

Formulation d'une pommade antibactérienne à base d'un extrait éthanolique des écorces du tronc de *Tabernaemontana crassa* Benth

Biyiti L.F.** , Tamze V.** , Nnanga Nga** Agbor Agbor G.** ,
Gangoue-Pieboji J.**

* * Centre de Recherche en Plantes Médicinales et en Médecine Traditionnelle (CRPMT) de
l'Institut de Recherche Médicale et d'Etude des Plantes Médicinales (IMPM),
Yaoundé-Cameroun

RESUME

En Afrique, plus de 80% de la population utilise la Médecine traditionnelle (MTR) pour se soigner. Cette utilisation largement répandue s'explique par l'accessibilité et la disponibilité de cette médecine dans les pays en voie de développement d'une part, et la nocivité des effets secondaires des médicaments de synthèse d'autre part. D'où l'engouement actuellement noté pour l'étude, la valorisation et l'exploitation des richesses de ladite médecine.

Dans cette optique de promotion de la médecine traditionnelle, le screening phytochimique et l'activité antibactérienne, par les méthodes de diffusion en milieu solide et de dilution en milieu liquide, des extraits éthanoliques des écorces du tronc de *Tabernaemontana crassa* (Apocynacées), effectués au Centre de Recherche en Plantes Médicinales et en Médecine Traditionnelle en 1984 (Biyiti et al), sont repris dans le cadre du présent travail. Une étude de la toxicité orale aiguë desdits extraits, menée sur les souris Swiss, a suivi et révélé l'absence des effets toxiques. Ces résultats intéressants ont conduit à la formulation d'un médicament traditionnel amélioré (MTA) à base des écorces du tronc de *T. crassa*. Cette plante est utilisée depuis longtemps en médecine traditionnelle africaine pour soigner diverses maladies en général, et pour le pansement et la désinfection des plaies en particulier.

Une enquête sur l'utilisation de la plante dans la désinfection des plaies sur un échantillon représentatif de la population camerounaise a permis de déterminer la dose efficace et de formuler, par conséquent, une pommade antibactérienne à base d'un extrait éthanolique des écorces du tronc de *T. crassa* pour laquelle la procédure de mise sur le marché est en cours.

Mots-clés : Plante médicinale, *Tabernaemontana crassa*, activité antibactérienne, pommade antibactérienne, « Tabercine ».

INTRODUCTION

Malgré les progrès de la médecine moderne, les traditions thérapeutiques ancestrales se perpétuent en Afrique où plus de 80% de la population continue à utiliser la médecine traditionnelle pour se soigner. Cette utilisation largement répandue s'explique par l'accessibilité et la disponibilité de la médecine traditionnelle dans les pays en voie de développement d'une part, ainsi que le coût élevé et la nocivité des effets secondaires causés par les médicaments de synthèse d'autre part. Tous ces constats justifient toutes les actions actuellement menées en vue de développer la médecine traditionnelle et d'assurer son intégration dans les systèmes nationaux de soins de santé modernes.

Dans cette optique de valorisation de la médecine traditionnelle, les plantes médicinales qui présentent des utilisations thérapeutiques intéressantes sont identifiées, étudiées et valorisées. C'est dans ce cadre que s'inscrit *Tabernaemontana crassa* Benth

