

TDO5.13

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

ECOLE INTER - ETATS DES SCIENCES ET MEDECINE VETERINAIRES
(E.I.S.M.V.)



ANNEE 2005

N°13

ETUDE DU POTENTIEL TRYPANOCIDE D'EXTRAITS AQUEUX DE PLANTES MEDICINALES POUR LE TRAITEMENT DE LA TRYPANOSOMOSE ANIMALE AFRICAINE

THESE

Présentée et soutenue publiquement
LE 02 JUILLET 2005

devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie
de Dakar pour obtenir le grade de **DOCTEUR VETERINAIRE**
(DIPLÔME D'ETAT)

Par

Sèna Hervé VITOLEY

Né le 16 mars 1979 à Oumako (BENIN)

JURY

- Président :** M. Mamadou Keith **BADIANE**
Professeur à la Faculté de Médecine,
de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de Dakar
- Directeur et Rapporteur :** M. Assane **MOUSSA**
de Thèse Professeur à l'E.I.S.M.V. de Dakar
- Membres :** M. Louis Joseph **PANGUI**
Professeur à l'E.I.S.M.V. de Dakar
- M. Ayayi Justin **AKAKPO**
Professeur à l'E.I.S.M.V. de Dakar
- Co-directeur de thèse :** Dr Zakaria **BENGALY**
Chercheur au CIRDES / Bobo-Dioulasso



**ECOLE INTER-ETATS DES SCIENCES
ET MEDECINE VETERNAIRES DE DAKAR**

BP 5077 - DAKAR (Sénégal)
Tél. (221) 865 10 08 - Télécopie (221) 825 42 83

COMITE DE DIRECTION

LE DIRECTEUR

▣ Professeur François Adébayo ABIOLA

LES COORDONNATEURS

▣ Professeur Moussa ASSANE
Coordonnateur des Etudes

▣ Professeur Malang SEYDI
Coordonnateur des Stages et
de la Formation Post-Universitaires

▣ Professeur Germain Jérôme SAWADOGO
Coordonnateur Recherches et Développement

Année Universitaire 2004-2005

PERSONNEL ENSEIGNANT

- ☞ **PERSONNEL ENSEIGNANT EISMV**
- ☞ **PERSONNEL VACATAIRE (PREVU)**
- ☞ **PERSONNEL EN MISSION (PREVU)**
- ☞ **PERSONNEL ENSEIGNANT CPEV (PREVU)**
- ☞ **PERSONNEL ENSEIGNANT DEA – PA**

Doc. 01
L. 111
L. 112
L. 113
L. 114
L. 115
L. 116
L. 117
L. 118
L. 119
L. 120

PERSONNEL ENSEIGNANT

A. DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET PRODUCTIONS ANIMALES

CHEF DE DEPARTEMENT : PROFESSEUR CHEIKH LY

S E R V I C E S

1. ANATOMIE-HISTOLOGIE-EMBRYOLOGIE

Serge N. BAKOU	Maître - Assistant
Moustapha AHAMET	Docteur Vétérinaire Vacataire
Ismaël SY	Docteur Vétérinaire Vacataire
Galbert Simon NTEME ELLA	Docteur Vétérinaire Vacataire

2. CHIRURGIE -REPRODUCTION

Papa El Hassane DIOP	Professeur
Alain Richi KAMGA WALADJO	Assistant
Mlle Nicole Edwige NEZZI	Monitrice

3. ECONOMIE RURALE ET GESTION

Cheikh LY	Maître de Conférences agrégé
Kora Brice LAFIA	Moniteur

4. PHYSIOLOGIE-PHARMACODYNAMIE-THERAPEUTIQUE

Moussa ASSANE	Professeur
Rock Allister LAPO	Assistant
Ibrahim MAHAMAT SALLE	Moniteur

5. PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

Germain Jérôme SAWADOGO	Professeur
Yaméogo NONGASIDA	Attaché de recherche
Papa Serigne SECK	Moniteur
Alpha Amadou DIALLO	Moniteur

6. ZOOTECHNIE-ALIMENTATION

Ayao MISSOHO	Maître de Conférences Agrégé
Arsène ROSSILET	Assistant
Joachim TONONBGE	Moniteur

B. DEPARTEMENT DE SANTE PUBLIQUE ET ENVIRONNEMENT
CHEF DE DEPARTEMENT : PROFESSEUR LOUIS JOSEPH PANGUI

S E R V I C E S

**1. HYGIENE ET INDUSTRIE DES DENREES ALIMENTAIRES
D'ORIGINE ANIMALE (HIDAOA)**

Malang SEYDI	Professeur
Mlle Bellancille MUSABYEMARIYA	Assistante
Khalifa Babacar SYLLA	Attaché de recherche
Sam Patrice MADJIKAM	Docteur Vétérinaire Vacataire
Olivier BAHORO-SARANZI	Moniteur

2. MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-PATHOLOGIE INFECTIEUSE

Justin Ayayi AKAKPO	Professeur
Mme Rianatou BADA ALAMBEDJI	Maître de Conférences Agrégée
Mlle Nadège DJOUPA MANFOUMBY	Docteur Vétérinaire Vacataire
Charles Olivier GOMSU DADA	Moniteur

3. PARASITOLOGIE-MALADIES PARASITAIRES-ZOOLOGIE APPLIQUEE

Louis Joseph PANGUI	Professeur
Oubri Bassa GBATI	Assistant
Gaël Darren MAGANGA	Moniteur

**4. PATHOLOGIE MEDICALE-ANATOMIE PATHOLOGIQUE -
CLINIQUE AMBULANTE**

Yalacé Yamba KABORET	Professeur
Yacouba KANE	Assistant
Mme Mireille KADJA WONOU	Assistante
Gana PENE	Docteur Vétérinaire Vacataire
Omar FALL	Docteur Vétérinaire Vacataire
Charles Benoît DIENG	Docteur Vétérinaire Vacataire
Mlle Ndèye Sokhna KEITA	Monitrice
Boubacar OUEDRAOGO	Moniteur

5. PHARMACIE-TOXICOLOGIE

François Adébayo ABIOLA	Professeur
Félix Cyprien BIAOU	Maître - Assistant
Assiongbon TEKO AGBO	Attaché de recherche
Basile MIDINHOUEVI	Moniteur

C. DEPARTEMENT COMMUNICATION

CHEF DE DEPARTEMENT : PROFESSEUR YALACE YAMBA KABORET

S E R V I C E S

1. BIBLIOTHEQUE
Mme Mariam DIOUF Documentaliste
2. SERVICE AUDIO-VISUEL
Bouré SARR Technicien
3. OBSERVATOIRE DES METIERS DE L'ÉLEVAGE
Yao AKPO Docteur Vétérinaire Vacataire
Arsène MEBA M'EFOUA Moniteur

D. SCOLARITE

El Hadji Mamadou DIENG Vacataire
Mlle Franckline ENEDE Monitrice

PERSONNEL VACATAIRE (Prévu)

1. BIOPHYSIQUE
Mme Sylvie SECK GASSAMA Maître de Conférences Agrégée
Faculté de Médecine et de Pharmacie
UCAD
2. BOTANIQUE
Antoine NONGONIERMA Professeur
IFAN – UCAD
3. AGRO-PEDOLOGIE
Modou SENE Directeur de Recherche
Enseignant : ENSA - THIES
4. ZOOTECHNIE
Abdoulaye DIENG Docteur Ingénieur : ENSA - THIES

Léonard Elie AKPO Maître de Conférences
Faculté des sciences et Techniques
UCAD

Kalidou BA Docteur Vétérinaire
(Ferme NIALCOULRAB)
5. H I D A O A
. Normalisation et assurance qualité
Mme Mame S. MBODJ NDIAYE chef de la division Agroalimentaire
de l'Association sénégalaise de Normalisation

**PERSONNEL ENSEIGNANT CPEV
(Drévin)**

1. **MATHEMATIQUES**
Sada Sory THIAM
Maître-Assistant
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD
2. **PHYSIQUE**
Issakha YOUM
Maître de Conférences
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD

T.P.
André. FICKOU
Maître-Assistant
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD
3. **CHIMIE ORGANIQUE**
Abdoulaye SAMB
Professeur
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD
4. **CHIMIE PHYSIQUE**
Abdoulaye DIOP
Maître de Conférences
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD

T.P. CHIMIE
Rock Allister LAPO
Assistant
EISMV – DAKAR
5. **BIOLOGIE VEGETALE**
KANDIOURAB. NOBA
Maître-Assistant
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD
6. **BIOLOGIE CELLULAIRE**
Serge N. BAKOU
Maître – Assistant
EISMV – DAKAR
7. **EMBRYOLOGIE ET ZOOLOGIE**
Karamokho DIARRA
Maître de Conférences
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD
8. **PHYSIOLOGIE ANIMALE**
Moussa ASSANE
Professeur
EISMV – DAKAR
9. **ANATOMIE COMPAREE
DES VERTEBRES**
Cheikh T. BA
Professeur
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD
10. **BIOLOGIE ANIMALE (T.P.)**
Serge N. BAKOU
Maître - Assistant
EISMV – DAKAR

Oubri Bassa GBATI
Assistant
EISMV – DAKAR

11. GEOLOGIE

. FORMATIONS SEDIMENTAIRES

Raphaël SARR

Maître de Conférences

Faculté des Sciences et Techniques

UCAD

. HYDROGEOLOGIE

A. FAYE

Maître de Conférences

Faculté des Sciences et Techniques

UCAD

12. CPEV

TP

Mlle Franckline ENEDE

Monitrice

PERSONNEL ENSEIGNANT DU D.E.A – D.A

Coordination des stages et formation post – universitaires.
RESPONSABLE DU D.E.A.P.A : Professeur Malang SEYDI

MODULES

1- ZOOTECHNIE – ALIMENTATION

Responsable :

Ayao MISSOHO

Maître de Conférences
EISMV – DAKAR

Intervenants :

François . A. ABIOLA

Professeur
EISMV – DAKAR

Moussa ASSANE

Professeur
EISMV – DAKAR

Yamba.Y KABORET

Professeur
EISMV – DAKAR

Germain. J. SAWADOGO

Professeur
EISMV – DAKAR

Ayao MISSOHO

Maître de Conférences
EISMV – DAKAR

Serge N. BAKOU

Maître – Assistant
EISMV – DAKAR

Arsène ROSSILET

Assistant
EISMV – DAKAR

Abdoulaye DIENG

Ingénieur : ENSA - THIES

Alpha BA

Docteur Vétérinaire
(Ferme NIALCOULRAB)

Gana PENE

Docteur Vétérinaire Vacataire

2- SYSTEME DE PRODUCTION – ENVIRONNEMENT

Responsable :

Yamba.Y KABORET

Professeur
EISMV – DAKAR

Intervenants :

Moussa ASSANE

Professeur
EISMV – DAKAR

Yamba.Y KABORET

Professeur
EISMV – DAKAR

Eléonar Elie AKPO

Maître de Conférences
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD

Ayao MISSOHOU

Maître de Conférences
EISMV – DAKAR

Abdoulaye DIENG

Docteur Ingénieur : ENSA - THIES

Oumarou DAWA

Docteur Vétérinaire.
Inspecteur Général
MINEPIA à YAOUNDE (Cameroun)

Moussa FALL

Docteur Vétérinaire

Lamine GUEYE

Docteur Vétérinaire

3- REPRODUCTION – AMELIORATION GENETIQUE.

Responsable :

Papa El Hassan DIOP

Professeur
EISMV – DAKAR

Intervenants :

Moussa ASSANE

Professeur
EISMV – DAKAR

Papa El Hassan DIOP

Professeur
EISMV – DAKAR

Serge N. BAKOU

Maître – Assistant
EISMV – DAKAR

Alain Richi KAMGA WA LADJO

Assistant
EISMV – DAKAR

Racine SOW

Chercheur à l'I.S.R.A

4- ECONOMIE – STATISTIQUES – EPIDEMIOLOGIE

Responsable :

Cheikh LY

Maître de Conférences
EISMV – DAKAR

Intervenants :

Cheikh LY

Maître de Conférences
EISMV – DAKAR

Justin Ayayi AKAKPO

Professeur
EISMV – DAKAR

Mohamed BOUSLIKHANE

Professeur
Institut Agronomique et Vétérinaire(I.A.V)
RABAT (Maroc)

Adrien MANKOR

Docteur Vétérinaire Chercheur

5- HYGIENE ET INDUSTRIES DES DENREES ALIMENTAIRES D'ORIGINE ANIMALE(H.I.D.A.O.A)

Responsable :

Malang SEYDI

Professeur
EISMV – DAKAR

Intervenants :

Malang SEYDI

Professeur
EISMV – DAKAR

Rianatou BADA ALAMBEDI

Maître de Conférences
EISMV – DAKAR

Youssef KONE

Maître de Conférences
Université – NOUAKCHOTT
(MAURITANIE)

Issakha YOUM

Maître de Conférences
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD

Belancille MUSABYEMARIA

Assistante
EISMV – DAKAR
Docteur Vétérinaire
Attaché de recherche – EISMV

Serigne.K.H.A SYLLA

Abdoulaye DIAWARA
Ousseynou Niang DIALLO

Ingénieurs à la DIRECTION
de l'Elevage du Sénégal

Mme Bénédicte SISSOKO

Consultante Cabinet Afrique Management Conseil(A.M.C)

Je dédie ce modeste travail...

