanocytes.

## 2. GENERALITES SUR LA SITUATION ACTUELLE DE LA MEDECINE TRADITIONNELLE EN AFRIQUE TROPICALE.

Personne n'ignore le rôle déterminant que jouent les plantes dans la thérapeutique ancestrale, parce qu'elles constituent la source principale des drogues utilisées en médecine traditionnelle. Cependant, la situation actuelle de la médecine traditionnelle en Afrique tropicale est butée à des difficultés de plusieurs ordres :

- Difficulté de faire un bon diagnostic.
- Difficulté de trouver la bonne plante pour préparer le médicament traditionnel.
- Mauvaises conditions de préparation du médicament
- Peu ou pas de suivi du malade.
- Tradition orale, localisée dans certaines régions.
- Phytothérapie associée à la divination.

Cet ensemble d'inconvénients entraîne la diminution de l'espérance de vie en Afrique Centrale qui est de 47 ans (ADJANOHOUN et al., 1992).

C'est pour cette raison que des initiatives ont été entreprises au niveau Africain pour recenser les plantes médicinales africaines ainsi que les recettes en vue de les étudier scientifiquement. Ceci permettrait ainsi de mieux répondre aux besoins locaux prioritaires de la santé. Cette banque de données appelée Banque de données PHARMEL, développée à l'Université Libre de Bruxelles avec l'aide de l'Agence de Coopération Culturelle et Technique (A.C.C.T) a dans son actif :

- 20.000 recettes traditionnelles.
- 4.000 espèces des plantes médicinales issues de 30 pays africains différents.
- 22.000 indications thérapeutiques concernant plus de 450 maladies ou effets physiologiques. (ADJANOHOUN et al., 1992).

## CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES

## **CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES.**

### **2.1. PRESENTATION DU MILIEU D'ETUDE.**

#### **2.1.1. Situation géographique.**

Les plantes médicinales antirépanocytaires utilisées dans notre étude ont été récoltées dans la région de Kisangani. Les zones de récoltes ciblées sont la ville de Kisangani et le village de Babogombe. Ville située au nord de la République Démocratique du Congo, Kisangani est la capitale de la province orientale. Sa superficie est d'environ 1910 km<sup>2</sup>. Son relief est caractérisé par des plateaux unis par des faibles pentes et des terrasses. Comme repères géographiques, Kisangani se retrouve à 00° 31'N de latitude et à 025° 11'E de longitude .( NSHIMBA , 2008).

En plus de la ville de Kisangani , Babogombe est notre second terrain d'étude. Ce village se trouvant à 32 km au Sud - Est de Kisangani , longe la route Kisangani - Ubundu située sur la rive gauche du fleuve Congo. Ses coordonnées géographiques obtenues par le système G.P.S. ( Global Positioning System ) le situe à 0° 17' 28'' N de latitude et à 25° 17' 19''E de longitude. Son altitude est de 440 m par rapport au niveau de la mer. Il comprend des diverses ethnies telles que les KUMU , TOPOKE , LENGOLA , LOKELE...

La ville de Kisangani et le village de Babogombe ont été ciblés comme zone d'étude du fait de la biodiversité végétale remarquable et accessible que l'on observe dans les jachères et les forêts de la région.

#### **2.1.2. Climat**

La région de Kisangani est entièrement comprise dans la zone climatique du type équatoriale. Les fluctuations thermométriques dans cette région oscillent entre 20 et 30° C avec une moyenne autour de 25° C. L'humidité relative moyenne mensuelle est de 84 % (KAMABU et LEJOLY, 1994).

Selon la classification de Köppen , la région de Kisangani jouit d'un climat de type AF , c'est à dire , une zone chaude et humide toute l'année , caractérisée par l'absence d'une réelle saison sèche( MATE , 1991).

La hauteur moyenne des pluies du mois le plus sec est supérieure à 60 mm et l'amplitude thermique est inférieure à 5° C.

La courbe ombrothermique ( fig. 5 ) établie sur base des moyennes mensuelles calculées à partir des relevés mensuels de températures et de précipitations obtenues à partir de l'année 1987 jusqu'à 1996 donne une idée précise du climat de la région de Kisangani (NSHIMBA , 2008).

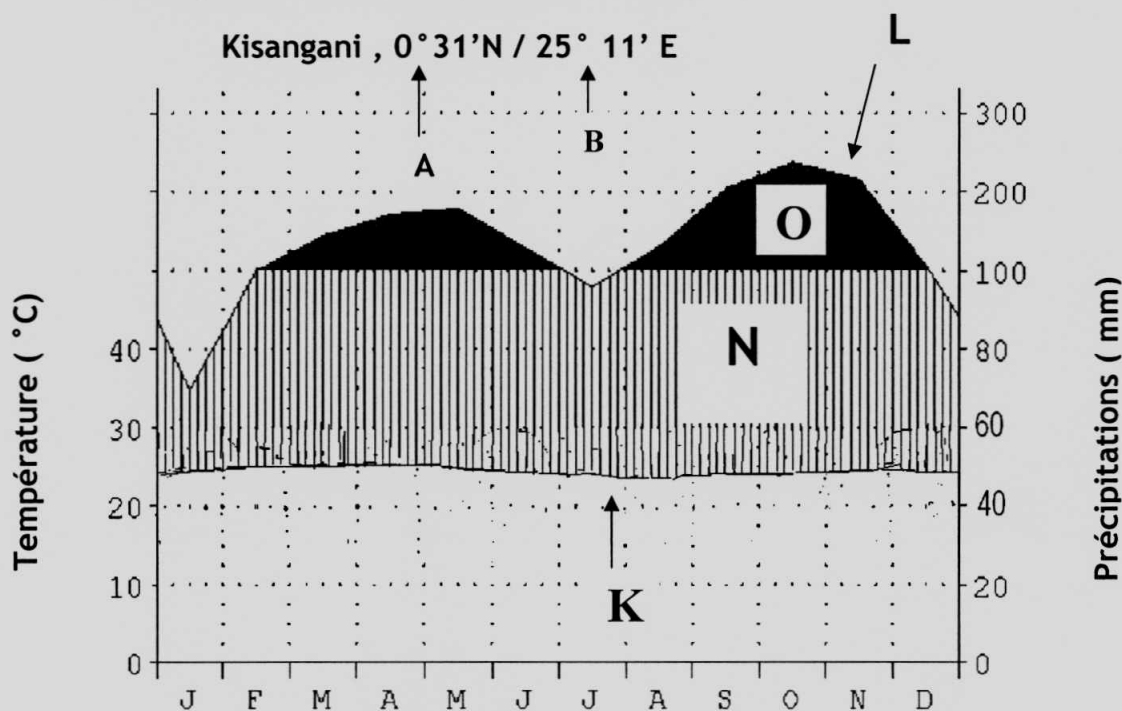


Figure 5 : Courbe ombrothermique de Kisangani ( 1987 -1996 )  
( NSHIMBA , 2008 )

Légende : ( A ) Latitude Nord , ( B ) Longitude Est , ( K ) Courbe de température moyenne mensuelle , ( L ) Courbe de précipitations moyennes mensuelles , ( N ) Les lignes verticales correspondent à une saison relativement humide , ( O ) , Précipitations moyennes mensuelles supérieures à 100 mm.

### 2.1.3.Végétation

Du point de vue phytogéographique , ROBYNS ( 1948) et NDJELE ( 1988) placent la région de Kisangani dans le secteur forestier central de la région Guinéenne .Ce

secteur est caractérisé par des forêts denses humides et des groupements végétaux de dégradations divers . On y trouve essentiellement :

- Les recrus forestiers ;
- Les forêts secondaires jeunes ;
- Les forêts secondaires remaniées ;
- Les forêts primitives.

## 2.2.. METHODOLOGIE DE LA RECOLTE ET DE LA CONSERVATION DES ECHANTILLONS

### 2.2.1. Récolte des plantes antidrépanocytaires.

La recherche de l'information, la récolte de la plante et la fabrication d'herbiers ont été les trois étapes pour récolter et conserver nos échantillons de plantes.

#### ○ La recherche de l'information.

Pour obtenir des informations auprès de la population (à Kisangani et à Babogombe) un questionnaire a été soumis aux enquêtés. Ce questionnaire nous a renseigné sur le nom vernaculaire de la plante antidrépanocytaire et le mode de préparation de la recette du médicament traditionnel soignant la drépanocytose. A l'issue de l'enquête, une liste des plantes à récolter a été dressée.

Les figures 6 a et b montrent les photographies de quelques séances d'entretien avec les enquêtés :



a



b

Figure 6 : Enquête ethnobotanique sur les plantes antidrépanocytaires ( Village Babogombe Pk 32 de Kisangani)

○ Récolte des plantes utilisées contre la drépanocytose.

Avant la récolte, les coordonnées G.P.S. des points des récoltes des plantes antidrèpanocytaires ont été notés. Ces points ont ensuite été traités à l'aide du logiciel ArcView® en vue de l'élaboration d'une carte de la zone d'étude .( Fig 7)

Un guide forestier et un botaniste nous ont aidé pendant la récolte des plantes médicinales dans les jachères et la forêt secondaire.(Fig 8 a et b).

La figure 7 est une carte illustrant les points de récoltes des plantes médicinales utilisées contre la drépanocytose par les habitants de Babogombe. ( RDCongo).

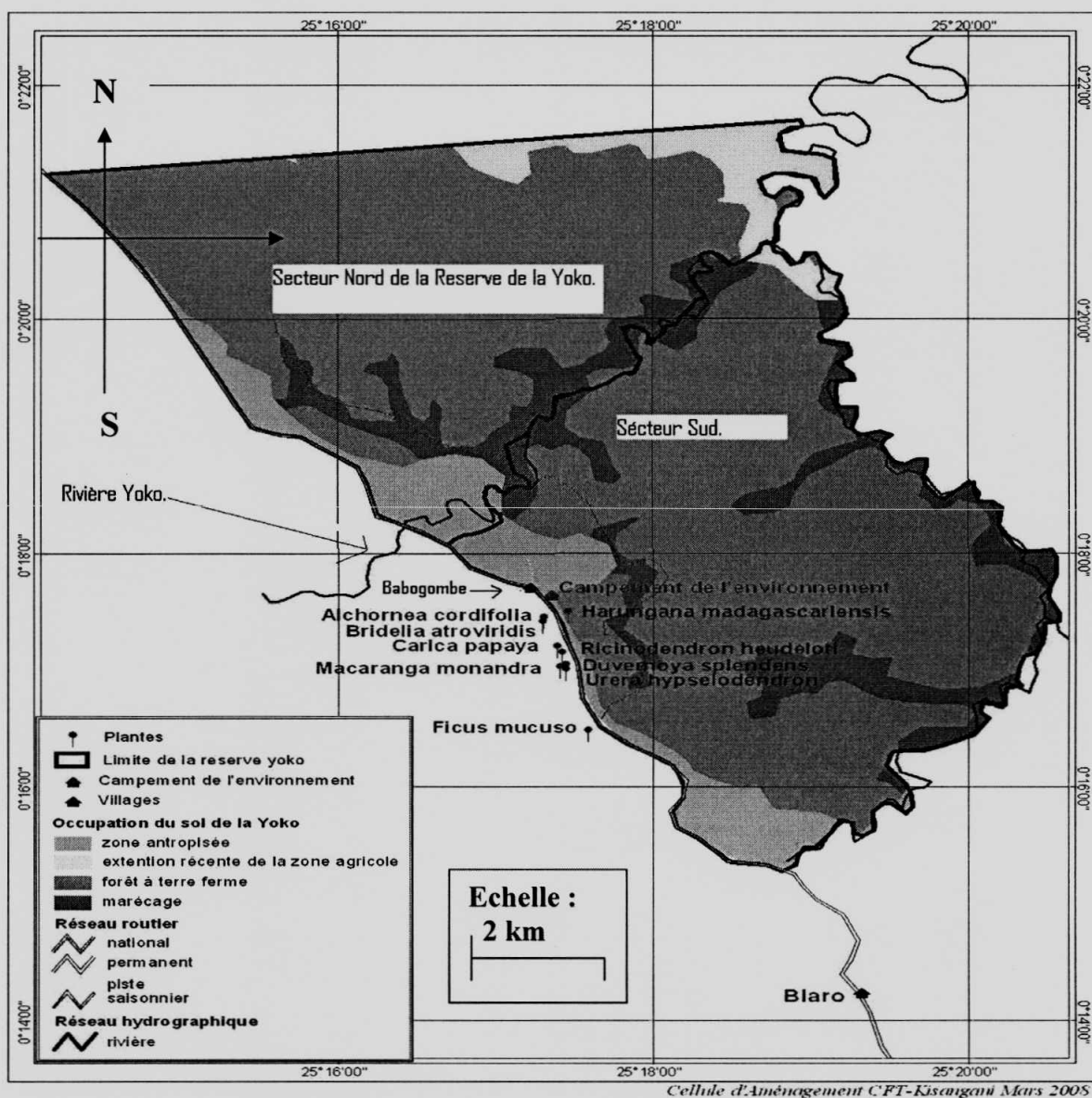


Figure 7: Carte des points de récoltes des plantes antidrèpanocytaires des habitants de Babogombe ( PK 32 de Kisangani en RDCongo.).



Les figures 8 ( a et b ) illustre sur image la récolte des plantes médicinales



a



b

Figure 8 : Récolte des écorces des plantes : Apendenyoka en dialecte Swahili Fig 8 a ( *Ficus mucuso* ) , et Botondolondo en dialecte Topoke Fig 8 b( *Harungana madagascariensis*).

### 2.2.2. Conservation des échantillons de plantes.

A chaque récolte du matériel végétal, nous avons confectionné deux lots de la même plante :

- Un premier lot a été utilisé pour l'étude de l'activité biologique des plantes. Ce lot a été conservé lors de la récolte dans des sachets noirs.
- Un second lot de matériel végétal a été conservé dans des herbiers en vue de leur identification dans le laboratoire de botanique de la Faculté des Sciences de l'Université de Kisangani. Il est à noter que chaque plante a été photographiée à l'aide d'un appareil photo numérique de marque *Mercury Cyberpix s- 590 Y* .(Fig.9 a et b)



a



b

Figure 9 : Confection d'herbier des plantes antirépanocytaires au Village Babogombe.

### 2.2.3. Obtention et conservation des échantillons de sang drépanocytaire.

Les échantillons de sang drépanocytaire utilisés au cours de notre étude ont été obtenus au centre GRACIA FONDATION. Situé dans la commune de Makiso, ce centre est le seul spécialisé dans le dépistage, le traitement et la prise en charge des personnes drépanocytaires dans la ville de Kisangani. Le dépistage du sang drépanocytaire au laboratoire de cette institution se fait par la méthode d'électrophorèse de l'hémoglobine ( électrophorèse sur papier). Le sang, transporté dans une glacière, est conservé au réfrigérateur à 4°C au laboratoire de la Faculté des Sciences de l'Université de Kisangani pour traitement ultérieur .(Fig. 10 a et b ).

