

MISE AU POINT D'UN MODELE BIOLOGIQUE DE TEST ANTI-PARASITAIRE APPLIQUE AUX PLANTES MEDICINALES

Par

L.P. GUISSOU¹⁻², S. OUEDRAOGO¹, N. SOME¹, M. LOMPO¹

¹ Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS)
Département Médecine-Pharmacopée Traditionnelle/Pharmacie
03 BP 7192 OUAGADOUDOU 03

² Faculté des Sciences de la Santé - Université de Ouagadougou
03 BP 7021 OUAGADOUGOU 03

RESUME

Le recours aux recettes de la Médecine et Pharmacopée Traditionnelles dans le traitement des parasitoses digestives connaît un regain d'intérêt au Burkina Faso. Aussi, l'amélioration de la pharmacopée traditionnelle en vue de sa valorisation devient une nécessité.

Dans le présent travail, les auteurs rapportent la mise au point d'un modèle expérimental assez original, pour la recherche d'activité antiparasitaire.

Le lombric ou ver de terre a été testé comme modèle animal support d'études antiparasitaires ; la détermination de son milieu de survie a mis en évidence que l'eau distillée contenant du sable ordinaire nettoyé et neutralisé était adéquat.

L'effet vermicide d'extraits de plantes médicinales utilisées en tradithérapeutique comme antiparasitaires a pu être confirmé : *Balanites aegyptiaca* (Balanitaceae), *Ximenia americana* (olacaceae), *Gardenia sokotensis* (Rubiaceae), *Cochlospermum tinctorium* (Cochlospermaceae) et *Tinospora bakis* (Menispermaceae).

Ces résultats permettent de valider le modèle basé sur le lombric comme support biologique d'essai pharmacologique antiparasitaire.

MOTS CLES : Antiparasitaire, lombric, Plante médicinale, Pharmacopée Traditionnelle, Modèle animal.

INTRODUCTION

Les parasitoses digestives constituent un problème de santé publique [1] au Burkina Faso en raison de leur fréquence élevée. Les moyens d'assainissement y sont insuffisants et les mesures d'hygiène limitées, justifiant le taux élevé des infections digestives.

Le marché pharmaceutique composé de spécialités pour la plupart, n'est accessible qu'à 20% de la population notamment urbaine et solvable. Aussi le coût de plus en plus élevé des médicaments et le spectre de plus en plus large des maladies parasitaires amènent les populations vers la Médecine et Pharmacopée Traditionnelles (2). Cet état de fait incite à la recherche de nouvelles alternatives thérapeutiques.

Une valorisation de la pharmacopée traditionnelle par les chercheurs scientifiques s'impose. Pour ce faire, des tests pharmacologiques appropriés destinés à la mise en évidence de l'activité des extraits de plantes doivent être entrepris. Ces tests doivent être en rapport avec les données ethnopharmacologiques recueillies.

Beaucoup de travaux peuvent être réalisés sur les plantes en toxicologie et en pharmacologie, mais il faut avoir la maîtrise du réactif animal. Le choix du modèle animal pour être judicieux doit être guidé par la nécessité anatomique et physiologique, et permettre des réponses aux drogues transposables en clinique humaine par les prérequis. Il se pose alors les problèmes de modèles expérimentaux adéquats pour la mise en évidence d'activité pharmacologique de drogue d'origine végétale.

Le but de cette étude est de mettre au point un modèle biologique pour la recherche d'activité anti-parasitaire in vitro appliquée aux plantes médicinales. Elle devra fournir des prérequis nécessaires à des essais pharmacologiques dans la perspective de la production de médicament.

I. OBJECTIFS DE L'ETUDE

Objectif général

Rechercher des supports pharmacologiques d'activité anti-parasitaire de plantes médicinales du Burkina.

