

Effet de la pommade à base de beurre de karité et de l'extrait de *Terminalia mantaly* sur la couche épidermique de la peau de lapin *Oryctolagus cuniculus*

Ibrahima Aimé SOUMAHORO^{1*}, Marie-Anne Kayi d'ALMEIDA^{1,2}, Goueh GNAHOUE⁴,
Adou Koffi Mathieu KRA¹ et Allico Joseph DJAMAN^{1,2,3}

¹Laboratoire de Pharmacodynamie Biochimique, UFR Biosciences, Université de Cocody-Abidjan,
22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

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

³Département de Biochimie Médicale et Fondamentale, Institut Pasteur d'Abidjan,
01 BP 490 Abidjan 01, Côte d'Ivoire

⁴Laboratoire de Microbiologie-Biochimie, Ecole Normale Supérieure (ENS) Abidjan, Côte d'Ivoire

* Correspondance, courriel : soumibraime@yahoo.fr

Résumé

Depuis toujours les plantes sont utilisées dans les pays africains par les populations locales pour soigner divers affections. La plupart de préparations médicamenteuses pharmaceutiques sont également à base de plantes. Dans les contrées africaines, plusieurs plantes ont été répertoriées pour leurs efficacités prouvées sur un certaines nombres de maladies. C'est le cas de *Terminalia mantaly*; un combretacée originaire de Madagascar. La même espèce est utilisée en Côte d'Ivoire pour soigner les affections cutanées. Les présents travaux sont menés afin de vérifier les vertus fongiques qui lui sont attribués. A cet effet une pommade nommé TEPOM a été préparée avec l'extrait hydroalcoolique de *Terminalia mantaly* codifié TEKAM₁-X₀ et appliqué sur la peau de lapin afin d'évaluer sa toxicité éventuelle. Suite aux traitements histologiques et les observations au microscope optique sur la peau de lapin on en déduit que le produit ne présente aucune toxicité.

Mots-clés : *Terminalia mantaly*, vertu antifongique, toxicité.

Abstract

Evaluation of ointment toxicity based on mixture of *Terminalia mantaly* extract and shea butter on the rabbit skin (*Oryctolagus cuniculus*)

Since always, the plants were used in the African countries by the local populations to take care several kinds of disorders. The majority of pharmaceutical drugs are also containing plants. In African plants were often indexed for their effectiveness on certain diseases. It is the case of *Terminalia mantaly* a Combretaceae from Madagascar. This specie is equally used in Côte d'Ivoire to cure the skin disorders. The present paper is undertaken in order to check the fungic virtues which are allotted to it. TEPOM, an ointment was prepared with the hydroalcoholic extract of *Terminalia mantaly* codified TEKAM₁-X₀ and applied to the rabbit skin in order to evaluate it toxicity. Investigation with light microscope after histological treatment on the rabbit skin indicated that the product does not have any toxicity.

Keywords : *Terminalia mantaly*, fungic virtues, toxicity.

1. Introduction

Durant toute l'existence, La peau de tout être vivant est continuellement soumise aux effets de différents types de produits en particulier aux produits chimiques et à la pollution ambiante. Par conséquent la peau protège l'organisme contre tous agresseurs externes [1, 2]. Elle constitue aussi bien une barrière physique, chimique que biologique. En effet, après avoir franchi une surface durcie par la kératine, des obstacles constitués de sébum, de film liquide acide, de mélanine et de cellules phagocytaires s'opposent à tous les agresseurs [3]. Dès que la charge induite par l'action de ces facteurs environnementaux dépasse le seuil de tolérance et la capacité de restauration de la peau, il apparaît des pathologies [4 - 6]. Les pathologies ciblées dans les présents travaux sont les pathologies cutanées de types fongiques. L'enjeu consiste à administrer des traitements tout en préservant les fonctions naturelles de la peau. C'est dans ce cadre d'étude qu'une pommade antifongique dénommée TEPOM a été formulée à base d'extrait hydroalcoolique d'écorces de *Terminalia mantaly* (codifié TEKAM₁-X₀) et de beurre de karité contre les affections cutanées. L'action de la pommade est 24,25 fois plus active que celle de TEKAM₁-X₀ sur *Candida albicans* [7]. L'objectif des présents travaux est d'évaluer l'effet de la TEPOM sur la peau de lapin selon les tests de Draize conformément aux méthodes officielles de la ligne directrice de l'OCDE adopté pour les produits chimique et cosmétique [8 - 10]. Cette étude est réalisée pour déterminer la toxicité probable de la pommade.