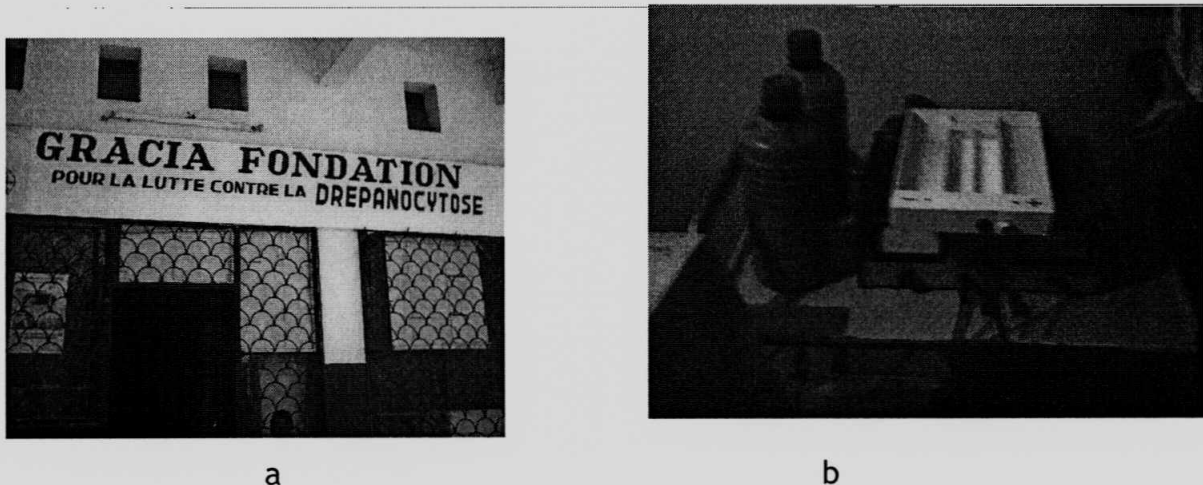


Figure 10 : Centre Gracia Fondation (a : à gauche) ; appareil pour électrophorèse d'hémoglobine de Gracia Fondation (b : à droite).

## 2.3. EXPERIMENTATION AU LABORATOIRE.

### 2.3.1. Préparation des extrait végétaux.

Les extraits végétaux ayant servi pour notre expérimentation ont été obtenue par la macération de la poudre des plantes ( MPIANA et al., 2007). L'eau distillée et l'éthanol absolu ont été utilisés comme solvants pour la macération.

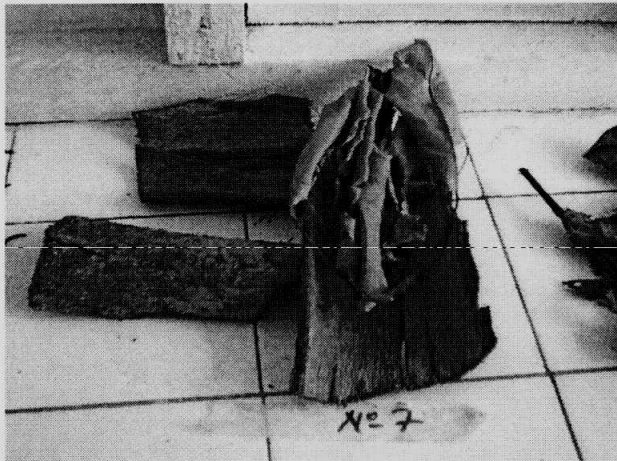
Pour obtenir les extraits des plantes antidrépanocytaires , la méthodologie suivante a été adoptée :

### A ) Obtention de la poudre des plantes.

Pour obtenir la poudre à partir des plantes médicinales, nous avons procédé au séchage et broyage des échantillons végétaux.

#### 1. Séchage des plantes en deux temps :

- A température ambiante (27° C) de laboratoire pendant 2 semaines (Fig.11a)
- A 40° C en utilisant un four de marque HERAEUS pendant 48 heures. (Fig 11 b)



a



b

Figure 11 : Séchage des écorces des plantes antidiabétiques :

a) Température ambiante ( 27° c) et. b) Au four Pasteur ( 40° c)

#### 2 Broyage et conservation de l'échantillon

La plante séchée ( écorces de tronc ou feuilles) est broyée dans un mortier traditionnel (Fig.12 a) . Ce broyat est ensuite tamisé à l'aide d'un tamis de marque USA de 500µm de maille de diamètre en vue de l'obtention d'une poudre fine. La conservation des poudres végétales se fait dans des sachets ( Fig 12.b) qui sont ensuite placés dans une armoire.



a



b

Figure 12 : Broyage et conservation des poudres de plantes antidrèpanocytaires.

a ) Broyage des écorces des plantes . b ) Poudres conservés en sachets.

### **B) Pesage et macération de la poudre des plantes**

10 grammes de poudre végétale ont été pesées dans un flacon propre à l'aide d'une balance de précision (à 0,001 gr) de marque *Sartorius*. 100 millilitres de solvant ( eau distillée ou éthanol ) sont ajoutés à la poudre. Le mélange est laissé en macération pendant 48 heures à la température de laboratoire(27°C).

### **C) Filtration et concentration de l'extrait végétal.**

La filtration intervient après 48 heures de macération (Fig .13 ) . On utilise pour ce faire un papier filtre de marque WHATMAN de 20 - 25µm de maille de diamètre. Après filtration , l'extrait est concentré dans l'étuve à 37°C pendant 72 heures. Ce processus est indiqué en vue de chasser tout le solvant de notre extrait végétal. Nous obtenons ainsi un extrait sec prêt pour l'expérimentation. Avant l'expérimentation, l'extrait sec est conservé dans un flacon sombre et placé dans une armoire en vue de protéger les composés photo labiles.

La figure 13 ci dessous nous montre la filtration du macéré des plantes antidrèpanocytaire.



Figure 13 : Filtration des macérés des plantes antidrépanocytaires au laboratoire.

### 2.3.2. Etude de l'activité biologique antidrépanocytaire des extraits végétaux.

#### 1. Test de Falciformation

Le test de falciformation selon la technique d'Emmel (CAQUET, 2004) est la méthode choisie pour la mise en évidence de l'activité des extraits de plantes sur la morphologie des drépanocytes. Pour réaliser cette expérience *in vitro*, le test de falciformation selon la technique d'Emmel a été effectuée sur un échantillon témoin et sur un échantillon test.

L'échantillon témoin est l'échantillon de sang d'un drépanocytaire avant traitement aux extraits de la plante antidrépanocytaire.

L'échantillon test est celui qui a été traité aux extraits de la même plante.

#### A. Test de falciformation avant traitement aux extraits végétaux des plantes antidrépanocytaires.

##### - Sur l'échantillon témoin :

- Réaliser le test de falciformation selon la technique d'Emmel (Caquet, 2004), sans ajouter l'extrait de végétal.
- Incuber les préparations à température ambiante de laboratoire pendant 24 heures.
- Compter le nombre des érythrocytes falciformés ( Drépanocytes) et des érythrocytes normaux à l'aide d'un microscope optique (objectif x 40).

B. Test de falciformation après traitement aux extraits des plantes antidrèpanocytaires.

- Sur l'échantillon test :

- Déposer sur plusieurs lames pour microscopie une goutte de sang drèpanocytaire.
- Sur chaque préparation, ajouter une goutte de l'extrait végétal en variant la concentration de l'extrait végétal (mg /ml ).
- Mélanger doucement les préparations et couvrir ensuite chaque préparation d'une lamelle.
- Luter les préparations à la paraffine bougie afin de les priver d'Oxygène. Ceci provoque ainsi la falciformation des érythrocytes. (Caquet , 2004) ;
- Incuber à température ambiante pendant 24 heures ;
- Compter les érythrocytes falciformes et les érythrocytes normaux à l'aide du microscope optique à l'objectif x40 (Fig.14 a).



a



b

Figure 14 : Microscope optique utilisé (Fig 14 a), préparation des échantillons (Fig 14 b).

## 2. Numérisation des images.

La numérisation des images des hématies drèpanocytaires avant et après traitements aux extraits des plantes antidrèpanocytaires s'est effectuée à l'aide de l'appareil photo numérique de marque *Mercury Cyberpix s- 590*

### 3 Comparaison des diamètres moyens des drépanocytes avant et après traitement aux extraits des plantes antidrépanocytaires.

#### a) Mesure des diamètres.

La méthode de micrométrie (Anonyme, 1964) est celle qui a été utilisée pour mesurer les diamètres des drépanocytes sur l'échantillon témoin et sur l'échantillon test.

Les drépanocytes ayant une forme ellipsoïde allongée, il existe donc 2 diamètres : le diamètre (a) , plus grand et le diamètre (b) , plus court. Nous avons pris les mesures des diamètres les plus grands (diamètres a) et avons négligé ceux des diamètres courts. (diamètres b).

#### b) Traitement statistiques des données

La méthode de micrométrie étant très astreignante pour les yeux, nous avons mesuré les diamètres d'un nombre limité de drépanocytes. Le choix des drépanocytes à mesurer s'est fait au hasard dans l'échantillon témoin et dans l'échantillon test.

Le test statistique choisi pour comparer les moyennes des diamètres des deux échantillons ( échantillon témoin et échantillon à tester ) est le Test T de Student. (WALPOLE et al , 2002 ).

### 4. Détermination de la Concentration Minimale de Normalisation

Les drépanocytes ont une forme faucille. Une activité des plantes soignant la drépanocytose se traduirait par une réversibilité des drépanocytes, de la forme faucille à la forme ovale normale.

La Concentration Minimale de Normalisation (C.M.N.) est la concentration minimale requise d'un extrait végétal qui donne un taux de normalisation maximal des drépanocytes ( en % ) , même si ce taux est de 50 %. Cette C.M.N est déterminée en variant la concentration des extraits végétaux à tester sur un échantillon de sang drépanocytaire.

Plusieurs dilutions de l'extrait végétal ont été testées sur des échantillons de sang drépanocytaires en vue de calculer la concentration minimale de normalisation des drépanocytes. Les concentration des extraits végétaux sont exprimées en mg / ml.

---



## CHAPITRE 3 : RESULTATS

## CHAPITRE 3 : RESULTATS.

### 3.1. RESULTATS DES ENQUETES SUR LES PLANTES ANTIDREPANOCYTAIRES.

#### A. PLANTES ANTIDREPANOCYTAIRES UTILISEES DANS LE VILLAGE DE BABOGOMBE

##### 1. *Ficus mucoso* Welw.ex Ficalho

Nom vernaculaire : Apendenyoka ( Swahili)

Famille : Moraceae.

Habitat : Jachère arbustive.

Type morphologique : arbre

Coordonnées GPS :

- Latitude : 00° 16' 27'' N
- Longitude : 025° 17' 35''E
- Altitude : 432 m

Préparation du médicament traditionnel : bouillir longtemps les écorces de tronc et donner un verre le matin et le soir pour les adultes. Pour les enfants, donner 3 cuillères à café du décocté le matin et le soir.

##### 2. *Harungana madagascariensis*. Lam. Ex Poir.

Nom vernaculaire: Botondolondo (Topoke) ; Kanjeunjeu ( Kumu)

Famille : Clusiaceae (WOME ,1985).

Habitat : forêt secondaire.

Type morphologique : Arbuste.

Coordonnée GPS :

- Latitude : 00° 17' 28''N
- Longitude : 025° 17' 27''E
- Altitude : 425 m.

Préparation du médicament traditionnel: faire la décoction des écorces de tronc. Ajouter du sucre. Donner une cuillère à café de ce breuvage le matin et le soir.

3. *Bridelia atroviridis* Mull.Arg.

Nom vernaculaire : Buo ( Lengola ) ; Ngiangange ( Topoke ) ; Bidjegu ( Kumu ).

Famille : Euphorbiaceae.

Habitat : au bord de la route.

Type morphologique : arbre.

Coordonnée GPS :

- Latitude : 00° 17' 25'' N
- Longitude : 025° 17' 18'' E
- Altitude : 439 m.

Préparation et posologie du médicament traditionnel : on se lave le corps avec le macéré des écorces de la plante, sans toucher la tête.

4 . *Alchornea cordifolia*. (Schum. et Thonn) Mull.Arg.

Nom vernaculaire : Mbonje mbonje (Swahili) ; Mabunji (Lengola)

Famille : Euphorbiaceae.

Habitat : forêt secondaire.

Type morphologique : arbuste.

Coordonnée GPS :

- Latitude : 00° 17' 25'' N
- Longitude : 025° 17' 18'' E
- Altitude : 439 m

Préparation et posologie du médicament traditionnel: la décoction des feuilles séchées est bue, un verre le matin et un verre le soir.

5. *Carica papaya* L.

Nom vernaculaire : paipai (Lingala)

Famille : Caricaceae.

Habitat : au bord de la route.

Type morphologique : arbuste

Coordonnée GPS :

- Latitude : 00° 17' 10'' N
- Longitude : 025° 17' 23'' E

- Altitude : 431 m.

Préparation et posologie du médicament traditionnel: les feuilles séchées sont utilisées pour préparer une décoction. On ajoute du sucre. La posologie est d'un verre le matin et un verre le soir.

6. *Ricinodendron heudelotii* ( Baill.) Pierre ex Heckel

Nom vernaculaire : Lisongo (Topoke).

Famille : Euphorbiaceae.

Habitat : forêt secondaire.

Type morphologique : Arbre.

Coordonnées GPS :

- Latitude : 00° 17' 07'' N
- Longitude : 025° 17' 25'' E
- Altitude : 435 m

Préparation et posologie du médicament traditionnel: la décoction aqueuse des écorces de tronc est bue, un verre le matin et un verre le soir.

La décoction aqueuse des écorces de tronc est aussi utilisée au cours d'un bain pour les jeunes bébés drépanocytaires.

7. *Macaranga monandra* Mull. Arg.

Nom vernaculaire : Ngenge (Kumu) ; Nkamgulia (Lengola)

Famille : Euphorbiaceae.

Habitat : forêt secondaire.

Type morphologique : arbre.

Coordonnées GPS :

- Latitude : 00° 17' 01' N
- Longitude : 025° 17' 26'' E
- Altitude : 428 m.

Préparation et posologie du médicament traditionnel : remplir un sceau avec de l'eau. Ajouter les râpures de l'écorce de tronc dans le sceau. Macérer 30 minutes. Se laver avec le macéré en veillant à ne pas toucher la tête.

8. *Urera hypselodendron* (Hochst.) Wedd.

Nom vernaculaire : Bako koko (Lengola) ; Ka washa washa (Swahili).

Famille : Urticaceae.

Habitat : rudérale

Type morphologique : herbe.

Coordonnées GPS :

- Latitude : 00° 17' 01'' N.
- Longitude : 025° 17' 26'' E
- Altitude : 425m.

Préparation et posologie du médicament traditionnel : la décoction des feuilles est bue, un verre le matin et un verre le soir. Pour les enfants, la posologie est de 2 cuillères par jour soit une cuillère le matin et une autre le soir.