T. crassa Benth (Eton en Boulou et Ewondo, ou Fando en Baka), est une espèce de la famille des Apocynacées encore appelé *Tabernaemontana durissima* Staph, *Tabernaemontana jollyana* Pietre ex Staph, *Conopharyngia crassa* Benth, *Conopharyngia durissima* Staph ou *Gabunia onor*(Biyiti et al,1985 ; Van Beek, 1985). *T. crassa* est un arbre moyen des zones fraîches de la forêt que l'on rencontre dans les sous-bois des forêts denses de plusieurs pays africains tel que le Cameroun, la Côte d'Ivoire, la Sierra Léone, le Ghana, le Congo, le Libéria, l'Ouganda, l'Angola et la Tanzanie par exemple. Son latex est utilisé en médecine traditionnelle, en Côte d'Ivoire, au Cameroun et au Sénégal, pour la désinfection et le pansement des plaies, même les plaies lépreuses, ainsi que pour le traitement des mycoses de la peau (Irvine, 1961; Khalem *et al.*, 1979; Biyiti, 1984). En Côte d'Ivoire, il est aussi utilisé en instillation nasale pour calmer les céphalées. Certains guérisseurs l'utilisent aussi, en Afrique, comme anthelminthique, narcotique, anesthésique locale, et comme un tranquillisant des malades mentaux. Le décocté d'écorces est utilisé comme laxatif. En lavement, il soulagerait les maux de reins, les rhumatismes et serait indiqué dans les cas de constipation opiniâtre. Le décocté de feuilles est utilisé, en friction, contre la fatigue. Les feuilles macérées sont utilisées pour traiter les enfants atteints de rickettsies (Irvine, 1961 ; Kerharo, 1971).

En 1964, Hanna R. a analysé les composants neutres de *T. crassa*. Elle a révélé la présence de l'acétate alpha et bêta amyryne, l'acétate de lupényl et le clionastérol.

Dans une étude réalisée sur différentes espèces africaines de *Tabernaemontana* en 1967, Patel, Miet et Poisson ont signalé la présence de tabernanthine dans les écorces du tronc.

En 1984 et 1985, Van Beek *et al.* ont isolés les alcaloïdes suivants dans l'extrait éthanolique des écorces du tronc de *T. crassa* : ibogaïne (produit majoritaire), conopharyngine, o-acetyl-polyneuridine, anhydro-vobasindiol, akuammiline, 19-hydroxyconopharyngine, 3-oxocoronaridine, 3-oxo-coronaridine-hydroxy-indolenine, heyneanine, 3-oxoheyneanine, isovoacangine, voacristine, et crassanine.

Au Cameroun, le screening phytochimique des extraits étheré, méthanolique et aqueux des écorces du tronc de *T. crassa* a révélé la présence des stérols, des substances réductrices, des alcaloïdes, des coumarines sous forme de glycosides (Biyiti, 1984 ; Biyiti et al, 1985). Les études pharmacologiques des extraits éthanoliques de l'écorce du tronc de *T crassa* ont mis en évidence une importante activité antibactérienne (Biyiti, 1984 ; Van Beek et al, 1984b) Van Beek *et al.*, 1985b) beaucoup plus prononcée contre les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif. Une faible activité antifongique contre certains champignons et levures a également été constatée.

Par ailleurs, les extraits éthanoliques ont une forte activité antivirale contre le virus de la poliomyélite et une forte activité anti-amibienne, à fortes concentrations, sur *Entamoeba histolytica* (Van Beek *et al.*, 1984b).

Aucun travail dans la littérature révèle une étude toxicologique des extraits bruts des écorces du tronc du *T. crassa*.

Le présent travail vise à valoriser et exploiter les propriétés antibactériennes des écorces du tronc de *T. crassa* indiquées dans les études bibliographiques et confirmées par les tests de laboratoire effectués au Centre de Recherche en Plantes Médicinales et en Médecine Traditionnelle (CRPMT) de Yaoundé au Cameroun (Biyiti, 1984 ; Biyiti et al., 1985) par la mise au point d'un médicament traditionnel amélioré.

MATERIEL ET METHODES

Matériel végétal

Les écorces du tronc de *T. crassa* sont récoltées au mois de mars 2009 à Tchangué, un village de la Région du Sud-Cameroun.

Elles sont séchées sur les claies, à la température ambiante, puis finement broyées.

Microorganismes

L'activité antibactérienne est évaluée sur 18 souches bactériennes réparties de la manière suivante :

- Bactéries Gram+ : *Staphylococcus aureus* ATCC (American Type Culture Collection) 25923, *S. aureus* U271, *S. saprophyticus*, *Enterococcus hirae* ATCC 9790, *Enterococcus* spp. P054 ;

- Bactéries Gram- : *Escherichia coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 35218, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *E. aerogenes* ATCC 29751, *E. cloacae* HGY18, *Klebsiella pneumoniae* HGY6, *K. pneumoniae* HGY19, *K. oxytoca* U271, *Serratia marcescens* HGY4, *S. marcescens* HGY10, *Acinetobacter baumannii* HGY12, *A. baumannii* HGY13 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27823.

