

FASCICULE DE BREVET D'INVENTION

21 Numéro de dépôt : 1202300414

22 Date de dépôt : 05/10/2023

30 Priorité(s) :

24 Délivré le : 29/01/2025

45 Publié le : 07.03.2025

73 Titulaire(s) :

MENGONG Hortense Perpétue épouse MONEBOULOU,
B.P. 653, EBOLOWA (CM)

72 Inventeur(s) :

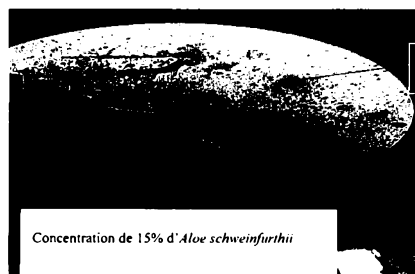
1. MENGONG Hortense Perpétue épouse MONEBOULOU (CM);
2. GIMENEZ Alonso David (ES);
3. BENGONDO MESSANGA Charles (CM) et
4. NNANGA NGA Emmanuel (CM)
5. LOUKA AKA Kattié (CI);
6. SOSSO Maurice Aurélien (CM);
7. ZE MINKANDE Jacqueline (CM);
8. MONEBOULOU MONEBOULOU Serge Aimery (CM);

74 Mandataire :

54 Titre : Dispositif médical à base d'aloë *schweinfurthii* (anterioriae) pour la conservation et la régénération des cellules vivantes notamment les cellules des ligaments parodontaux d'une dent permanente immature expulsée.

57 Abrégé :

Dispositif médical à base d'Aloë *schweinfurthii* (anterioriae) pour la conservation et régénération des cellules vivantes, notamment les cellules du ligament parodontal des dents permanentes expulsées. La présente invention concerne le domaine technique de la conservation de cellules vivantes notamment les cellules du ligament parodontal à travers l'utilisation des concentrations de 5 à 50% du gel mucilagineux d'Aloë *schweinfurthii* dans les expulsions des dents permanentes. L'invention fournit un milieu de conservation à faible coût de revient avec une sécurité maximale en termes d'innocuité, en effet les études de sa toxicité générale orale sur les rats n'ont, montré aucune atteinte des organes pendant la période d'étude. Ce qui nous permet de formuler un dispositif médical pour la conservation des cellules parodontales vivantes en toute innocuité.



Cellule parodontale vivante

Figure 1: Observation microscopique des cellules parodontales concentrations d'*A.schweinfurthii* 15% au bout de 24.

Figure 1

Dispositif médical à base d'*Aloe schweinfurthii* (anterior) pour la conservation et régénération des cellules vivantes notamment les cellules des ligaments parodontaux d'une dent permanente immature expulsée

A- Description de l'Invention

1- Introduction

La présente invention concerne le domaine technique de la conservation des cellules vivantes. L'invention a pour objet de créer un nouveau dispositif médical contenant un milieu de conservation et de régénération des cellules vivantes en particulier les cellules du ligament parodontal, un milieu contenant le gel d'*Aloe schweinfurthii*. La récupération d'une dent expulsée qui ne peut être réimplantée immédiatement nécessite un milieu de conservation adéquat.

Le but du traitement est donc de maintenir la vitalité des cellules par un milieu de conservation et limiter la contamination pulpaire par des agents infectieux. Les cellules du ligament parodontal (LP), plongées immédiatement dans un milieu adéquat, peuvent conserver leur vitalité pendant longtemps. Certains milieux de conservation ont été étudiés dans la littérature, cependant ces milieux sont onéreux et pas toujours disponibles.

L'*Aloe schweinfurthii* (*A.schurenfurthii*) a montré une efficacité supérieure aux milieux usuels dans la conservation de la vitalité cellulaire du ligament parodontal. Dans la recherche du rapport coût / dose, accessibilité, efficacité et innocuité, le présent travail a été entrepris afin de contribuer à la résolution des problèmes de santé publique relatifs à la conservation des dents permanentes immatures expulsées à travers l'utilisation du gel d'*Aloe schweinfurthii*.

Il nous a permis de créer un dispositif médical permettant de conserver les cellules vivantes. Pour une meilleure justification et connaissance des éléments favorisant la conservation de la vitalité cellulaire du gel d'*A.schurenfurthii*, nous avons objectivé d'évaluer l'efficacité d'un milieu de conservation à base de gel d'*A.schurenfurthii* sur la survie cellulaire des ligaments parodontaux d'une dent permanente immature expulsée. Il s'est agi spécifiquement de:

- Déterminer la concentration minimale efficace du gel d'*A.schweinfurthii* susceptible de maintenir la survie cellulaire des ligaments parodontaux d'une dent permanente immature expulsée et la comparer avec les milieux usuels.
- Identifier sa composition en métabolites secondaires de même que ses activités biologiques (antioxydantes, anti-inflammatoires et antibactériennes).
- Apprécier sa toxicité orale sur les rats de souches Wistar.

Cette étude a facilité la démarche vers la mise au point du dispositif médical utilisable pour les soins de santé primaire en général et en Odontostomatologie en particulier à moindre coût. Un milieu de conservation des cellules vivantes à base d'*A.schweinfurthii* utilisable dans la prise en charge des dents expulsées.

2- Etat de la technique connue de l'inventeur

La réimplantation est une option de traitement efficace pour une dent expulsée. Cependant, la survie des dents réimplantées dépend de divers facteurs, tels que l'intervalle de temps entre l'expulsion et la réimplantation, le type de milieu de conservation, l'état de vitalité des tissus parodontaux. L'utilisation appropriée d'un milieu de conservation est un facteur clinique important affectant le pronostic post-opératoire des dents expulsées après la réimplantation.

La solution saline équilibrée de Hank (HBSS) et le lait pasteurisé sont considérés comme les milieux de conservation cliniquement recommandés pour les dents expulsées. Osmanovic et Allen 2018 ont effectué une revue de la littérature sur la viabilité des cellules parodontales dans différents

milieux de conservation ; Ils ont montré que le HBSS, le lait, le vispan et propolis conservaient plus de 80% de cellules parodontales vivantes au bout de 2 heures.

Au bout de 24 heures, seul le Vispan montrait encore 88% de cellules parodontales vivantes. L'association dentaire internationale recommande l'usage du HBSS, il est commercialisé sous le nom de « Rescue box ». Les milieux de conservation de cellules vivantes commercialisés sous les noms d'Euro-Collins sont également utilisés en médecine buccodentaire, cependant tous ces milieux sont commercialisés à un coût très élevé n'étant pas à la portée des populations vulnérables.

De plus lors d'un traumatisme dentaire, il est difficile de trouver ce genre de solution à portée de main. Les plantes renferment des métabolites secondaires dotés d'activités biologiques et d'une grande diversité de structures chimiques. C'est le cas de l'*Aloe* qui présente plus de 400 variétés et donc seulement une demi-douzaine possède des vertus médicinales. Hu et al en 2003 ont démontré le potentiel antioxydant d'*Aloès barbadensis*.

L'extrait de feuilles d'*Aloes vera* a montré in vitro des propriétés antibactériennes contre les bactéries Gram + et Gram et également sur deux souches multi-résistantes: *Staphylococcus aureus* ATCCC 25923 et *Escherichia coli* ATCCC 25922. Pandey et all ont étudié les activités antibactériennes de l'extrait brut d'*Aloès barbadensis* sur les pathogènes bactériens isolés. Le gel frais a réduit l'inflammation aiguë chez le rat (œdème de la patte induit par la carraghénane).

Une étude comparative démontre que les souris traitées topiquement à l'aide de gel d'*Aloès vera* retrouvent une peau saine alors que celles traitées avec le placebo présentent encore des signes de dermatite atopique. Guo et all en 2016 ont évalué l'effet toxique de l'*Aloès barbadensis*. Très peu d'études ont travaillé sur l'*Aloe schweinfurthii* en médecine bucco-dentaire et encore moins sur les milieux de conservation des dents expulsées.

Problèmes non résolus

Pour la survie cellulaire, l'association dentaire internationale a recommandé l'utilisation de la solution équilibrée de Hans (HBSS) comme milieu efficace de conservation des cellules parodontales vivantes. Cependant ce produit est rare, coûteux, pas toujours disponibles pour nos populations. Les milieux de conservation à base de lait pasteurisé à 4 degrés à une durée de conservation très courte limité à 6 heures de temps, et il est non régénératifs. Sachant que les accidents se produisent parfois les weekends et certaines populations n'ont pas les moyens nécessaires à l'immédiat pour la prise en charge de la dent expulsée ou alors ils résident à des distances très importantes par rapport au centre de santé devant les accueillir. Par conséquent ces études ne réglaient pas le problème de temps nécessaire pour une grande masse de populations qui sont souvent éloignées des hôpitaux ou n'ont pas de moyens financiers à l'immédiat. En recherchant le rapport coût / dose, accessibilité, efficacité et innocuité, la présente invention a été entreprise afin de contribuer à la résolution des problèmes de santé publique relatifs à la conservation des dents permanentes immatures expulsées à travers l'utilisation du gel d'*A.schweinfurthii*. Dans ce contexte la présente invention a pour objet de fournir un dispositif médical contenant un milieu de conservation des cellules vivantes à base d'*Aloe schweinfurthii*.