#### 9. *Duvernoya splendens* Lois.

Nom vernaculaire : Kasa magakia (Kumu) ; Damu -damu (Swahili)

Famille : Acanthaceae.

Habitat : rudérale.

Type morphologique : sous arbuste.

Coordonnées GPS :

- Latitude : 00° 17' 01'' N
- Longitude : 025° 17' 26'' E
- Altitude : 425 m.

Préparation et posologie du médicament traditionnel : décoction des feuilles est bue, un verre le matin et un verre le soir.

### B. PLANTES ANTIDREPANOCYTAIRES UTILISEES PAR LES HABITANTS DE KISANGANI.

#### 1. *Morinda lucida*. Benth.

Nom vernaculaire : Isuka ( Turumbu)

Famille : Rubiaceae.

Type morphologique: arbre.

Habitat : forêt secondaire.

Préparation et posologie du médicament traditionnel : la décoction des feuilles est bue, deux verres le matin et deux verres le soir.

2. *Fagara macrophylla* .Oliv( Engl)

Nom vernaculaire : Olongo (Turumbu)

Famille : Rutaceae.

Type morphologique : arbre.

Habitat : forêt secondaire.

Préparation et posologie du médicament traditionnel : la décoction des écorces de racines est bue en raison de 2 verres par jour pendant 7 jours.

3. *Centella asiatica* ( L.) Urb.

Nom vernaculaire : Tototolo ( Turumbu)

Famille : Apiaceae.

Habitat : rudérale.

Type morphologique : herbe.

Préparation et posologie du médicament traditionnel : l'infusé aqueux des feuilles pilées s'emploie per os, à raison d'un verre par jour.

4 . *Alchornea cordifolia*. (Schum. & Thonn.) Mull. Arg.

Nom vernaculaire : Libonze (Turumbu) ; Mbonje mbonje (Swahili).

Famille : Euphorbiaceae.

Habitat : forêt secondaire.

Type morphologique : arbuste.

Préparation et posologie du médicament traditionnel: la décoction des feuilles séchées est bue, un verre le matin et un verre le soir.

5. *Bridelia ripicola* J. Léonard

Nom vernaculaire : Osaku (Lokele).

Famille : Euphorbiaceae.

Type morphologique : arbre.

Habitat : forêt sur sol hydromorphe.

Préparation et posologie du médicament traditionnel : les feuilles fraîches sont consommées en raison de 2 bouchées par jour pendant 7 jours.

6. *Thomandersia hensii*. De Wild. et Th. Dur.

Nom vernaculaire : Ikoka (Turumbu) ; Liowa (Topoke).

Famille : Acanthaceae.

Type morphologique : arbuste.

Habitat : jachères arbustives.

Préparation et posologie du médicament traditionnel : le décocté aqueux des feuilles est prescrit per os en raison d'un verre le matin et d'un verre le soir.

7. *Maesopsis eminii*. Engl

Nom vernaculaire : inconnu

Famille : Rhamnaceae

Type morphologique : arbre.

Habitat : forêt secondaire.

Préparation et posologie du médicament traditionnel : la décoction aqueuse des écorces des troncs est utilisée per os (un verre par jour).

8. *Mitragyna stipulosa*. (DC.) O. Ktze

Nom vernaculaire : Eboma (Topoke)

Famille : Rubiaceae.

Type morphologique : arbre.

Habitat : forêt marécageuse.

Préparation et posologie du médicament traditionnel : la décoction des écorces de tronc est bue en raison de 2 verres par jour pendant 7 jours.

9. *Acacia kirkii* Oliv.

Nom vernaculaire : inconnu de nos informateurs.

Famille : Mimosaceae.

Type morphologique : Arbre.

Habitat : jachère arbustive.

Préparation et posologie du médicament traditionnel : la décoction des écorces de tronc est bue en raison de 2 verres par jour pendant 3 jours.

10 . *Eleutherine plicata*. Herb.

Nom vernaculaire : inconnu.

Famille : Iridaceae.

Type morphologique : Herbe.

Habitat : jachère

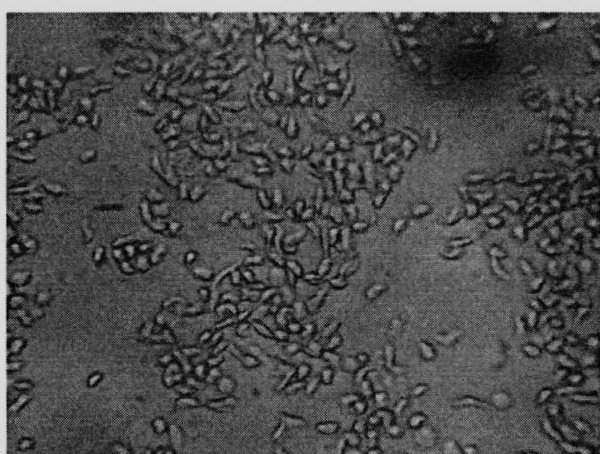
Préparation et posologie du médicament traditionnel : le bulbe de racine est préparé en décoction. Le remède est bu en raison de 2 verres par jour pendant 5 jours.

### 3.2. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIDREPANOCYTAIRES DES PLANTES.

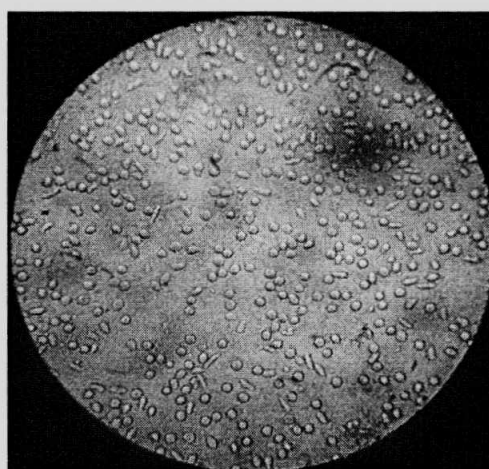
#### 3.2.1. PLANTES ANTIDREPANOCYTAIRES DE KISANGANI.

##### 3.2.1.1. Test de falciformation.

Le test d'Emmel nous a permis d'évaluer l'activité des extraits de différentes plantes sur la morphologie des drépanocytes. La figure 15a montre le sang SS seul utilisé comme témoin tandis la figure 15b représente une figure type du sang SS en présence d'un extrait de plante ; dans ce cas précis, il s'agit d'un extrait de *Centella asiatica*.



a



b

Figure 15 : Erythrocytes du sang SS seul (témoin)(a) et après traitement aux extraits de *Centella asiatica* (b).



La figure 15a montre que la majorité des érythrocytes a la forme falciforme, ce qui confirme que notre témoin est bel et bien le sang SS. Par contre la figure 15b montre que lorsque le même échantillon de sang SS est traité avec l'extrait de *Centella asiatica*, la majorité des drépanocytes retrouve la forme normale ovale. Il reste un reliquat (négligeable) de drépanocytes sur l'échantillon traité. Ces résultats prouvent que la plante a une activité anti-falciformation *in vitro*.

Ce test a été effectué pour toutes les plantes recensées. Les érythrocytes falciformes et les érythrocytes normalisés ont été comptés sur les échantillons témoins et les échantillons Test. Pour chaque échantillon 100 érythrocytes ont été considérés (Falciformes et normaux « Ovalocytes »).

Le tableau 4 ci-dessous donne les résultats de l'activité biologique des plantes utilisées contre la drépanocytose à Kisangani.

Tableau 4 : Activité biologique des plantes antidrépanocytaires utilisées à Kisangani.

N°	Noms Scientifiques	Organe utilisé	Extrait aqueux	Extrait éthanolique
1	<i>Acacia kirkii</i>	Ecorces de tronc	+	-
2	<i>Alchornea cordifolia</i>	Feuilles	+++	++
3	<i>Bridelia ripicola</i>	Ecorces de tronc	++	++
4	<i>Centella asiatica</i>	Feuilles	+++	+++
5	<i>Eleutherine plicata</i>	Bulbe souterraine	-	-
6	<i>Fagara macrophylla</i>	Ecorces de tronc	++	+
7	<i>Maesopsis eminii</i>	Ecorces de tronc	+++	++
8	<i>Mitragyna stipulosa</i>	Ecorces de tronc	+	-
9	<i>Morinda lucida</i>	Feuilles	++	+
10	<i>Thomandersia hensii</i>	Feuilles	+++	++

Légende :

Forte activité (+++ ) : Normalisation des drépanocytes très élevée ( > 70 %)

Activité moyenne ( ++ ) : Normalisation des drépanocytes bonne ( > 50 %)

Faible activité ( + ) : Normalisation des drépanocytes faible ( < 50 %).

Activité nulle ( - ) : Normalisation des drépanocytes nulle ( 0 % ).

Il ressort du tableau 4 que la majorité des extraits des plantes antidrépanocytaires utilisées à Kisangani ont montré une activité anti-falciformation sur les drépanocytes. Cette activité de normalisation des drépanocytes varie en fonction du solvant d'extraction : en utilisant des extraits aqueux, 40 % de plantes antidrépanocytaires ont montré une forte activité de normalisation des drépanocytes ( > 70 % de normalisation) tandis que pour les extraits éthanoliques, 10 % seulement des mêmes plantes ont réalisé la même performance.

Certaines plantes antidrépanocytaires comme *Centella asiatica* et *Thomandersia hensii* ont manifesté une très forte activité anti-falciformation (> 70 % de drépanocytes normalisés) alors que d'autres comme *Acacia kirkii* n'ont manifesté qu'une activité moyenne (< 50 % de drépanocytes normalisés). Sur les dix plantes utilisées à Kisangani contre la drépanocytose, seule une espèce n'a montré aucune activité antidrépanocytaire, il s'agit d' *Eleutherine plicata*.

#### 3.2.1.2. Détermination de la Concentration Minimale de Normalisation (C.M.N.).

La Concentration Minimale de Normalisation des drépanocytes est la plus petite concentration en extrait végétal qui puisse remettre le maximum possible des drépanocytes dans la forme normale (ovale). Cette concentration est importante car elle permet non seulement de comparer l'activité biologique de différentes plantes mais peut être une base rationnelle de détermination de la dose probable à administrer. Elle est obtenue en portant le taux de normalisation des drépanocytes en fonction de différentes concentrations de l'extrait végétal à tester.

Le tableau 5 donne le Taux de Normalisation ainsi que la C.M.N. après traitement des drépanocytes aux extraits aqueux de *Centella asiatica*.

Tableau 5 : Taux de normalisation et C.M.N après traitement des drépanocytes aux extraits aqueux de *Centella asiatica*.

C.E.V. (mg/ml)	Nombre D.F.		T.N (%)	CMN ( mg/ml)
	Avant T	Après T		
168,75	85	24	71,76	
112,5	85	24	71,76	
75	85	24	71,76	
50	85	24	71,76	
<b>25</b>	<b>85</b>	<b>24</b>	<b>71,76</b>	<b>25</b>
12,5	85	35	58,82	
6,25	85	50	41,17	
3,125	85	60	29,41	
1,562	85	65	23,52	
0,781	85	66	22,35	
0,39	85	68	20,00	
0,195	85	70	17,64	
0,097	85	75	11,76	
0,048	85	80	5,88	
0,024	85	85	0,00	

Légende :

C.E.V. : Concentration de l'extrait végétal (mg / ml ).

Nombre des D.F. : Nombre des drépanocytes.

T.N. : Taux de normalisation des drépanocytes ( %).

C.M.N. : Concentration Minimale de Normalisation ( mg / ml).

Avant T. : Avant traitement ( de l'échantillon de sang aux extraits aqueux)

Après T. : Après traitement ( de l'échantillon de sang aux extraits aqueux).

Le tableau 5 indique que sur un total de 85 de drépanocytes , 71,76 % ont été normalisés en ovalocytes quand la C.E.V atteint 25 mg / ml. Cette C.E.V. équivaut donc à la Concentration Minimale de Normalisation ( CMN). Il est à noter que même si l'on augmente la C.E.V. à plus de 25 mg /ml , le T.N. (71,76%) ne change pas. Le maximum du Taux de Normalisation des drépanocytes serait donc atteint avec la C.M.N.

La figure 16 donne la variation du taux de normalisation en fonction de la concentration des extraits aqueux de *Centella asiatica*.

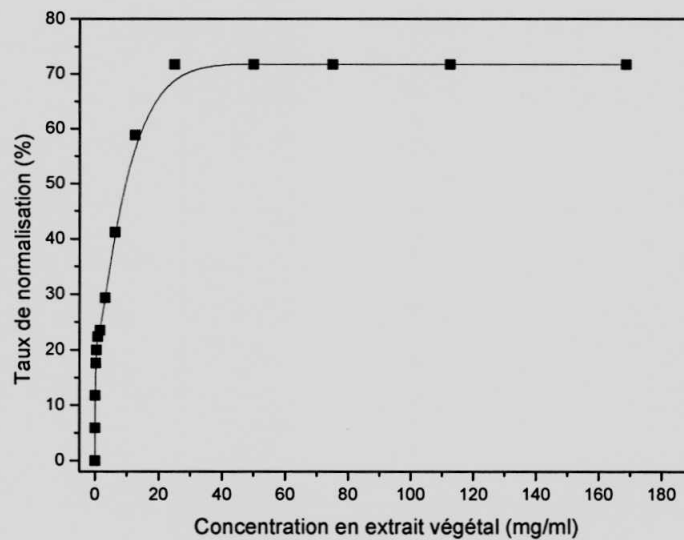


Figure 16 : Evolution du taux de Normalisation des drépanocytes en fonction de la concentration en extraits de *Centella asiatica* (Cfr tab.5)

La figure 16 montre que la courbe du taux de normalisation des drépanocytes augmente avec la concentration en extrait végétal pour atteindre une valeur maximale constante quelque soit l'augmentation de la concentration en extrait végétal. Ce palier est atteint à la concentration de 25 mg /ml qui constitue la CMN. La Figure 17 quant à elle, donne l'évolution du taux de normalisation des drépanocytes en fonction de la concentration en extrait de *Thomandersia hensii*.

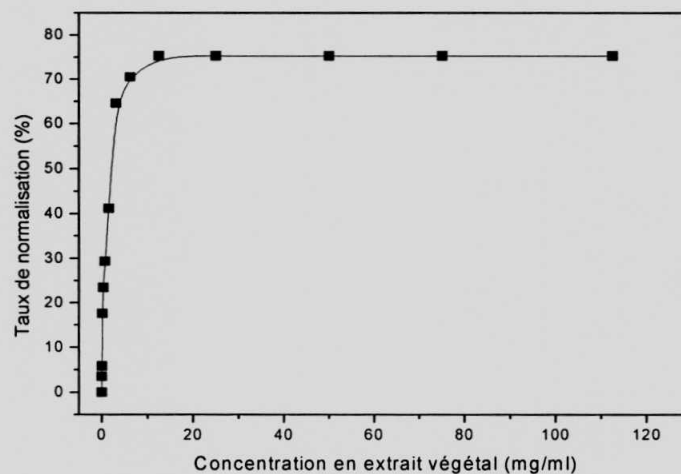


Figure 17 : Evolution du taux de normalisation des drépanocytes en fonction de la concentration en extrait de *Thomandersia hensii*. (Cfr annexe 1).