Matériel animal

Les tests de toxicité aiguë sont réalisés sur les souris Swiss élevées au laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie du Centre de Recherches en Plantes Médicinales et en Médecine Traditionnelle.

Screening phytochimique

La poudre des écorces de *T. crassa* est, dans un premier temps, extraite à froid avec de l'éthanol à 96°, dans un percolateur, pendant 48 heures. L'extrait obtenu est concentré dans un rotavapor. Après refroidissement du concentré éthanolique, on observe un précipité qui est séparé du concentré par filtration. Le filtrat et le précipité sont séparément séchés et pesés. On obtient deux extraits : une poudre vert-jaunâtre (précipité) et une pâte amorphe de couleur marron sombre (filtrat).

Dans un deuxième temps, l'extraction a été refaite dans les mêmes conditions, mais sans filtration, afin d'obtenir un extrait total brut.

Un screening phytochimique est ensuite effectué sur les trois extraits selon les méthodes décrites par Edeoga et al (2005) et Hostettmann et al (2001).

Tests d'activité antibactérienne

Les extraits (extrait total, précipité et filtrat) sont dilués dans du méthanol à 50%. Les solutions obtenues, à la concentration de 200 mg/ml, sont maintenues au réfrigérateur à 4 °C dans les tubes à essais pendant 24 heures pour une meilleure solubilisation. L'antibiotique de référence utilisé est la gentamicine.

A partir d'une culture pure de 18 à 24 heures en milieu solide non sélectif (trypcase-soja), 2 à 4 colonies bien isolées et ayant la même morphologie, sont prélevées et mises en suspension dans 5 ml de solution stérile de NaCl 0,9%. La turbidité de cette suspension microbienne est ajustée à celle d'une suspension standard (densité 0,5 de l'échelle Mc

Farland). Cet inoculum contient environ $1 \text{ à } 2 \times 10^8$ UFC/ml. Il est dilué au $1/10^{\text{ème}}$ pour le test de dilution en gélose.

L'étude de l'activité antimicrobienne des extraits de *T. crassa est* ensuite faite par les méthodes de diffusion et de dilution en gélose, suivant la technique du National Committee for Clinical Laboratory (1997 a et b).

La diffusion en gélose ou méthode des disques est basée sur la présence ou l'absence d'une zone d'inhibition de la croissance microbienne autour d'un disque de papier buvard imprégné d'un agent antimicrobien.

L'ensemencement des souches bactériennes est fait par écouvillonnage. Du papier filtre (Whatman N° III) découpé en disques de 6 mm de diamètre et stérilisé à l'autoclave est déposés à la surface de la gélose dans des boîtes de Pétri, à l'aide d'une pince fine stérilisée sur la flamme du bec Bunsen. Un espace de 15 mm est laissé entre le bord de la boîte et le disque pour éviter les effets de bords, et de 30 mm entre les centres des différents disques pour éviter l'interférence des zones d'inhibition. 50 µl de chaque solution des extraits d'une concentration de 200 mg/ml sont déposés sur le disque (soit 10 mg/disque). Un disque imprégné de solvant (contrôle négatif) est placé dans chaque boîte de Pétri, ainsi qu'un autre disque imprégné de l'antibiotique de référence (contrôle positif). Les boîtes sont séchées (pré diffusion) pendant environ 1 heure à la température ambiante puis incubées à l'étuve à 37 °C. Après 18 à 24 heures, elles sont examinées et le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré.

La dilution en gélose consiste à inoculer en point plusieurs souches microbiennes sur des milieux solides contenant chacun des concentrations différentes et croissantes de l'agent antimicrobien.