2. Matériel et méthodes

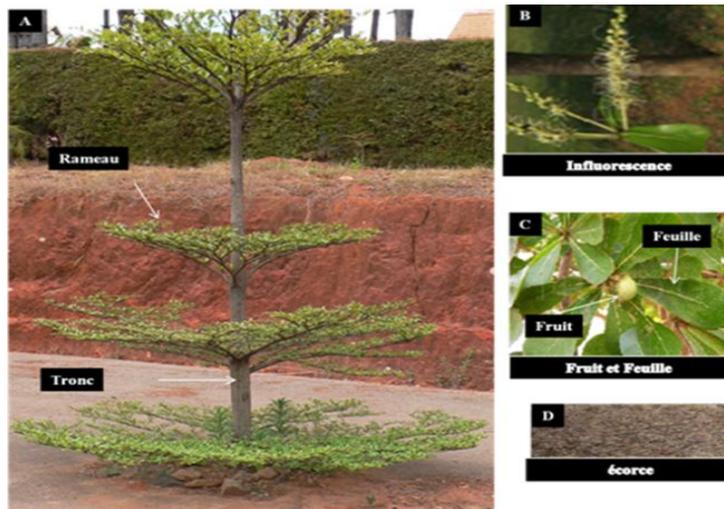
2-1. Matériel d'étude

2-1-1. Les lapins

Les tests ont été réalisés sur des lapins albinos (*Oryctolagus cuniculus* de la famille des *Leporidae*) mâles de race néo-zélandaise dont le poids moyen est compris entre 2,5 et 3 kg. Les lapins ont été au début de l'essai, vaccinés contre la pasteurellose, la myxomatose et garantis exempts de Coccidiose. Les animaux ont subi une période d'acclimatation d'une semaine à l'animalerie de l'ENS, en cage individuelle. Ils ont été nourris *ad libitum* dans les cages avec des granulés (LANADA). Ces animaux ont été maintenus dans les conditions standard de nourriture, de température (28°C) et d'éclairage (12 heures d'éclairage, 12 heures d'obscurité). La méthode généralement consiste en deux essais : l'essai initial et l'essai de confirmation.

2-1-2. La pommade

La pommade TEPOM, est constituée du mélange par trituration d'extrait éthanolique codifié TEKAM₁-X₀ provenant de l'écorce de *Terminalia mantaly* et du beurre de karité extrait des noix de *Butyrospermum parkii* (G. Don) Kotschy (Sapotaceae).



http://www.virboga.de/Terminalia_mantaly.htm

Figure 1 : *Terminaliamantaly* ou badamier de Madagascar

L'extrait hydroalcoolique est obtenu selon le procédé de [11]

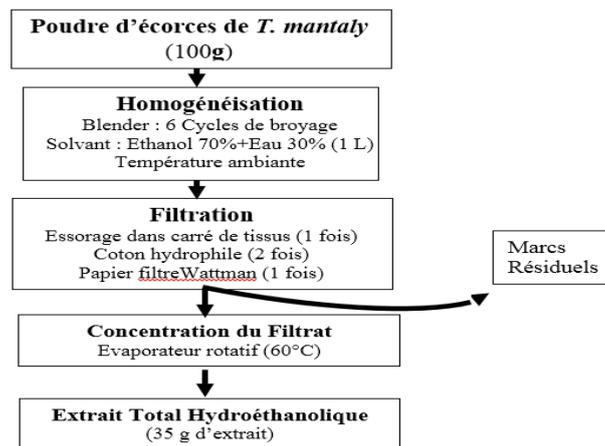


Figure 2 : Schéma de préparation de l'extrait total hydroéthanolique (TEKAM₁-X₀)