La figure 17 montre la même allure que la courbe précédente (Fig.16), le taux de normalisation augmente avec la concentration en extrait de *Thomandersia hensii* pour atteindre une valeur maximale de 75 %. Cette valeur est atteinte pour une concentration de 12,5 mg/ml et reste constante quelque soit l'augmentation de la concentration en extrait végétal.

### 3.2.1.3. Mesures des diamètres des drépanocytes avant et après traitement aux extraits des plantes.

Pour confirmer la modification de la morphologie des drépanocytes apportée par la présence des extraits végétaux, nous avons voulu comparer les diamètres moyens des drépanocytes avant et après traitement aux extraits des plantes.

Le test T de Student nous a permis de comparer les diamètres moyens des drépanocytes avant et après traitement aux extraits de l'une des plantes les plus actives, *Centella asiatica*.

Avant d'appliquer le test T, nous avons effectué le test F qui conclue que les 2 échantillons proviennent d'une population dont les variances ( $S^2$ ) sont similaires. Et c'est dans l'acceptation de cette hypothèse que le test T de Student peut être effectué ( WALPOLE et al , 2002).

Le tableau 6 donne les diamètres moyens des drépanocytes avant et après traitement aux extraits de *Centella asiatica* en se basant sur les hypothèses statistiques suivantes :

#### Hypothèses statistiques :

##### 1) Test T de Student.

1.  $H_0 : \bar{x}_1 = \bar{x}_2$

2.  $H_1 : \bar{x}_1 > \bar{x}_2$

$\alpha = 0,05$

##### 2) Test F

1.  $H_0 : S_1^2 = S_2^2$

2.  $H_1 : S_1^2 \neq S_2^2$

$\alpha = 0,05$

Tableau 6. Comparaison des diamètres moyens des drépanocytes avant et après traitement aux extraits de *Centella asiatica*.

Paramètres calculés	Avant traitement	Après traitement
n ( nombres d'observations)	6	8
$\bar{x}$ ( moyenne des diamètres en $\mu\text{m}$ )	14	8,7
s ( écart -type)	2,2	1,6
$S^2$ ( variance)	4,8	2,4
<b>Test F</b>		
Degré de liberté	5 et 7	
Valeur table ( $\alpha : 0,05$ )	5,29	
Valeur calculée( $\alpha : 0,05$ )	2,05	
Décision statistique	Acceptation $H_0: S^2_1=S^2_2$ car $F$ calculé < $F$ table	
<b>Test T de Student</b>		
Degré de liberté	12	
Valeur table ( $\alpha 0,05$ )	3,055	
Valeur calculée( $\alpha 0,05$ )	5,331	
Décision statistique	rejet $H_0 : \bar{x}_1 > \bar{x}_2$ car $T$ Calculé > $T$ Table à $\alpha 0,05$	

Légende :

$\bar{x}_1$  = moyenne diamètre des drépanocytes avant traitement aux extraits des plantes

$\bar{x}_2$  = moyenne des diamètres drépanocytes après traitements aux extraits des plantes.

$S_1^2$  = variance avant traitement aux extraits des plantes

$S_2^2$ = variance après traitement aux extraits des plantes.

$\alpha$ = niveau du seuil ( risque  $\alpha$ ).

$H_0$  = Hypothèse nulle.

$H_1$ = Hypothèse alternative.

Le test F concluant à une similarité entre variance  $S_1^2$  et  $S_2^2$ , nous avons effectué le test T de Student.

Le calcul du test T nous montre que  $T$  calculé ( 5,331) >  $T$  observé ( 3,055) sur table à  $\alpha = 0,05$ .

Nous rejetons donc l'hypothèse nulle  $H_0: \bar{x}_1 = \bar{x}_2$  et acceptons l'hypothèse alternative  $H_1: \bar{x}_1 > \bar{x}_2$ .

Nous pouvons ainsi conclure que le diamètre moyen  $\bar{x}_1$  (en  $\mu\text{m}$ ) des drépanocytes avant traitement aux extraits de *Centella asiatica* est significativement différent (au seuil  $\alpha = 0,05$ ) du diamètre moyen  $\bar{x}_2$  (en  $\mu\text{m}$ ) des drépanocytes normalisés après traitements aux extraits de la plante.

La différence entre les moyennes des drépanocytes est aussi illustrée dans le graphique ci dessous.

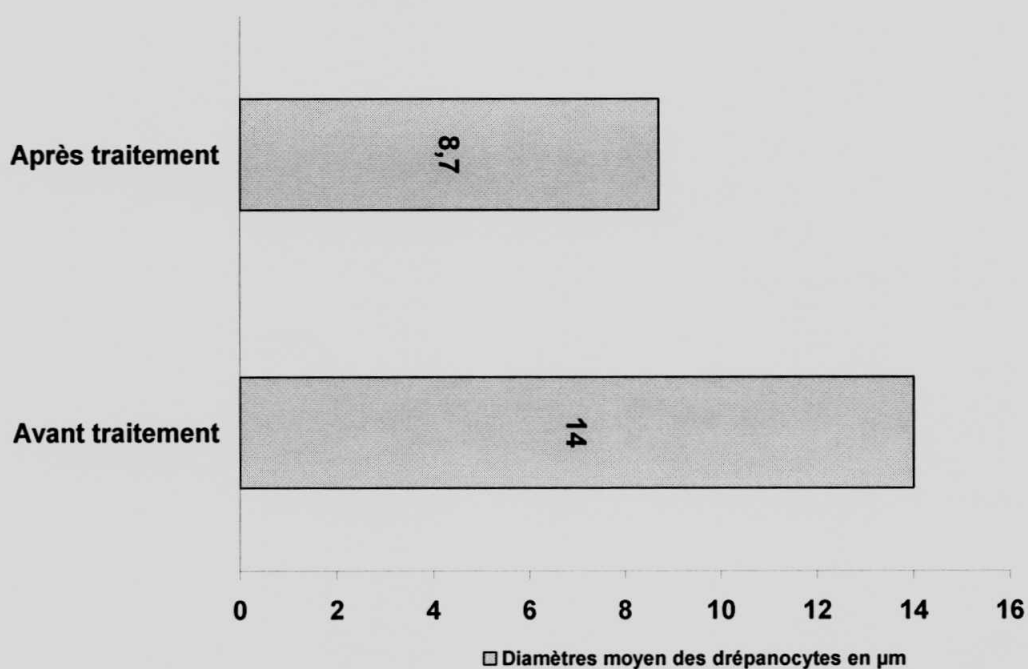


Figure 18 : Diamètres moyens en  $\mu\text{m}$  des drépanocytes avant et après traitement aux extraits aqueux de *Centella asiatica*

La figure 18 montre que le diamètre moyen des drépanocytes diminue sensiblement après traitement avec les extraits aqueux de *Centella asiatica*. En effet, avant traitement aux extraits aqueux, le diamètre moyen des drépanocytes est de  $14,0\mu\text{m}$  tandis qu'après traitement aux extraits, ce diamètre se réduit sensiblement pour atteindre une valeur moyenne de  $8,7\mu\text{m}$ .

### 3.2.2. PLANTES ANTIDREPANOCYTAIRE DE BABOGOMBE .

#### 3.2.2.1. Test de Falciformation.

Les neuf plantes recensées au village Babogombe ont également été toutes testées *in vitro* pour leur activité antifalciformation. Nous donnons à titre d'exemple les images obtenues après traitement du sang SS avec les extraits de feuilles de *Ricinodendron heudelotii* (Fig.19) et avec les extraits des feuilles de *Duvernoya splendens* (Fig .20).

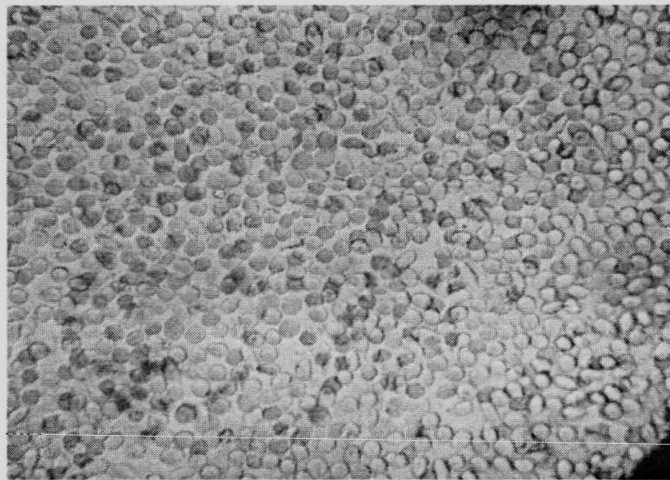


Figure 19. Drépanocytes traités avec les extraits des feuilles de *Ricinodendron heudelotii*.

La figure 19 montre une très forte activité antidrèpanocytaires des extraits de *Ricinodendron heudelotii* si l'on compare la forme des globules rouges de cette figure à celle du sang SS seul (témoin Fig.15a). En effet, on peut remarquer que sur la figure 17 plus de 70 % des drépanocytes sont normalisés alors que dans l'échantillon témoin ( Fig 15 a) plus de 75 % des érythrocytes sont falciformes.

Cependant, les extraits aqueux des feuilles de *Duvernoya splendens* n'ont pas montré une activité antidrèpanocytaires comme l'illustre la figure 20.



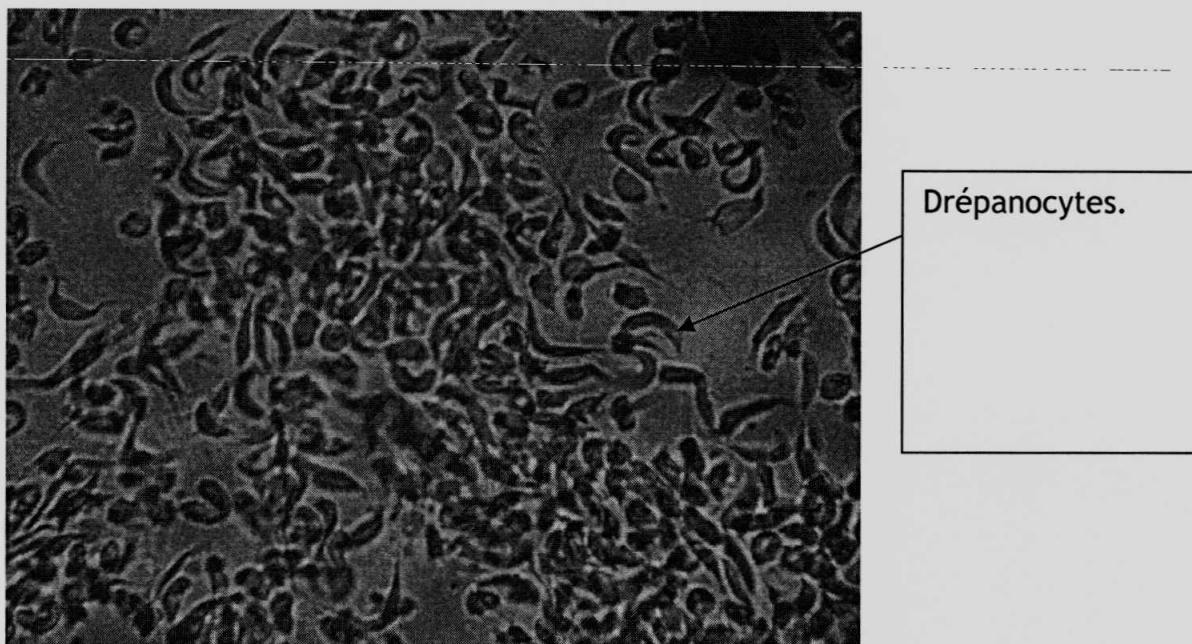


Figure 20 : Drépanocytes traités avec les extraits des feuilles de *Duvernoya splendens*.

Il ressort de cette figure que l'activité antidrèpanocytaire des extraits de *Duvernoya splendens* est nulle sur la morphologie des drépanocytes. En effet, après traitement aux extraits, plus de 75 % de drépanocytes sont demeurés falciformes.

Les résultats des tests d'Emmel réalisés avec les extraits aqueux de toutes les plantes recensées à Babogombe sont donnés dans le tableau 7. Comme précédemment, nous avons compté 100 drépanocytes sur l'échantillon témoin et 100 sur l'échantillon à tester aux extraits.

Tableau 7 : Activité biologique des plantes antidrèpanocytaires utilisées à Babogombe ( Pk 32)

N°	Noms		Extraits aqueux	
	Scientifique	Vernaculaire	Feuilles	Ecorces
1	<i>Alchornea cordifolia</i>	Mbonjembonje	+++	
2	<i>Bridelia atroviridis</i>	Ngiangange	+	+++
3	<i>Carica papaya</i>	Kasa ya payi payi	+	
4	<i>Duvernoya splendens</i>	Damudamu	--	
5	<i>Ficus mucoso</i>	Apendenyoka	+++	++
6	<i>Harungana madagascariensis</i>	Botondolondo	++	+++
7	<i>Macaranga monandra</i>	Ngenge	+++	++
8	<i>Ricinodendron heudelotii</i>	Lisongo	++	+++
9	<i>Urera hypselodendron</i>	Ka washa washa	+++	

Légende :

Forte activité (+++) : Normalisation des drépanocytes très élevée ( > 70 %)

Activité moyenne (++) : Normalisation des drépanocytes bonne ( > 50 %)

Faible activité (+) : Normalisation des drépanocytes faible ( < 50 %).

Activité nulle (-) : Normalisation des drépanocytes nulle ( < 10 % ).

Il ressort du tableau 7 que les extraits aqueux des écorces et des feuilles des plantes antidrépanocytaires de Babogombe ont manifesté dans l'ensemble une activité anti-falciformation satisfaisante. En effet , sur un total de 10 plantes , plus de 70% ont montré un taux de normalisation de drépanocytes supérieur à 50 % .

Les extraits à base d'écorces de plantes semblent être plus efficace que ceux des extraits des feuilles. Les écorces d'*Harungana madagascariensis* ( > 70 % de drépanocytes normalisés) et de *Bridelia atroviridis*(> 70 % de drépanocytes normalisés) ont, en effet, manifesté une plus forte activité antidrépanocytaires par rapport aux extraits de feuilles des mêmes plantes.

### 3.2.2.2. Mesures des diamètres des drépanocytes Avant et après traitement aux extraits de *Ricinodendron heudelotii*.