Il conserve dans un temps supérieur à 12 fois celui décrit dans la littérature avec le lait. Un autre objectif est de fournir un milieu de conservation à faible coût de revient du fait que l'*Aloe schweinfurthii* est disponible dans beaucoup de jardin et donc la commercialisation de la feuille est accessible à la grande masse. Le dispositif de conservation selon la présente invention se doit également de présenter une sécurité maximale en termes de stérilité, de régénération et innocuité.

Il présente l'avantage de pouvoir être facilement manipulable et par conséquent reproductible d'un

lot à un autre. Il est stérile du fait de ses activités antibactériennes, il est anti-inflammatoire. Il est régénérant du fait de ses activités antioxydantes. Il est accessible du fait de sa présence dans les jardins et la quantité nécessaire à la préparation de la solution est faible. Le milieu de conservation de l'invention peut être qualifié de dispositif médical réparant et régénérant les cellules vivantes.

En effet le milieu de conservation selon l'invention contient des activités anti-inflammatoires, antioxydantes et antibactériennes. Nous avons utilisé les concentrations de 5 à 15% qui ont montré 99% de cellules vivantes à la 1ère heure et 94 à 99% au bout de 24 heures. La concentration de 50% nous a permis de conserver les cellules vivantes pendant 72heures c'est 12 fois plus que ce qui est décrit dans la littérature. Les milieux de conservations dans la littérature n'ont pas évalué ces effets.

C'est ce que nous avons fait en évaluant in vitro l'activité antioxydante, antibactérienne, anti-inflammatoire de même que l'appréciation de la toxicité du gel d'*Aloe schweinfurthii*. Ce qui nous a permis d'évoluer vers la formulation d'un dispositif médical à base d'*Aloe schweinfurthii* capable et conserver et régénérer les cellules vivantes en toute innocuité.

3- Description sommaire de l'invention

Le dispositif médical à base d'*Aloe schweinfurthii* est un milieu de conservation des cellules vivantes, notamment les cellules du ligament parodontal des dents permanentes immatures expulsées. La présente invention concerne le domaine technique de la conservation de cellules vivantes notamment les cellules du ligament parodontal à travers l'utilisation de l'*Aloe schweinfurthii* comme milieux de conservation des cellules vivantes. La récupération d'une dent expulsée qui ne peut être réimplantée immédiatement nécessite un milieu de conservation adéquat. Pour la survie cellulaire, certains milieux de conservation ont été étudiés dans les pays occidentaux. Cependant, ils sont onéreux, pas toujours disponibles et parfois non régénératifs. D'où la présente invention à la recherche d'un milieu alternatif à base d'*Aloe schweinfurthii* par rapport aux milieux usuels.

Dans la recherche du rapport coût / dose, accessibilité, efficacité et innocuité, le présent travail a été entrepris afin d'obtenir un dispositif conservant des dents permanentes immatures expulsées à travers l'utilisation du gel d'*A. schweinfurthii*. L'étude a duré 8 ans, l'herbier nationale a identifié la plante. La conservation de la vitalité cellulaire par les concentrations de 5 à 50% a été étudiée par coloration à l'éosine aqueuse et observation au microscope photonique.

La caractérisation phytochimique a été évaluée par les techniques colorimétriques et complexométriques de Harborne, Trease et Evans. Les phénols totaux par le test de Folin-Ciocalteu. L'évaluation des activités biologiques antioxydantes par l'activité du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazile et de la Capacité Réductrice Ferrique d'Antioxydant. L'activité antiinflammatoire par méthode de l'inhibition de l'œdème de la patte de rat induit par la carraghénine.

L'activité antibactérienne a été évaluée par les méthodes de diffusion en puits et de microdilution. L'évaluation de la toxicité orale aigüe a été faite sur les rats femelles de souche wistar alors que la toxicité subaiguë a été faite sur les rats mâles et femelles de même souches. Les paramètres hépatiques, rénaux et hématologiques ont été dosés après sacrifice des animaux de même que l'observation des coupes des organes.

Résultats : Le pH des différentes solutions variait de 7 à 7,2. Toutes les concentrations minimales utilisées de 5 à 50 % d'*Aloe schweinfurthii* maintenaient 95 à 99% des cellules vivantes au bout d'une heure. La concentration de 15 % à maintenaient 99% de cellules vivantes sur 24 heures. Le

temps maximal de conservation des CLP vivantes était de 72 heures avec la concentration de 50%. Sept groupes de composés chimiques ont été identifiés.

La teneur en flavonoïdes totaux était de $75,28 \pm 0,22 \mu\text{g}$ éqv Querc/mg MS. Le gel a montré un pouvoir de piégeage du radical DPPH avec une concentration efficace (C_e) de $748,90 \pm 0,17$, (IC50) était de $224,67 \pm 0,52 \mu\text{g/mL}$, avec un pouvoir anti-radicalaire de $0,13 \pm 0,00 \alpha \times 102$. Le test de FRAP a montré un pouvoir réducteur de $83,76 \pm 1,76 \mu\text{g}$ éqv Ac Gal/mg de matière sèche. Son activité antiinflammatoire était supérieure à celle de l'aspirine entre la 5ème et la 6ème heure.

Les diamètres des zones d'inhibition de *Streptococcus mutans* ATCC 49619 était de $9,40 \pm 0,25\text{mm}$. Le rapport entre les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales bactéricides (CMB) était compris entre 1 et 2 donc le gel était bactéricide selon l'échelle de Kamanzi en 2002. Le gel d'*Aloe schweinfurthii* administré aux doses de 2000 et 5000mg/kg n'ont entraîné aucune perturbation physique ni perte de poids chez les animaux.

La dose maximale tolérée s'est avérée supérieure à 5000mg/kg. Les doses de 2000 et 5000mg ont entraîné une augmentation significative du poids des organes à $p < 0,01$. Aucune atteinte des organes prélevés n'a été observée sur les microphotographies des organes. Donc le gel mucilagineux d'*Aloe schweinfurthii* peut être utilisé dans la standardisation des milieux de conservation disponibles, régénérant aux concentrations de 5 à 50 % en toute innocuité.

4- Description proprement dite

La présente invention concerne le domaine technique de la conservation des cellules vivantes notamment les cellules du ligament parodontal, un milieu contenant le gel d'*Aloe schweinfurthii*.

L'invention a pour objet de créer un nouveau dispositif médical, milieu de conservation des cellules

vivantes en particulier les cellules du ligament parodontal. En effet, lors d'un traumatisme avec expulsion dentaire, lorsque la dent ne peut être réimplantée dans le site d'accident, un milieu de conservation de l'organe dentaire est souvent nécessaire. La récupération d'une dent expulsée qui ne peut être réimplantée immédiatement nécessite un milieu de conservation adéquat.

Le but du traitement est donc de maintenir la vitalité des cellules par un milieu de conservation adéquat apte à maintenir la vitalité des cellules du ligament parodontal (CLP) pour une bonne réimplantation et limiter la contamination pulpaire par des agents infectieux. Les CLP, plongées immédiatement dans un milieu adéquat, peuvent conserver leur vitalité pendant longtemps et favoriser la réussite du processus de réimplantation de la dent expulsée.

Pour la survie cellulaire, l'utilisation d'un milieu de conservation est un facteur important affectant le pronostic post-opératoire des dents expulsées après la replantation. La solution saline équilibrée de Hank (HBSS) et le lait pasteurisé sont considérés comme les milieux de conservation recommandés pour ces dents. Une revue de la littérature a montré que le HBSS, le lait, le vispan et propolis conservaient plus de 80% de CLP vivantes au bout de 2heures.

Au bout de 24 heures, seul le Vispan montrait encore 88% de cellules parodontales vivantes.

L'association dentaire internationale recommande l'usage du HBSS commercialisé sous le nom de «Rescue box ». Les milieux de conservation de cellules vivantes commercialisés sous les noms de ViaSpan et Euro-Collins sont également utilisés en médecine buccodentaire, cependant tous ces milieux sont commercialisés à un prix n'étant pas à la portée des populations vulnérables.

De plus lors d'un traumatisme dentaire, il est difficile de trouver ce genre de solution à portée de main. Dans ce contexte la présente invention a pour objet de fournir un dispositif de conservation contenant un milieu de conservation des cellules vivantes dans un temps supérieur à 12 fois le temps décrit dans la littérature. Un autre objectif est de l'invention est de fournir un milieu de

conservation à faible cout de revient.