La TEPOM est obtenu selon la méthode du formulaire Technique Magistrale (FTM) 2010

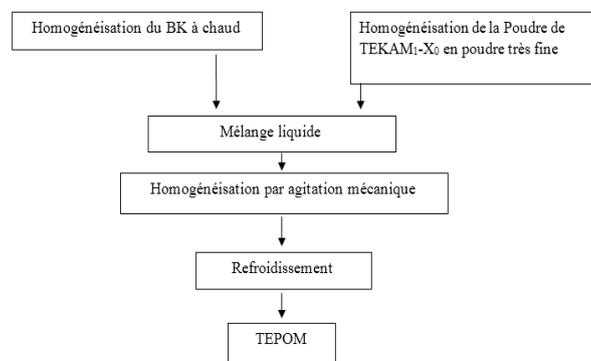


Figure 3 : Schéma du Procédé global pour la préparation d'un produit semi-solide selon formulaire technique magistrale (FTM) 2010 [12]

Avant l'emploi la pommade est conditionnée dans des tubes de plexiglas :



Figure 4 : *Conditionnement dans les tubes de plexiglas*

2-2. Méthodes

Pour l'expérimentation, les deux flancs ont été tondu et scarifiés. Sur un des flancs (FT) a été appliqué la TEPOM. L'autre est considéré comme flanc témoin (FNT).

2-2-1. Sacrifice des lapins et prélèvement des échantillons

Les lapins sont sacrifiés après anesthésie. Sur ceux-ci un prélèvement de peau a été effectué par dissection du flanc gauche du lapin et cet échantillon est considéré comme témoin (FNT). L'échantillon prélevé sur le flanc droit est considéré comme échantillon de peau traité.

2-2-2. Technique histologique

Pour la présente étude les travaux de référence sont ceux de [13 - 15]. L'étude histologique a concerné la peau des flancs des lapins. Les échantillons prélevés ont été fixés par immersion dans du liquide de Bouin aqueux, déshydratés de façon progressive à l'éthanol (70°, 95° et 100°) puis préimprégnés dans du butanol. L'imprégnation proprement dite ainsi que l'inclusion sont faites dans la paraffine (Parafina para Histolitica ref. 0587). Des coupes de 7 µm réalisées au microtome MICROM, ont été colorées à l'hémalun-éosine. Les coupes ont également été collodionnées pour éviter leur décollage. L'observation et les photos ont été faites au photomicroscope ZEISS. La prise de vue macroscopique ont été effectuées avec un appareil photo numérique du types SONY (Exmor R 16.2Mega Pixel). Les différentes données ont été traité par les logiciels Word et Excel.

3. Résultats

Les échantillons FNT constituent les échantillons des flancs non traités ou témoins Tandis que les échantillons FT correspondent aux échantillons traités selon la méthode de DRAIZE.

3-1. Etude histologique de la peau

La pommade ayant été appliqué sur l'épiderme, l'étude se portera uniquement sur celui-ci et son annexe le follicule pileux.

3-1-1. Etude histologique des échantillons du flanc non traité (FNT)

3-1-1-1. Histologie de la peau du flanc non traité (FNT)

Chez le lapin, la peau débarrassée des poils est une structure stratifiée constituée de la superposition de l'épiderme et de la couche superficielle qui repose sur le derme. Sous le derme se situe l'hypoderme.