A la Sainte Vierge Marie, mère du Christ.

A ma maman, Joséphine VITOLEY, pour ton inestimable sacrifice.

A mon papa, Martin VITOLEY, pour ton soutien permanent.

**A mes oncles et tantes, cousins et cousines. Sincères
attachements.**

**A mes frères et sœurs. Ce travail est aussi le vôtre. Il est aussi
l'expression de mon attachement filial. Restons unis et forts.**

**A la famille ZOUMANIGUI. Grâce à vous, jamais je ne me suis senti
seul.**

A Chantal et Marie-Claire VITOLEY.

A mes compatriotes béninois à Dakar.

A l'A.E.V.D.

A la 32ème promotion NDIAGA GUEYE.

**A tous ceux qui me sont chers et que je ne pourrai citer ici, mais
pour qui, j'ai une pensée spéciale.**

Au Bénin, ma chère patrie.

**Au Sénégal et au Burkina Faso, mes pays hôtes, que je considère
déjà un peu comme les miens.**

Nos sincères remerciements...

Au Directeur et à tout le corps enseignant de l'E.I.S.M.V

Au Directeur Général et au Directeur Scientifique du CIRDES, pour nous avoir octroyé la bourse de recherche et nous avoir ainsi accueilli comme stagiaire dans votre institution.

Au Docteur Zakaria BENGALY, pour l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de nous encadrer dans votre unité de recherche. Vous avez pu ainsi répondre toujours favorablement à nos multiples sollicitations. Eternelles reconnaissances.

Aux Docteurs TALAKI, DAO et ADAKAL pour votre disponibilité permanente.

A léoplod MILLOGO, Adrien ZOUGRANNA, Bila CENE, Hassan, Mme SOURA et à tous les amis stagiaires, pour ces joyeux moments passés ensemble et qui resteront à jamais gravés dans mon cœur.

A Mlle Fatoumata Bintou DIAGNE, pour ta contribution à la finalisation de ce travail.

A Brice ADJAHOUTONON.

A tous ceux qui, de près ou de loin, nous ont aidé et soutenu.

A NOS MAITRES ET JUGES

A notre Maître et Président du Jury,

Monsieur Mamadou Keith BADIANE

**Professeur à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et
d'Odonto-Stomatologie de Dakar.**

**Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en
acceptant la présidence du jury de cette Thèse.**

**Veillez trouver ici l'assurance de notre sincère gratitude et de
notre profond respect.**

**A notre Maître, Directeur et Rapporteur de
Thèse,**

Monsieur Moussa ASSANE

Professeur à l'E.I.S.M.V de Dakar.

**Vous avez guidé et orienté ce travail avec toute la rigueur
scientifique dont on vous reconnaît, et ce, malgré vos multiples
occupations.**

**Veillez trouver ici l'expression de notre sincère gratitude et de
notre admiration pour votre dévouement au travail toujours
irréprochable.**

Hommages respectueux.

**A notre Maître et Juge,
Monsieur Louis Joseph PANGUI,
Professeur à l'E.I.S.M.V de Dakar.**

Votre simplicité, votre humour paternel et surtout vos qualités d'homme de science suscitent autour de vous l'estime et le respect de tous. C'est alors un grand honneur que vous nous faites en acceptant de juger notre travail.

Sincères remerciements.

**A notre Maître et Juge,
Monsieur Ayayi Justin AKAKPO,
Professeur à l'E.I.S.M.V de Dakar.**

Vos multiples occupations ne vous ont pas empêché de répondre spontanément à notre sollicitation. En Vous choisissant pour être le Juge de ce travail de Thèse, nous voulons saluer l'exemple que Vous constituer en matière de rigueur scientifique et de qualités humaines.

Profonde reconnaissance.

**A notre Co-directeur de Thèse,
Monsieur Zakaria BENGALY,
Chercheur au CIRDES.**

**Vos qualités humaines, votre sens pratique et votre rigueur pour le
travail bien fait suscitent en nous admiration et respect.**

Trouvez ici, l'expression de notre profonde gratitude.

<<Par délibération, la faculté et l'école ont décidé que les opinions émises dans les dissertations qui leurs sont présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner aucune approbation ni improbation>>.

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CIRDES : Centre International de Recherche-Développement sur l'Élevage en zone Subhumide

DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane

FAO : Food and Agriculture Organization

GSV : Glycoprotéine Superficielle Variable

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PAAT : Program Against African Trypanosomiasis

PATTEC : Pan African Tsetse and Trypanosomiasis Eradication Campaign

PCR : Polymerase Chain Reaction

PPCB : Péripleumonie Contagieuse Bovine

PROCORDEL : Programme Concerté de Recherche-Développement sur l'Élevage en Afrique de l'ouest

PSG : Phosphate Salin Glucosé

T : *Trypanosoma* ; *T. vivax* : *Trypanosoma vivax* ; *T. brucei* : *Trypanosoma brucei* ; *T. congolense* : *Trypanosoma congolense*.

TAA : Trypanosomose Animale Africaine

URBIO : Unité de Recherche sur les Bases Biologiques de la lutte intégrée

Liste des figures

Figure 1 : Types morphologiques d'évolution des trypanosomatidés -----	8
Figure 2 : Schéma d'un trypanosome-----	8
Figure 3 : Cycle biologique de <i>T. brucei s.l.</i> -----	11
Figure 4 : Pièges et écrans pour la lutte contre les glossines -----	24
Figure 5 : <i>Cassia sieberiana</i> -----	48
Figure 6 : Ecorces de <i>Cassia sieberiana</i> -----	49
Figure 7 : Ecorces de <i>Khaya senegalensis</i> -----	49
Figure 8 : Ecorces de <i>Terminalia avicennioides</i> -----	50
Figure 9 : <i>Boscia senegalensis</i> -----	50
Figure 10 : Ecorces de <i>Boscia senegalensis</i> -----	51
Figure 11 : Pourcentage d'inhibition de la parasitémie après 1h d'incubation : Macérés aqueux, Vériben® et témoin négatif-----	69
Figure 12 : Pourcentage d'inhibition de la parasitémie après 1h d'incubation : Décoctés aqueux, Vériben® et témoin négatif-----	70
Figure 13 : Pourcentage d'inhibition de la parasitémie après 1h d'incubation : Macérés et Décoctés aqueux, Vériben® et témoin négatif -----	71
Figure 14 : Taux de survie des souris traitées par les macérés aqueux : Stratégie prophylactique -----	73
Figure 15 : Taux de survie des souris traitées par les macérés aqueux : Stratégie curative -----	74
Figure 16 : Taux de guérison des souris traitées par les macérés aqueux : Stratégie prophylactique -----	76
Figure 17 : Taux de guérison des souris traitées par les macérés aqueux : Stratégie curative -----	77

Figure 18 : Taux de guérison des souris traitées par les décoctés aqueux :
Stratégie prophylactique ----- 80

Figure 19 : Taux de guérison des souris traitées par les décoctés aqueux :
Stratégie curative ----- 81

Liste des tableaux

<u>Tableau I</u> : Emploi des médicaments trypanocuratifs-----	30
<u>Tableau II</u> : Emploi des médicaments trypanopréventifs-----	31
<u>Tableau III</u> : Groupes chimiques mis en évidence dans les extraits aqueux de la poudre de racines des plantes étudiées-----	42
<u>Tableau IV</u> : Doses létales (mg/kg) et constantes toxicologiques comparées des lyophilisats des macérés aqueux des quatre plantes (poudre neuve) ----	44
<u>Tableau V</u> : Doses létales (mg/kg) et constantes toxicologiques comparées des lyophilisats des décoctés aqueux des quatre plantes (poudre neuve)-----	44
<u>Tableau VI</u> : Solutions tests in vitro -----	54
<u>Tableau VII</u> : Solutions tests in vivo -----	55
<u>Tableau VIII</u> : Plaque de microtitration réalisée : Macérés aqueux-----	57
<u>Tableau IX</u> : Plaque de microtitration réalisée : Décoctés aqueux-----	58
<u>Tableau X</u> : Tests phytotrypanocides in vivo : Macérés aqueux -----	60
<u>Tableau XI</u> : Tests phytotrypanocides in vitro : Décoctés aqueux -----	61
<u>Tableau XII</u> : Canevas de suivi des différents paramètres cliniques et paracliniques-----	62
<u>Tableau XIII</u> : Pourcentage d'inhibition in vitro du Vériben® : effet temps d'incubation dépendant -----	65
<u>Tableau XIV</u> : Pourcentage d'inhibition in vitro du Vériben® : effet concentration dépendante-----	66
<u>Tableau XV</u> : Effets in vivo du Vériben® sur l'évolution de la parasitémie----	68
<u>Tableau XVI</u> : Taux de survie des souris traitées par les décoctés aqueux des 4 plantes : Stratégies prophylactique et curative-----	79

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE : LA TRYPANOSOMOSE ANIMALE AFRICAINE	4
CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES TRYPANOSOMES	5
1.1. Les trypanosomes du bétail	5
1.2. Taxonomie des trypanosomes des mammifères	6
1.3. Morphologie et Structure	7
1.4. Cycle biologique du parasite	9
1.4.1. Chez la glossine	9
1.4.2. Chez l'hôte mammifère	10
CHAPITRE II : ETUDE CLINIQUE DE LA TRYPANOSOMOSE ANIMALE AFRICAINE	12
2.1. Pathogénie	12
2.2. Symptômes et lésions	13
2.3. Diagnostic	14
2.3.1. Diagnostic clinique	14
2.3.2. Diagnostic parasitologique	15
2.3.2.1. Examens microscopiques directs	15
2.3.2.2. Examens microscopiques après concentration	16
2.3.2.3. Inoculation à des animaux de laboratoire	17
2.3.2.4. Culture in vitro	17
2.3.3. Diagnostic séro- immunologique	17
2.3.4. Diagnostic par PCR	18

CHAPITRE III : METHODES DE LUTTE CONTRE LA TRYPANOSOMOSE ANIMALE AFRICAINE -----	20
3.1. Méthodes modernes -----	20
3.1.1. Elevage du bétail trypanotolérant -----	20
3.1.2. Lutte anti-vectorielle -----	21
3.1.3. Chimiothérapie et chimioprophylaxie-----	25
3.1.3.1. Chimiothérapie -----	25
3.1.3.2. Chimioprophylaxie -----	27
3.1.3.3. Choix d'une médication -----	28
3.1.3.4. Chimiorésistance-----	32
3.2. Méthodes traditionnelles -----	33
3.2.1. Etat des connaissances actuelles-----	33
3.2.2. Caractéristiques des plantes utilisées dans nos essais -----	35
3.2.2.1. <i>Cassia sieberiana</i> -----	35
3.2.2.2. <i>Khaya senegalensis</i> -----	36
3.2.2.3. <i>Terminalia avicennioides</i> -----	38
3.2.2.4. <i>Boscia senegalensis</i> -----	39
3.2.2.5. Propriétés phytochimiques et toxicologiques -----	41
3.2.2.5.1. Propriétés phytochimiques-----	41
3.2.2.5.2. Propriétés toxicologiques-----	43
 <u>DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE</u> -----	46
 CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES -----	47
1.1. Objectifs de l'étude -----	47
1.1.1. Objectif général -----	47
1.1.2. Objectifs spécifiques-----	47
1.2. Cadre de l'étude-----	47
1.3. Matériel -----	48
1.3.1. Matériel végétal -----	48

1.3.2. Matériel biologique -----	51
1.3.3. Matériel d'étude biologique -----	51
1.4. Méthodes -----	53
1.4.1. Etudes pharmacologiques -----	53
1.4.1.1. Culture des trypanosomes-----	53
1.4.1.2. Recherche d'une dilution témoin-----	53
1.4.1.3. Tests phytotrypanocides -----	55
1.4.1.3.1. Préparation des solutions tests -----	55
1.4.1.3.2. Tests phytotrypanocides in vitro-----	56
1.4.1.3.3. Tests phytotrypanocides in vivo -----	59
1.4.2. Méthode d'analyse des résultats -----	62
CHAPITRE II : RESULTATS -----	64
2.1. Dilution témoin-----	64
2.1.1. Tests trypanocides in vitro -----	64
2.1.2. Tests trypanocides in vivo-----	67
2.2. Effets phytotrypanocides-----	69
2.2.1. Tests phytotrypanocides in vitro-----	69
2.2.2. Tests phytotrypanocides in vivo -----	72
CHAPITRE III : DISCUSSIONS -----	82
3.1. Méthodes d'étude-----	82
3.1.1. Tests in vitro -----	82
3.1.2. Tests in vivo -----	82
3.2. Résultats de l'étude pharmacologique -----	82
3.2.1. Effets phytotrypanocides in vitro-----	82
3.2.2. Effets phytotrypanocides in vivo-----	84
CONCLUSION GENERALE -----	85
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES -----	88

INTRODUCTION

En Afrique, de nombreuses espèces de trypanosomes sanguicoles sont essentiellement transmises par les mouches tsé-tsé (*Glossina sp.*). La distribution de la maladie dont elles sont responsables suit celle de leurs vecteurs (excepté *T. vivax* qu'on rencontre hors d'Afrique) et couvre une région d'environ 10 millions de km², soit un tiers du continent africain situé entre 15° de latitude nord et 20° de latitude sud.