Objectifs spécifiques

- Tester le lombric comme support d'étude anti-parasitaire en vue d'une validation de modèle animal in vitro ;
- Rechercher l'effet vermicide d'extraits de plantes médicinales de la tradithérapie du Burkina ;

- Comparer l'effet à celui d'un antihelminthique témoin de référence.

II. MATERIEL ET METHODE

A. Animal

Les lombrics (*Lombricus terrestris*) ou vers de terre sont de la famille des oligochètes et de l'embranchement des annélides. Ce sont des organismes hermaphrodites, possédant un système nerveux, un appareil circulatoire et un appareil reproducteur constitué de cellules sexuelles. Ils se reproduisent par accouplement, mais coupés en morceaux, ils reconstituent autant de lombric entiers (Grasse et Doumenc, 1995 ; Aron et Grasse, 1996). Ils se nourrissent de matières organiques. Quelques uns de ces vers sont parasites.

Les lombrics ont été recueillis au barrage de Ouagadougou (Burkina Faso) et adaptés en bac d'élevage au laboratoire.

Ce ver a été utilisé dans cette étude pour sa biologie proche des helminthes, généralement parasites digestifs.

B. Matériel végétal

La matière végétale est récoltée et séchée à l'abri de la poussière. Il s'agit d'amandes de *Balanites aegyptiaca*, de l'écorce des racines pour *Ximenia americana*, des feuilles de *Gardenia sokotensis* et des racines de *Cochlospermum tinctorium*. Après séchage, les différentes parties récoltées sont réduites en poudre à l'aide d'un broyeur à lames. Plusieurs types d'extraits sont alors préparés à partir de la poudre pour correspondre aux formes d'utilisations tradithérapeutiques.

C. Méthodes d'études

1. Détermination du milieu de survie du lombric

Du sable ordinaire nettoyé à blanc et stérilisé a été utilisé comme milieu de soutien dans différentes solutions de survie testées :

- sérum physiologique (NaCl 9 pour 1000)
- milieu nutritif pour amibes non pathogènes
- eau distillée
- solution de tyrode

400 g de sable sont mélangés à 100 ml de solution dans un bac de survie. Dans chaque bac sont introduits 5 lombrics, puis leur comportement est suivi pendant 72 H.

2. Tests d'effet vermicide d'extraits de plantes médicinales

400 g de sable sont mouillés dans une solution de 100 ml d'extrait de plantes à différentes concentrations. L'ensemble est homogénéisé dans les bacs de survie. 5 lombrics sont introduits par bac. Un lot témoin de 5 lombrics est introduit dans un bac contenant uniquement le milieu de survie. Le test d'innocuité du solvant est effectué.

L'évolution des lombrics dans chaque bac est alors suivie au cours du temps. Les manifestations et la létalité sont suivies pendant 24 heures, puis jusqu'à 72 heures. Chaque test est répété 5 fois.

3. Test d'activité de pharmacologie moléculaire

Ces tests sont basés sur les mécanismes d'actions des antihelminthiques modernes : interaction avec des neuromédiateurs (Cholinergique, GABA), des ions (Na^+ - Ca^{2+}) et le métabolisme (Glucose, respiration). Pour la recherche d'une éventuelle activité cholinergique, un test sur le duodénum isolé de rat est effectué.

4. Méthodes d'analyse des résultats

L'analyse de la relation dose-effet est faite après apparition de la mortalité 100% dans un lot d'étude grâce à la courbe effet fonction de Dose (DE50).

La cinétique de l'effet (relation létalité-temps) est évaluée par une courbe létalité (% similaire) en fonction du temps (T) de contact.

La létalité est comparée à celle d'un antihelminthique témoin de référence.

Les DE50 des différents extraits sont comparés sur une échelle de puissance d'effet.

III. RESULTATS ET DISCUSSION

La détermination du milieu de survie a mis en évidence que l'eau distillée contenant le sable ordinaire était adéquat (tableau I).

Tableau I : Détermination du milieu de survie des lombrics.