Les gammes de concentration vont décroissantes de 20 mg/ml à 0 mg/ml pour les extraits de plante et de 32 µg/ml à 0 µg/ml pour la gentamicine. Les dilutions sont faites de 2 en 2. 18 ml de gélose de Mueller Hinton sont par la suite répartis dans des tubes à vis en verre de 25 ml. Après stérilisation à l'autoclave (121°C pendant 15 min), ces tubes sont maintenus à une température de 48° à 50°C dans un bain-marie. 2 ml de gentamicine ou d'extrait de plante de la gamme de concentration préalablement préparée sont ajoutés de manière aseptique dans les tubes. Le mélange milieu de culture/agent antimicrobien ou extrait de plante est homogénéisé au vortex et coulé dans une boîte de Pétri de 90 mm de diamètre.

2 µl de chaque inoculum sont ensemencés à la surface de la gélose bien sèche, sous forme de spots, à l'aide d'une anse de platine calibrée. Puis les boîtes sont séchées à la température ambiante, jusqu'à ce que le milieu absorbe complètement l'inoculum, et incubées dans les mêmes conditions que dans le test de diffusion en gélose.

Pour la lecture des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI), les boîtes de Pétri sont placées sur fond noir réfringent et les CMI notées comme étant la plus petite concentration de l'agent antimicrobien ou d'extrait de plante qui inhibe la croissance visible des germes. Tous les tests sont réalisés en double.

Tests de toxicité

L'objectif de l'étude est d'évaluer la toxicité *per os* des extraits éthanoliques d'écorces de tronc de *T. crassa*.

Les tests sont réalisés sur 36 souris Swiss (20-25g) élevées dans l'animalerie du laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie du Centre de Recherches en Plantes Médicinales et en Médecine Traditionnelle. Elles sont mises à jeun pendant 24 h puis divisées, pour chaque extrait, en 6 groupes de 6 animaux. Le groupe 1 ou groupe-témoin reçoit de l'eau distillée tandis que les groupes 2 à 6 reçoivent différentes doses uniques des extraits de *T. crassa* (1g/kg, 2.5g/kg, 5g/kg, 10g/kg, 20g/kg) dissous dans 1ml d'eau distillée, à l'aide d'une sonde de gavage. L'évolution des comportements tels que l'agitation, la fatigue, la diarrhée, le grattage, les mouvements de la queue, la perte des poils et la mortalité des animaux est suivie pendant 14 jours. Tous les animaux reçoivent normalement de l'eau et les aliments toute la durée de l'expérimentation. L'évolution pondérale est aussi notée pendant 14 jours.

Formulation galénique de «TABERCINE»

En fonction d'une enquête menée auprès des populations sur l'utilisation traditionnelle des écorces du tronc de *T. crassa*, la dose totale pendant une durée de traitement déterminée est notée. Ladite dose aide à fixer la concentration de l'extrait éthanolique total des écorces du tronc de *T. crassa* dans la pommade «TABERCINE»

La préparation galénique est faite dans le respect des normes de bonnes pratiques de fabrication de phyto-médicaments décrites par Battioli (1995).

Le conservateur et les excipients suivants sont utilisés : le benzoate de sodium (Riedel-de Haën A G-Seel-Hannover), la lanoline (BDH Chemicals LTD Poole England), la glycérine pharmaceutique (cedex) ; la vaseline blanche (laboratoire WAM'S, Yaoundé- Cameroun).

La notice d'utilisation ainsi conçue, présente les informations sur la composition, la pharmacodynamie, les indications, les contre-indications, les précautions d'emploi et la posologie de «TABERCINE».

RESULTATS ET DISCUSSION

- Après séchage et broyage des écorces du tronc de *T. crassa*, 9,0 kg de poudre sont transmis au laboratoire de Phytochimie.

- L'extraction éthanolique de la poudre des écorces de *T. crassa* à froid permet d'obtenir 86,1g de précipité jaune verdâtre et 167,5g de filtrat séché.

L'extraction éthanolique totale, sans filtration, de la poudre des écorces de *T. crassa* à froid permet d'obtenir 57,4g d'extrait total brut.

Le rendement de l'extraction est donc de 3,4%.

Le screening phytochimique des trois extraits révèle la présence d'alcaloïdes et de triterpènes, l'absence de flavonoïdes, de coumarines, de caroténoïdes et d'huiles essentielles.