3-1-1-1-1. L'épiderme

L'élément cible étudié dans les présents travaux est l'épiderme (**Figures 5A, 5B, 5C et 5D**). Il est séparé du derme par une lame basale (**Figures 5A, 5B, 5C et 5D**). L'épiderme chez les lapins est une structure épithéliale. C'est un épithélium pavimenteux stratifié kératinisé. Chez le témoin son épaisseur varie entre 124,4 µm et 149 µm. Elle très éosinophile (**Figures 5A, 5B, 5C et 5D**). La peau du flanc témoin présente une stratification en deux couches (**Figures 5C et 5D**). La couche supérieure d'une épaisseur de 13,8 µm présente une densité supérieure à la couche sous-jacente qui est constituée de cellules (**Figures 5C et 5D**). La couche cellulaire est constituée de plusieurs assises de cellules de taille et de forme variable selon leur localisation. Selon leur position, certaines cellules sont moins hautes, aplaties et larges. Ce sont ces formes cellulaires qui donnent l'aspect pavimenteux à l'épithélium de l'épiderme (**Figure 5D**). Les cellules caractéristiques de la couche cellulaire ont 9,2 µm de diamètre, sont constituées d'un noyau, du cytoplasme bordé par la membrane plasmique (**Figure 5D**).

3-1-1-1-2. Follicule pileux

Le follicule pileux est une invagination de l'épithélium épidermique. Le follicule pileux et l'épiderme sont des structures vivantes enfoncées dans la peau, à la base du poil qui est une structure morte (**Figures 5E, 5F et 5G**). Le follicule pileux forme la gaine épithéliale externe du poil. Il est renflé à la base formant le bulbe ou papille dermique (**Figure 5G**).

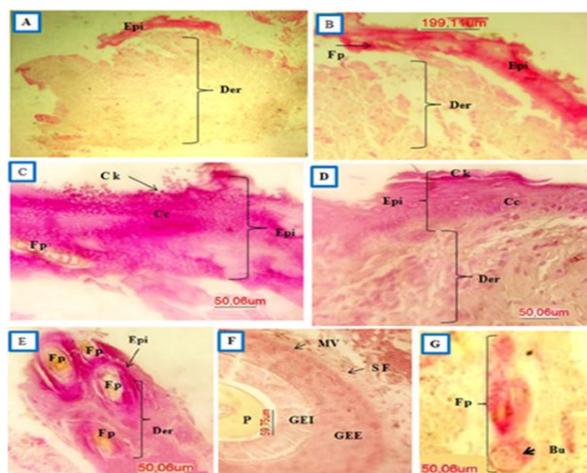


Figure 5 : Flanc non traité

A, B : Vue d'ensemble épiderme derme ; C : Coupe longitudinale dans l'épiderme mise en évidence de couche cellulaire ; D : Mise en évidence de différentes couches de l'épiderme ; E, F : Coupe en biais de follicule pileux ; G : Coupe longitudinale de follicule mise en évidence de papille dermique ; Bu : Bulbe ou papille dermique ; Cc : Couche cellulaire ; Ck : Couche kératinisé ; Der : Derme ; Epi : Epiderme ; Fp : Follicule pileux ; GEE : Gaine épithéliale interne ; MV : Membrane vitrée ; SF : Sac fibreux

Il est constitué dans sa partie axiale de la moelle ou matrice peu kératinisée, entourée de la zone kératogène du cortex. Celle-ci est enveloppée par la gaine épithéliale interne formée de kératine molle. La gaine épithéliale externe fait suite à la zone interne. En coupe transversales (**Figures 5E et 5F**) le follicule pileux a un aspect concentrique. On distingue de l'intérieur vers l'extérieur (**Figure 5G**) la matrice, la zone kératogène et les zones épithéliales interne et externe. Epiderme et follicules sont les deux structures au niveau desquelles a été appliquée la TEPOM. L'objectif est de voir si l'exposition au TEPOM à provoquer à leur niveau d'éventuelles transformations ou lésions.