Le milieu de conservation selon la présente invention se doit également de présenter une sécurité maximale en termes de stérilité et de disponibilité. Il présente l'avantage de pouvoir être facilement manipulable et par conséquent reproductible d'un lot à un autre. Il est accessible du fait de sa présence dans les Jardins. Le milieu de conservation de l'invention peut être qualifié de dispositif médical régénérant les CLP par ses activités antiinflammatoires, antibactériennes et antioxydantes. Comme le dit Trope et all si le milieu de conservation à des ingrédients antioxydant, l'efficacité du milieu sera augmentée. Dans la recherche du rapport coût / dose, accessibilité, efficacité et innocuité, le présent travail a été entrepris afin de contribuer à la résolution des problèmes de santé publique relatifs à la conservation des DPIE à travers l'utilisation du gel d'*A. schweinfurthii* qui nous a permis de créer un dispositif médical permettant de conserver les cellules vivantes.

Pour une meilleure justification et connaissance des éléments favorisant la conservation et régénération de la vitalité cellulaire du gel d'*A. schweinfurthii*, nous avons:

- Déterminer la concentration minimale du gel d'*A. schweinfurthii* susceptible de maintenir la survies CLP d'une dent PI expulsée.
- Identifier sa composition en métabolites secondaires de même que ses activités biologiques.
- Apprécier le niveau de toxicité orale.

Cette étude a facilité la démarche vers la mise au point d'un dispositif médical ;milieu de conservation à base d'*A. schweinfurthii* utilisable dans les soins de santé primaire en général et en Odontostomatologie en particulier à moindre coût. Notre recherche était de type expérimental.

Cette étude a duré huit ans allant d'avril 2015 à janvier 2021. La récolte de la matière végétale a été effectuée dans région du centre Cameroun. L'Herbier National du Cameroun (HNC) a servi pour l'identification du plant d'*A. schweinfurthii* famille des antériaces.

Au CHU de Yaoundé dans ses services d'Odontostomatologie nous avons effectué le recrutement des

patients pour l'obtention des prémolaires ligaments parodontaux des DPIE.

Le laboratoire d'Anatomie Pathologique pour les expérimentations microscopiques.

Les laboratoires Biochimique, Bactériologie, Hématologique et Anatomie Pathologique pour les différentes analyses sanguines. Le Laboratoire Multidisciplinaire du Département de Pharmacie Galénique et Législation Pharmaceutique (FMSB) Yaoundé I a servi pour le séchage de la matière végétale, la caractérisation phytochimique, les investigations pour les différentes activités antioxydantes et antiinflammatoire; de même que les études liées à l'évaluation de la toxicité du gel d'*Aloe schweinfurthii*.

Population cible était constituée de patients des deux sexes âgés de moins de 18 ans indemnes de pathologies générales venus en consultation pendant la période d'étude et présentant des anomalies nécessitant l'extraction d'une prémolaire permanente immature. Des rats albinos mâles et femelles de l'espèce *Rattus norvegicus* de souche Wistar. Un échantillonnage de convenance a été effectué. Donc 5 souches biologiques ont été retenues donc les streptocoques étaient issus des prélèvements de la région parodontale avant extraction.

On dénombrait 59 rats albinos des deux sexes de souche Wistar de 6 à 10 semaines : 34 rats femelles et 25 rats mâles. 9 rats femelles utilisés en toxicité aiguë, 25 rats femelles et 25 rats mâles en toxicité subaiguë. Toutes les expérimentations ont été conduites conformément aux règles et réglementations adoptées par le Comité Institutionnel d'éthique de la recherche de la Faculté de Médecine de Yaoundé I.

Déterminer la concentration minimale du gel mucilagineux d'*Aloe schweinfurthii* :

Les feuilles d'*Aloe schweinfurthii* récoltées étaient coupées puis placées dans des bacs, ensuite rincées à l'eau du robinet avant de passer au sérum physiologique. Elles étaient étendues en vue

du séchage 30 min à l'air libre. Chaque feuille était pesée avant d'être coupée longitudinalement en vue de l'extraction du gel. Une feuille d'*A.schweinfurthii* coupée pesait en moyenne 80g.

5 Procédure obtention de gel d'*A.schweinfurthii* :

La récolte artisanale du gel s'est faite en coupant longitudinalement la feuille avec un sécateur et en raclant la pulpe centrale. La pulpe obtenue par feuille pesait en moyenne 31,5g était recueillie dans un bocal. Elle était versée dans le mixeur pour être broyée puis filtrée. Le gel obtenu était conservé dans des flacons en verre ambré au réfrigérateur à 5°C pour l'expérimentation. La température ambiante de travail était de 27°C.

15 Procédure d'obtention des concentrations du gel d'*A.schweinfurthii* (planche1) :

La capacité du gel d'*A.schweinfurthii* de maintenir la viabilité des cellules du ligament parodontal a été testée en utilisant l'éosine aqueuse 1% comme diluant et révélateur chimique de vitalité cellulaire à volume constant de 100 ml. Nous avons utilisé des tubes à essai de 150 millilitres ainsi que des seringues intramusculaires de 10cc. Les seringues vides étaient pesées sur une balance de précision ; un poids de la seringue vide a été obtenu $p=9.6g$.

Des prélèvements de masse 5 à 50g de gel mucilagineux ont été effectués à l'aide de la seringue millimétrée, le contenu seringue + gel a été pesé, un poids grand P pour chaque prélèvement a été obtenu. La masse du gel a été obtenue par la formule : $M=P-p$ (M : masse d'AS, P poids seringue + *A.schweinfurthii*, p : poids seringue vide). La concentration était calculée par le rapport masse du gel sur le volume de 100ml d'éosine aqueuse.

Tableau I: Obtention des concentrations de gel d'*A.schweinfurthii*

Tube de dilution	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Volume d'éosine aqueuse	100 ml	100 ml	100 ml	100ml	100 ml	100 ml
Masse d' <i>A.schweinfurthii</i> (mg)	50	25	20	15	10	5
Concentrations d' <i>A.schweinfurthii</i> (mg/100ml)	50	25	20	15	10	5

25 **Concentration $C = \frac{m}{v}$** Ce qui nous a donné les concentrations allant de 5,10,15,20,25 à 50%.
Conditions d'expérimentation: Le pH mètre avait permis d'évaluer les pH des solutions du gel d'*A.schweinfurthii* telqu' illustré sur le tableau II. La température ambiante de travail était de 27° Centigrades. Les solutions préparées du gel d'*A.schweinfurthii* étaient conservées au réfrigérateur à 5 °. Pendant trente minutes à vingt-quatre heures en attendant les extractions dentaires. 18
30 prémolaires immatures saines indemnes de carie et de pathologie parodontale associée à aucune pathologie systémique ont été extraites en fonction de la disponibilité des cas. Ces dents ont été extraites de façon a traumatique pour des raisons orthodontiques. Elles ont ensuite été rincées au

sérum physiologique, puis introduites dans les différentes concentrations d'*A.schweinfurthii* de 5 à 50%.

Chaque milieu a reçu une dent permanente immature. Cette expérience a été réalisée 3 fois en 8 ans.

Obtention des ligaments parodontaux:

Les cellules du ligament parodontal ont été obtenues par extirpation des ligaments sur les racines des prémolaires extraites à l'aide d'une lame de bistouri numéro 15 (planche 1). Pour la collecte et préparation des ligaments alvéolo-dentaires, les dents une fois extraites étaient tenues par la couronne avec des précelles stériles.

Elles étaient rincées trois fois au sérum physiologique pour enlever les caillots sanguins. Ensuite elles étaient plongées dans la solution de concentration d'*A.schweinfurthii*. Les ligaments parodontaux ont été obtenus en raclant les parties médianes des racines dentaires, puis étaient disséqués en fine couche à l'aide d'une lame de bistouri numéro 15. Les ligaments obtenus étaient coupés en petites particules sur la lame de lecture et reversés dans la solution de conservation un temps T était noté.

Technique de coloration à l'éosine aqueuse :

L'éosine aqueuse mesure les cellules viables. Viabilité basée sur la présence d'un sel de tétrazolium jaune qui vire au cristal formozan insoluble de teinte pourpre. Une seringue de 10cc sans aiguille était utilisée toutes les 3 heures, pour le prélèvement du mélange concentration du gel - éosine aqueuse 1% et ligaments; Trois gouttes de la solution étaient déposées sur la lame puis recouverte par la lamelle avant la lecture au microscope optique objectif 40.

Etude de l'effet des Concentrations dans la survie cellulaire :

Cette étude a consisté à interpréter les résultats de la lecture au microscope optique en observant ou non la vitalité cellulaire des ligaments. La lecture s'est faite selon les délais de conservation dans les différentes concentrations d'*A.schweinfurthii* d'après la chronologie ci-dessous : 1, 3, 6, 9, 24, 48 et 72 heures respectivement. Le pourcentage de cellules viables a été noté par comptage d'un champ de lecture puis multiplié par 4. Chaque milieu a été testé 3 fois.