Pour la réalisation des tests toxicologiques et antibactériens, environ 25g de chacun des trois extraits ont été utilisés au laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie.

Concernant les tests d'activité antibactérienne :

La méthode de diffusion en gélose, qui permet de déterminer les diamètres des zones d'inhibition de la croissance des souches bactériennes par les extraits de *T. crassa* (Fig1) (Tableau 1), montre globalement que l'activité antibactérienne des différents extraits et filtrat est plus prononcée sur les bactéries à Gram positif que sur les bactéries à Gram négatif (Tableau2). Les tests de toxicité aiguë *per os* des extraits éthanoliques de *T. crassa* révèlent une prostration et une fatigue initiales, légères et passagères observées au niveau de tous les groupes-tests. Aucune mortalité n'est enregistrée même pour la dose la plus élevée (15g/kg). Toutefois, les souris ayant reçu 15g/kg de poids corporel d'extrait de *T. crassa* ont manifesté quelques signes externes de toxicité une prostration et une fatigue initiales, légères et passagères observées au niveau de tous les groupes-tests. Aucune mortalité n'est enregistrée même pour la dose la plus élevée (15g/kg). Toutefois, les souris ayant reçu 15g/kg de poids corporel d'extrait de *T. crassa* ont manifesté quelques signes externes de toxicité : une éruption cutanée assez grave au niveau de la queue.

Il est à noter qu'à une dose de 50% (DL50) supérieure à 5g/kg de poids corporel, le produit n'est pas considéré toxique (Hayes, 1987). Il ressort donc que les extraits éthanoliques de *T. crassa* ne présentent pas de toxicité par voie orale.

- La formulation galénique de «TABERCINE » (Fig 2) est faite à base du filtrat séché obtenu par extraction éthanolique des écorces du tronc de *T. crassa* puisqu'il est plus actif que le précipité et l'extrait total brut.

L'enquête réalisée auprès des populations révèle que la dose totale d'un traitement traditionnel de dix (10) jours par les écorces du tronc de *T. crassa* correspond environ à 1000 mg de filtrat séché, et que la guérison intervient entre 06 (six) et 10 (dix) jours de traitement.

La pommade «TABERCINE » est par conséquent ainsi composée, pour 100 grammes, à 3% de filtrat séché :

Extrait végétal de *T. crassa* 3 g

Benzoate de sodium 0.01 g

Huile essentielle d'orange 0,1 g

Lanoline anhydride 3 g

Eau pure 5 g

Glycérine pure 10 g

Vaseline blanche 78.89 g.

Elle est contenue dans des tubes en aluminium émaillé de 30 g de produit final, pour une cure de 10 (dix) jours.

La notice d'utilisation se présente ainsi qu'il suit :

Forme et Présentation: Pommade à 3%, tube de 30g.

Composition :

Extrait végétal de *Tabernaemontana crassa* 3 g

Excipients : vaseline, glycérine, benzoate de sodium, eau pure, lanoline anhydride, huile essentielle d'orange.

Indications : « TABERCINE » est actif dans les infections dermiques causées les germes sensibles à l'extrait éthanolique de *Tabernaemontana crassa* : infections bactériennes de la peau et des muqueuses, pyodermies, furoncles et abcès après incision, folliculite de la barbe, ecthyma, impétigo, onyxis, pityriasis streptogènes, eczémas et dermatoses surinfectées, ulcère de la jambe, couverture antibactérienne locale en cas de brûlure, plaies superficielles.

Posologie et mode d'administration: une application par jour.

Contre indication : hypersensibilité à l'un des constituants du produit.

Mises en garde : « TABERCINE » peut être résorbée dans une certaine mesure après application sur une plaie étendue. Une application prolongée pourrait favoriser le développement d'une résistance.

Précaution d'emploi : tenir compte du risque de prolifération de germes résistants et prendre les mesures thérapeutiques appropriées. Interrompre le médicament en cas d'allergie et d'infections secondaires.