3-1-2. Histologie de la peau du flanc traité de lapin (FT)

La TEPOM a été appliquée pendant 3 mn, 1 heures et quatre heures sur la peau rasée de lapin selon la méthode de DRAIZE. Après la durée de traitement, le premier phénomène observé est la repousse des poils sur la partie tondue. L'examen microscopique des coupes des tissus n'ont montré aucune modification ou altération. La structure de l'épiderme ne présente aucun changement ni de l'épithélium superficiel kératinisé (**Figures 6A, 6B et 6C**), ni des couches cellulaires sous-jacentes. Les différents éléments constitutifs du follicule pileux ne présentent aucun dommage (**Figures 6B, 6D, 6E et 6F**). De l'observation des échantillons de la peau témoin et traitées, on en déduit que les épidermes et les follicules pileux semblent identiques au plan structurel. On ne note ni altération, ni désorganisation ni lyse cellulaire. Aucune modification ne résulterait de l'application de la pommade TEPOM. La préparation ne présente aucune toxicité.

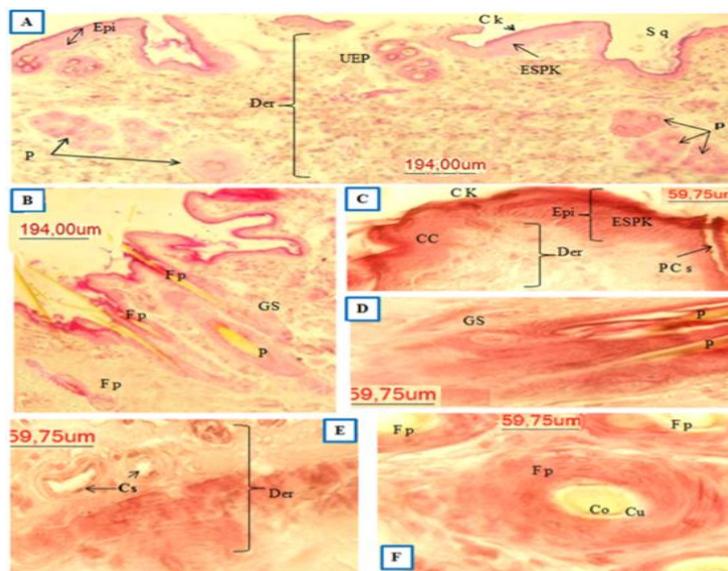


Figure 6 : Flanc traité

A : Coupe de vue d'ensemble épiderme derme ; B, D : Coupe longitudinale de follicule pileux ; C : Mise en évidence de l'épithélium stratifié kératinisé (ESPK) ; E : Coupe transversale des canaux sudoripare ; F : Coupe transversale de follicule pileux ; Bu : bulbe ; CK : Couche kératinisé ; CC : Couche cornée ou cellulaire ; Co : Cortex ou écorce ; Cs : Canal sudoripare ou sudorale ; Cu : Cuticule ; ESPK : Epithélium stratifié pavimenteux kératinisé ; Der : Derme ; FP : Follicule pileux ; Gs : Glande sébacée ; P : Poil ; PCs : Pore canal sudoripare ; Sq : Squame ; UEP : Unité épithéliale de prolifération