Nous avons, comme dans le cas de *Centella asiatica*, utilisé le test T de Student pour comparer les diamètres moyens des drépanocytes avant et après traitement aux extraits de *Ricinodendron heudelotii*. Les résultats obtenus en appliquant le test T, après avoir préalablement effectué le test F qui conclue que les 2 échantillons proviennent d'une population dont les variances ( $S^2$ ) sont similaires, sont résumés dans le tableau 8. Il faut indiquer que les mêmes hypothèses statistiques ont été retenues à savoir :

#### 1) Test T de Student.

1.  $H_0 : \bar{x}_1 = \bar{x}_2$
  2.  $H_1 : \bar{x}_1 > \bar{x}_2$
- $\alpha = 0,05$

#### 2) Test F

1.  $H_0 : S^2_1 = S^2_2$
  2.  $H_1 : S^2_1 \neq S^2_2$
- $\alpha = 0,05$

Tableau 8 : Comparaison des diamètres moyens des drépanocytes avant et après traitement aux extraits de *Ricinodendron heudelotii*.

Paramètres calculés	Avant traitement	Après traitement
n ( nombres d'observations)	10	10
$\bar{x}$ ( moyenne des diamètres en $\mu\text{m}$ )	12,65	7,82
s ( écart -type)	1,6	1,2
$S^2$ ( variance)	2,65	1,41
<b>Test F</b>		
Degré de liberté	9 et 9	
Valeur table ( $\alpha : 0,05$ )	4,02	
Valeur calculée( $\alpha : 0,05$ )	1,88	
Décision statistique	Acceptation $H_0: S^2_1=S^2_2$ car F calculé < F table	
<b>Test T de Student</b>		
Degré de liberté	18	
Valeur table ( $\alpha : 0,05$ )	2,101	
Valeur calculée( $\alpha : 0,05$ )	7,666	
Décision statistique	rejet $H_0 : \bar{x}_1 > \bar{x}_2$ car T Calculé > T Table à $\alpha 0,05$	

Légende :

$\bar{x}_1$  = moyenne diamètre des drépanocytes avant traitement aux extraits des plantes

$\bar{x}_2$  = moyenne des diamètres drépanocytes après traitements aux extraits des plantes.

$S_1^2$  = variance avant traitement aux extraits des plantes

$S_2^2$  = variance après traitement aux extraits des plantes.

$H_0$  : Hypothèse nulle

$H_1$  : Hypothèse alternative.

$\alpha$  : niveau du seuil ( risque  $\alpha$ ).

Le test F concluant à une similarité entre variance  $S_1^2$  et  $S_2^2$  , nous avons effectué le test T de Student.

Le calcul du test T nous montre que T calculé ( 7,666) > T observé ( 2,101) sur table à  $\alpha = 0,05$ .

Nous rejetons donc l'hypothèse nulle  $H_0 : \bar{x}_1 = \bar{x}_2$  .et acceptons l'hypothèse alternative  $H_1 : \bar{x}_1 > \bar{x}_2$  .

Nous pouvons conclure que le diamètre moyen  $\bar{x}_1$  ( en  $\mu\text{m}$ ) des drépanocytes avant traitement aux extrait de *Ricinodendron heudelotii* est significativement différent (au seuil  $\alpha = 0,05$ ) du diamètre moyen  $\bar{x}_2$ .( en  $\mu\text{m}$ ) des drépanocytes après traitements aux extraits de la même plante.

Le diamètre moyen des drépanocytes normalisés après traitement aux extraits de *Ricinodendron heudelotii* est de 7, 8 $\mu\text{m}$ . Cette valeur est proche de la moyenne connue du diamètre érythrocytaire, soit 7,5 $\mu\text{m}$ ( WINTROBE , 1967 ).

### 3.2.2.3 . Détermination de la Concentration Minimale de Normalisation.

La C.M.N. a été déterminée en suivant la variation du taux de normalisation des drépanocytes en fonction de la concentration des extraits aqueux des feuilles de *Ricinodendron heudelotii* (Fig.21).

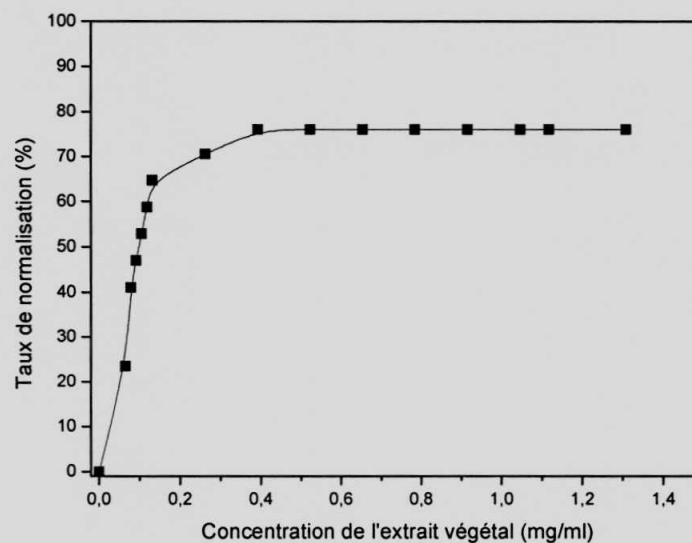


Figure 21 : Courbe de normalisation des drépanocytes traités aux extraits aqueux de *Ricinodendron heudelotii* (Cfr annexe 2.).

Cette courbe présente la même allure que les deux précédentes (Fig 16 et 17). Le taux de normalisation augmente avec la concentration en extraits aqueux des feuilles de *Ricinodendron heudelotii* pour atteindre une valeur maximale de 76 % à partir de la concentration de 0,392mg / ml en extrait végétal. Cette plante manifeste donc l'activité antidrépanocytaire la plus intéressante de notre étude.

En effet , non seulement sa C.M.N est la plus faible mais aussi son taux de normalisation est le plus élevé ( 76 % ).

## CHAPITRE 4 : DISCUSSIONS

## CHAPITRE 4 : DISCUSSIONS

### 4.1. ENQUETES SUR LES PLANTES ANTIDREPANOCYTAIRES.

Très peu de chercheurs ont effectué un inventaire des plantes antidrépanocytaires dans leurs régions respectives. En outre, il est rare de trouver un recueil de recettes sur la médication traditionnelle contre les crises drépanocytaires ; la majorité des chercheurs se contentant d'obtenir l'information sur le nom d'une seule plante et d'étudier son activité antidrépanocytaire. Notre travail s'inscrit donc comme une contribution à l'inventaire des plantes et des recettes utilisées contre la drépanocytose dans la région de Kisangani.

Notre étude a recensé 18 espèces de plantes antidrépanocytaires réparties en 12 familles. La famille des Euphorbiaceae ( 33 % de plantes antidrépanocytaires) est la plus utilisée dans la pharmacopée antidrépanocytaire de notre région . Ceci indique que cette famille pourrait être une source possible de drogues antidrépanocytaires. La figure 22 illustre la fréquence ( en % ) des familles des plantes antidrépanocytaires de la région de Kisangani.

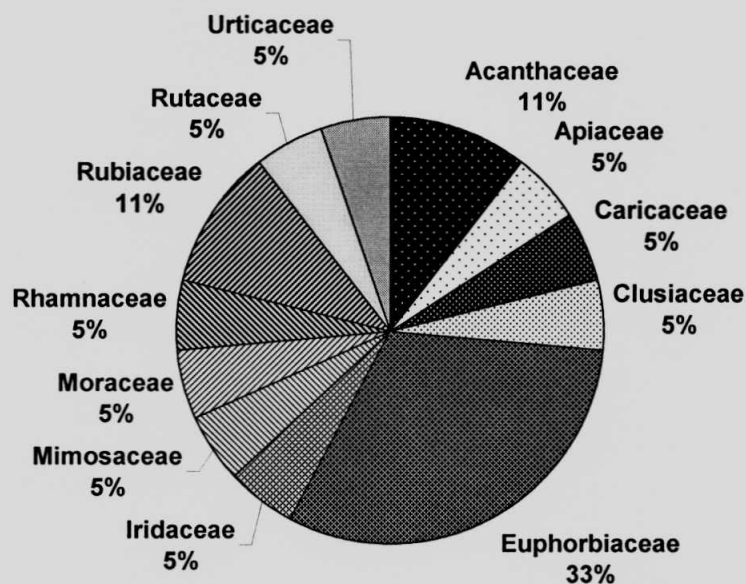


Figure 22: Fréquence en % des familles des plantes antidrépanocytaires de la région de Kisangani

Nous avons noté que les Rubiaceae ( 11 % de plantes antirépanocytaires) viennent en seconde position comme famille de plantes antirépanocytaires. IWU ( 1994) rapporte que les Rubiaceae possèdent plusieurs espèces qui sont utilisées dans le traitement traditionnel du paludisme en différentes contrées d'Afrique Noire.

Un inventaire des plantes soignant l'anémie SS et une étude de leur activité antirépanocytaires a été conduite à Kinshasa par le Professeur MPIANA TSHIMANKINDA et son équipe en 2007. Après enquêtes sur les marchés de la ville de Kinshasa , 22 plantes antirépanocytaires ont été recensées. Sur un ensemble de 13 plantes dont on a évalué l'activité antirépanocytaires , plus de 80 % ont manifesté une activité antirépanocytaires intéressante *in vitro*( MPIANA et al , 2007).

Les espèces médicinales appartenant aux familles des Euphorbiaceae et celle des Rubiaceae sont les plus utilisées dans les pharmacopées antirépanocytaires des régions de Kinshasa ( MPIANA , 2007) et celle de Kisangani. Le nombre d'espèces des plantes antirépanocytaires de familles de Rubiaceae et des Euphorbiaceae est plus élevée dans la région de Kisangani que celle de Kinshasa. Ceci s'expliquerait par notre climat et notre type de sol plus favorable à la diversification des espèces. La figure 23 illustre la diversité élevée des Euphorbiaceae et Rubiaceae antirépanocytaires de la région de Kisangani par rapport à celle de Kinshasa.

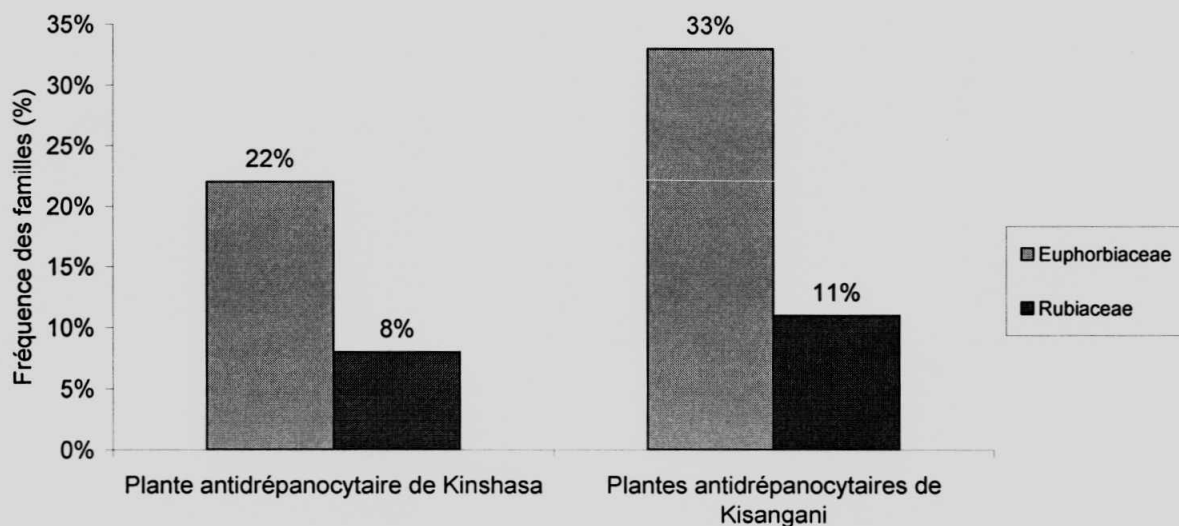


Figure 23 : Comparaison des fréquences ( %) des Euphorbiaceae et des Rubiaceae antirépanocytaires de Kisangani et de Kinshasa



La fabrication du médicament antidrèpanocytaire traditionnel dans la région de Kisangani utilise le plus souvent les écorces de tronc ( 58 % des plantes antidrèpanocytaires ) en vue de la préparation du décocté. Or il est connu que les égratignures profondes de tronc entraînent une mort rapide de la plante. Nous pouvons donc dire que les plantes utilisées contre la drèpanocytose dans la région de Kisangani seraient menacées d'extinction et pourraient être classées comme des espèces végétales vulnérables (CUNNINGHAM , 2001 ). Il faudrait donc une politique de récolte de plantes médicinales au niveau local afin d'éviter l'extinction des plantes médicinales intéressantes.

La figure 24 montre la fréquence d'utilisation des organes de plantes dans la fabrication des médicaments traditionnels antidrèpanocytaires à Kisangani.

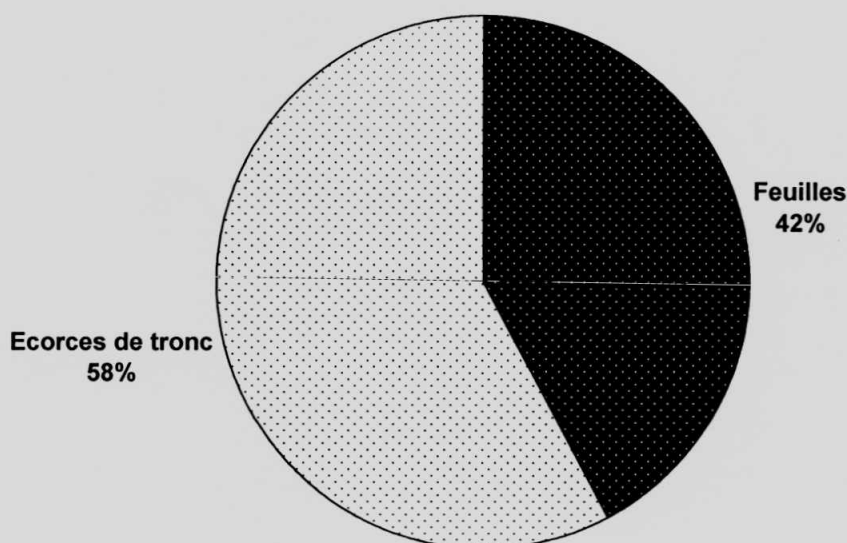


Figure 24 : Fréquence d'organe utilisé ( %) dans la préparation des médicaments traditionnels antidrèpanocytaires

Au Nigeria , *Carica papaya* ( papayer) est connue comme plante antidrèpanocytaire et c'est le fruit du papayer qui a servi pour l'étude de l'activité antidrèpanocytaire ( ODUOLA et al.,2006). Lors de notre enquête à Babogombe ( RDCongo) , nous avons noté que c'est plutôt le décocté des feuilles du papayer qui est utilisé pour soigner de la drèpanocytose. Les extraits des feuilles ont en effet montré une légère activité antifalciformation *in vitro* (Tab.8). Nous pensons que tous les

organes ( racines - tronc -fruits -feuilles) de *Carica papaya* possèderaient des vertus antidrépanocytaires. Cette plante est au fait connue pour les multiples utilisations en médecine traditionnelle de toutes ses parties y compris le latex (DUKE, 1984).