Pharmacodynamie : «TABERCINE» agit sur les bactéries à Gram + et à Gram - suivantes : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus D*, *Enterococcus spp.* *Enterococcus hirae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* *Enterobacter cloacae*, *Enterobacte hafniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Alkalescens dispar*, *Salmonella paratyphi A*, *Salmonella paratyphi C*, *Proteus mirabilis*.

Condition particulière de conservation : Tenir à l'abri de la chaleur.

Ministère de la Recherche et de l'Innovation (MINRESI)

Institut de Recherches Médicales et d'Etudes des Plantes Médicinales (IMPM)

Centre de Recherche en Plantes Médicinale et en Médecine Traditionnelle (CRPMT).

CONCLUSION

Le présent travail a abouti à la mise au point d'un médicament traditionnel amélioré anti-infectieux. Il représente donc une avancée dans la valorisation de la médecine traditionnelle, en général, ou dans l'exploitation de *T. crassa*, une plante disponible dans la nature et largement utilisée en médecine traditionnelle, en particulier. Ce d'autant plus qu'au Cameroun, comme partout en Afrique, les maladies infectieuses et parasitaires constituent un problème de santé publique à cause de leur fréquence, de leur gravité et du coût élevé des médicaments anti-infectieux modernes.

Ce travail vient compléter les résultats prometteurs qui avaient été obtenus au cours des travaux antérieurs effectués sur *T. crassa*. Il nécessite juste d'être finalisé par des essais de toxicité dermique, et des essais cliniques, afin qu'une autorisation de mise sur le marché de la pommade antibactérienne « TABERCINE » puisse être accordée.

Il est souhaitable que les études scientifiques des plantes médicinales africaines puissent promouvoir toujours davantage la production des médicaments traditionnels améliorés, dont les propriétés pharmacologiques et toxicologiques sont bien connues, en vue de contribuer à l'amélioration de la santé des populations africaines.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Battioli F. 1995. Manuale delle preparazioni galeniche. 1a edizione.
- Biyiti L. 1984. Etude préliminaire de l'activité antibactérienne d'une plante médicinale du Cameroun : *Tabernaemontana crassa* Benth. Mémoire de D.E.A. de Toxicologie fondamentale et appliqué, U.E.R. de Biologie, Université de Paris VII Jussieu en France, 31p.
- Biyiti L., Boum B., Nyemba A.M., Mbi C., Puiseux-Dao S. 1985. Etudes préliminaire de l'activité antibactérienne in vitro d'une plante médicinale du Cameroun. *Tabernaemontana crassa*. Science et Technique, Tome II. N°X , p 87-95.
- Dhahir, HI. 1971. "A comparative study on the toxicity of ibogaïne and serotonin." Ph D Thesis, Indiana University, USA.
- Hanna, R. 1964. Neutral constituent of *Conopharyngia durissima* Llyodia, USA. 24, n°1, 40-65. <http://en.wikipedia.org/wiki/Tabernaemontana> .
- Irwine, F.R. 1961. Woody Plants of Ghana. London, Oxford University Press.
- Kerharo, J. 1971. Recherches ethnopharmacognosiques sur les plantes médicinales et toxiques de la pharmacopée sénégalaise. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Dakar.
- Khalem, G., Diatta Sidi., Souleymane S. 1979. Recherches préliminaires des plantes à propriétés antifongiques parmi la flore sénégalaise. 4ème Colloque du CAMES, Libreville, Gabon, 53-63.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997a. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 6th ed. Approved standard M2 A6 (M100-S7). NCCLS, Wayne, Pa.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997b. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 4th ed. Approved standard M2 A4 (M100-S7). NCCLS, Wayne, Pa.
- Patel, MB., Miet, C., Poisson, J. 1967. Alcaloïdes de quelques *Tabernaemontana* africains. Ann. Pharm. Fr. Vol 25, n°5, 379-384.
- Van Beek, TA., Verpoorte, R., Baerheim SA., Leeuwenberg, AJM., Bisset NG. 1984a *Tabernaemontana* L. (Apocynaceae): A review of its taxonomy, phytochemistry, ethnobotany and pharmacology. J. Ethnopharmacology 10, 1-156.
- Van Beerk T A., Deelder, AM., Verpoorte, R., Baerheim SA. 1984b. Antimicrobial, antiamoebic and antiviral screening of some *Tabernaemontana* species. Planta Medica 50, 180-185.