4. Discussion

Les objectifs généraux des présents travaux est la mise en évidence des vertus antifongiques de *Terminalia mantaly*. Ces vertus ont été prouvées grâce aux tests réalisés avec l'extrait brut et la pommade préparée à base de l'extrait, sur trois types de champignons. *Terminalia mantaly* sous ces différents conditionnements TEKAM₁-X₀ ou TEPOM s'est avéré efficace contre les champignons tel que *C. albicans*, *C. tropicalis* et *T. mentagrophytes* [7]. L'intérêt de la préparation du TEPOM est son utilisation contre un certain nombre d'affections fongiques chez les humains. Chez ces derniers le produit ne doit présenter aucune forme de nocivité. Par conséquent une vérification de la toxicité éventuelle du produit est faite sur la peau de lapin avant sa mise sur le marché. Le choix de la peau de lapin c'est qu'elle a la même structure que chez l'humain. Comme l'a mis en exergue [16], la peau constitue l'interface entre l'environnement extérieur et l'organisme. La peau de lapin qui est un tissu superficiel qui couvre entièrement l'organisme du lapin [16] a une organisation stratifiée en couche. Ces présentes observations sont similaires à ceux de [17 - 20]. Ces auteurs ont montré que l'épithélium est subdivisé couches. Les observations faites sur l'aspect et la disposition des cellules permettent de conclure comme [21 - 24] qu'il s'agit d'un épithélium de revêtement stratifié pavimenteux kératinisé. L'architecture tel que décrit par [25] sur le cuir chevelu, par [26] chez le cobaye, et par plusieurs autres auteurs tels que [3, 16, 20, 27 - 30], est similaires à celle observée dans les présents travaux. A l'issue de l'application locale superficielle de la TEPOM sur la peau rasée et scarifiée du lapin suivant les normes de L'OCDE, aucune affections ou lésions dues à l'application n'a été soulignée. La TEPOM n'induit, ni œdèmes, ni érythèmes sur la peau. On observe la repousse des poils. L'application superficielle n'a entraîné macroscopiquement aucune lésion visuelle. De plus chez le lapin, l'application de la TEPOM sur les différents tissus de la peau n'a induit, ni lésons, ni lyse cellulaire, ni irritations sur ces différentes structures.

5. Conclusion

Les résultats histologiques confirment ceux des tests de l'application locale [7]. Le TEPOM est un produit inoffensif car ne présente aucune nocivité vis à vis de l'organisme du lapin. Ces résultats peuvent par conséquent être extrapolés aux humains. La TEPOM peut être recommandé dans le cas de traitement des affections fongiques chez ces derniers.

Références

- [1] - K. A. CAPONE, S. E. DOWD, G. N. STAMATAS, J. NIKOLOVSKI, Diversity of the human skin microbiome early in life. *J Invest Dermatol*, 131 (2011) 2026 - 2032.
- [2] - Y. E. CHEN, H. TSAO, The skin microbiome "Current perspectives and future challenges". *J Am Acad Dermatol*, 69 (2013) 143 - 155.
- [3] - E. MARIEB, K. HOEHN, Anatomie et physiologie humaines Pearson Education France, (2014) 1504 p.
- [4] - P. ELSNER, Handkook of contact dermatitis, *Londre, Martin Dunitz*, 200 (2000) 1 - 4.
- [5] - JA BOUWSTRA, A. DE GRAAL GS. GOORIS, J. NIJSSE, J. WIECHERS, A. C. AELST VAN, Water distribution and related morphology in human stratum corneum as different hydratation levels. *J Invest Dermatol*, 120 (2003) 750 - 758.
- [6] - C. R. HARDING, The stratum corneum : structure and function in health and diseases. *Dermatol ther*, 17 (2004) 6 - 15.
- [7] - I. A. SOUMAHORO, K. M. A. ALMEIDA, G. GNAHOUE, A. K. M. KRA, A. J. DJAMAN, Evaluation of ointment activity based on *Terminalia mantaly* extract, *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*, 6 (5) (2016) 41 - 45.