La viabilité cellulaire a été déterminée en utilisant les tests chimiques à base d'éosine aqueuse qui est un acide avec une affinité sélective pour le cytoplasme cellulaire. L'existence de cellules des ligaments parodontaux viables a été identifiée par une coloration rouge de cellules ayant conservées leur activité dans la solution de conservation diluée par l'éosine aqueuse. Des modifications ont été effectuées exclusivement dans les cellules métaboliquement actives par l'action de la déshydrogénase enzyme.

Par conséquent plus la teinte était brune plus il y avait indication de la présence de cellules viables.

Statut de succès : cellules viables colorations rouge par l'éosine aqueuse.

Contrôle négatif : Le pourcentage de cellules mortes au microscope optique a été déterminé par l'absence de coloration rouge des cellules voir coloration marron et par la diminution du nombre de cellules viables voir l'absence de cellules vivantes.

Criblage phytochimique, activité biologique (anti-oxydante, anti-inflammatoire et antibactérienne)

Il s'agissait d'identifier les différents groupes chimiques contenus dans le gel d'*A.schweinfurthii* par le criblage phytochimique qualitatif, la recherche de sa teneur en antioxydants par le criblage

phytochimique quantitatif, évaluer son activité antioxydante, anti-inflammatoire et antibactérienne in vitro.

- 5 Le profil phytochimique a été déterminé afin de mettre en évidence les différentes classes de métabolites secondaires présentes dans le gel mucilagineux d'*A.schweinfurthii* pouvant suggérer le mécanisme d'action de ceux-ci sur la conservation de la vitalité pulpaire des dents permanentes immatures expulsées et justifier l'activité pharmacologique recherchée. Il a été mis en exergue en utilisant les techniques colorimétriques et complexométriques de Harborne, Trease et Evans.
- 10 Les différents métabolites secondaires testés étaient : Alcaloïdes, phénols et polyphénols, tanins, saponines, flavonoïdes, terpènes et stéroïdes, anthocyanines. Le dosage des polyphénols totaux, par les méthodes colorimétriques a été utilisée pour évaluer la quantité des composés phénoliques dans le gel. Les antioxydants totaux étaient évalués suivant la méthode spectrophotométrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats ont été exprimés en μg équivalent d'acide gallique/mg de gel testé.
- 15 L'évaluation de l'activité anti-oxydante a consisté à déterminer le pouvoir antioxydant du gel par la méthode de Benzie et Strain. L'activité antibactérienne a été effectuée selon trois étapes successives de la culture des souches bactériennes et préparation des inocula à la détermination des diamètres et paramètres d'inhibitions. L'évaluation de la toxicité orale a consisté à mettre en évidence la concentration maximale tolérée des rats utilisés après administration par voie orale d'une dose unique pendant 24 heures.
- 20 Deux niveaux de doses ont été testés 2000 et 5000 mg / kg de poids corporel. Le gel a été dissout dans de l'eau distillée, le mélange a été homogénéisé par agitation pendant 2 minutes. Les 9 rats utilisés ont été divisés en trois lots ; puis pesés et marqués de 1 à 3 traits d'identification. Le lot témoin consommait de l'eau distillée, les deux autres consommaient le gel de 2000mg et 5000mg. Ils ont été privés de nourriture mais pas d'eau pendant 12 heures avant l'administration faite par gavage de 1 ml pour 100 g de poids.
- 25 Ils ont encore été privés pendant 4 heures après administration de la dose d'essai. Le poids de chaque animal a été déterminé peu de temps avant l'administration du gel d'*Aloe Schweinfurthii* Baker, puis quotidiennement pendant 14 jours. Les variations pondérales (Vp) ont été calculées ainsi que le poids relatif des organes. L'évaluation de la toxicité orale subaiguë du gel a été conduite conformément à la ligne directrice N° 407 de l'OCDE modifiée du 16 octobre 2008 pour les essais de substances chimiques. Elle a consisté à réaliser un essai limité à une séquence de doses décroissantes faible, la dose 2000mg/kg et 5000mg /kg de poids comme dose maximale létale en vue de mettre en évidence tout effet lié à la dose ainsi qu'une concentration sans effet nocif observé à la dose la plus faible. La solution administrée aux rats était préparée par solubilisation du gel dans de l'eau distillée de façon à obtenir une solution mère en toxicité aiguë. 1 ml/100 mg de poids corporel pendant 28 jours était Administré aux rats repartis en 5 groupes. Les animaux ont été observés quotidiennement pendant 28 jours à la recherche de signes d'intoxication subaiguë. Une fiche individuelle a été établie pour chaque animal ou était noté s'il y avait apparition de signes particuliers et pesage. Le sacrifice des animaux au 28^e et 42^e jours pour les lots normaux et satellites respectivement, après injection de kétamine à 1 ml/kg. Le sang recueilli a servi pour le dosage des paramètres hématologiques et biochimiques et il a été réalisé un examen
- 30
- 35
- 40
- 45

histopathologique des organes.

RESULTATS

Déterminer la concentration minimale du gel mucilagineux d'*Aloe schweinfurthii* efficace dans la survie des cellules du LP d'une DPIE dans le temps.

Les pH des solutions et température ambiante : Les pH des différentes concentrations utilisées variaient de 7 à 7,2 La température ambiante était constante : 27 en degré centigrade (tableau II).

Tableau II : pH des solutions utilisées et température ambiante

Milieu	Milieu 1	Milieu 2	Milieu 3	Milieu 4	Milieu 5	Milieu 6
Tube de dilution	Eosine + 50% AS	Eosine + 25% AS	Eosine + 20% AS	Eosine + 15% AS	Eosine + 10% AS	Eosine + 5% AS
PH	7.2	7.1	7.1	7.1	7	7
Température en degré centigrade	27					

- **Maintien de la survie des cellules du ligament parodontal par les concentrations minimales du gel :** Les résultats obtenus sont illustrés sur la planche 2: Le gel d'*A.schweinfurthii* à une concentration 50% sur la vitalité des cellules parodontales nous a donné une viabilité cellulaire de 95% des cellules du ligament parodontal à la première heure. La viabilité à vingt-quatre heures était de 91,5%, au bout de 72 heures il existait encore 67% de cellules vivantes.
- **Vitalité des cellules parodontales par l'utilisation d'une concentration de 25 % *A. schweinfurthii* :** Cette concentration nous a donné une viabilité cellulaire de 99% des CLP à la première heure. 82% de cellules vivantes Au bout de 24 heures, à 72 heures il n'existe que 35% de cellules vivantes.
- **L'utilisation d'une concentration de 15% d'*A.schweinfurthii* :** Nous a donné une viabilité cellulaire de 99% des cellules du ligament parodontal à la première heure. au bout de 24 heures elle était toujours de 99%. Ce taux de viabilité cellulaire a diminué de manière significative car au bout de 72 heures avec 41% de cellules vivantes.
- **Cellules parodontales viables par l'utilisation de 10% d'*A.schweinfurthii* :** Nous a donné une viabilité cellulaire de 97,8% des cellules du ligament parodontal à la 1ère heure. On a observé une diminution significative du taux de viabilité des cellules du ligament parodontal au bout de 24 heures avec 89,1% de cellules vivantes, au bout de 72 heures il n'existe que 45,6 % de cellules vivantes.
- **Pourcentage de cellules parodontales viables par l'utilisation d'une concentration de 5% d'*A.schweinfurthii* :** Nous a donné une viabilité cellulaire de 97,8% des cellules du ligament parodontal à la première heure. On observe une diminution non significative du taux de viabilité

des cellules du ligament parodontal au bout de 24 heures avec 94,3% de cellules vivantes par apport au contrôle de la première heure. Le taux de viabilité cellulaire a fortement diminué de manière significative au bout de 72 heures il n'existe que 43,4 % de cellules vivantes par rapport au contrôle de la première heure avec un taux de significativité arrêté à $P < 0,001$.

5 **Cellules parodontales viables par l'utilisation d'*A.schweinfurthii* à différentes concentrations (planche 4) :** La survie cellulaire est observée sur l'ensemble des concentrations utilisées après 24 heures d'expulsion dentaire(planche3).

10 Les concentrations de 5,15 et 50% maintiennent respectivement 94,3, 99 et 91 % de cellules parodontales vivantes après 24 heures (figure 8). Un taux vitalité des cellules parodontales de 67% est observé au bout de 72 heures avec la concentration de 50% (figure 10). On observe une diminution significative du taux de viabilité des cellules du ligament parodontal au bout de 72 heures avec 67% de cellules vivantes par apport au contrôle de la première heure.

15 **Criblage phytochimique, activité biologique (anti-oxydante, activité antibactérienne et antiinflammatoire) du gel d'*A.schweinfurthii* :** Les tests de détection des groupes chimiques ont révélé que le gel mucilagineux d'*A.schweinfurthii* est une source importante de métabolites secondaires. Nous avons identifié 7 groupes (planche5) (Phenol et ployphenols, flavonoïdes, saponines, alcaloïdes, stérols, polyterpènes, l'absence des anthocyanes et des tanins.