Milieu	eau distillée	Milieu amibes	sérum physiologique	Tyrode
Temps				
24 H	bonne survie	Inhibition	100% de morts	80% de morts
72 H	bonne survie	100% de morts	100% de morts	100% de morts

Le tableau II présente les résultats du test de toxicité d'extrait aqueux d'amande de *Balanites aegyptiaca* sur le lombric. Ces résultats montrent bien que la drogue a un effet toxique sur le ver (effet vermicide).

Tableau II : Toxicité des amandes de *Balanites aegyptiaca*. (L) Del. sur le lombric.

C.(mg/ml)	0.1	0.5	1	10	Témoins
Tps					
TO	lombrics au fond du sable	lombrics à la surface	lombrics à la surface	tendance à sortir du bol	lombrics au fond du sable
2H	0%	0%	0%	100% de morts	0% de morts
3H	0%	20% de morts	60% de morts	-	0% de morts
12H	60% de morts	100% de morts	100% de morts	-	0% de morts

Le syndrome d'intoxication se manifeste par une hypermobilité des lombrics ; la mort de l'animal survient marquée par lyse parasitaire après inanition de courte durée.

Ces résultats sont comparables à ceux d'ichtyotoxicité de Creach (1940) et d'effet mollucide sur *Lymnaca natalense* (NAKAMISHI et KUBO 1977) avec des extraits d'écorces de racines de la même plante.

Les effets vermicides d'extraits d'autres plantes utilisées en tradithérapeutique comme antiparasitaires ont pu être confirmés. Ces résultats sont présentés dans les tableaux III et IV. Les différentes drogues présentent une activité inhibitrice in vitro sur le lombric. L'ordre d'efficacité est la suivante pour les décoctés aqueux : *Balanites aegyptiaca* > *Ximenia americana* > *Cochlospermum tinctorium* > *Gardenia sokotensis* (tableau V).

Tableau III : Toxicité du décocté aqueux de *Gardenia sokotensis* sur le lombric

C.(mg/ml)	10	12.5	15	17.5	Témoins
Tps					
10H	0%	0%	20%	60%	0%
24H	0%	0%	100%	100%	0%
48H	20%	40%	100%	100%	0%
72H	40%	60%	100%	100%	0%

Tableau IV : Toxicité du décocté aqueux de *Cochlospermum tinctorium* sur le lombric

C.(mg/ml)	10	12.5	15	17.5	Témoins
Tps					
24H	-	20%	60%	100%	0%
48H	0%	20%	60%	--	0%
72H	0%	20%	60%	--	0%

Tableau V : DE50 de l'effet vermicide des décoctés aqueux des plantes médicinales et du Combantrin^R

Drogues	Combantrin ^R	<i>B. aegyptiaca</i>	<i>X. americana</i>	<i>C. tinctorium</i>	<i>G. so-kotensis</i>
DE50 mg/ml	12.9	0.8	3.3	12.9	14.5

Cet effet annelicide des différentes drogues est dose dépendante laissant supposer une activité spécifique, saturable.

On note également une efficacité différente suivant la nature du solvant d'extraction. Pour *Ximena americana*, *Cochlospermum tinctorium* et *Gardenia sokotensis*, l'extrait hydroalcoolique est plus puissant que le décocté et le macéré aqueux (tableau VI).

Tableau VI : DE50 des différents extraits d'une même plante.

Plantes	<i>X. americana</i>		<i>G. sokotensis</i>			<i>C. tinctorium</i>		
	HA	DA	HA	DA	MA	HA	DA	MA
DE50 (mg/ml)	1.5	3.3	7.5	14.5	24	10.5	12.9	12.1

HA = Hydroalcoolique ; DA = Décocté aqueux ; MA = Macéré aqueux.