Chez l'homme, les trypanosomes sont responsables de la trypanosomiase humaine africaine, encore appelée la maladie du sommeil. Ainsi, *T. brucei* est responsable de cette maladie en Afrique tropicale et subtropicale. Autrefois nettement contrôlée, la maladie du sommeil est actuellement en recrudescence et sévit sous une forme endémo épidémique. On estime qu'environ 50 millions de personnes y sont exposées dans plus de 200 foyers [54].

Si la trypanosomiase humaine reste limitée à des foyers, la trypanosomose animale africaine (TAA) est largement distribuée. Elle affecte en effet, 37 pays situés dans les régions potentiellement les plus productives d'Afrique dont 7 millions de savane humide. On estime que 50 millions de bovins et 70 millions de petits ruminants y sont exposés. Les pertes annuelles de viande sont estimées à près de 5 milliards de dollars américains [45]. La productivité du bétail et l'utilisation des animaux pour l'agriculture (engrais, traction) s'en trouvent donc affectées. Fuyant les zones infestées par les glossines, l'élevage tend à se concentrer dans les zones semi-arides aux ressources fourragères limitées, entraînant la dégradation progressive des pâturages. La TAA constitue donc une contrainte majeure au développement. HOSTE [36], en utilisant les données publiées par la FAO, aboutit à la conclusion que la suppression de la TAA dans les zones de savane humide entraînerait une augmentation de la productivité de 1,8 millions de tonnes de viandes par an. JAHNK et coll. [38], suite à une étude par zone écologique, aboutissent à une augmentation de la productivité de 1,032 millions de tonnes d'équivalent viande par an. D'où l'importance capitale de la lutte contre ce fléau.

Pour se faire, de nombreuses campagnes de lutte (PAAT, PATTEC, etc.) ont été initiées en Afrique. Elles sont basées sur deux approches fondamentales : la première, la lutte antivectorielle notamment par piégeage des glossines est pratiquement impossible. La deuxième, la chimiothérapie et/ou la chimioprophylaxie (acéturate de diminazène, chlorure d'isométymidium) demeure le moyen le plus répandu à cet effet depuis plus de trois décennies. Cependant, cette deuxième approche a entraîné l'apparition de souches de trypanosomes résistants à tous ces trypanocides dans 13 pays africains [49]. Or, les perspectives de mise au point dans un futur proche de nouvelles molécules à propriétés trypanocides sont quasiment nulles. D'où l'urgence de chercher de nouvelles alternatives pour combattre la TAA.

En Afrique, particulièrement en zone rurale, les éleveurs financièrement démunis ont souvent recours aux végétaux de leur environnement pour traiter différentes maladies, dont la TAA. Parmi les plantes utilisées, on note *Cassia sieberiana*, *Khaya senegalensis*, *Boscia senegalensis* [1] et *Terminalia avicennioides* [56]. La présente étude se propose d'évaluer l'effet trypanocide réel des macérés et décoctés aqueux de ces plantes, en vue d'une comparaison pour un choix judicieux vers la formulation d'un phytomédicament trypanocide.

La première partie de ce travail sera consacrée à la revue bibliographique. Dans la seconde partie, après la présentation du matériel et des méthodes d'étude les résultats obtenus seront présentés, analysés et discutés.

PREMIERE PARTIE :
LA TRYPANOSOMOSE ANIMALE
AFRICAINNE

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES TRYPANOSOMES

1.1. Les trypanosomes du bétail

Les trypanosomes sont des protozoaires flagellés, qui vivent dans le plasma sanguin, la lymphe et divers tissus de leurs hôtes. En Afrique, les bovins peuvent être infectés par trois espèces de trypanosomes pathogènes du genre *Trypanosoma* : *T. congolense* [12], *T. brucei* (notamment la sous-espèce *T. brucei brucei*) [50], *T. vivax* [67], et une espèce non pathogène *T. theileri* [40]. Les deux premières espèces sont transmises essentiellement par les mouches tsé-tsé, qui en sont les vecteurs biologiques. *T. vivax* est généralement transmis par les glossines, mais peut l'être également par des vecteurs mécaniques (Stomoxynés, Tabanidés, Hippoboscidés). *T. theileri*, est une espèce cosmopolite, non pathogène, et transmissible de façon mécanique par des insectes hématophages.

T. brucei (sous-genre *Trypanozoon*) est le plus étudié des trypanosomes africains, du fait qu'il peut être facilement adapté et multiplié en culture en milieu axénique [8 ; 12] ou in vivo chez la souris (mais difficilement *T. brucei gambiense*). *T. brucei gambiense* est l'agent de la maladie du sommeil en Afrique de l'Ouest. Il pourrait également infecter des animaux domestiques, qui seraient susceptibles de jouer le rôle de réservoir [44]. Il est donc responsable d'une anthroponose. *T. brucei brucei* n'infecte pas l'homme du fait de sa sensibilité au sérum humain, mais parasite les animaux sauvages et domestiques dans toute l'Afrique. A la différence de *T. brucei gambiense*, *T. brucei rhodesiense* est responsable de zoonose. Il peut être infectieux dans l'espèce bovine, chez laquelle il provoque un syndrome de gravité allant de l'infection inapparente à une méningo-encéphalite comparable à celle observée dans la maladie de sommeil humaine [64].

T. vivax (sous-genre *Duttonella*), également fréquent chez les bovins, est de pathogénicité très variable. En Afrique centrale et occidentale, *T. vivax* est généralement moins pathogène que *T. congolense* [60 ; 61]. Il est souvent restreint aux ongulés. Autrefois considéré comme parasite exclusivement vasculaire, *T. vivax* a été retrouvé dans le myocarde, les ganglions lymphatiques et la moelle osseuse [29].

T. congolense (sous-genre *Nannomonas*) est l'agent principal de la Nagana, par sa fréquence, sa pathogénicité et ses conséquences sur la productivité. *T. congolense* est probablement le trypanosome africain ayant la plus grande incidence économique en Afrique, car il affecte de nombreuses espèces animales. Essentiellement pathogène chez les ruminants, cette espèce parasite aussi les équidés et les suidés, de même que les canidés et les félidés [28].

Par ailleurs il existe d'autres espèces de trypanosomes tels que *T. evansi*, agent du Surra, et *T. equiperdum*, agent de la Dourine.

1.2. Taxonomie des trypanosomes des mammifères

Les trypanosomes appartiennent à l'ordre des *Kinétoplastida*, à la famille des *Trypanosomatidae* et au genre *Trypanosoma*.

Le genre *Trypanosoma* est divisé en deux sections :

- La section *Stercoraria* : comporte les trypanosomes à évolution postérograde chez le vecteur. Leur transmission chez l'hôte vertébré s'effectue par déjection contaminante.
- La section *Salivaria* : comporte les trypanosomes à développement antérograde chez le vecteur. La transmission est effectuée par inoculation, lorsque le vecteur injecte sa salive au moment de la piqûre qui précède immédiatement la prise d'un repas sanguin. Cette section comprend tous les trypanosomes pathogènes d'Afrique, dont la plupart sont transmis par les

mouches tsé-tsé, ou glossines, qui constituent leur hôte intermédiaire véritable.

1.3. Morphologie et structure (Figures 1 et 2)

Le trypanosome comme tout protozoaire est formé d'une cellule unique qui constitue un organisme autonome. La forme classique est celle d'une cellule fusiforme et aplatie, avec une membrane ondulante plus ou moins enroulée autour du corps, prolongée vers l'avant par un flagelle libre. Cette forme varie cependant d'une espèce à une autre, mais aussi au cours du cycle évolutif [13].

Au microscope ordinaire, le trypanosome présente une masse de cytoplasme qui contient des organites en enclaves variés, ainsi qu'un noyau. La périphérie de cette masse cytoplasmique est limitée par une paroi cellulaire.

Le microscope électronique a permis de préciser la structure des différentes parties de la cellule :

- la paroi cellulaire ou périplaste, formée d'une membrane de 8 à 10nm d'épaisseur et d'une couche de fibres microtubulaires. La membrane est constituée de trois couches dont l'externe est très riche en glycoprotéine. C'est l'antigène de surface du trypanosome ;
- le flagelle formé d'une courte portion proximale, le blépharoplaste ou kinétosome ; d'une zone de transition et du flagelle proprement dit ;
- le noyau constitué d'une membrane nucléaire formée de deux feuillets accolés, percés de nombreux pores. Il contient de l'ADN ;
- le système mitochondrial et le kinétoplaste ;
- l'appareil vacuolaire riche en divers organites tels que les réticulum endoplasmique, lysosome et appareil de Golgi. Le cytoplasme contient également des structures mal identifiées, en particulier des grains de vultine et des gouttelettes lipidiques [32].

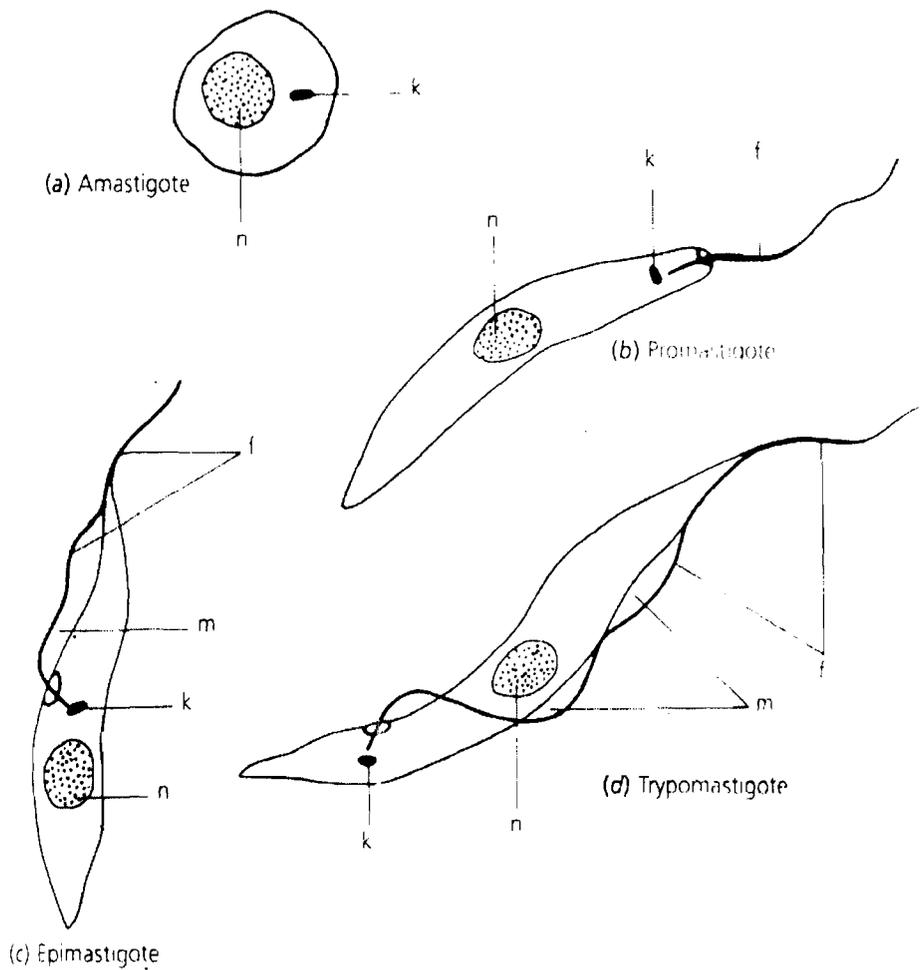


Figure 1 : Types morphologiques d'évolution des trypanosomatidés (n= noyau ; k= kinétoplaste ; f= flagelle ; m=membrane ondulante)