Van Beek, TA., De Smidt, C., Verpoorte, R. 1985a. Phytochemical investigation of *Tabernaemontana crassa*. J. Ethnopharmacology 14, 315-318.

Van Beek, TA., Verpoorte, R. & Baerheim SA. 1985b. Antimicrobially active alkaloids from *Tabernaemontana chippii*. J. Natural Products 48, 400-423.

[www. Hazyspirit.net/community/tabernaemontana](http://www.Hazyspirit.net/community/tabernaemontana).

Tableau 1 : Détermination des diamètres des zones d'inhibition de la croissance des souches bactériennes par les extraits de *T. crassa*

Souches bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition				
	<i>Tabernaemontana crassa</i>			Contrôle*	
	<i>Total</i>	<i>Précipité</i>	<i>Filtrat</i>	T0	T1
<i>E. hirae</i> ATCC 9790	18	17	15	0	29
<i>Enterococcus</i> spp. P054	21	19	19	0	27
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	22	21	22	0	20
<i>S. aureus</i> U271	25	24	25	0	40
<i>S. saprophyticus</i>	22	25	22	0	46
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	15	19	24	0	40
<i>E. coli</i> ATCC 35218	14	13	17	0	30
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	16	17	16	0	31
<i>E. aerogenes</i> ATCC 29751	15	16	17	0	33
<i>E. cloacae</i> HGY18	15	17	15	0	30
<i>Klebsiella pneumoniae</i> HGY6	15	11	14	0	0
<i>K. pneumoniae</i> HGY19	14	12	15	0	0
<i>K. oxytoca</i> U271	11	9	16	0	16
<i>Serratia marcescens</i> HGY4	0	0	15	0	0
<i>S. marcescens</i> HGY10	16	16	15	0	0
<i>Acinetobacter baumannii</i> HGY12	17	19	17	0	31
<i>A. baumannii</i> HGY13	17	21	17	0	16
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27823	13	18	17	0	30

* T0 : témoin négatif (solvant) ; T1 : Antibiotique (Gentamicine, 50 µg)

La détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) (Tableau 2) révèle que les bactéries Gram positif présentent les plus faibles CMI et sont donc plus actives. Ce qui confirme les résultats obtenus par le test de diffusion en gélose.

Tableau 2 : Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices

Souches bactériennes	Concentration Minimale Inhibitrice			
	<i>Tabernaemontana crassa</i>			Gentamicine (µg/ml)
	<i>Total</i>	<i>Précipité</i>	<i>Filtrat</i>	
<i>E. hirae</i> ATCC 9790	>20	>20	20	16
<i>Enterococcus</i> spp. P054	1,25	1,25	<0,63	02
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1,25	1,25	<0,63	16
<i>S. aureus</i> U271	1,25	1,25	<0,63	<0,13
<i>S. saprophyticus</i>	<0,02	<0,02	<0,02	<0,13
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	20	>20	10	0,5
<i>E. coli</i> ATCC 35218	>20	>20	10	0,5
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	>20	>20	20	0,5
<i>E. aerogenes</i> ATCC 29751	>20	>20	20	01
<i>E. cloacae</i> HGY18	>20	>20	20	01
<i>Klebsiella pneumoniae</i> HGY6	>20	>20	20	>32
<i>K. pneumoniae</i> HGY19	>20	>20	20	>32
<i>K. oxytoca</i> U271	>20	>20	20	>32
<i>Serratia marcescens</i> HGY4	>20	>20	>20	>32
<i>S. marcescens</i> HGY10	>20	>20	>20	>32
<i>Acinetobacter baumannii</i> HGY12	10	10	05	0,5
<i>A. baumannii</i> HGY13	20	20	2,5	>32
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27823	>20	>20	>20	01

Fig 1 : Observation des diamètres des zones d'inhibition de la croissance des souches bactériennes par les extraits de *T. crassa*