- [8] - ANONYME 1, Toxicité cutanée à doses répétées étude à 21 / 28 jours. Ligne directrice 410 de l'OCDE pour les essais de produits chimiques adoptée le 12 Mai 1981.
- [9] - ANONYME 2, Effet irritant / corrosif aigu sur la peau. Ligne directrice 404 de l'OCDE pour les essais de produits chimiques adoptée le 24 Avril 2002.
- [10] - ANONYME 3, Effet irritant / corrosif aigu sur les yeux. Ligne directrice 405 de l'OCDE pour les essais de produits chimiques adoptée le 24 Avril 2002.
- [11] - N. G. ZIRIHI & A. K. M. KRA, Evaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* (LARMARCK) O. KUNTZE (Asteraceae) "PYMI" sur la croissance in vitro de *Candida albicans*. *Rev. Méd. et Pharm. Afric.*, 17 (2003) 11 - 19.
- [12] - FORMULAIRE TECHNIQUE MAGISTRALE (FTM), [http : // www.faggafmps.be / sites / default / files / downloads / FTM_PharmaciensEdition2010.pdf](http://www.faggafmps.be/sites/default/files/downloads/FTM_PharmaciensEdition2010.pdf)
- [13] - R. MARTOJA et M. MARTOJA-PIERSON, Initiation aux techniques de l'histologie Animale. *Edition Masson et Cie*, (1967) 125 p.
- [14] - M. GABE, Technique histologique, *Edition Masson Paris* ; (1968) 375 p.
- [15] - M. LOCQUIN and M. LANGERON, Manuel de microscopie. *Edition Masson*, (1978) 224 p.
- [16] - J. P. DADOUNE, Histologie, 2ème édition *Médecine Sciences Flammarion*, (2000) 394 p.
- [17] - P. R. WHEATER, B. YOUNG, J. W. HEATH, Histologie fonctionnelle, 4^{ème} Edition *De Boeck Université*, (2004) 424 p.
- [18] - J. POIRIER, M. CATALA, Histologie, Les tissus 3^{ème} Edition, *Elsevier Masson*, (2006) 224 p.
- [19] - L. R. RENATE, P. SPRUMONT, Histologie *De Boeck Supérieur Université*, (2008) 704 p.
- [20] - C. KOHLER, Cours : Enseignement Histologie Collège universitaire et hospitalier des histologistes, embryologistes, cytologistes et cytogénéticiens (CHEC), (2011) 200 p.
- [21] - J. W. HEATH, P. R WHEATER, A. STEVENS, B. YOUNG, Atlas d'histologie fonctionnelle de Wheeler édition rue des minimes *De Boeck université 39 B 1000 Bruxelles*, (2008) 448 p.
- [22] - G. KARP, J. BOUHARMON, P. L. MASSON, Biologie cellulaire et moléculaire 3^{ème} Edition *De Boeck Supérieur Université Sciences*, (2010) 840 p.
- [23] - J. L. HIATT. L. P. GARTNER, Atlas en couleur d'histologie Collection étudiants 3^{ème} Ed. *Pradel*, (2012) 464 p.
- [24] - G. O'DOWD, P. R. WHEATER, P. WOODFORD, B. YOUNG, Atlas d'histologie fonctionnelle de Wheeler, collection Biologie cellulaire et moléculaire, 3^{ème} Ed. *De Boeck supérieur*, (2015) 465 p.
- [25] - W. KUHNEL, Atlas de poche d'histologie. Paris, Médecine Science *Flammarion*, (1991) 428 - 444.
- [26] - J. SECCHI & D. LECADE, Atlas d'histologie, Paris, Ed. *Maloine S. A.*, (1981) 31 - 58.
- [27] - L. C. JUNQUEIRA, J. CARNEIRO, R. O. KELLEY, Histologie 2ème édition française - Ed Piccin, (2001) 486 p.
- [28] - M. LOUKAS, S. CARMICHAEL, G. L. COLBORN, Gray's anatomy review *Churchill Livingstone/Elsevier*, (2009) 412 p.
- [29] - N. WU, J. ROLLIN, I. MASSE LAMARTINE, and X. GIDROL, P63 regulates human keratinocyte proliferation via MYC-regulated gene network and differentiation commitment through cell adhesion related gene network, *J Biol Chem*, 287 (2012) 5627.
- [30] - D. P DOUPE, A. M KLEIN, B. D. SIMONS, and P. H JONES, The ordered architecture of murine ear epidermis is maintained by progenitor cells with random fate *Dev Cell*, (2010) 317 p.