L'étude comparative de la cinétique d'effet montre que le décocté aqueux de *Balanites aegyptiaca* est la plus puissante de toutes les drogues de la présente étude. Le pourcentage de succès est optimal pour la dose de 10 mg en 2 heures (tableau VII). Le temps d'effet 40-50% est de moins de 24 heures pour *Balanites aegyptiaca* et *Ximenia americana*.

Tableau VII : Etude comparative de la cinétique d'effet pour les extraits aqueux et le produit de référence à la concentration de 10 mg/ml

Drogues	Temps (H)	Délai d'action	Temps d'effet max.(100%)
<i>B. aegyptiaca</i>		< 2 heures	2 heures
<i>X. americana</i>		< 24 heures	24 heures
<i>C. tinctorium</i>		> 40 heures	> 72 heures
<i>G. sokotensis</i>		40 heures	> 72 heures
Combantrin ^R		< 30 minutes	1 heure

Tableau VIII : Doses-effets 100% en fonction du temps de contact.

Drogues mg/ml	Temps	< 1 heure	2 heures	12 heures	24 heures
<i>B. aegyptiaca</i>		--	10	0.5	0.1
<i>X. americana</i>		--	--	--	10
<i>G. sokotensis</i>		--	--	--	20
<i>C. tinctorium</i>		--	--	--	17.5
Combantrin ^R		10	--	--	--

Tableau IX : Toxicité du Combantrin^R sur le lombric

C.(mg/ml)	5	10	15	20
Tps				
30 min	0% de morts	40% de morts	80% de morts	100% de morts
1 H	0% de morts	100% de morts	100% de morts	--
48H	20% de morts	--	--	--

Le produit de référence (Combantrin^R) montre également un effet vermicide sur le lombric (tableau IX). Cette drogue agit à des doses plus fortes que *Balanites aegyptiaca* et *Ximenia americana* (tableau V), mais son délai d'action est plus court (tableau VII); une meilleure perméabilité cellulaire pourrait justifier ce phénomène.

Pour le test de pharmacologie moléculaire basé sur les mécanismes d'action des antihelminthiques modernes, les extraits aqueux de *Balanites aegyptiaca* et de *Ximenia americana* ont été utilisés. Ces essais réalisés sur intestin isolé de rat indique bien que *Ximenia americana* a un effet cholinolytique tandis que *Balanites aegyptiaca* induit un léger effet spasmogène. Ces résultats semblent indiquer une interaction moléculaire avec le système cholinergique.

CONCLUSION

Au vu de ce travail, le modèle sur le lombric comme support biologique d'essai pharmacologique anti-parasitaire peut être considéré comme valide. Ces résultats pourraient également justifier l'activité antiparasitaire mis à profit par les tradithérapeutes pour les différents extraits de plantes étudiés.

Il faut néanmoins souligner que ces conclusions expérimentales ont leurs limites, étant entendu que de très nombreuses substances réagissent différemment suivant l'animal auquel on s'adresse ; pour citer Claude Bernard, jamais un animal n'est absolument comparable à un autre. Ce test préliminaire de cytotoxicité de par son aisance de mise en oeuvre donne une idée de l'activité vermicide éventuelle des drogues. Des études complémentaires in vivo sur des animaux parasités serait nécessaire pour conforter nos résultats.

BIBLIOGRAPHIE

1. Coordination Michel-Mignon. Gastroentérologie. Université Francophone Ellipses. Paris 1992 ; 473.
2. Ministère de la Santé. Plan Stratégique de la Recherche Scientifique. Août 1995 ; 39 : 7
3. **GRASSÉ, P.P. ET DOUMENC, D.** Zoologie. Tome I : Invertébrés. Paris : Masson. 1995 ; 5 : 112-9
4. **ARON, M. ET GRASSÉ, P.** Précis de biologie animale. 8^{me} édition ; Paris : Masson et Cie. 1966 : 878-87
5. **NAKAMISHI, ET KUBO, I.** These snail are responsible for transmitting schistosomes. 1977, Israël J. Chem. 16,28