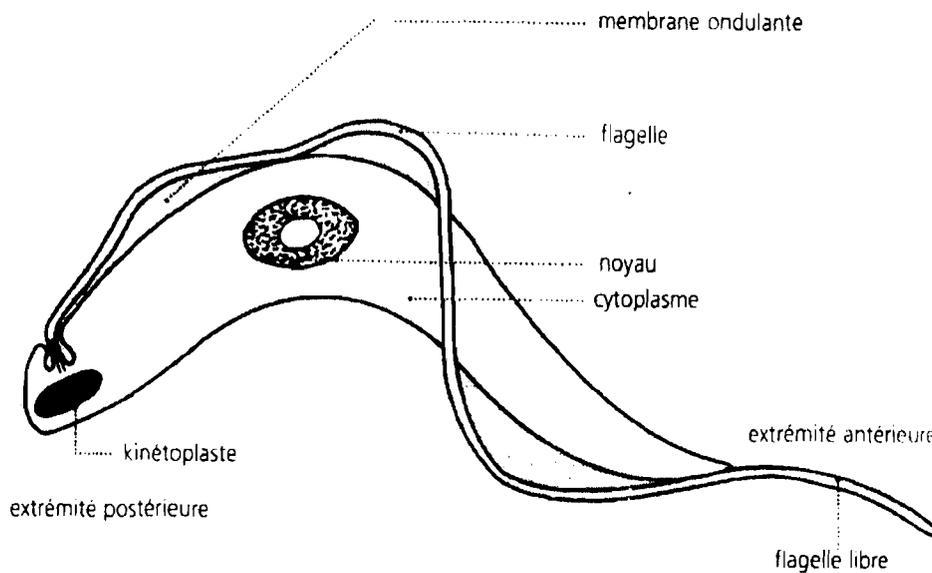


Figure 2 : Schéma d'un trypanosome

Source (Figures 1 et 2) : CHARTIER et coll. [13]

1.4. Cycle biologique du parasite (Figure 3)

1.4.1. Chez la glossine

La glossine, du genre *Glossina*, appartient à l'embranchement des Arthropodes, à l'ordre des Diptères et à la famille des Muscidae piqueurs à trompe dure portée horizontalement vers l'avant, communément appelés « mouches tsé-tsé ». Ce sont les vrais vecteurs des trypanosomes typiquement africains [37].

Le cycle de développement des trypanosomes est le plus complexe et le plus long pour *T. brucei*. Chez la glossine, il dure environ 30 jours pour *T. brucei* tandis qu'il est d'environ 18 jours pour *T. congolense* et 14 jours pour *T. vivax*.

Lors de son repas sanguin sur un mammifère parasitémique, la glossine absorbe des formes trypomastigotes courtes. Le sang infecté passe au bout de 10 minutes dans l'intestin moyen de la glossine, puis arrive dans l'espace endopéritrophique. Il y a transformation des formes courtes en formes allongées (trypomastigotes procycliques). Celles-ci perdent leur membrane de glycoprotéine et deviennent non infectieuses. Elles connaissent une multiplication très active vers le 3^e – 4^e jour pour *T. brucei* et vers le 10^e jour pour *T. congolense*, et se maintiennent environ 2 mois. Les formes procycliques de *T. congolense* passent ensuite dans l'espace ectopéritrophique, puis gagnent l'œsophage, le pharynx, et enfin le canal alimentaire. Elles se fixent sur les parois du labre et se transforment en épimastigotes. Ces formes pénètrent dans l'hypopharynx, se transforment en métatrypanosomes (métacycliques) infectants revêtus de la glycoprotéine de surface.

Pour *T. vivax* la totalité du cycle se déroule dans le proboscis (labre et hypopharynx). Après un repas sanguin infectant, les trypanosomes ayant pu se fixer sur la paroi du labre se multiplient activement sous la forme épimastigote. Les autres qui sont entraînés avec le sang dans l'intestin dégèrent et meurent. Les formes épimastigotes se détachent de la paroi du labre, pénètrent

dans l'hypopharynx et se transforment en trypomastigotes métacycliques infectants.

1.4.2. Chez l'hôte mammifère

Les trypanosomes africains appartiennent au groupe *Salivaria* : ils sont donc transmis par la salive des vecteurs.

La glossine injecte dans le derme du mammifère à l'occasion d'un repas sanguin, les formes métacycliques infectieuses présentes dans ses pièces buccales. Les métacycliques se multiplient au point d'inoculation pendant plusieurs jours en déterminant parfois une réaction inflammatoire appelée "trypanome". Les trypanosomes migrent par voie lymphatique vers le ganglion de drainage et sont détectables dans la lymphe efférente de ce ganglion quelques jours avant leur détection dans le sang [27 ; 2]. La durée de la période prépatente (de l'inoculation à la détection du parasite dans le sang) varie généralement de 1 à 3 semaines, en fonction de l'espèce et de la souche de trypanosome, du nombre de trypanosomes injectés et de l'état immunitaire de l'hôte [17]. Les trypanosomes évoluent dans le sang par « vagues parasitémiques » correspondant à des phénomènes « d'échappement » aux défenses immunitaires de l'hôte. Ces phénomènes sont contrôlés par la glycoprotéine superficielle variable (ou G.S.V).

Lorsque les défenses immunitaires de l'hôte sont dépassées par ces « vagues parasitémiques », il se développe alors une maladie que l'on nomme la trypanosomose animale africaine.

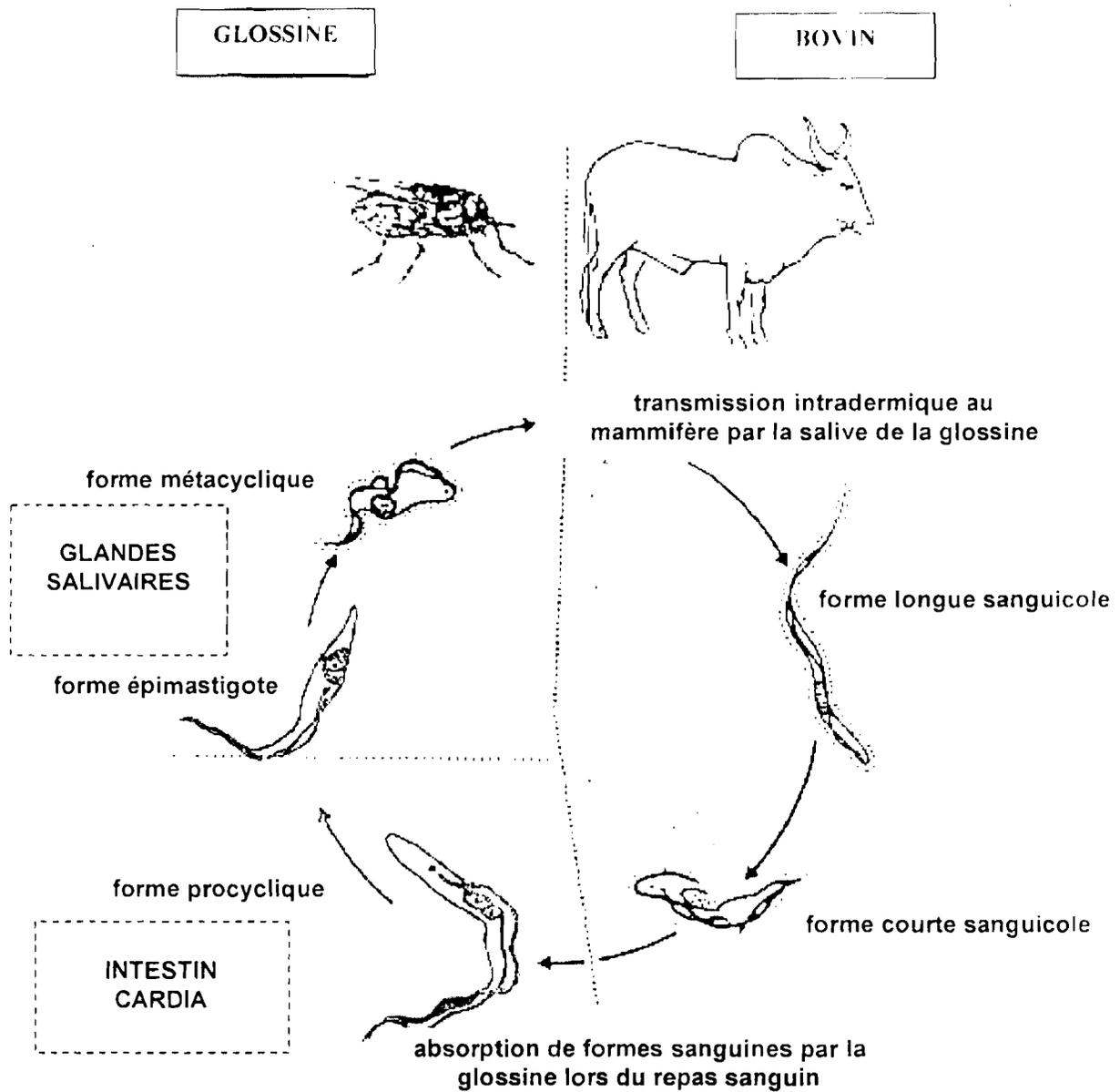


Figure 3 : Cycle biologique de *T. brucei s.l.*
 (Adapté de Vickerman & Luckins, 1969)

Source : SIDIBE [54]

CHAPITRE II : ETUDE CLINIQUE DE LA TRYPANOSOMOSE ANIMALE AFRICAINE

Les trypanosomoses sont des affections à évolution généralement chronique, de durée et de symptomatologie variables en fonction de l'espèce animale affectée et de l'agent pathogène en cause.

2.1. Pathogénie

Diverses opinions expliquant le mécanisme de la mort dans les trypanosomoses ont été développées. Dans la trypanosomose bovine, il dépendrait de trois facteurs essentiels : l'anémie, les lésions tissulaires et une action immunodépressive [63].

– L'anémie

Dans une étude menée en Gambie sur les zébus et les taurins Ndama, DARGIE et coll. [21] distinguent deux ou trois phases dans l'anémie : une anémie hémolytique corrélative à l'apparition de la parasitémie ; puis une phase anémique chronique qui débute à la sixième ou septième semaine après l'infection quand la parasitémie commence à baisser ; et enfin une phase au cours de laquelle le taux de globules rouges reste constant et inférieur à la normale. En ce qui concerne l'étiologie de l'anémie, diverses hypothèses sont proposées. On pense à une hémolyse provoquée par les trypanosomes ou alors à la destruction des globules rouges par une réaction immunologique dans le système réticulo-endothélial.

– Les lésions tissulaires

Il s'agit surtout de la myocardite et de la myosite. Leur cause est mal connue. Cependant, quelque soit l'étiologie de ces lésions, la mort de l'animal infecté résulte le plus souvent d'un arrêt du cœur [46].

– Actions immunodépressives

On observe enfin un état sévère d'immunodépression dû à l'action de l'indole-ethanol et d'acides gras libres sur les lymphocytes ou d'immuns complexes bloquant l'activité des macrophages. L'immunodépression peut aussi être la conséquence de lésions des plasmocytes élaborateurs d'anticorps ou d'une inhibition de la sécrétion des globulines associée à une augmentation de leur catabolisme [13]. Cet état est responsable d'une plus grande sensibilité des animaux aux affections intercurrentes (peste bovine, péripneumonie, babésioses, anaplasmoses, etc.) et de réactions post-vaccinales graves.

2.2. Symptômes et lésions

La trypanosomose se traduit chez les bovins sensibles par un syndrome de gravité variable. Tous les modes d'évolution sont possibles : de l'infection suraiguë mortelle en quelques jours à l'infection chronique durant des mois, en passant par l'infection aiguë mortelle en 3 à 4 semaines. Le mode d'évolution chronique, caractérisé par des parasitémies intermittentes, est le plus fréquent chez les bovins.