20 Quantification phytochimique : Au cours du dosage des phénols totaux la teneur en flavonoïdes totaux dans le gel d'*A.schweinfurthii* 50% était de $75,28 \pm 0,22 \mu\text{g éqv Querc/mg MS}$). Évaluation de l'activité antioxydante: L'activité anti-radicalaire, le gel à 50% a montré un pouvoir de piégeage du radical DPPH à $224,67 \pm 0,52 (\mu\text{g/mL})$ qui est une forte concentration par apport à celle de l'acide gallique. Il possède une capacité antioxydante importante lui conférant sa capacité de réparation et de régénération cellulaire.

25 Cependant inférieure à celle de l'acide gallique. Le gel d'*Aloe Schweinfurthii* possède une activité anti-radicalaire avec une concentration efficace EC_{50} de $224,67 \pm 0,52 (\mu\text{g/mL})$, un pouvoir anti-radicalaire de $0,13 \pm 0,00 (\alpha \times 10^2)$, une concentration inhibitrice (IC_{50}) de $224,67 \pm 0,52 (\mu\text{g/mL})$. Cette concentration est supérieure à celle de la molécule de référence qui est l'acide gallique.

30 Cependant ses activités sont inférieures à celle de l'acide gallique. Les tests de capacité de réduction du gel d'*A.schweinfurthii* 50% du fer ferrique en fer ferreux, nous ont permis d'observer que le gel mucilagineux d'*A.schweinfurthii* a une activité chélatrice de métaux avec un pouvoir réducteur de $83,76 \pm 1,76$. Son activité chélatrice des métaux était inférieure à celle de l'acide gallique qui a été utilisée comme molécule de référence possédant l'activité antioxydante maximale recherchée.

35 **Activité antibactérienne: Diamètres des zones d'inhibition du gel d'*A. schweinfurthii* ;** La diffusion du gel d'*A.schweinfurthii* dans les milieux de culture retenus a montré la présence des zones d'inhibition sur presque toutes les bactéries testées après incubation. Les Concentrations minimales inhibitrices du gel et de la Ciprofloxacine ont montré que le gel d'*A.schweinfurthii* inhibe la croissance de toutes les bactéries testées avec *S. aureus* ATCC 25923 comme bactérie la plus sensible qui a une CMI de $750 \mu\text{g/ml}$.

40 Les activités du gel *A.schweinfurthii* sont inférieures à celles de la Ciprofloxacine avec une CMI de $2 \mu\text{g/ml}$ pour la bactérie la plus sensible. Les concentrations minimales bactéricides du gel d'*A.schweinfurthii* et de la Ciprofloxacine, le gel d'*A.schweinfurthii* a inhibé la croissance de toutes les bactéries qui ont été testées avec *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 qui avait une

concentration de 1500 µg/ml et *Streptococcus mutans* ATCC 49619 celle de 1600 µg/ml.

Rapport des CMI et CMB du gel d'*A.schweinfurthii* : Les paramètres d'inhibition ont permis de calculer le rapport CMI/ CMB montrant un effet bactéricide avec un rapport entre les CMB et CMI qui était compris entre 1 et 2 donc inférieur à 4. Ce qui montre que le gel l'*A.schweinfurthii* est bactéricide pour les souches testées selon la théorie de Kamanzi en 2002 alors que la ciprofloxacine est bactéricide seulement sur 2 souches sur les 4 testées.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire du gel d' *A.schweinfurthii* permet de constater de manière générale que dès la première heure de traitement, l'*A.schweinfurthii* exerce déjà une activité anti-inflammatoire statistiquement significative ($p < 0,05$) par rapport au lot témoin négatif (eau distillée). Cette activité met en exergue un pourcentage d'inhibition de l'œdème de 53%, et est maintenue pendant toute la durée de l'expérimentation de 6h avec un taux de 569 par rapport à l'aspirine qui était seulement à 372.

Une analyse plus précise montre qu'à la troisième heure, le pourcentage d'inhibition de l'œdème de l'*A.schweinfurthii* est similaire à celui de l'aspirine respectivement 46 et 42 %. Mais dès la cinquième heure, l'effet anti-inflammatoire de l'*A.schweinfurthii* devient supérieur à celui de l'aspirine ($p < 0,05$) soit 163 contre 13 %, laissant suggérer que l'*A.schweinfurthii* posséderait une activité anti-inflammatoire plus intense entre la cinquième et la sixième heure d'utilisation.

Nous pouvons donc conclure au vu de ces résultats que le gel d'*A.schweinfurthii* possède une activité anti-inflammatoire statistiquement similaire à celle de l'aspirine jusqu'à la troisième heure d'utilisation, activité qui devient plus intense que celle de l'aspirine dès la cinquième heure d'utilisation comme on peut l'observer sur la figure ci- dessus.

Evaluer la toxicité orale du gel *A. schweinfurthii* sur les rats de souche Wistar dans la survie des cellules du LP d'une DPIE : Evaluation de la toxicité orale aiguë du gel : Pendant les 30 premières minutes on a observé une légère somnolence. L'observation portant sur la couleur du pelage des animaux, leurs fèces, perception de la douleur, l'état de salivation, la motricité, l'appétit n'ont montré aucune particularité.

Ces doses n'ont provoqué la mort d'aucun animal. Aucun signe visible évoquant le caractère toxique du gel d'*A.schweinfurthii* n'a été observé. **Evolution de la masse pondérale des rongeurs pendant la toxicité aiguë :** La prise du poids des animaux selon les différentes doses d' *A.schweinfurthii* gavées par rapport au groupe contrôle ayant consommé de l'eau distillée a été observée. Les poids corporels initiaux respectifs des rats traités et des témoins ont montré une augmentation depuis le premier jour.

Cette augmentation devient plus importante pour les animaux ayant consommé le gel mucilagineux d'*A.schweinfurthii* par rapport au contrôle à partir du 4^{ème} jour particulièrement avec la dose de 2000mg avec une différence significative ($P < 0,001$). Dès le 7^{ème} jour les rats du lot ayant consommés 5000mg subissent une perte de poids par rapport au lot contrôle avec une significativité ($P < 0,05$) et au lot ayant consommé 2000mg avec une différence significative ($P < 0,01$).

De manière générale, le poids de tous les lots a augmenté avec une augmentation accentuée du lot des rats ayant consommés 2000mg de gel d'*A.schweinfurthii* par rapport au lot contrôle et celui de 5000mg à partir du 10^{ème} jour avec une significativité ($P < 0,05$). On observe une masse identique à la dernière pesée. **Effet du gel d'*Aloes schweinfurthii* sur poids relatif des organes au cours de la toxicité aiguë :** Le poids relatif des organes des rats en toxicité aiguë est marqué par une diminution significative du poids des poumons des rats ayant consommés le gel d'*A.schweinfurthii*

aux deux doses de 2000 et 5000mg par rapport au lot contrôle avec un seuil de significativité arrêté à $p < 0,001$. Le poids relatif du cerveau et des poumons a augmenté chez les rats ayant consommés le gel d'*A.schweinfurthii* aux deux doses de 2000 et 5000mg par rapport au lot contrôle avec un seuil de significativité arrêté à $p < 0,01$. Le poids relatif de la rate a augmenté chez les rats ayant consommés le gel 5000mg par rapport au lot contrôle avec $p < 0,05$.

Evaluation de la toxicité orale subaiguë du gel d'*Aloès schweinfurthii* : Les signes généraux, Dans la présente étude de toxicité à dose répétée pendant 28 jours avec la dose 5000 mg/kg, 2 morts ont été observés à j19 suite à mauvais gavage gastrique. En effet les animaux auraient reçu le gel sur une fausse route au cours de laquelle le produit de gavage serait entré dans les poumons. Aucun signe visible évoquant le caractère toxique du gel n'a été observé pendant l'expérience sur les rats. Au niveau du comportement général, les rats n'ont présenté aucun signe particulier évoquant le caractère toxique du gel.

Effets du gel d'*A.schweinfurthii* sur les paramètres pondéraux en toxicité aiguë : Le suivi de la variation de la croissance des animaux au cours de la toxicité subaiguë pendant 28 jours par le gel chez les mâles a mis en exergue la prise du poids des animaux selon les différentes doses d'*A.schweinfurthii* gavées par rapport au groupe contrôle ayant consommé de l'eau distillée.

Les poids initiaux respectifs des rats traités et des témoins ont montré une période d'adaptation d'environ trois jours surtout pour les animaux ayant consommés le gel d'*A.schweinfurthii* 5000mg. De manière générale, le poids de tous les lots des rats normaux ayant consommés le gel d'*A.schweinfurthii* a augmenté par rapport au lot contrôle avec un seuil de significativité arrêté à $P < 0,05$. Les rats du lot satellite ayant consommés 5000 mg ont augmenté de poids par rapport au lot contrôle avec $P < 0,01$.

Le lot ayant consommé 5000mg a perdu le poids les derniers jours par rapport au contrôle avec une différence significative arrêtée à $P < 0,01$. Cette augmentation est plus importante pour les animaux satellites ayant consommé le gel mucilagineux d'*A.schweinfurthii* par rapport au lot normaux avec une différence significative arrêtée à $P < 0,001$.