SOFOWORA et ISAAC ( 1971) rapportent que les extraits de racines de *Fagara xanthoxyloides* possèdent un composé agissant contre la falciformation des érythrocytes. Notre enquête a révélé que des écorces d'une autre espèce de *Fagara*, *Fagara macrophylla* entrent dans la composition de la recette que les tradipraticiens donnent à leurs patients drépanocytaires à Kisangani.

Etienne et al. ( 2003) démontrent qu'il existe des différences intraspécifiques dans le patrimoine génétique des différentes variétés d'une même espèce. Aussi nous estimons qu'une étude ultérieure portant sur l'ensemble des espèces de *Fagara* de notre région serait intéressante dans le but de comparer leur activité antidrépanocytaire.

Selon une étude effectuée sur les plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle à Kisangani ( WOME , 1985 ) , toutes les espèces de *Fagara* soit 100 % peuvent être employées comme antihelminthiques , un quart de l'ensemble des espèces , soit 25 % , le sont pour les soins contre la carie dentaire , 25 % contre les douleurs lombaires et 25 % pour les soins contre la stérilité. L'auteur ne fait aucune mention de préparation de médicament traditionnel antidrépanocytaire à partir des espèces de *Fagara* trouvés de la région de Kisangani.

Cependant , plusieurs auteurs citent l'espèce *Fagara xanthoxyloides* comme possédant des vertus curatives contre la drépanocytose ( OUATTARA et al., 2004 ; ELUJOBA et al. ;1977 ; HONIG et al. ;1975). Quoique l'espèce *Fagara xanthoxyloides* ne soit pas listée dans le catalogue des plantes vasculaires des sous régions de Kisangani et de la Tshopo ( LEJOLY et al. ;1988 ) , nous noterons cependant que nos informateurs durant nos enquêtes font mention de l'espèce *Fagara macrophylla* comme étant une plante utilisée contre les crises d'anémies drépanocytaires. Et, WOME ( 1985) cite plutôt l'espèce de *Fagara macrophylla* dans

l'utilisation contre les douleurs lombaires , la carie dentaire , la stérilité féminine et les helminthiases.

La figure 25 donne en % le nombre d' espèces de *Fagara* pouvant être utilisées dans le traitements de quelques maladies en médecine traditionnelle dans la région de Kisangani.

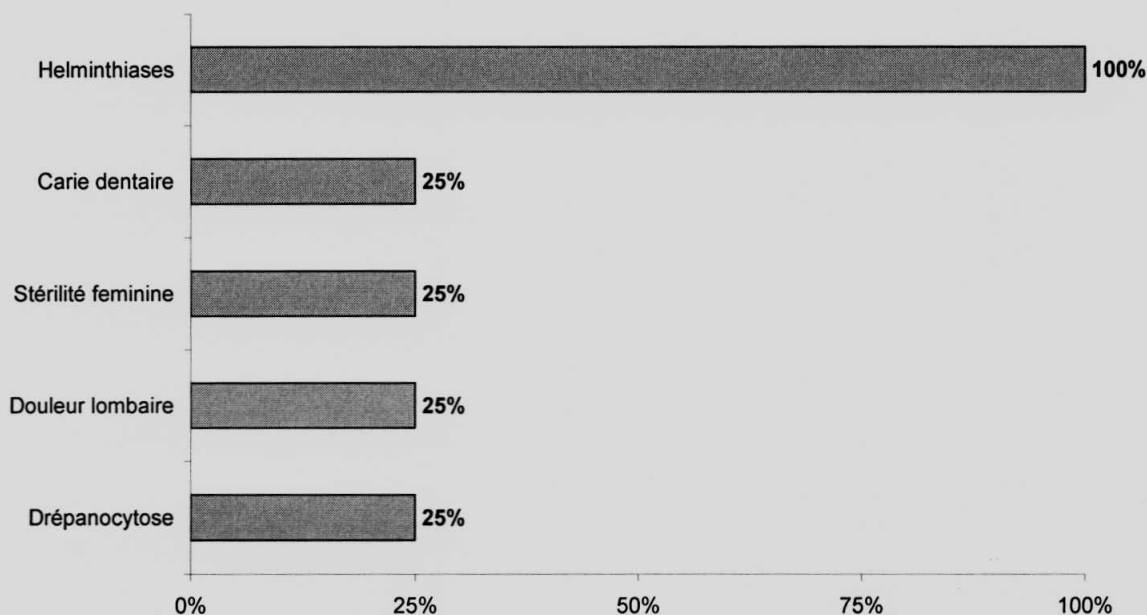


Figure 25: Nombre ( %) des espèces de *Fagara* pouvant être utilisées en médecine traditionnelle à Kisangani

## 4.2. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIDREPANOCYTAIRE DES PLANTES.

### 4.2.1. TEST DE FALCIFORMATION.

Après le test d'Emmel *in vitro*, les érythrocytes sans extraits de plantes (témoins) ont été falciformés, alors que dans les échantillons test ( drépanocytes - extraits de plantes ) une normalisation de drépanocytes a été observée comme illustrée dans les Figures 15 a et b. Ceci prouve que les extraits des plantes sont actifs sur les drépanocytes. Ce comportement a été observé pour quelques plantes par d'autres chercheurs (MPIANA et Al, 2007 ;IBRAHIM et al.2007 ; ODUOLA et al. ; 2006).

Sur un total de 18 plantes antidrépanocytaires recensées après enquête ethnobotanique ,90 % de nos plantes ( Tableaux 4 et 7 ) ont manifesté une activité

antidrépanocytaire en stoppant la falciformation des drépanocytes. Ce qui confirme les informations données par les tradipraticiens. Ces résultats peuvent donc être considérés comme une avancée dans la recherche contre la drépanocytose car les principales thérapeutiques proposées jusqu'à ce jour n'ont pas d'effet directe sur la morphologie des érythrocytes falciformés ( BRUGNARA , 2006)

En comparant l'activité antidrépanocytaire des extraits des plantes en fonction du solvant de macération, les extraits aqueux ont montré un meilleur taux de normalisation de drépanocytes par rapport aux extraits éthanoliques comme l'illustre la figure 26.

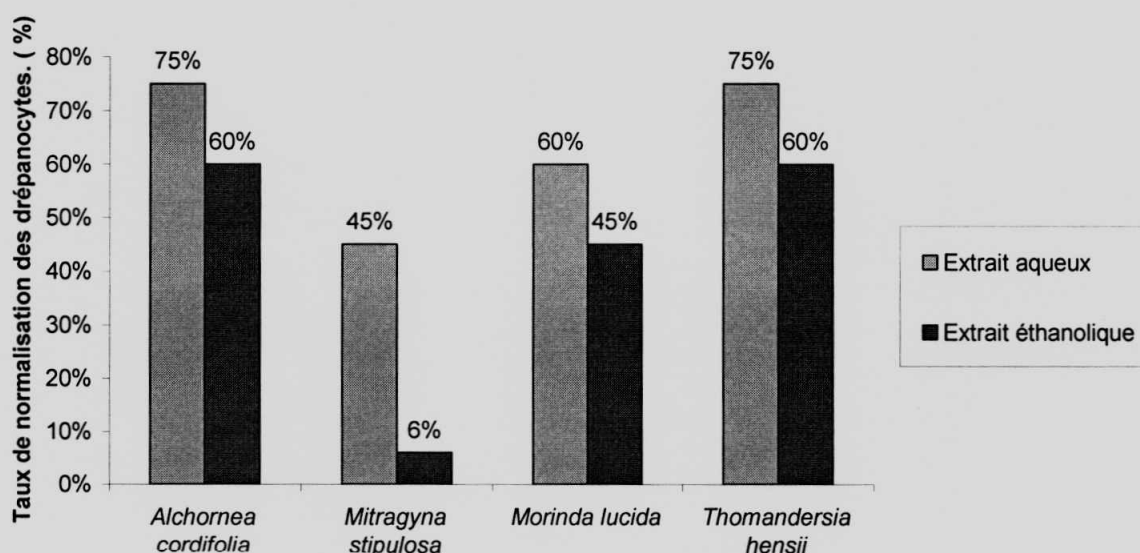


Figure 26 : Comparaison de l'activité antidrépanocytaire des extraits de plantes en fonction des solvants de macération.

Ces résultats indiquent que les groupes chimiques à la base de l'activité antidrépanocytaire seraient ceux qui sont solubles dans l'eau avec une légère solubilité en milieu alcoolique. En effet, les résultats obtenus récemment par MPIANA et al. (2007) ont montré que ce sont les anthocyanes et dans une moindre mesure les alcaloïdes qui sont à la base de l'activité antidrépanocytaire de *Alchornea cordifolia* tandis que pour *Ocimum basilicum* ce sont seulement les anthocyanes qui sont à la base de l'activité antifalciformation. Il est donc probable que ces groupes phytochimiques puissent être à la base de l'activité

antifalciformation *in vitro* de bon nombre de nos plantes et justifie leur utilisation en médecine traditionnelle généralement sous forme de décocté aqueux.

Il convient cependant de noter qu'à ce jour, la liste des composés phytochimiques à la base de la normalisation des drépanocytes n'est pas close. Différents composés phytochimiques ont été isolés à partir des plantes antidrèpanocytaires et testés. Le tableau en annexe ( Cfr annexe 3) donne quelques composés qui ont manifesté une normalisation des drépanocytes et les noms des chercheurs qui les ont mis en évidence.

En ce qui concerne le papayer, ODUOLA et al.( 2006) a conduit une étude sur l'activité antidrèpanocytaire des extraits de fruits de cette plante. Ces résultats, comparés au notre , semblent plus intéressants car plus de 70 % des érythrocytes falciformés ont été normalisés à partir des extraits à base de fruit de *Carica papaya* , tandis qu'en utilisant des extraits à base de feuilles de la même espèce , nous avons obtenus un taux de normalisation des drépanocytes inférieur à 50 % comme l'illustre la figure 27. Le principe actif antidrèpanocytaire serait donc plus concentré dans le fruit que dans les feuilles de *Carica papaya*.

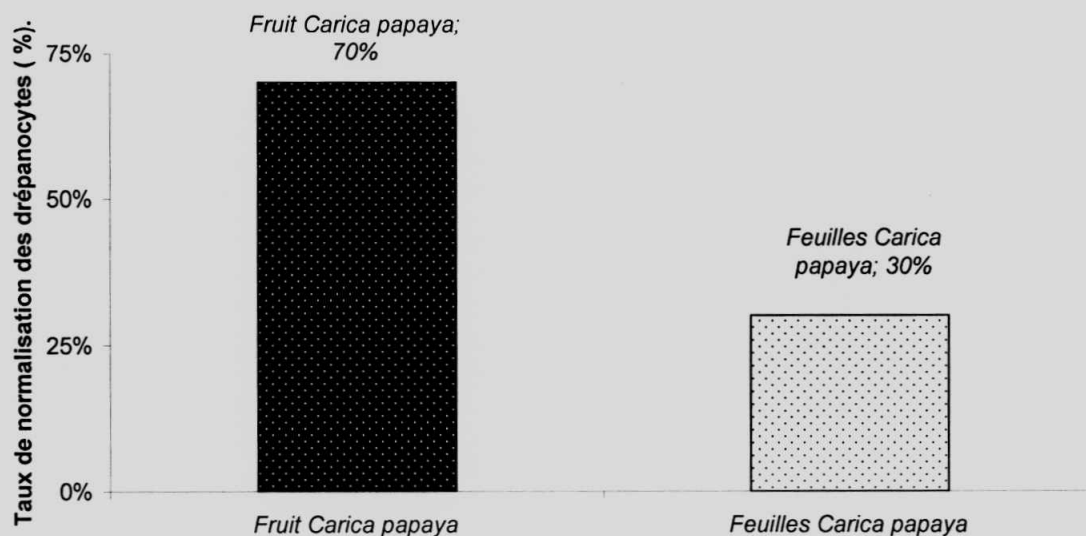


Figure 27 : Comparaison de l'activité antidrèpanocytire du fruit et des feuilles de *Carica papaya*

De toutes les plantes recensées, seules *Eleutherine plicata* et *Duvernoya splendens* n'ont manifesté aucune activité antidrèpanocytaire notable (tableaux 4 et 7). Un screening chimique pourrait nous renseigner sur l'absence des composés phytochimiques antidrèpanocytaires qui justifierait l'inactivité biologique de ces plantes.

#### 4.2.2. LA CONCENTRATION MINIMALE DE NORMALISATION.

La Concentration Minimale de Normalisation ( C.M.N.) comme nous l'avons déjà indiqué est la concentration minimale nécessaire pour atteindre le taux de normalisation maximal. La normalisation signifiant le retour de la forme falciforme des drèpanocytes à la forme normale biconcave des érythrocytes. Cette valeur est importante car elle donne une indication sur les espèces des plantes médicinales qui exigent le moins de matériel végétal possible en manifestant une forte activité antifalciformation sur les drèpanocytes . En plus , elle serait une donnée de référence dans le calcul des doses pour les probables phytomédicaments.

Nos résultats montrent que la C.M.N varie en fonction de l'espèce de la plante antidrèpanocytaire. En effet ,de fortes concentrations d'extrait végétal sont exigées pour certaines espèces avant d'atteindre la C.M.N , alors que d'autres espèces antidrèpanocytaires atteignent une taux de normalisation élevé avec de faible concentration d'extrait végétal.

La figure 28 compare les C.M.N des extraits de quelques plantes antidrèpanocytaires utilisées au cours de notre étude.

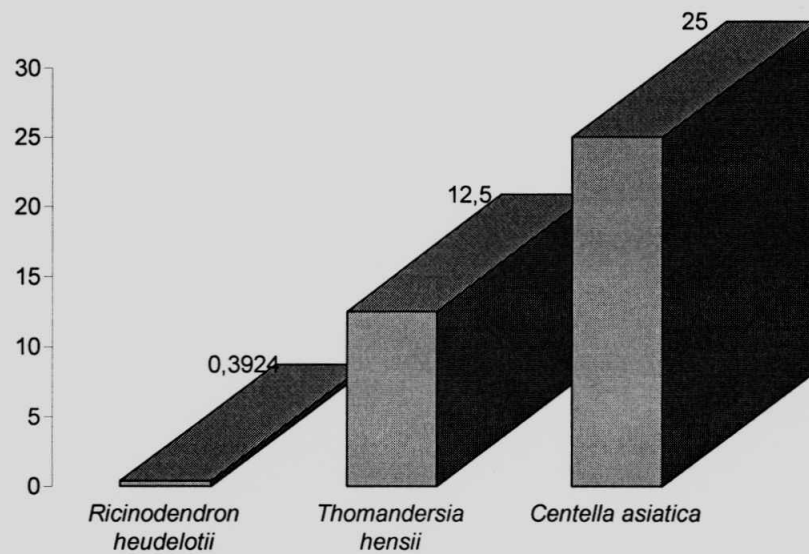


Figure 28 : Comparaison de C.M.N ( mg / ml ) des extraits aqueux de quelques plantes antidiabétiques.