La maladie débute par une phase d'hyperthermie, correspondant au premier pic de parasitémie. Deux à trois semaines après la piqûre infectante, le taux d'hémoglobine et l'hématocrite chutent, reflétant l'anémie, symptôme majeur des trypanosomoses bovines. Les atteintes nerveuses, particulièrement nettes chez les équidés, se traduisent le plus souvent par de l'affaiblissement du train postérieur, quelquefois de la parésie voire de la paralysie, peu avant la mort. La maladie évolue par accès, ou crises, en liaison avec les parasitémies successives. Dans les formes suraiguës, le premier accès (de 4 à 6 jours) est mortel. Dans les formes aiguës par contre, on observe plusieurs accès de 3 à 6 jours, séparés par des intervalles de rémission de 6 à 8 jours. Chaque accès aggrave le processus et la mort survient en 7 à 8 semaines.

Les animaux chroniquement infectés sont souvent cachectiques et peu productifs. La croissance des veaux infectés peut être affectée de façon irréversible. Chez les adultes, des effets sur la reproduction sont observés : anœstrus chez les femelles, fertilité réduite des mâles et des femelles, nombreux risques d'avortements [14].

Il n'existe pas de lésion typique de la Nagana. On observe souvent une hépatosplénomégalie et des polyadénites. Les bovins porteurs d'une infection chronique présentent une hypoplasie des organes lymphoïdes. L'atteinte cardiaque, le plus souvent sous forme d'une myocardite dégénérative, est la cause de la mort dans de nombreux cas d'infection chronique. Des troubles endocriniens dus à un dysfonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysaire caractérisent l'infection par *T. congolense* [10].

2.3. Diagnostic

Le diagnostic de la trypanosomose animale africaine est rendu difficile par l'absence de symptômes caractéristiques et par la multiplicité des sources de parasite. De ce fait, seul l'examen de sang permet de déceler la présence des trypanosomes [42].

2.3.1. Diagnostic clinique

Il repose sur l'examen des animaux suspects. Mais les symptômes sont très variables selon l'espèce animale affectée, les trypanosomes en cause et le stade d'évolution de la maladie. En pratique, le diagnostic clinique est basé sur l'anémie, la fièvre et quelquefois sur la réaction ganglionnaire. Il n'y a pas, en fait, de signes cliniques pathognomoniques en matière de trypanosomose. C'est dire que le diagnostic clinique différentiel est difficile.

Ainsi chez les bovins, la trypanosomose est à différencier des autres maladies parasitaires telles que :

- les babésioses où il y a hémoglobinurie et ictère ;
- les theleirioses caractérisées par des adénites ;
- les helminthoses gastro-intestinales auxquelles sont souvent associées des diarrhées ;
- de l'anaplasmose où l'anémie est plus sévère.

Les différences entre la TAA et ces maladies n'étant pas toujours évidentes, le diagnostic de laboratoire s'avère nécessaire pour confirmer les suspicions cliniques.

2.3.2. Diagnostic parasitologique

Le diagnostic parasitologique a pour but la mise en évidence des trypanosomes, soit directement, soit après concentration ou inoculation à des animaux de laboratoire.

2.3.2.1. Examens microscopiques directs

❖ L'observation directe

L'examen direct d'une goutte de sang frais, entre lame et lamelle, peut être d'une grande utilité, sur le terrain, pour contrôler la parasitémie d'animaux en cours d'observation ou de traitement ou pour connaître l'état sanitaire d'un troupeau, au cours des saisons.

Au microscope, avec un objectif à sec $\times 20$ ou $\times 40$, on voit les trypanosomes.

- *T. congolense* reste collé à un érythrocyte et ses mouvements sont lents;
- *T. vivax* traverse rapidement le champ du microscope;
- *T. brucei* se déplace lui aussi librement, mais beaucoup moins vite que *T. vivax*, et il décrit souvent des cercles [11].

L'observation immédiate ne permet de déceler qu'un faible pourcentage d'infection, quelque soit le degré de parasitémie des animaux infectés.

❖ **L'observation après coloration**

Le prélèvement du sang des veinules de la pointe de l'oreille est étalé en couche mince (frottis) ou, en goutte épaisse, puis coloré avec du May-Grünwald-Giemsa. Il est conseillé d'opérer plusieurs jours de suite et sur au moins 10% des animaux d'un troupeau. Lorsque la parasitémie est faible, les résultats seront nettement améliorés en pratiquant systématiquement des gouttes épaisses en même temps que les étalements et, si possible, en complétant ces examens par la ponction d'un ganglion superficiel.

2.3.2.2. Examens microscopiques après concentration

La concentration des trypanosomes facilite leur recherche, surtout lorsque la parasitémie est faible. Elle est obtenue soit par centrifugation d'un volume donné de sang total, soit après séparation par filtration des trypanosomes, soit après la lyse des hématies.

La méthode la plus couramment utilisée est la centrifugation différentielle en tube microhématocrite et l'examen des interfaces plasma / globules blancs au microscope à contraste de phase [66]. Elle consiste à remplir, avec du sang prélevé directement au niveau d'une veinule de l'oreille, 4/5^e d'un tube capillaire à microhématocrite de 75 mm de longueur et 0,5 mm de diamètre intérieur, préalablement hépariné. Les tubes, bouchés à une extrémité par la plasticine, sont disposés dans une centrifugeuse, l'extrémité bouchée dirigée vers la périphérie, et centrifugés à 12000 tours / minute pendant 5 minutes.

Les trypanosomes se retrouvent à l'interface globules blancs / plasma. L'observation doit être réalisée dans les quatre à cinq heures suivant le prélèvement. Elle se fait directement dans le tube sous le microscope à contraste de phase, avec un objectif ×20.

La méthode de MURRAY (BCM : "Buffy Coat Method") est une variante de la méthode de WOO [66]. En effet, ici, on sectionne le tube capillaire à 1mm en dessous et à 3cm au-dessus de la couche de globules blancs afin d'en extraire le matériel biologique situé au niveau de l'interface globules blancs / plasma.

Un examen de ce matériel biologique est réalisé à l'état frais entre lame et lamelle au microscope à fond noir [47]. Les trypanosomes sont brillants et attirent l'attention par leurs mouvements. Cette technique est beaucoup plus sensible que celle des étalements ou des gouttes épaisses.

TORO et coll. [58], en déduisent que la technique de centrifugation hématocrite (HCT) est 4 fois plus sensible que l'examen direct de sang et 2,5 fois plus sensible que la méthode des étalements.

2.3.2.3. Inoculation à des animaux de laboratoire

Elle permet de visualiser longtemps, après, des trypanosomes rares initialement lors des prélèvements. On utilise la chèvre pour la recherche de *T. vivax* et le rat ou la souris pour *T. congolense* et *T. brucei*. Cette méthode ne peut être pratiquée de façon courante sur le terrain, en raison du nombre d'animaux et du matériel nécessaire à sa mise en application.

2.3.2.4. Culture in vitro

Les cultures de trypanosomes in vitro sont délicates, longues et coûteuses. De ce fait, ce procédé n'a pas d'application pratique pour le diagnostic des trypanosomoses animales, sauf pour la mise en évidence de *T. theileri*. Dans ce cas l'hémoculture est alors la méthode de choix.

2.3.3. Diagnostic séro-immunologique

Les tests sérologiques utilisent la réponse immunitaire de l'organisme des animaux infectés. Les tests de diagnostic qui cherchent à mettre en évidence la présence d'anticorps dans l'organisme infecté comprennent :

- des méthodes non spécifiques tel que le test au chlorure mercurique ;
- des méthodes spécifiques, permettant généralement de déceler des infections occultes ayant échappé aux techniques plus classiques.

Ce sont :

- la fixation de complément ;
- l'hémagglutination passive ;
- le test d'immunofluorescence indirecte.

Toutefois, l'exécution et l'interprétation de ces tests demandent de bonnes connaissances en sérologie et la mise à disposition de laboratoires bien équipés. ZWART et coll. [68], utilisent cette méthode pour la surveillance des trypanosomoses des bovins au Kenya. Ils notent que l'immunofluorescence indirecte permet de détecter 80% d'infectés dans un cheptel où les méthodes classiques ne décèlent qu'un taux d'infection de 51%.

Par ailleurs, il existe une autre méthode d'hémagglutination appelée Test d'agglutination sur carte (CATT= Card Agglutination Trypanosomiasis Test). Il a comme principe l'agglutination des globules rouges préalablement traités par l'acide tannique et enrobés d'antigènes provenant de trypanosomes broyés, lorsque ces globules rouges sont mis en contact avec le sérum de l'animal suspect. C'est une méthode hautement sensible avec *T. evansi* [59]. Toutefois sa spécificité est mal définie. Appliqué à la détection des infections par *T. equiperdum*, le test n'est positif que chez des animaux présentant des signes cliniques [30]. Par ailleurs, la reproductibilité du CATT test *T. evansi*ND n'est pas toujours satisfaisante et des réactions croisées avec *T. vivax* sont avérées [22].

2.3.4. Diagnostic par PCR

L'amplification enzymatique in vitro en chaîne de l'ADN par polymérase est communément connue sous le nom de PCR (Polymerase Chain Reaction). Elle permet de révéler la présence de segments d'ADN ayant des séquences de bases connues, au moins en partie [34]. La polymérisation est artificiellement

obtenue en imposant des cycles thermiques à un mélange constitué d'ADN matriciel, de Taq polymérase, d'acides désoxyribonucléiques phosphates (dNTP), d'un tampon adéquat, et d'un couple d'oligonucléotides spécifiques.

Les cycles sont constitués de trois (3) phases :

- une phase de dénaturation (94°C environ) ;
- une phase d'appariement des oligonucléotides avec la séquence complémentaire de l'ADN matriciel (50°C environ) ;
- et une phase de polymérisation des acides nucléiques (70°C environ).

Le produit de la polymérisation est révélé par électrophorèse de l'ADN sur gel d'agarose à l'aide du bromure d'éthidium afin de visualiser l'ADN en lumière ultraviolette.

La PCR appliquée au diagnostic de la trypanosomose animale africaine, permet de révéler la présence du parasite et indique une infection active. En effet, après la mort du parasite, la persistance d'ADN libre dans la circulation de l'hôte est assez brève de l'ordre de 24 à 48 h [22]. Notons que la PCR peut être utilisée indifféremment chez l'hôte ou le vecteur. Elle permet théoriquement de détecter une seule molécule d'ADN. C'est donc une technique très sensible, mais aussi très fragile puisqu'une seule molécule contaminant un échantillon peut le rendre faussement positif. La sensibilité de la PCR est donc à la fois sa force et sa faiblesse. Outre donc cette limite de sensibilité pour la détection des infections, soulignons la haute technicité requise et le coût de la PCR.

Le diagnostic rapide et efficace de toute maladie délabrante comme la trypanosomose animale africaine est donc de la plus haute importance. En effet, plus le traitement et d'autres mesures de lutte pourront être appliquées tôt, plus les chances de succès seront grandes.

CHAPITRE III : METHODES DE LUTTE CONTRE LA TRYPANOSOMOSE ANIMALE AFRICAINE

3.1. Méthodes modernes

La lutte contre la trypanosomose animale africaine a toujours été axée sur la lutte anti-vectorielle et la chimiothérapie et / ou la chimioprophylaxie. A ces deux approches, s'ajoute l'élevage du bétail trypanotolérant.

3.1.1. Elevage du bétail trypanotolérant

La trypanotolérance est définie comme la capacité relative d'un animal à contrôler le développement des parasites et à limiter leurs effets pathologiques, l'effet prédominant étant l'anémie [24]. Les races bovines trypanotolérantes de l'Ouest africain sont des taurins (*Bos taurus*). Elles se répartissent en deux grands groupes [20] :

- ❖ le groupe "longues cornes" représenté par la race Ndama qu'on rencontre au Mali, au Nord de la Côte d'Ivoire, en Guinée, en Gambie, en Sierra Leone, au Libéria, en Guinée Bissau et au Sud Sénégal ;

- ❖ le groupe "courtes cornes" (taurins à courtes cornes de savane et taurins à courtes cornes nains) se rencontre en Côte d'Ivoire, au Togo, au Bénin, au Nord Cameroun, au Ghana et au Nigeria. Ici on a les races Baoulé, Sumba, Muturu des savanes, Lagune.