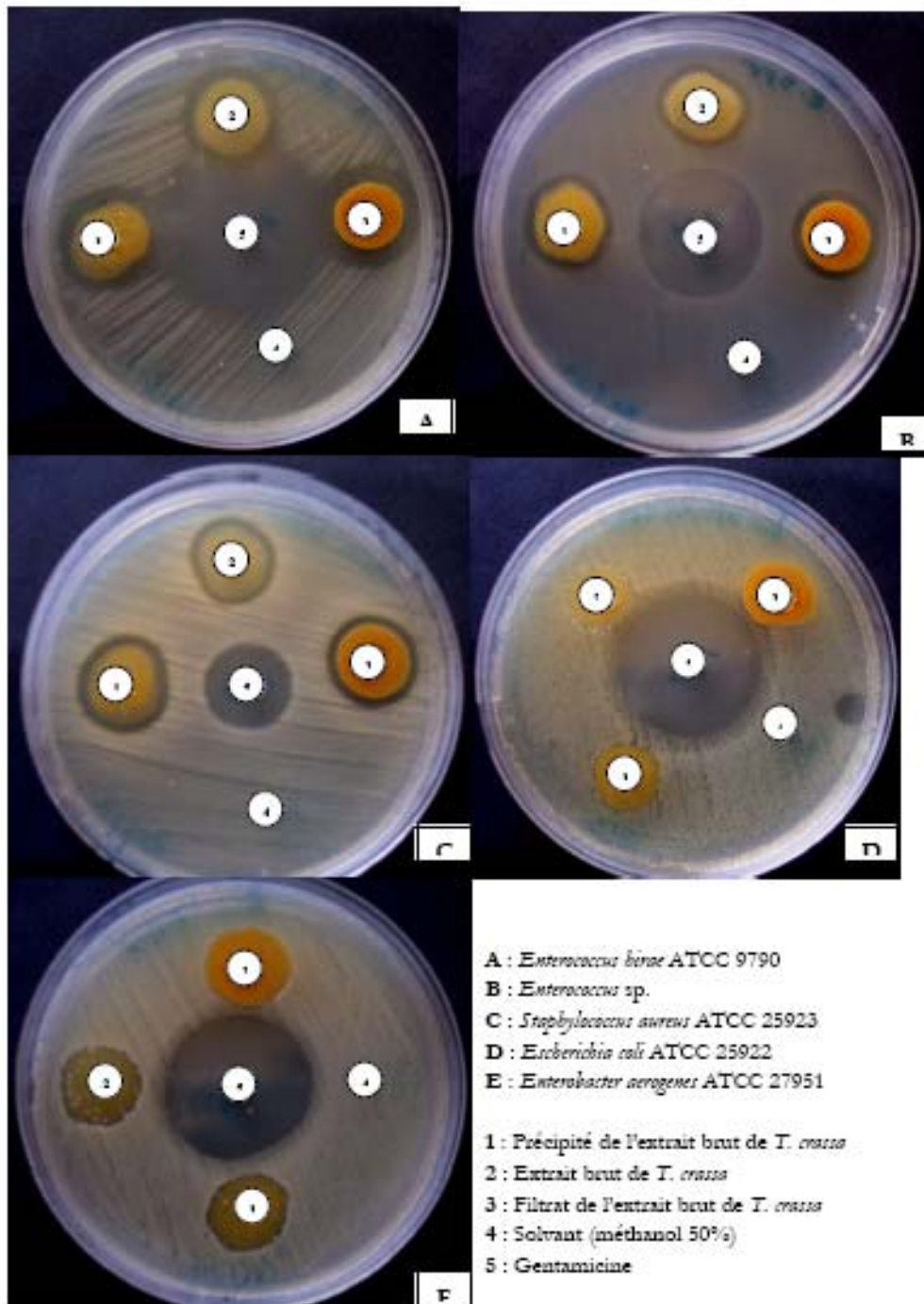


Figure 1
 Activité bactérienne des extraits de *T. crassa* vis-à-vis des souches bactériennes

Fig 2 : Pommade antibactérienne « TABERCINE »