Effet du gel d'*A.schweinfurthii* sur le taux d'ALAT des rats. Le gel a diminué le taux d'ALAT des animaux ayant consommé le dosage de 2000mg et 5000mg normal chez les mâles par rapport au témoin avec un taux de significativité arrêté à $P < 0,05$. Le gel d'*A.schweinfurthii* a entraîné une augmentation du taux d'Alat chez les animaux des deux sexes aux doses satellites, ce qui est signe de d'hépatotoxicité du gel à cette dose avec un taux de significativité arrêté à $p 0,01\%$.

Effet du gel d'*A.schweinfurthii* sur le taux d'ASAT: Il y eu augmentation du taux d'ASAT chez tous les animaux aux doses 5000 satellite. Ce qui démontre que le gel provoque l'hépatomégalie aux doses satellites 5000mg dans les deux sexes. En effet la dose de 50% satellite correspond à une exposition prolongée des animaux au gel et à une forte concentration augmentant ainsi le risque toxique. Un taux de significativité arrêté à $P < 0,001$. Le taux d'ASAT pour les animaux ayant consommé le dosage de 2000mg a diminué significativement avec une différence de significativité arrêté à $P < 0,001$ chez les mâles par rapport au témoin.

Le gel d'*Aloe schweinfurthii* a induit une diminution du taux d'ASAT chez les animaux des deux sexes aux doses de 5000 mg normaux avec un taux de significativité arrêté à $P < 0,05$.

Effets du gel d'*A.schweinfurthii* sur le taux d'acide urique : Le gel a induit une augmentation significative du taux d'acide urique chez les rats mâles aux doses satellites de 5000 mg à un taux

de significativité arrêté à $P < 0,001$ ce qui signifie que le gel a provoqué la néphrotoxicité aux doses satellites dans les deux sexes. Le taux d'acide urique pour les animaux ayant consommé le dosage de 2000mg a diminué significativement chez les rats femelles avec une différence de significativité arrêté à $P < 0,01$ par rapport au témoin.

5 **Effets du gel d'*A. schweinfurthii* sur le taux de créatinine sérique:** On observe une augmentation du taux créatinine sérique aussi bien chez les animaux femelles que les mâles ayant consommé 5000mg satellite du gel *par rapport aux rats témoins avec un seuil de significativité* : $P < 0,05$. Le gel d'AS a augmenté le taux de créatinine sérique chez les rats ayant dans les deux doses chez les rats femelles. Cette augmentation est en rapport avec celle de la masse du poids des reins observé ; ceci témoigne d'une néphrotoxicité probable à ces doses.

10 **Effets du gel d'*A. schweinfurthii* sur le taux de protéines totales sériques :** On observe une diminution peu significative du taux de protéines totales sériques chez les animaux mâles à toutes les concentrations ayant consommé du gel d'*A. schweinfurthii* par rapport au contrôle avec un taux de significativité arrêté à $P < 0,05$. Les variations très faibles protéines totales ne permettent pas de conclure à une atteinte hépatique aux doses.

15 **Effets de l'*A. Schweinfurthii* sur les paramètres hématologiques chez les animaux mâles et femelles :** L'administration du gel pendant 28 jours a provoqué une augmentation moyennement significative du taux des globules blancs les animaux des groupes normaux aux doses de 2000 $P < 0,01$. Le gel mucilagineux d'*Aloe schweinfurthii* a entraîné une augmentation hautement significative du taux des lymphocytes chez les animaux normaux ayant consommés 5000mg et le taux de monocytes chez ceux ayant consommés 2000mg par rapport au témoin avec un seuil de significativité $P < 0,001$. Le taux des globules rouges a augmenté chez les animaux ayant consommé le gel d'*A. schweinfurthii* 5000mg/kg normaux et satellite par rapport au contrôle avec un taux de significativité $P < 0,05$.

20 Le gel mucilagineux d'*Aloe schweinfurthii* a augmenté le taux des globules blancs particulièrement des lymphocytes et monocytes dans les groupes normaux aux deux doses. Ce qui montre une protection de l'environnement cellulaire et par conséquent contribue à la survie des cellules parodontales. Ce qui signifie que le gel renferme des substances bioactives qui ont un pouvoir amplificateur et stimulateur.

25 **Effet du gel d'*A. schweinfurthii* sur les coupes histologiques des organes prélevés:** L'administration du gel d'*Aloe d' schweinfurthii* n'a provoqué aucune désorganisation cellulaire, ni atteinte de la veine porte et des canalicules biliaires. On n'observe aucune anomalie au niveau des tissus hépatiques et rénaux. En effet les microphotographies de coupes du foie, rein, cœur, obtenues des rats témoins et traités (mâles et femelles) dans les différents groupes ne
30 montrent aucun signe histopathologique. Ce qui témoigne de l'absence de toxicité du gel dans les doses utilisées.

B- Les revendications

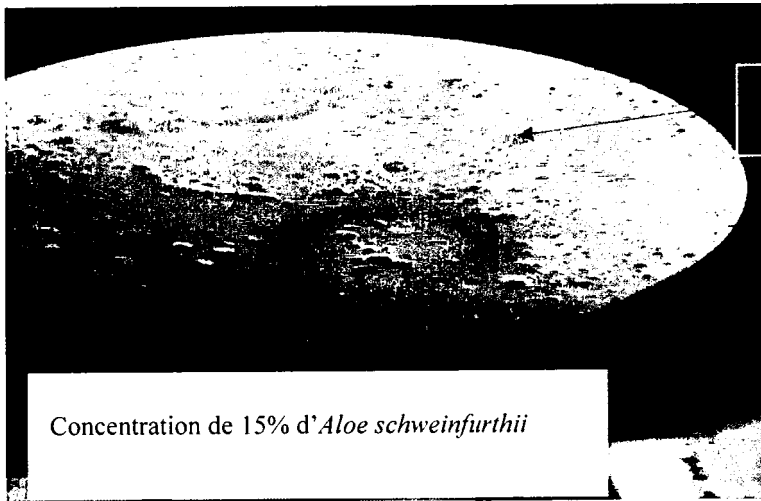
1. Milieu de conservation et de régénération des cellules vivantes caractérisé à ce qu'il est composé d'une concentration de gel mucilagineux d'*Aloe schweinfurthii* comprise entre 5 et 50%.
2. Milieu de conservation et de régénération des cellules vivantes selon les revendications 1 et 2 caractérisé à ce qu'il contient un PH de 7 à 7,2 %.
3. Milieu de conservation et de régénération des cellules vivantes selon les revendications précédentes caractérisé à ce qu'il contient des métabolites secondaires constitués par des phénols, des flavonoïdes (la teneur en flavonoïdes totaux de $75,28 \pm 0,22\mu\text{g}$ éqv Querc/mg MS), des terpènes et des stéroïdes lui conférant une activité antioxydante responsable de ses capacités de conservation, réparation et de régénération cellulaire.
4. Milieu de conservation et de régénération des cellules vivantes selon les revendications précédentes caractérisé à ce qu'il est utilisé pour la conservation et la régénération des ligaments parodontaux des dents expulsées.
5. Milieu de conservation et de régénération des cellules vivantes selon les revendications 2 et 5 caractérisé à ce que les concentrations d'*Aloe schweinfurthii* de 5%, 10%, 15%, 25% et 50% permettent une conservation et la régénération des ligaments parodontaux des dents expulsées pendant 24 à 72 h.
6. Milieu de conservation et de régénération des cellules vivantes selon la revendication 6 caractérisé à que les concentrations de gel d'*Aloe schweinfurthii* de 15% permettent une conservation et une régénération des ligaments parodontaux des dents expulsées avec un taux de vitalité de 99 % au bout de 24h.
7. Milieu de conservation et de régénération des cellules vivantes selon la revendication 6 caractérisé à que les concentrations d'*Aloe schweinfurthii* de 50% permettent une conservation et une régénération des ligaments parodontaux avec un taux de vitalité de 67 % au bout de 72h.
8. Milieu de conservation et de régénération des cellules vivantes selon la revendication 1 à 5 caractérisé à ce qu'il soit anti inflammatoire avec une activité antiinflammatoire supérieure à celle de l'aspirine à partir de la 5eme heure, antibactérien et ne comportant aucune activité toxique.
9. Procédé d'obtention du milieu de conservation et de régénération des cellules vivantes selon les revendications 1 à 4 caractérisés à ce qu'il contient les étapes suivantes :
 - Détermination de la concentration minimale du gel mucilagineux d'*Aloe schweinfurthii* par dilution à l'éosine aqueuse.
 - Détermination des pH des solutions et température ambiante ;
 - Coloration à l'éosine aqueuse et observation au microscope photonique de la vitalité cellulaire des concentrations de 5 à 50% étudiées ;
 - Criblage phytochimique (qualificatif et Quantification phytochimique)
 - activité biologique (anti-oxydante, activité antibactérienne et antiinflammatoire) du gel d'*A.schweinfurthii*
 - Evaluation de la toxicité orale aigue et subaiguë du gel *A. schweinfurthii* sur les rats de souche Wistar.
10. Utilisation selon l'une quelconque des revendications de 1 à 10, pour la conservation, réparation et régénération des cellules vivantes à la fabrication d'un dispositif à partir des concentrations de 5à 50% du gel d'*Aloe schweinfurthii*.