A ces deux grands groupes, il faut ajouter leurs produits de croisement avec les zébus comme les races Djakoré, Borgou, Keteku, etc. qui sont aussi trypanotolérantes. Le développement et la propagation des races trypanotolérantes représentent certainement aujourd'hui un des meilleurs moyens de lutte contre la trypanosomose animale africaine. Contrairement à ce qui a été soutenu dans le passé, ces races n'ont pas obligatoirement un rendement économique particulièrement faible [28]. Malheureusement, la

dissémination à grande échelle des races trypanotolérantes pose problème à cause d'abord du manque d'enthousiasme des éleveurs à adopter des bovins de petit format. Ensuite, il faut ajouter les difficultés techniques à mettre en œuvre des programmes cohérents de sélection. Enfin, le risque d'introduction des maladies contagieuses (PPCB, Peste bovine, etc.).

3.1.2. Lutte anti-vectorielle

La lutte contre les vecteurs de la trypanosomose animale africaine est essentiellement dirigée contre les glossines, qui en constituent les principaux agents de transmission [37].

On distingue la lutte biologique et la lutte chimique.

3.1.2.1. La lutte biologique

Elle englobe les approches telles que la lutte génétique, l'utilisation des ennemis naturels des glossines (parasitoïdes, prédateurs, bactéries et champignons), l'éclaircissement forestier et la destruction du gros gibier [41].

L'éclaircissement forestier a été abandonné depuis des décennies du fait principalement de son impact écologique désastreux. Il en est de même de la destruction du gros gibier qui fut abandonnée à cause de son inefficacité, des difficultés logistiques et de ses effets néfastes sur l'environnement.

La lutte biologique par l'utilisation des ennemis naturels des glossines est une alternative pour sauvegarder l'environnement des effets nocifs que peuvent engendrer les autres méthodes. Pour qu'elle soit efficace, les organismes ennemis et les insectes cibles ne doivent pas appartenir à la même aire géographique ou écologique [41]. Ici également les résultats des différents essais effectués n'ont pas été encourageants.

Le lâcher de mâles stériles est une méthode génétique visant à empêcher la reproduction des glossines femelles sauvages après accouplement avec des mâles d'élevage rendus préalablement stériles par irradiation aux rayons gamma. C'est une technique très spécifique, non polluante et ne présentant aucun danger pour les autres espèces animales. La technique du mâle stérile est indiquée pour compléter d'autres méthodes notamment après une diminution drastique des populations de glossines. Elle a donné de très bons résultats au Burkina Faso contre *Glossina palpalis gambiensis* avec une éradication totale de cette espèce en 16-24 mois de lutte dans la zone pastorale de Sédougou [51]. C'est cependant une méthode très onéreuse. Par exemple au Nigeria il a fallu 3 millions de dollars américains pour assainir 1500km² [28].

3.1.2.2. La lutte par les méthodes chimiques

Ces méthodes sont fondées sur l'utilisation des produits insecticides par pulvérisation au sol, par épandage aérien, par imprégnation de pièges / écrans ou finalement par application en pour-on sur la ligne du dos des animaux hôtes (effet knock-down).

Pour la pulvérisation au sol, les insecticides les plus utilisés notamment au Nigeria, au Sénégal et au Tchad ont été le DDT et le Dieldrin[®] [9]. Ce sont deux organochlorés dangereux à cause de leur pouvoir résiduel élevé et de leur stabilité entraînant à la longue une pollution de l'environnement.

En ce qui concerne l'épandage aérien, on utilise couramment l'Endosulfan[®] (un organochloré) et la Deltaméthrine[®] (un pyréthrianoïde), insecticides moins rémanents que ceux utilisés dans la pulvérisation terrestre. D'autres insecticides biodégradables (Perméthrine[®], Deltaméthrine[®]) ont été expérimentées par l'OMS au Burkina Faso et en Côte d'Ivoire.

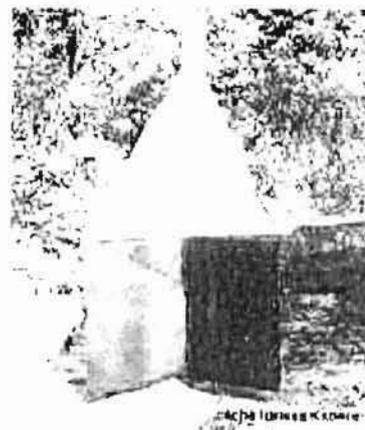
Actuellement, l'utilisation des pièges et écrans imprégnés d'insecticides constitue, au sol, le meilleur moyen de lutte anti-vectorielle en termes de simplicité, de coût, d'impact écologique et environnemental (**Figure 4**). Elle consiste à l'application d'insecticides rémanents (comme la Deltaméthrine[®] à raison de 100-200 mg/m²) sur des écrans/pièges qui attirent les glossines par leur couleur et parfois leur odeur (attractifs olfactifs) et les éliminent par contact.



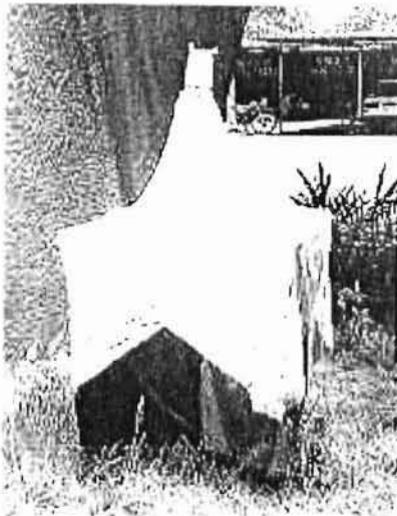
piège biconique



piège monoconique



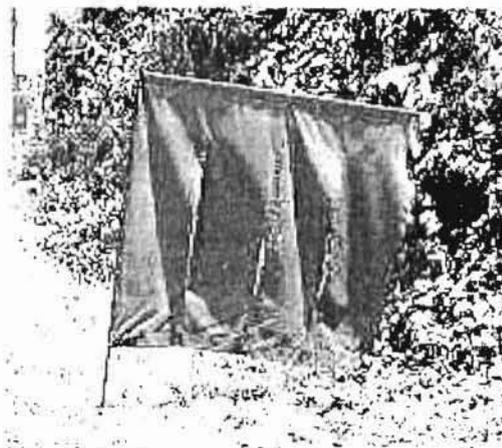
piège pyramidal



écran piège



piège N'Zi



écran bleu imprégné d'insecticide

Figure 4 : Pièges et écrans pour la lutte contre les glossines (clichés M. Desquesnes)

Source : CIRDES [15]

3.1.3. Chimiothérapie et chimioprophylaxie

A défaut d'une méthode de protection faisant intervenir des phénomènes immunitaires de l'hôte et compte tenu du coût élevé des opérations de lutte anti-vectorielle, la lutte contre la trypanosomose animale africaine repose en grande partie sur l'emploi des produits trypanocides. On estime en effet que 40 millions environ de doses de trypanocides sont administrées chaque année [48]. Certains sont curatifs (acéturate de diminazène) tandis que d'autres sont préventifs (chlorure d'isométymidium, chlorure ou bromure d'homidium).

3.1.3.1. Chimiothérapie

Depuis les travaux d'Elrich (1854-1915) à qui l'on doit les premiers trypanocides jusqu'à nos jours, plusieurs composés ont été utilisés pour lutter contre les trypanosomoses animales. Quelques uns restent encore utilisables. Ils appartiennent à différentes familles.

3.1.3.1.1. Dérivés de diamines

On y rencontre de nombreux produits sur le marché : Bérenil[®], Vériben[®], Trypazène[®], Trypan[®], Ganaseg[®], etc. Ils sont à base d'acéturate de diminazène. Ce dernier se présente sous forme de poudre jaune facilement soluble dans l'eau au taux de 7%. il a des propriétés curatives remarquables. Dans beaucoup de pays africains, son usage est fréquent puisqu'il permet en plus de traiter contre les babésioses aux doses de 3,5 à 7 mg / Kg. Son délai d'attente lait et viande serait de 21 jours.

3.1.3.1.2. Dérivés de phénanthridine

On y rencontre :

– Le Chlorure d'isométymidium

En Afrique francophone, le chlorhydrate de chlorure d'isométymidium est connu sous le nom de Trypamidium[®], et de Samorin[®] dans les pays anglophones.

C'est une poudre rouge facilement soluble dans l'eau. On l'utilise en solution aqueuse à 1 à 2%, à des doses comprises entre 0,25 et 1 mg/Kg. L'isoméamidium a une activité curative. Son effet prophylactique est également significativement élevé si le produit est administré en implant sous-cutané [25]. Le délai d'attente pour le lait est nul.

– L'Homidium

Dérivés voisins de l'isoméamidium, le chlorure d'homidium commercialisé sous le nom de Novidium[®] et le bromure d'homidium, d'Ethidium[®] ont un bon effet curatif et un bon effet prophylactique de 1 à 3 mois selon les auteurs. L'Ethidium[®] se présente sous la forme de comprimés solubles dans l'eau chaude et le Novidium[®] dans l'eau froide. Ces produits sont encore largement employés en Afrique.

3.1.3.1.3. Dérivés de l'urée

La suramine (Naganol[®]) se présente sous la forme de poudre blanche soluble dans l'eau froide. Il est administré par voie intraveineuse (iv) à raison de 7 à 10mg/Kg de la solution de 10%. Deux à trois traitements à intervalle d'une semaine permettent souvent de guérir les animaux. Le médicament administré en une seule fois à la dose indiquée, peut aussi protéger les animaux pendant 1 à 3 mois.

3.1.3.1.4. Dérivés de l'arsenic

La mélarsamine (Cymelarsan[®] ou Mel Cy[®]), seul arsenical utilisé en médecine vétérinaire, semble très prometteur dans le traitement du Surra chez les camélidés en particulier, mais probablement aussi chez les équidés et les bovidés. Son action est rapide ; il n'a qu'une action curative et la guérison est obtenue après un seul traitement [23].

3.1.3.1.5. Dérivés de quinoléine

Deux sels de quinapyrimidine sont utilisés : le méthylsulfate (Antrycide[®] ou Trypacide[®] sulfates) et le mélange de sulfate et chlorure (Antrycide[®] ou Trypacide[®] prosalt). Le méthylsulfate est assez soluble dans l'eau et forme une solution laiteuse. Il est utilisé à titre curatif en sous-cutané, à la dose de 5mg/Kg chez les bovins et les petits ruminants infectés par *T.vivax*, *T.congolense* et *T.brucei*. On l'emploie également à la dose de 3mg/Kg chez le dromadaire dans le traitement des infections à *T.evansi* et, chez le cheval pour traiter les infections à *T.brucei* et *T.equiperdum*. Le mélange de sulfate et de chlorure, le prosalt de quinapyrimidine, a une activité préventive. La voie intraveineuse est ici contre-indiquée.

3.1.3.2. Chimio prophylaxie

En raison des risques d'apparition de souches de trypanosomes chimiorésistantes, il convient de pratiquer les traitements prophylactiques avec la plus grande prudence. On devrait, en fait, employer les médicaments préventifs que lorsqu'on a l'assurance que le rythme de traitement et les conditions d'emploi seront respectés.

– Chez les bovins

Chez le bétail zébu transhumant, le traitement doit être effectué au moment des grands départs avec l'isoméamidium (0,5 à 1 mg/kg). Il est indispensable, au retour de la transhumance de traiter à nouveau les animaux avec le diminazène afin de supprimer le risque de chimiorésistance. Les injections doivent se faire sur des animaux bien reposés et bien abreuvés. En raison des risques de toxicité hépatique, on ne doit pas répéter les traitements à des intervalles inférieurs à 1 mois. Dans les régions où le risque est élevé, on assurera la protection toute l'année, tous les 4 mois, à l'isoméamidium. Pour éviter toute possibilité d'apparition de souches de trypanosomes résistants, il sera prudent au moins une fois par an de traiter avec le diminazène en sous-cutané. Si le

risque d'infection est faible, le nombre de traitement à l'isométagidum pourrait être réduit et limité à la période de haut risque qui correspond à la saison des pluies et au début de la saison sèche suivante.

Chez le bétail de boucherie, l'isométagidum, à la dose de 0,25 à 0,50 mg/kg par voie intraveineuse, permet d'obtenir une protection de 2 mois, suffisante pour couvrir la durée du trajet.

Quant aux taurins trypanotolérants élevés dans leur pays d'origine, on se contentera de traiter au diminazène les bovins présentant des signes de maladie. Une bonne alimentation est dans tous les cas indispensable.