Cette figure 28 montre clairement la forte capacité de normalisation de l'extrait aqueux de *Ricinodendron heudelotii* ( 0,3924 mg /ml) par rapport aux autres plantes antidiabétiques . Nous avons noté que la C.MN de *Thomandersia hensii* ( 12,5 mg /ml) est 50 % inférieure à celle de *Centella asiatica* ( 25 mg/ml). Ceci implique que dans la fabrication du médicament traditionnel , il faudrait beaucoup plus de matière végétale pour des espèces à C.M.N élevée que celle à C.M.N. basse afin d'atteindre un taux intéressant de normalisation de drépanocytes.

Le taux de normalisation maximale varie également d'une espèce à une autre tel qu'illustrée par les figures 16 , 17 et 21. Pour les trois espèces dont nous avons déterminé le taux de normalisation, *R.heudelotii* vient en tête avec 76% suivi de *T.hensii* (75%) et enfin *C.asiatica* avec 71% de taux de normalisation. *R.heudelotii* serait donc la plante la plus efficace.

MOODY et al .(2003) , à partir d'extrait des plantes de *Cissus populnea* ( Vitaceae) , démontre aussi que le taux de normalisation des drépanocytes varie en fonction du solvant d'extraction tel qu'illustré par la figure 29.

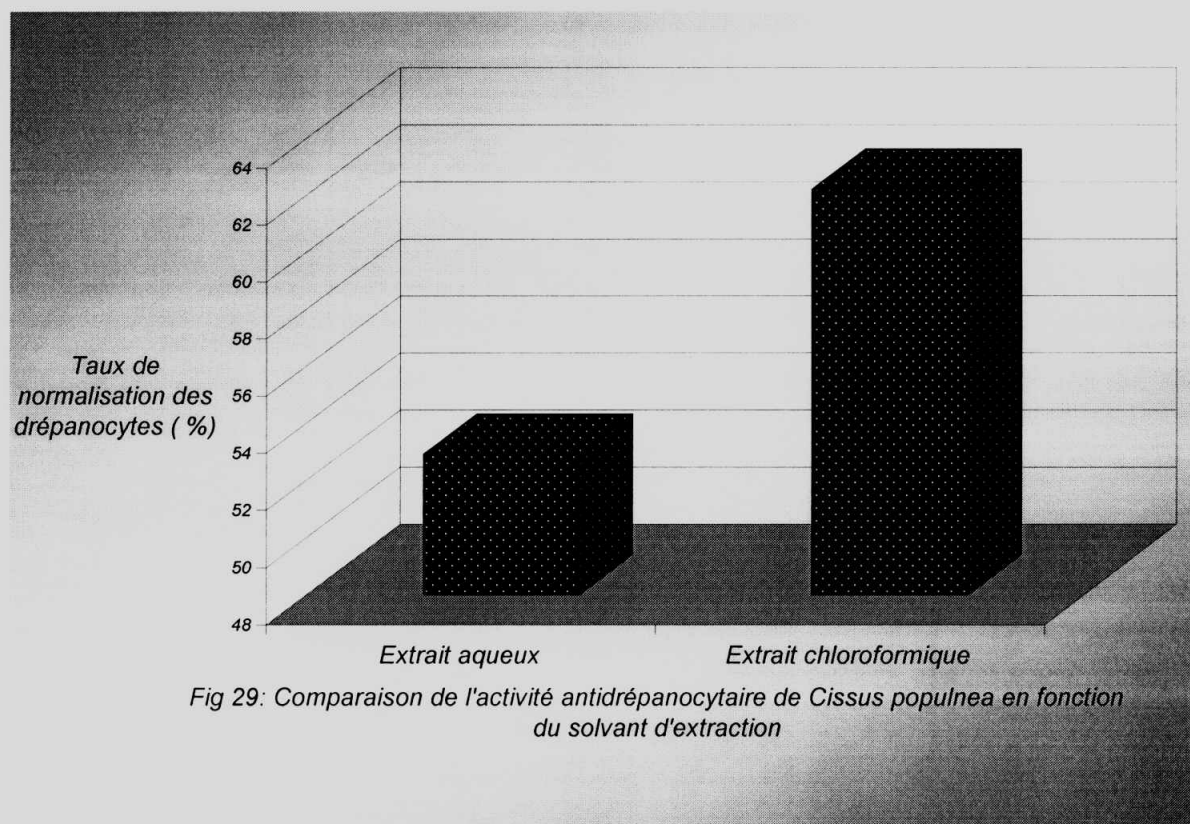


Fig 29: Comparaison de l'activité antidrépanocytaire de *Cissus populnea* en fonction du solvant d'extraction

#### 4.3. MOYENNES DE DIAMETRES DES DREPANOCYTES AVANT ET APRES TRAITEMENT AUX EXTRAITS DES PLANTES ANTIDREPANOCYTAIRES.

WINTROBE ( 1967) rapporte que le diamètre moyen de l'érythrocyte d'un homme adulte est en moyenne de 7,5 $\mu$ m. Celui d'un enfant d'un jour est de 8,1  $\mu$ m en moyenne. Les résultats des mesures des diamètres moyens des drépanocytes avant et après leur traitement avec les extraits des plantes antidrépanocytaires que nous avons effectués dans ce travail prouvent que les extraits des plantes sont impliquées dans la normalisation des drépanocytes( Tableaux 6 et 8).

En effet, après traitement des drépanocytes avec les extraits des plantes antidrépanocytaires, les diamètres moyens des érythrocytes se rapprochent des valeurs normales. Les extraits aqueux de *Ricinodendron heudelotii* avec une valeur de diamètre moyen après traitement de 7,82  $\mu$ m normalisent mieux que les extraits aqueux de *Centella asiatica* ( diamètre moyen de 8,7 $\mu$ m). Ces résultats sont en accords avec ceux de MPIANA et al(2007)en ce qui concerne le diamètre moyen des



ceux de MPIANA et al(2007)en ce qui concerne le diamètre moyen des drépanocytes après traitement aux extraits d' *Alchornea cordifolia* et *Ocimum basilicum*.

Ces résultats montreraient donc une avancée dans la recherche d'une thérapie antidrénocyttaire du fait que les plantes antidrénocyttaires possèderaient des drogues actives sur la morphologie des érythrocytes falciformes.

Pour comparer les diamètres moyens des drépanocytes avant et après traitement aux extraits des plantes , le test statistique T de Student ( WALPOLE et al.,2002) a été appliqué. Au niveau du seuil  $\alpha = 0,05$  et avec un degré de liberté de 18 , notre décision statistique a conclu à une différence significative entre les diamètres moyens des drépanocytes avant et après traitement aux extraits des plantes antidrénocyttaires( Tableau 8 ).

## CHAPITRE 5 : CONCLUSIONS ET SUGGESTIONS

## CHAPITRE 5 : CONCLUSIONS ET SUGGESTIONS.

Ce travail est une étude sur l'activité antidrèpanocytaire des plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle à Kisangani et à Babogombe en R.D.Congo.

A l'issu de ce travail , les traits principaux méritent d'être retenus :

### 5.1.Enquête sur les plantes antidrèpanocytaires.

- Très peu de chercheurs ont effectué un inventaire des plantes antidrèpanocytaires dans leurs régions respectives. En outre , il est rare de trouver un recueil de recettes sur la médication traditionnelle contre les crises drèpanocytaires , la majorité des chercheurs se contentant d'obtenir l'information sur le nom d'une seule plante et d'étudier son activité antidrèpanocytaire.
- Notre travail s'inscrit donc comme une contribution à l'inventaire des plantes et des recettes utilisées contre la drèpanocytose dans la région de Kisangani.
  
- 19 plantes antidrèpanocytaires ont été inventoriés dans la ville de Kisangani et le village de Babogombe. La famille des Euphorbiaceae ( 33 % de plantes antidrèpanocytaires ) est la plus utilisée dans la pharmacopée antidrèpanocytaire de notre région.
  
- Les écorces de tronc ( 58 % de fréquence d'utilisation ) sont les organes les plus utilisées dans la fabrication du médicament traditionnel antidrèpanocytaire. Ces égratignures profondes du tronc entraînent la mort rapide de la plante. Une politique de protection des espèces médicinales menacées serait requise en vue de la conservation des essences à forte activité antidrèpanocytaire.

## 5.2 . Etude de l'activité antidrèpanocytaire des plantes.

5.2.1. Test de falciformation *in vitro*.

- Le test d'Emmel est la technique utilisée *in vitro* pour étudier l'activité antidrèpanocytaire des plantes.
- Sur un ensemble de 19 plantes inventoriées au cours de notre enquête, 90 % de nos plantes ont manifesté une activité antidrèpanocytaire. Cette activité se traduit par la normalisation des drèpanocytes. Ce phénomène est clairement illustré sur des images numérisées à partir d'un microscope.
- Nos résultats peuvent être considérés comme une avancée dans la recherche contre la drèpanocytose car les principales thérapeutiques proposées jusqu'à ce jour n'ont pas d'effet directe sur la morphologie des érythrocytes falciformés.
  
- Le solvant aqueux s'est avéré être meilleur par rapport au solvant éthanolique. Ce fait justifierai le choix des tradipraticiens à préparer leur remèdes à en utilisant de l'eau comme solvant du décocté.
  
- Des taux de normalisation élevée des drèpanocytes ont été obtenues à partir des plantes de la famille des Euphorbiaceae ( *Alchornea cordifolia* Mull.Arg ; *Ricinodendron heudelotii* ( Baill.) Pierre ex Heckel.). Ceci suggère que cette famille de plantes possèderait des espèces de plantes plus efficaces dans la lutte contre la drèpanocytose.
  
- *Eleutherine plicata* et *Duvernoya splendens* n'ont presque pas manifesté une activité antidrèpanocytaire ( < 10 % ). Nous pensons que ces plantes ne contiennent pas ou alors en quantité insuffisante des composés phytochimiques activant la normalisation des drèpanocytes.

### 5.2.2. La Concentration Minimale de Normalisation.

- A l'issu de notre travail, nous avons constaté que la C.M.N. c'est-à-dire la concentration minimale de l'extrait végétal pour avoir le pourcentage le plus élevé d'érythrocytes normaux, varie en fonction de l'espèce de la plante. Le *Ricinodendron heudelotii* est l'espèce qui présente la CMN (0,3924 mg /ml) la plus faible de toutes les plantes étudiées.

### 5.2.3. Diamètres moyens des drépanocytes avant et après traitements aux extraits des plantes.

- Notre hypothèse de recherche était que le diamètre moyen des drépanocytes traités aux extraits des plantes serait inférieur au diamètre moyen des drépanocytes non traités.
- Pour vérifier cette hypothèse, nous nous sommes basé sur les hypothèses statistiques suivantes :
  - $H_0 : \bar{x}_1 = \bar{x}_2$
  - $H_1 : \bar{x}_1 > \bar{x}_2$
  - $\alpha = 0,05$
- Pour tester ces hypothèses, nous avons appliqué le test de comparaison des moyennes pour deux petits échantillons (  $N < 30$  ), le test T de Student.
- En consultant la table de distribution de t ( t-distribution ) au seuil  $\alpha : 0,05$ , nous avons trouvé que la valeur calculée ( 7, 666) est supérieure à la valeur de la table t ( 2 , 101 ) au seuil  $\alpha = 0,05$  avec 18 comme degré de liberté . Même au seuil sévère  $\alpha = 0,01$  , la valeur de la table de t est toujours inférieure ( 2,878) à la valeur calculée ( 7,666) avec 18 comme degré de liberté.
- Nous avons ainsi conclu à une différence significative entre le diamètre moyen des drépanocytes avant et après traitement aux extraits des plantes.

- Ces résultats confirment notre hypothèse de recherche. Nous affirmons ainsi que les extraits des plantes antidrèpanocytaires ont une action directe sur morphologie des drèpanocytes.
- Les drogues antidrèpanocytaires des plantes pourraient donc être une voie alternative à envisager sérieusement dans la recherche thérapeutique sur la drèpanocytose.
  
- A la lumière de ce qui précède, nous affirmons qu'une étude sur les plantes médicinales antidrèpanocytaires, particulièrement sur les Euphorbiaceae de notre région, seraient une orientation fiable dans la recherche pharmaceutique de drogues agissant sur les drèpanocytes.
  
- Des études sur la toxicité, la purification des principes antidrèpanocytaires et des essais cliniques sur des animaux de laboratoire pourront parfaire cette recherche car, jusqu'à ce jour, nous affirmons comme GENTILLINI (1993) que le traitement de fond de la drèpanocytose reste à découvrir.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Abu,S. , Anyaibe,S., Headings,V., 1981 : Chromatographic fractionation of antisickling agents in *Fagara xanthoxyloides*. Acta Haematol.66 ( 1) : 19-26.
2. Ader , J.L., Carré , F., Xuan , A.T., Duclos, M., Kubis , N., Mercier , J., Mion F., Préfaut , C., 2006 : Physiologie , Masson , Paris , 413 p.
3. Adesanya , S.A., Idowu , T.B., Elujoba A.A., 1988 : Antisickling activity of *Adansonia digitata*. Planta Med.54(4) : 374.
4. Adesanya , S.A., Sofowora , A., 1983 : Biological standardisation of *Zanthoxylum* roots for antisickling activity. Planta Med 48 ( 1) : 27-33.
5. Adjanohoun , E., Cusset , J., Eyme , J., Lebras , M., Lejoly , J., Richel , T., Waechter , P.,1992 : Banque de données de médecine traditionnelle et pharmacopée ( PHARMEL). Notice d'emploi du logiciel de saisie des données. Agence de Coopération Culturelle et Technique , Paris , 141 p.
6. Akinsulie , A.O., Temiye , E.O., Akanmu , A.S., Lesi , F.E., Whyte , C.O., 2005 : Evaluation of extract of *Cajanus cajan* ( Ciklavit ) in sickle cell anemia . J.Trop.Pediatr.51 (4) : 200-5
7. Akojie , F.O., Fung , L.W., 1992 : Antisickling activity of hydrobenzoic acids in *Cajanus cajan*. Planta Med.58 ( 4) : 317-20
8. Albert , B., Bray , D., Watson , D.J., 1994 : Molecular Biology of the cell , 4<sup>e</sup> ed , Garland publishing , New York , 1294 p.
9. Alvin , P., Marcelli , D., 2005 : Médecine de l'adolescent , Masson , Paris , 248 p.
10. Anonyme , 1964 : Symposium on Erythrocytometric Methods and theirs Standardization , Bibl.Haemat.( Basel ) , N°18 , 40.