C- ABREGE DESCRIPTIF

Un dispositif médical à base d'*Aloe schweinfurthii* (*anteriacae*) pour la conservation et
5 régénération des cellules vivantes, notamment les cellules du ligament parodontal des dents
permanentes expulsées. La présente invention concerne le domaine technique de la conservation de
cellules vivantes notamment les cellules du ligament parodontal à travers l'utilisation des
concentrations de 5 à 50% du gel mucilagineux d'*Aloe schweinfurthii* dans les expulsions des dents
permanentes.

10 L'invention fournit un milieu de conservation à faible coût de revient avec une sécurité maximale
en termes d'innocuité, en effet les études de sa toxicité générale orale sur les rats n'ont, montré
aucune atteinte des organes pendant la période d'étude. Ce qui nous permet de formuler un
dispositif médical pour la conservation des cellules parodontales vivantes des dents expulsées en
toute innocuité.

PLANCHE 1/5



Cellule parodontale
vivante

Figure 1: Observation microscopique
des cellules parodontales
concentrations d'*A.schweinfurthii* 15%
au bout de 24.

5

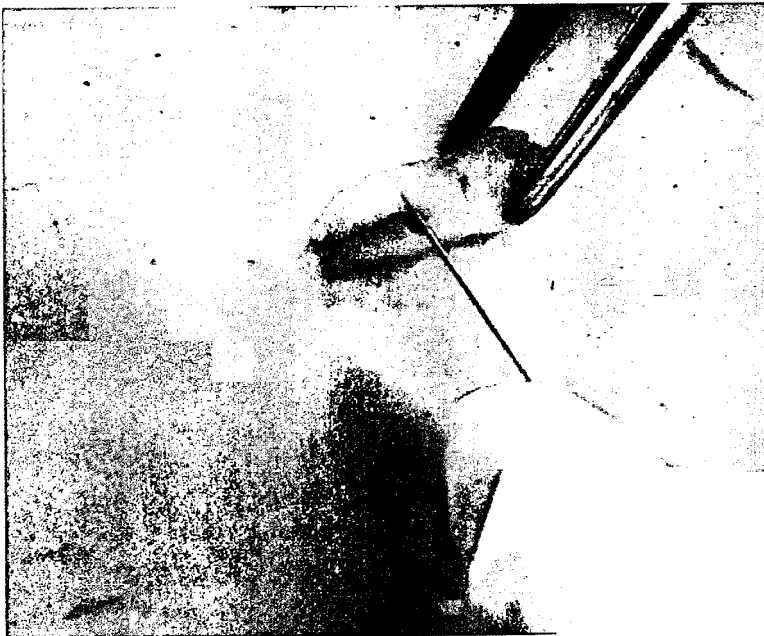


Figure 2 : Prélèvement des
ligaments parodontaux

10

15

PLANCHE 2/5

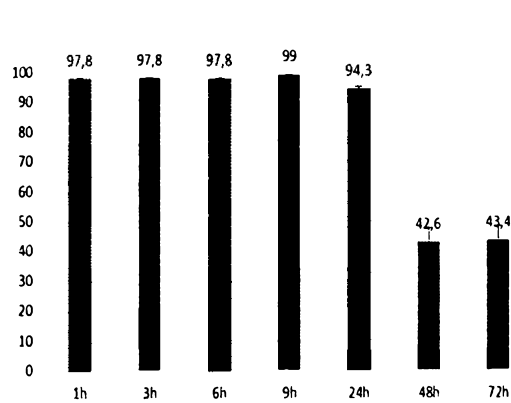


Figure:3 Effets du gel d'*A.schweinfurthii* 5 % sur le taux de viabilité des cellules parodontales.

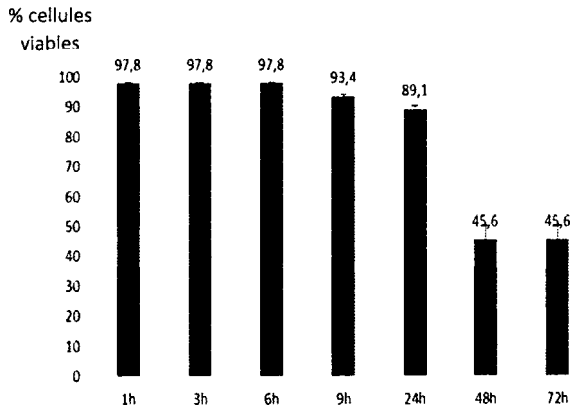


Figure:4 Effets du gel d'*A.schweinfurthii* 10 % sur le taux de viabilité des cellules parodontales.

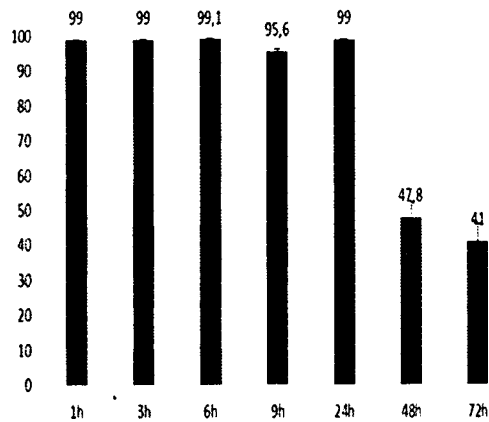


Figure:5 Effets du gel d'*A.schweinfurthii* 15 % sur le taux de viabilité des cellules parodontales.

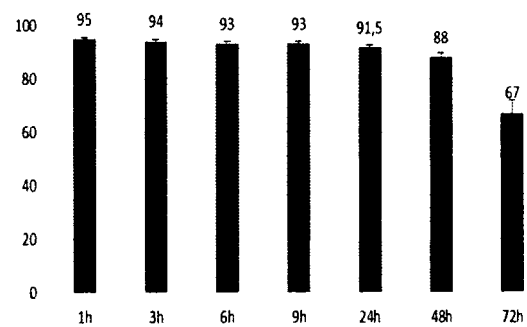


Figure:6 Effets du gel d'*A.schweinfurthii* 50 % sur le taux de viabilité des cellules parodontales.

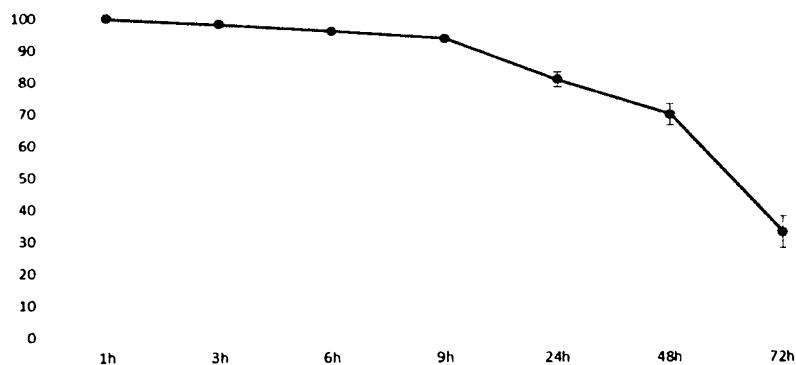


Figure 7 : Effets du gel d'*A.schweinfurthii* 25 % sur le taux de viabilité des cellules parodontales.

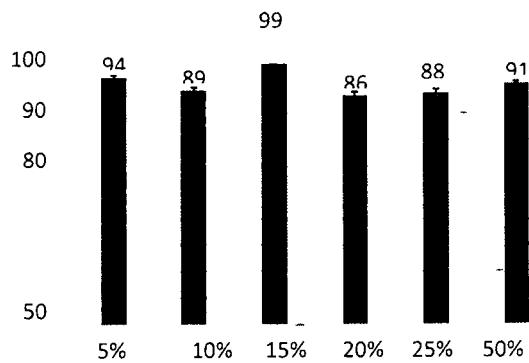


Figure :8 Effets de la Concentration du gel mucilagineux d'*A.schweinfurthii* utilisées au bout de 24heures

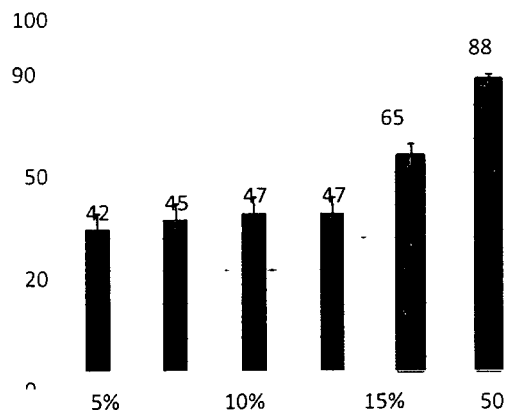


Figure :9 Effets de la Concentration du gel mucilagineux d'*A.schweinfurthii* utilisées au bout de 48 heures