En revanche, pour les taurins (Ndama, Baoulé, etc.) nouvellement importés dans d'autres régions à forte incidence trypanosomienne, le protocole de chimioprévention suivant peut être conseillé :

- à l'arrivée, injection intramusculaire de diminazène (3,5mg/kg) suivie, une semaine plus tard, d'une injection intramusculaire d'isométagidum (0,5mg/kg) ;
- ce régime est ensuite renouvelé deux fois par an, en fin de saison des pluies et en fin de saison sèche ;
- les veaux reçoivent, entre la deuxième et la troisième semaine suivant leur naissance, une injection de diminazène.

3.1.3.3. Choix d'une médication

- Choix d'une médication curative (**Tableau I**)
- Choix d'une médication préventive (**Tableau II**)

– Les produits sanatifs

La notion de produits sanatifs a été introduite en 1960 par WHITESIDE [65] dans le cadre de la chimiorésistance. En effet est dit sanatif, un produit trypanocide qui vainc la résistance induite par un autre trypanocide. Ce sont le diminazène, l'isométymidium et l'homidium (Ethidium^{*}). Pour l'utilisation des paires sanatives de médicament, on propose habituellement l'Ethidium^{*} ou l'isométymidium chaque 3 mois pendant 1 an, puis le diminazène chaque 2 mois pendant 1 an et ainsi de suite.

Cette notion n'est cependant plus valable à cause de nombreux cas de résistance multiple décelés par des expériences aussi bien en laboratoire que sur le terrain [18 ; 19].

Tableau I : Emploi des médicaments trypanocuratifs.

Nom	Solution aqueuse	Injection (1)	Dose de produit actif	Volume de solution à injecter	Indications	Espèces animales
suramine	10 % eau stérile	IM ou IV	3 à 4 g/ dromadaire	30 à 40mL/ animal	T. evansi	camélidés
			7 à 10 mg/ kg (cheval)	7 à 10mL/100kg	T. evansi, T. brucei	équidés canidés
mélarsamine	0,5 % eau stérile	SC ou IM	0,25 mg/kg	5mL/100kg	T. evansi	camélidés
					T. brucei, T. equiperdum	équidés
bromure d'homidium	1 ou 2,5% eau à température ambiante	IM profonde	1mg/kg	10mL/100kg (1%) 4 mL/100kg (2,5%)	T. vivax, T. congolense	bovins petits ruminants équidés
isoméamidium	1 % eau stérile	IM profonde ou IV stricte	0,25 à 0,50mg/kg	2,5 à 5 mL/ 100 kg	T. vivax, T. congolense	bovins petits ruminants
			0,25 à 2mg/kg	2,5 à 20mL/ 100 kg	T. vivax, T. congolense, T. brucei	équidés
			0,50 à 1mg/kg	5 à 10mL/ 100 kg	T. congolense, T. brucei, T. evansi	canidés camélidés buffles
diminazène	7 % eau stérile	SC ou IM	3.5 mg/kg	5,8 mL/ 100 kg	T. congolense, T. vivax, T. evansi	bovins petits ruminants camélidés
			7 mg/kg	11,5 mL/ 100 kg	T. brucei	équidés
quinapyramine (méthylsulfate)	10 % eau stérile	SC	5 mg/kg	5 mL/100kg	T. vivax T. brucei, T. simiae	bovins petits ruminants canidés camélidés
			3 mg/kg	3 mL/100kg	T. evansi, T. equiperdum T. congolense	camélidés équidés bovins

Tableau II : Emploi des médicaments trypanopréventifs.

Nom	Solution aqueuse	Injection	Dose de produit actif	Volume de solution à injecter	Indication	Durée de protection	Espèces animales
iso-métamidium	1 à 2 % eau froide	IM profonde	0,5 à 1mg/kg	5 à 10 mL/ 100kg	T.vivax T.congolense T.brucei	2 à 4mois	bovins. petits ruminants équidés canidés
		IM ou IV	0,5 à 0,75mg/kg	5 à 7,5 mL/ 100 kg		2 mois	bétail de boucherie
pyrithidium (2)	2 % eau bouillante	IM profonde	2 mg/kg	10 mL/ 100kg	T.vivax T.congolense	2 à 4 mois	bovins petits ruminants canidés
quina-pyramine (prosalt)	2,5g / 15mL eau froide	SC	5 mg/kg de sulfate	5 mL/ 100 kg	T.brucei T.evansi	2 mois	équidés camélidés
bromure d'homidium	2,5 % eau tiède	IM	1 mg/kg	4 mL/ 100 kg	T.vivax T.congolense	1 mois	bétail de boucherie
suramine-quinapyramine (complexe)	5 % eau froide	SC	40mg/kg de quina-pyramine	4mL/5kg	T.simiae	3 mois (porc-elets) 6 mois (adultes)	porcins

(1) IM = intramusculaire ; IV = intraveineuse ; SC = sous-cutanée.

(2) N'est plus fabriqué

Sources (Tableaux I et II) : CHARTIER et coll. [13]

3.1.3.4. Chimiorésistance

La chimiorésistance peut être définie comme la perte par une souche d'un organisme de la sensibilité à un produit auquel elle était préalablement susceptible [24].

L'apparition de la chimiorésistance tient à une cause essentielle : la concentration du médicament est (ou devenue) très faible chez l'animal traité. Une telle situation peut avoir diverses causes parmi lesquelles on cite un intervalle de temps trop long entre deux traitements consécutifs, ou encore l'utilisation abusive et incontrôlée des médicaments.

Les trypanosomes peuvent aussi se localiser dans des refuges extravasculaires (chambre de l'œil, cerveau, etc.) dont l'accès est difficile pour les trypanocides. Cette résistance est dite comportementale.

Par ailleurs, les trypanosomes résistants à un produit peuvent l'être également envers d'autres. Cette résistance croisée se produit le plus souvent entre médicaments ayant la même parenté chimique mais elle peut survenir également avec des produits chimiquement différents. C'est ainsi que des résistances croisées au diminazène et à l'isométymidium ont été signalées avec *T. congolense* au Burkina Faso [6]. Quand les médicaments ne sont pas de structure et d'activité semblables, on parle en général de résistance multiple. La résistance vis-à-vis des trois principales molécules (diminazène, isométymidium et homidium) a été rapportée à travers 13 pays africains [49 ; 31].

La chimiorésistance est donc un problème important. En pratique, on doit soupçonner la présence de trypanosomes résistants dès lors qu'un traitement qui avait donné satisfaction, devient dans les mêmes conditions d'emploi inefficace. Dans ce cas, il faut changer de produit et utiliser un autre trypanocide connu pour son activité sur les trypanosomes résistants à ce produit.

Ainsi la plupart des souches résistantes au diminazène restent sensibles à l'isométymidium et à la mélarsamine.

On remarque donc que, que ce soit la lutte anti-vectorielle et le développement du bétail trypanotolérant, ou que ce soit la chimiothérapie et/ou la chimioprophylaxie, les différentes méthodes de lutte contre la trypanosomose animale africaine ont montré leur limite. Or, cette pathologie reste toujours de nos jours un des grands fléaux qui constitue un frein au développement de l'élevage du bétail et à l'autosuffisance en protéines animales du continent. Face à une telle problématique, de plus en plus de chercheurs opèrent un retour vers la pharmacopée traditionnelle vétérinaire africaine.

3.2. Méthodes traditionnelles

Partout dans le monde, l'intérêt pour la médecine traditionnelle s'accroît constamment. En Afrique, la pratique de la médecine traditionnelle nécessite des améliorations considérables, quand on la compare avec la situation en Chine ou en Inde. Ce fait, s'ajoutant à la dette grandissante des nations africaines et à l'augmentation du coût des soins de santé modernes, rend le rôle des soins de santé traditionnels de plus en plus importants pour les 80% de la population africaine vivant dans les régions rurales [55]. Ces habitants, pour se soigner et soigner leur bétail, se tournent maintenant vers la nature.

3.2.1. Etat des connaissances actuelles

Dans la pratique de la médecine vétérinaire en milieu traditionnel, l'emploi des plantes est fréquent. Malheureusement, celles-ci ont fait l'objet de peu de travaux scientifiques. Pourtant on doit constater que l'état sanitaire des animaux est dans de nombreuses zones rurales satisfaisant. Les éleveurs, financièrement démunis, ont recours aux végétaux de leur environnement pour soigner leurs animaux et ils sont convaincus de l'efficacité de ces soins.

Selon AKE-ASSI [1], pour le traitement de la trypanosomose *Terminalia avicennioides*, *Khaya senegalensis* et *Boscia senegalensis* sont les plantes les plus utilisées dans plusieurs pays de la région ouest africaine (Burkina-Faso,

Côte-d'Ivoire, Ghana, Bénin, Nigeria, Niger, Mali, Guinée). Les feuilles, les racines et les écorces de tiges sont les parties les plus utilisées. Une macération à base de feuilles de *Boscia senegalensis* pilées avec du tabac et mélangées à de l'urine de brebis pendant une nuit est administrée à l'animal par voie nasale contre la trypanosomose. L'extrait aqueux des écorces de tiges de *Khaya senegalensis* pilés avec du sel gemme est utilisé par voie orale pour traiter la trypanosomose chez les bovins.

BA [7] indique l'utilisation par voie orale de la macération de poudre de feuilles séchées ou d'écorces séchées de *Terminalia avicennioides* Guill. et Perr. pour la prévention des trypanosomoses animales africaines. Il s'agirait d'une prémunition efficace entretenue par l'administration périodique de la préparation.

Au Nigeria, les feuilles et les racines de *Khaya senegalensis* sont utilisées pour le traitement des helminthiases gastro-intestinales des veaux. Une boisson à base d'écorces de tiges de *Terminalia avicennioides* bouillies dans l'eau avec du fromage local et de l'huile de palme est donné aux animaux atteints de trypanosomose [4].

Une enquête effectuée dans l'Etat de Kaduna, au Nigeria, pour établir le système de connaissance du traitement de la trypanosomose chez les animaux domestiques, a révélée que *Adansonia digitata*, *Terminalia avicennioides*, *Khaya senegalensis*, *Cissus populnea*, *Tamarindus indica*, *Lawsonia inermis*, *Boswellia dalzielli*, *Pseudocedrela kotschi*, *Syzygium quinensis*, *Sterculia setigera*, *Azalia africana*, *Lancea kerstingii* sont les plantes les plus communément utilisées contre la trypanosomose. Pour 128 répondants, plus de 20 préparations locales impliquant les différentes plantes citées sont identifiées pour traiter la trypanosomose dans l'Etat de Kaduna [4].

Parmi cette gamme de plantes médicinales, quatre ont fait l'objet de nos investigations. Il s'agit de *Cassia sieberiana*, *Khaya senegalensis*, *Terminalia*

avicennioides et de *Boscia senegalensis*, dont nous proposons de présenter quelques caractéristiques.

3.2.2. Caractéristiques des plantes utilisées dans nos essais

3.2.2.1. *Cassia sieberiana* DC. (Annexe 1)

Cassia sieberiana appartient à la famille des *Caesalpiniaceae*.

Synonyme : *Cassia kotschyana* Oliv. (1971).

Nom usuel : Sindian

Noms vernaculaires : Malga (Hausa) ; Sisangahi (Peuhl) ; Singian (Bambara) ; Kumbrisaaka, Yamakasinga, Balepsaodo (Mooré) ; Lamaré (Bobo) et Tiintuo (Dagara).

Etude botanique :

Petit arbre de 8 à 10 m de haut, à fût court et contourné. Cime étalée à branches retombantes. Port remarquable lorsqu'il est en fleur avec de très longs racèmes terminaux pendants de belles fleurs jaune d'or de février à mai. Ecorce crevassée, lamelleuse noirâtre à tranche jaunâtre, ocre [3]. *Cassia sieberiana* a des feuilles composées pennées comportant 5 – 8 paires de folioles ; folioles elliptiques, à apex subaigu ou émarginé, de 5 – 10 cm de longueur, de 2,5 – 5 cm de largeur. Les fruits sont des gousses cylindriques ligneuses de 40 à 60 cm de longueur et jusqu'à 2 cm de diamètre. Ils sont de couleur brun foncée ou noirâtre à maturité, indéhiscents, et s'ouvrent par deux fentes, avec des cloisons transversales entre les graines [43]. Fruits mûrs de décembre à février, longtemps persistants sur les arbres.

Répartition géographique :

Cassia sieberiana est une espèce commune dans les savanes soudano-guinéennes et soudano-sahéliennes dans toute l'Afrique intertropicale. Localement grégaire, l'arbre pousse sur tous types de sol.