11. Atul , B., Mehta , A., Hoffbrand , V., 2003 : Hématologie , de boeck université , Paris , 208 p.
12. Bola , M., 2000 : Epiphytes vasculaires et phorophytes de l'écosystème urbain de Kisangani , Dissertation D.E.S. , inédit , Université de Kisangani , 214 p.
13. Bouquet , A., Debray , M., 1974 : Plantes Médicinales de la Côte d'Ivoire , O.R.S.T.O.M , 32 , 232 p.
14. Brugnara , C. , Franceschi , L. , 2006 : Essais cliniques de nouvelles thérapeutiques pharmacologiques de la drépanocytose , Cahiers Santé.16 (4) : 263 -268.
15. Bruneton , J., 1987 : Eléments de phytochimie et de pharmacognosie , Lavoisier , Paris , 585 p.
16. Campbell , N.A., Reece , J.B., 2006 : Biology , 6<sup>e</sup> ed , Pearson Education , San Francisco , ( USA ) , 1247 p.
17. Caquet , R., 2004 : 250 examens de laboratoire , Masson , Paris , 214-215 pp.
18. Cordeiro , N.J., Oniyangi , O., 2004 : Phytomedecine ( medicines derived from plants ) for sickle cell disease. Cochrane database Syst Rev ( 3 ) 448 - 455.
19. Coulombel , L. , 2002 : Le transgène anti-falciformation , Médecine / Sciences.( 18) : 156-157.
20. Courtejoie , J., Hertaing , I., 1992 : Laboratoire et Santé , Librairie Saint Paul , Kinshasa , 150 p.
21. Cunningham , A.B., 2001 : Applied Ethnobotany , People , Wild Plant Use and Conservation , Earthscan Publishers Limited , London , 355 p.



22. Decant , J.E., Millot , F., 1993 : Molecular Biology , Masson , Paris , 402 p.
23. Delaunay , J., 1988 : Biochimie , Herman , Paris , 733 p.
24. Duke , J.A., 1984 b: Borderline herbs , .CRC Press , Nigeria , 300 p.
25. Etienne , J. , Clauser , E., Housset , C., Roingeard , P., 2003 : Biologie génétique , Masson , Paris , 738 p.
26. Ekeke , G.I., Shode , F.O., 1990 : Phenylalanine is the predominant antisickling agent in *Cajanus cajan* seed extract. *Planta Med.* 56 ( 1 ) : 41-3
27. Elujoba A.A., Sofowora , E.A., 1977 : Detection and estimation of total acid in the antisickling fraction of *Fagara species*. *Planta med.* 32 ( 1 ) 54-9
28. Fall , A.B., Vanhaelen-Fastre , R., Vanhaelen , M , Lo , I. , Toppet , M. , Ferster , A., Fondu , P., 1999 : in vitro antisickling activity of rearranged limonoid isolated from *Khaya senegalensis*. *Planta Med.* 65 ( 3 ): 209-12.
29. Galacteros , F., 2002 : Drépanocytose , [www.orpha.net](http://www.orpha.net) / data , 5 p.
30. Galacteros , F., 2007 : Drépanocytose , [www.orpha.net](http://www.orpha.net) / data , 8 p.
31. Garban , F., Barro , C., 2003 : Guide pratique d'hématologie , Masson , Paris, 199 p.
32. Gentillini , M. , 1993 : Médecine tropicale , Flammarion Médecine Sciences , Paris , 927 p.
33. Gulbis , B., Ferster , A., Kentos , A ., N'Gay , D., Cotton , F., Rongé , E., Dresse , M.F., Bradstreet , C., Cochaux , P., Vertongen , F., 2005: La drépanocytose , une affection exotique ou un problème de santé publique en Belgique ? *Med. Rev. Brux.* ( 26 ) : s 309-13.
34. Honig , G.R., Farnsworth , N.R., Ferenc , C., Vida , L.N., 1975 : Evaluation of *Fagara zanthoxyloïdes* root extract in sickle cell anemia blood in vitro. *Lloydia* .38 ( 5 ) :387-40.

35. Horton , H.R., Moran , L.A., Scrimgeour , K.G., Perry , M.D., Rawn , J.D.,  
2006 : Principles of Biochemistry , 4e ed , Pearson Education , USA , 852 p.
36. Ibrahim , H. , Sani , F.S., Danladi , B.H., Ahmadu , A.A. , 2007 :  
Phytochemical and antisickling studies of leaves of *Hymenocardia acida* Tul  
( Euphorbiaceae ) , Pakistan Journal of Biological Sciences 10 ( 5 ) : 788-791.
37. Iwu , M.M., 1994 : African Medicinal plants in the search for New Drugs  
based on Ethnobotanical Leads. Ethnobotany and Search for New Drugs.  
Wiley , Chichester , pp.116-129.
38. Iyamu E.W., Turner, E.A., Asakura , T., 2002 : In vitro effect of NIPRISAN  
(Nix-0699) : a natural occurring potent antisickling agent. Br.J.Haematol.118  
(1) : 337 -43.
39. Kamabu , V. , Lejoly , J., 1994 : Productivité et minéralomasse dans un  
système agroforestier à Kisangani ( Zaïre ). Coll ; Rech / dév. Ténue à  
l'Université Libre de Bruxelles , du 23 au 24 mai 1990 , Annales Faculté des  
Sciences , N° Spécial : 57 - 60.
40. Kankonda , B. , 2001 : Contribution à l'établissement d'une carte de  
pollution des eaux de ruisseaux de Kisangani par l'utilisation des macro  
invertébrés benthiques comme bio indicateurs. , Dissertation de D.E.S. ,  
Fac.Sci , Unikis , Inédit , 67 p.
41. Lejoly , J., Lisowski , S., Ndjele , M.B., 1988 : Catalogue des plantes  
vasculaires des sous régions de Kisangani et de la Tshopo ( Haut- Zaïre ) ,  
Travaux de Laboratoire de Botanique Systématique et de Phytosociologie ,  
Université Libre de Bruxelles , 122 p.
42. Lewin , B., 1985 : Genes , Flammarion Médecines Sciences , Paris , 762 p.

43. **Mabika , K.,1983** : Plantes médicinales et médecine traditionnelle au Kasai Occidentale . Thèse de Doctorat , Inédite , Faculté des Sciences , Unikis , 910 p.
44. **Mate , M., 1991** : Croissance , phytomasse et minéralisation des haies des légumineuses améliorantes en cultures en allées à Kisangani ( R.D.C.) , Thèse de Doctorat , Fac.Sci., Université Libre de Bruxelles , 234 p.
45. **Microsoft Encarta® , 2006** : « Kisangani » , ( CD) , Microsoft corporation , USA.
46. **Microsoft Encarta® , 2006** : « drépanocytes au microscope à balayage » , (CD) , Microsoft corporation , U.S.A.
47. **Moussard , R.K., Gibey , R.,Benedini , M.,2002** : Biochimie structurale et métabolique , de boeck université , Bruxelles , 88 p.
48. **Moody , J.O., Ojo , O.O., Omotade , O.O., Adeyemo , A.A., Olumese , P.E., Ogundipe , O.O., 2003** : Antisickling potential of a Nigerian herbal formula ( Ajawaron H F ) and the major plant component ( *Cissus populnea* L. CPK ) . *Phytother.*( 10) : 1173-6.
49. **Mpiana , P.T. , Tshibangu , D.S.T., Shetonde , O.M., Ngbolua , K.N., 2007** : In vitro antidrepanocytary activity ( anti-sickle cell anemia ) of some congolese plants. *Phytomedecine* .14 ( 2-3) : 192 -5.
50. **Mpiana , P.T., Mudogo , V., Tshibangu , D.S.T., Shetonde , O.M., Ngbolua ,K.N., Mangwala , K.P., Mavakala , , B.K., 2007** : In vitro antisickling activity of Anthocyanins extract of a congolese plant : *Alchornea cordifolia* M. Arg. , *J.Med.Sci.*, 7(7) : 1182-1186.
51. **Mpiana , P.T., Mudogo , V., Tshibangu , D.S.T., Shetonde , O.M., Ngbolua , K.N., Mbala , M.B., 2007** : In vitro antisickling activity of Anthocyanins

- from *Ocimum basilicum* L. ( Lamiaceae ). International Journal of Pharmacology 3 (4) : 371-374.
52. Murray , R.K. , Granner , D.K., Mayes , P.A., Rodwel , V.W., 2003 : Biochimie de Harper , de boeck université , Canada , 952 p.
53. Ndjele , M.B., 1988 : Les éléments phytogéographiques endémiques dans la flore vasculaire du Zaïre . Thèse de Doct., U.L.B., Labo.Bot.Syst & Phyt . 528 p.
54. Nshimba , S.W.M., 2008 : Etude floristique , écologique et phytosociologique des forêts de l'île Mbiye à Kisangani , RDCongo. Thèse de Doct., U.L.B. , Labo.Bot.Syst & Phyt. , 272 p.
55. Oduola , T., Adeniyi , F.A.A. , Ogunyemi , E.O., Bello , I.S., Idowu , T.O., 2006 : Antisickling agent in extract of unripe pawpaw ( *Carica papaya* ) : Is it real ? African Journal of Biotechnology , Vol 5 ( 20 ) , pp 1947-1949.
56. Ogodu , O.J., Akubue , P.I., Okide , G.B., 2002 : The kinetics of reversal of pre-sickled erythrocytes by the aqueous extract of *Cajanus cajan* seeds , phytother Res.16 ( 8 ) : 748-50.
57. Osoba , O.A., Adesanya , S.A., Durosimi , M.A., 2001 : Effect of *Zanthoxylum xantholoides* and some substituted benzoic acids on glucose-6-phosphate and 6-phosphogluconate deshydrogenase in Hbss red blood cells. Am. J.Hematol., 67 ( 3 ) : 151 -6
58. Ouattara.B , Angenot , L., Guissou , P.,Fondu , P., Dubois , J., Frederich , M., Jansen , O., Van Heugen , J.C., Wauters ., J.N., Tits , M., 2004 : LC / MS / NMR analysis of divanilloylquinic acids form bark of *Fagara zanthoxyloides* Lam. Phytochemistry , 65 ( 8 ) , 1145 - 51.

59. Robyns , W., 1948 : Les territoires phytogéographiques du Congo Belge et du Rwanda -Urundi . In Atlas général du Congo Belge. Inst.Roy.Belg.Bruxelles , 10 p.
60. Stanislas , L. , 1991 : Les asteraceae dans la flore d'Afrique Centrale , Vol 1 , Polish academy of Sciences , Pologne , 249 p.
61. Stryer , L., 1985 : La biochimie de Lubert Stryer , Flammarion Médecines Sciences , Paris , 762 p.
62. Thomas , K.D., Ajani , B., 1987 : Antisickling agent in extract of unripe pawpaw fruit ( *Carica papaya* ) Trans.R.Soc.Trop. Med;Hyg.81 ( 3 ) : 510 -1
63. Wajcman , H., 2004 : Hémoglobines et hémoglobinopathies , Inserm , Paris, 88 p.
64. Walpole , R.E., Myers , R.H., Myers , S.L., Ye , K., 2002 : Probability and Statistics for engineers and scientists , 7<sup>e</sup> ed , Prentice Hall , USA , 730 p.
65. Watson , J.D., Hopkins , N.H., Roberts , J.W., Seitz , J.A., Weiner , A.M., 1987 : Molecular biology of gene , fourth Ed , Benjamin Publishing , California ( U.S.A. ) , 744 p.
66. Wintrobe , M.M., 1967 : Clinical haematology , 6e ed , Léa & Fedbiger , Philadelphie ( U.S.A. ) , 85 p.
67. Wome , B., 1985: Recherches ethnopharmacognosiques sur les plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle à Kisangani ( Haut Zaïre ) , Thèse de Doctorat ( Tome 1 ) , Inédit ,306 p.

## ANNEXES.

Annexe.1: Taux de Normalisation des drépanocytes traités aux extraits aqueux de  
*Thomandersia hensii*

C.E.V. (mg/ml)	Nombre D.F.		T.N (%)	CMN (mg /ml)
	Avant T	Après T		
168,75	85	21	75,29	
112,5	85	21	75,29	
75	85	21	75,29	
50	85	21	75,29	
25	85	21	75,29	
<b>12,5</b>	<b>85</b>	<b>21</b>	<b>75,29</b>	<b>12,5</b>
6,25	85	25	70,5	
3,125	85	30	64,52	
1,562	85	50	41,17	
0,781	85	60	29,41	
0,39	85	65	23,52	
0,195	85	70	17,64	
0,097	85	80	5,88	
0,048	85	82	3,52	
0,024	85	85	0	

Annexe .2.: Taux de Normalisation et C.M.N. des drépanocytes traités aux  
extraits de *Ricinodendron heudelotii*

C.E.V. (mg/ml)	Nombre D.F.		T.N (%)	CMN (mg /ml)
	Avant T	Après T		
3,924	85	20	76	
2,616	85	20	76	
1,308	85	20	76	
1,117	85	20	76	
1,046	85	20	76	
0,915	85	20	76	
0,784	85	20	76	
0,654	85	20	76	
0,5232	85	20	76	
<b>0,3924</b>	<b>85</b>	<b>20</b>	<b>76</b>	<b>0,3924</b>
0,2616	85	25	70,5	
0,1308	85	30	64,7	
0,1177	85	35	58,8	
0,1046	85	40	52,9	
0,0915	85	45	47	
0,0784	85	50	41,1	
0,0654	85	65	23,5	
0,0523	85	75	0,11	

Annexe 3.: Composés phytochimiques intervenant dans la normalisation des drépanocytes ainsi que les noms des chercheurs qui les ont mis en évidence.

N°	Composé antidrèpanocytaire	Plante	Chercheur
1)	Anthocyanes	<i>Alchornea cordifolia</i>	MPIANA. P.T ( 2007)
2)	Alcaloïdes		
3)	Acide -Ortho- 3,4 divalloylquinique	<i>Fagara zanthoxyloïdes</i>	OUATTARA.B( 2004)
4)	Acide -Ortho -3,5 divalloylquinique		
5)	Acide -Ortho-4,5 divalloylquinique		
6)	Acide Vanillique	<i>Zanthoxylum xantholoides</i>	OSOBA.O.A.( 2001)
7)	Acide para hydroxybenzoïque		
8)	Acide para hydroxybenzoïque	<i>Cissus populnea</i>	MOODY.J.O (2003)
9)	Phénylalanine	<i>Cajanus cajan</i>	
10)	Acide para hydroxybenzoïque		AKOJIE .F.O ( 1992)
11)	Phénylalanine	<i>Cajanus cajan</i>	EKEKE.G.I. ( 1990)



#### Annexe 4. Test de solubilité sur le sang total. ( Test d'Itano).

##### Principe.

L'hémoglobine S , réduite par action de l'hydrosulfite de sodium , précipite dans une solution tampon phosphate de 2,24 M.

##### Technique.

Le test est réalisé à température d'environ 20°c.

Préparer un hémolysat pour chaque échantillon à tester , à partir du culot globulaire lavé en eau physiologique.

Culot globulaire = 100 µl

Eau distillée = 600 µl.

Bien agiter les tubes et les laisser à + 4°c pendant 15 minutes.

Centrifuger pendant 10 minutes.

##### Test.

- Faire un tube témoin : solution tampon 2,8 M = 800 µl.  
Hémolysat = 200 µl.
- Tube test : solution A ( réactif ) = 800 µl.  
Hémolysat = 200 µl.

Procéder en déposant les hémolysats à la surface du tampon puis en agitant simultanément tous les tubes.

Si l'on est en présence d'hémoglobine S , il se produit immédiatement un trouble net dans le tube contenant la solution A . Le tube témoin doit rester limpide.