% de
cellules
viables

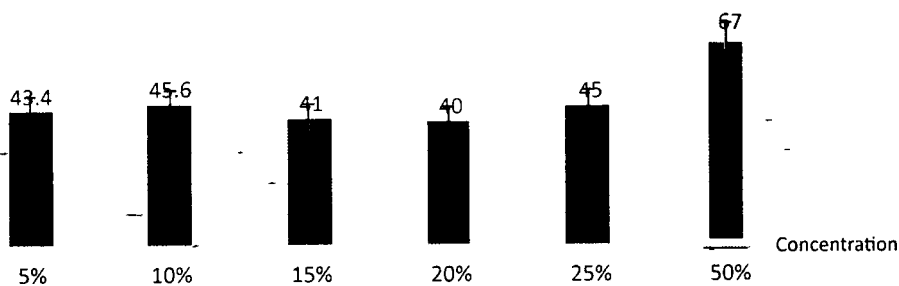


Figure : 10 Effets de la Concentration du gel mucilagineux d'*A.schweinfurthii* utilisées au bout de 72 heures

PLANCHE 3/5

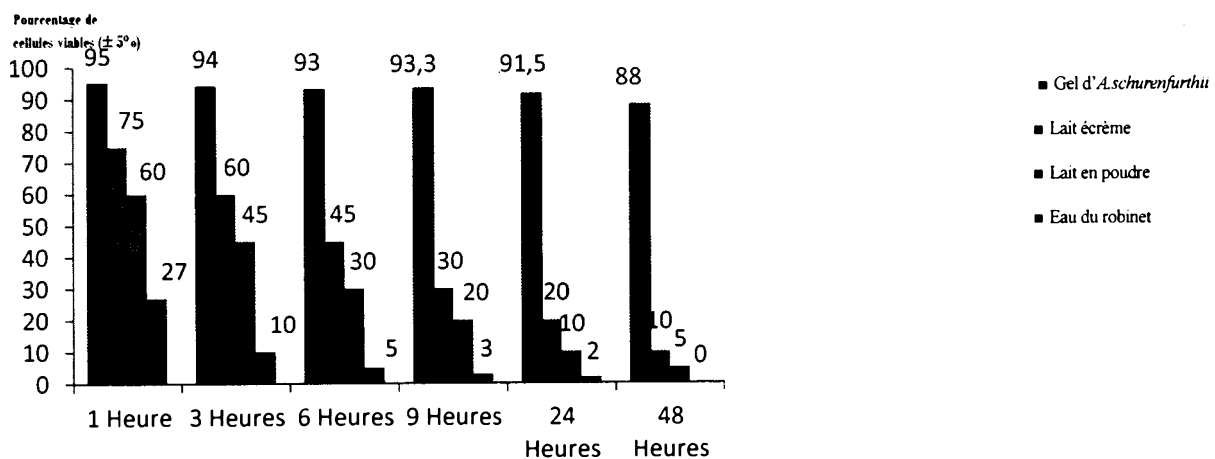


Figure 11: Cellules parodontales viables pour certains milieux de conservation usuels et le temps mis dans la concentration d'*A.schweinfurthii* 50%

PLANCHE 4/5

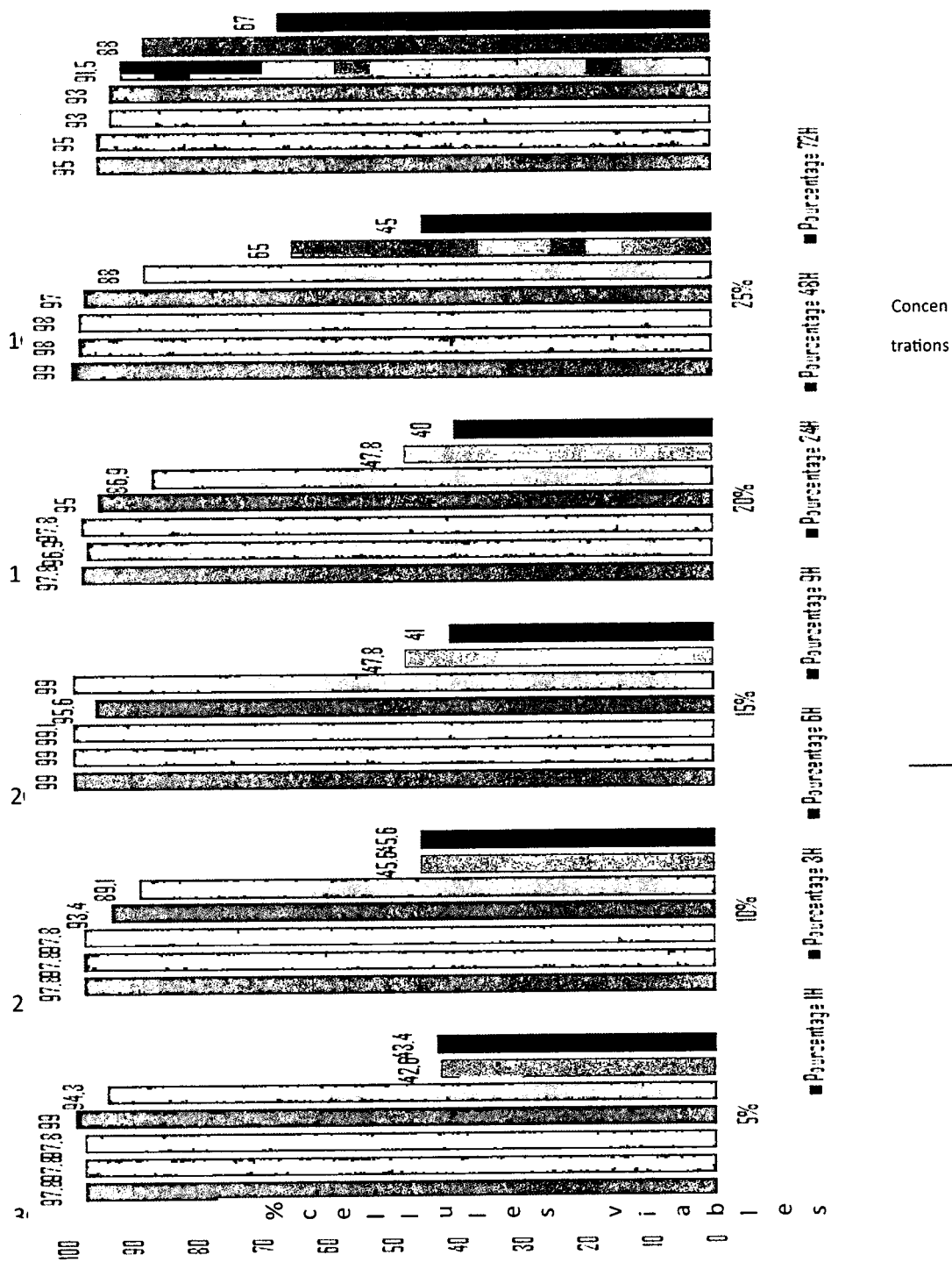


Figure 12: Comparaison viabilité CLP par l'utilisation d'A.S à différentes concentrations

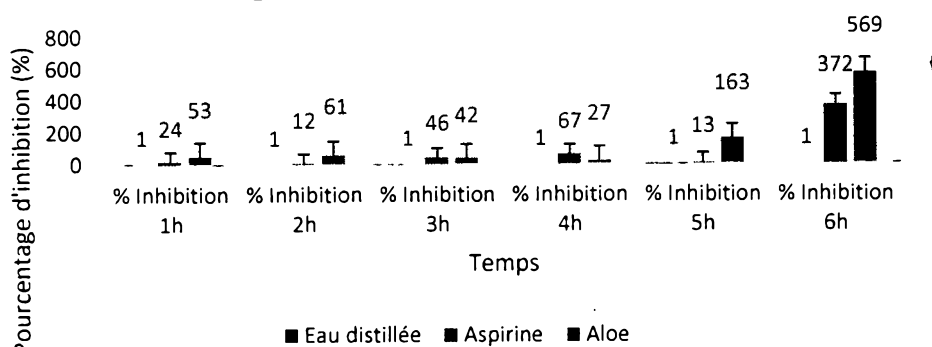
PLANCHE 5/5

Figure 13: Screening phytochimique du gel d'*Aloe schweinfurthii*

5

Famille de composés	Résultats1	Résultat2
Alcaloïdes	+	+
Phénols	+	+
Polyphénols	+	+
Flavonoïdes	+	+
Triterpènes	+	-
Stéroïdes	+	+
Saponines	+	+
Tanins galliques	-	-
Tanins catéchiques	-	-
Anthocyanines	-	-

Pourcentage d'inhibition de l'oedème plantaire



10

Figure 14: Activité anti-inflammatoire du gel d'*A. schweinfurthii*