Données chimiques :

L'existence d'oxalate de calcium, de mucilages, de stérols, de tanins, d'antraquinones a été signalée par VIGNOLI et BALANSARD [39].

Utilisations :

En médecine vétérinaire traditionnelle africaine, l'écorce de tige de la plante est utilisée pour traiter la peste aviaire des pintades.

En médecine humaine traditionnelle africaine, la macération pendant 3 jours des racines hachées additionnée de miel fournit une boisson contre la bilharziose. Selon AKE-ASSI [1], la macération ou la décoction des rameaux feuillés de la plante, en bains ou en boissons, sont spécialement réservées à la médecine infantile, en tant que dépuratif, fébrifuge, antianémique et antikwashiorkor. La décoction de la tige feuillée est aussi diurétique, fortifiante, vermifuge et astringente.

Sorcellerie : les graines enfouies dans le sol d'une case rendent volages les femmes qui y habitent [5].

3.2.2.2. *Khaya senegalensis* (Desr.) A. Juss. (Annexe 2)

Khaya senegalensis appartient à la famille des *Meliaceae*.

Synonyme : *Swietenia senegalensis* Desr. (1971).

Noms usuels : Acajou du Sénégal ; Caïlcédrat, Quinquina du Sénégal.

Noms vernaculaires : Farrey (Zarma) ; Kail (Peuhl) ; Mad'âtchi (Hausa) ; Zounza (Fon) ; Jala (Bambara).

Etude botanique : [1]

Grand arbre, de 25-35m de haut, à fut généralement court et trapu, mais pouvant atteindre 10m de haut et 2m de diamètre, parfois avec un faible

empatement à la base, à cime arrondie et dense, avec les feuilles disposées au bout des rameaux. Feuilles imparipennées ; folioles de 3 – 7 paires, oblongues ou elliptiques, de 6 – 12 cm de longueur et de 2 – 5 cm de largeur, arrondies ou courtement acuminées au sommet, glabres ; nervures latérales, de 8 – 16 paires. Les fleurs sont blanchâtres, généralement tétramères. Fruits capsulaires, déhiscents, à 4 ou 5 valves, de 5 – 10 cm de diamètre, gris clair à maturité. Graines orbiculaires, ailées. La floraison a lieu en première partie de saison sèche.

Répartition géographique :

Khaya senegalensis est une espèce des savanes soudaniennes à guinéennes et sahéliennes, depuis le Sénégal jusqu'à l'Ouganda. Préfère les sols profonds et bien drainés, mais s'adapte aussi aux sols superficiels et latéritiques.

Données chimiques :

L'écorce contient un certain nombre de principes amers triterpénoïdes qui ont été isolés par plusieurs équipes. Des coumarines ont été également isolées. Des extraits aqueux de la plante donnés à des rats ont entraîné une action fébrifuge [57]. De même, des extraits hydroalcooliques entraînent une dépression et une diminution de l'activité motrice [52].

Utilisations : [1]

En médecine vétérinaire traditionnelle, pour traiter la trypanosomose chez les bovins on recommande de leur faire absorber l'extrait des écorces de tige de la plante pilée avec du sel gemme et de l'eau. Pour combattre les affections fébriles chez les bovins, on recommande de leur donner à boire la décoction des écorces de tige du Caïlcédrat. Contre les mêmes affections, on conseille d'incorporer dans les aliments de ces animaux de la poudre des écorces séchées de *Khaya senegalensis*. Contre les parasites intestinaux des bovins, caprins et ovins, on recommande de donner, en boisson, aux animaux la décoction aqueuse des écorces de tige du Caïlcédrat. Incorporer dans ces

breuvages, de l'oignon et du piment. Pour traiter la constipation des bovins, les éleveurs utilisent le filtrat salé de l'écorce de tige de *Khaya senegalensis*.

En médecine humaine traditionnelle africaine, la décoction des racines du Caillédrot est utilisée pour traiter les dermatoses et les inflammations des gencives. Les racines seraient recommandées pour traiter la stérilité et la syphilis. La décoction des rameaux feuillés ou des racines est utilisée, en boisson et en bain pour traiter l'ictère.

3.2.2.3. *Terminalia avicennioides* Guill. et Perr. (Annexe 3)

Terminalia avicennioides appartient à la famille des *Combretaceae*.

Synonyme : *Terminalia lecardii* Engl. et Diels, *Terminalia dictyonema* Diels.

Noms vernaculaires : Bawshi (Hausa) ; Farka hanga (Zarma) ; Bôde (Peuhl) ; Tâbêtênêt (Tamacheck) ; Kumâda (Béribéri) ; Wolo (Bambara).

Etude botanique : [1]

Arbuste ou petit arbre de 3 à 10 m de hauteur, à fut court et bas branchu. L'écorce est profondément crevassée, gris foncé à noire, épaisse, à tranche jaunâtre, brunissant rapidement. Feuilles alternes, elliptiques ou oblongues elliptiques, verdâtres au-dessus, blanchâtres en-dessous. Nervures et nervilles très saillantes dessous et recouvertes de poils tomenteux blancs. Inflorescences en racèmes spiciformes isolés, axillaires. Fruit ailé, velouté, à noyau saillant et anguleux. La graine est en fuseau. La floraison a lieu en seconde partie de saison sèche, juste après l'apparition des premières feuilles.

Répartition géographique :

Espèce de savane soudanienne répandue du Sénégal à l'Ethiopie, à distribution irrégulière.

Utilisations : [3]

En médecine traditionnelle vétérinaire africaine, les feuilles et les racines sont utilisées au Nigeria pour le traitement des helminthiases gastro-intestinales des veaux.

En médecine humaine traditionnelle, les racines sous forme de décocté sont utilisées dans le traitement de l'ascite et des états œdémateux. La poudre de racines formulée avec du beurre de karité sert d'emplâtre appliqué sur les fractures. Les écorces de racines sont utilisées dans le traitement des ulcères phagédéniques et des plaies torpides. Les feuilles sont utilisées pour le traitement de l'épilepsie par voie orale et en application sur les fractures.

3.2.2.4. *Boscia senegalensis* (Pers.) Lam. ex Poir. (Annexe 4)

Boscia senegalensis appartient à la famille des *Capparidaceae*.

Synonyme : *Podoria senegalensis* Pers. (1806).

Nom usuel : Boscia du Sénégal.

Noms vernaculaires : Gisilé (Peuhl) ; Bélé (Bambara) ; Na bédèga (Mossi).

Etude botanique : [43]

Arbuste de 3 à 4 m de hauteur. Feuilles coriaces, ovales-elliptiques, glabres au-dessus, mais finement pubescentes sur la face inférieure. Inflorescence en panicule terminale, corymbiforme, large de 5 à 8 cm. Le fruit est une baie sphérique de 1,5 cm de diamètre, jaune à maturité, à pulpe visqueuse.

Répartition géographique :

La plante se rencontre dans les régions semi-arides de la Mauritanie et du Sénégal jusqu'en Ethiopie. Elle est assez commune, localement abondante et grégaire. *Boscia senegalensis* pousse sur stations sèches, sols rocheux, latéritiques, sableux et sur sols compacts sablo-argileux.

Données chimiques :

Des analyses effectuées sur des rameaux feuillés révèlent la présence de bases azotées (stachydrine, choline), des stérols (campestérol, stigmastérol), d'alcools aliphatiques, d'hydrocarbures et quatre hétérosides soufrés non identifiés [39].

Utilisations : [3]

En médecine traditionnelle vétérinaire, le fruit est un purgatif pour les chameaux. Lorsqu'un chameau est atteint de trypanosomiase, on pile les feuilles de *Boscia senegalensis* avec du tabac ; l'ensemble additionné d'urine de brebis, est laissé macérer pendant une nuit. Le liquide est ensuite administré à l'animal par voie nasale. L'inhalation des feuilles moulues constitue un décongestionnant pour les chevaux. Le broyat des feuilles est utilisé comme insectifuge et insecticide en application sur les plaies des animaux contre les mouches. Contre la fièvre durant les périodes chaudes de l'année, on fait boire aux chameaux l'extrait des feuilles fraîches de *Boscia senegalensis* pilées avec du sel et de l'eau. La décoction des feuilles pilées de la plante, mélangée à de l'eau et du lait de vache entraîne chez le chameau congestionné une diarrhée sanguinolente qui le retablira.

Les usages en médecine humaine traditionnelle africaine sont aussi multiples. Par exemple, les feuilles de *Boscia senegalensis* sont utilisées contre les névralgies. Les racines constituent un vermifuge ; elles entrent aussi dans une préparation utilisée contre l'impuissance sexuelle masculine. La poudre des feuilles sous forme de décocté est employée en instillations contre le prurit oculaire.

3.2.2.5. Propriétés phytochimiques et toxicologiques

Les études phytochimiques et toxicologiques des extraits aqueux de *Cassia sieberiana*, *Khaya senegalensis*, *Terminalia avicennioides* et *Boscia senegalensis* ont été réalisées par l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé (I.R.S.S) de Ouagadougou.

3.2.2.5.1. Propriétés phytochimiques

La caractérisation phytochimique a été effectuée dans le but de déterminer une relation entre les constituants chimiques et l'activité des extraits (macérés et décoctés aqueux) sur la TAA.

Ce criblage phytochimique est réalisé par l'analyse qualitative et complété par la chromatographie sur couche mince (CCM).

L'analyse qualitative a été faite selon la méthode classique de CIULEI sur les extraits aqueux de *Cassia sieberiana*, *Khaya senegalensis*, *Terminalia avicennioides* et *Boscia senegalensis* [16]. Ainsi elle a permis de mettre en évidence différents groupes chimiques (**Tableau III**).

La CCM quant-à elle, a permis d'identifier les composés généralement responsables d'activité antiparasitaire notamment antitrypanosomose. Il s'agit notamment des stérols et triterpènes, des glycosides stéroïdiques, des saponosides, des coumarines.

Tableau III : Groupes chimiques mis en évidence dans les extraits aqueux de la poudre de racines des plantes étudiées.

Groupes chimiques	<i>Cassia sieberiana</i>	<i>Khaya senegalensis</i>	<i>Terminalia avicennioides</i>	<i>Boscia senegalensis</i>
Anthracénosides	++	++	+	-
Saponosides	-	++	+++	++
Coumarines	-	-	+	-
Glycosides stéroïdiques ou cardiotoniques	++	++	+++	++
Polyphénols	++	++	+++	++
Tanins*	++	++	+++	++
Composés réducteurs	+++	+++	+++	-

+++ = teneur fortement élevée

++ = teneur très élevée

+ = teneur moyennement élevée

- = aucune présence

* = activité anti-parasitaire potentielle

3.2.2.5.2. Propriétés toxicologiques

L'étude de la toxicité générale aiguë des macérés et décoctés aqueux de *Cassia sieberiana*, *Khaya senegalensis*, *Terminalia avicennioides* et *Boscia senegalensis* chez les souris NMRI a été faite selon la méthode consacrée. TREVAN [62], et ses différentes améliorations successives. Elle a permis de déterminer les doses létales des extraits aqueux des plantes étudiées (**Tableaux IV et V**).

Selon l'échelle de toxicité des substances chimiques établies par HODGE et STERNER [35], on constate que les macérés aqueux de *Cassia sieberiana*, *Khaya senegalensis*, *Terminalia avicennioides* sont moyennement toxiques ($50\text{mg/kg} < \text{DL}_{50} < 500\text{ mg/kg}$) tandis que *Boscia senegalensis* est faiblement toxique ($0,5\text{g/kg} < \text{DL}_{50} < 5\text{g/kg}$). *Boscia senegalensis*, avec une DL_{95} élevée (en valeurs absolues) est aisément maniable (sécurité de travail) par rapport aux autres mais a une DL_0 assez élevée ; raison pour laquelle *Cassia sieberiana* lui est préféré. En valeurs relatives ($\text{DL}_{95}/\text{DL}_5$), *Khaya senegalensis* est plus maniable que les autres.

Les deux extraits aqueux de *Boscia senegalensis* présentent le même profil toxicologique (constantes toxicologiques identiques). Comme pour les macérés, le décocté aqueux de *Cassia sieberiana* présente une DL_0 faible, une DL_{50} moyennement toxique et une DL_{95} élevée. Dans l'ensemble, les décoctés aqueux présentent une DL_{50} inférieure à celle des macérés aqueux.

C'est sur la base de ces acquis (propriétés phytochimiques et toxicologiques), que notre étude s'est orientée vers la recherche des effets pharmacologiques, en particulier trypanocides, des macérés et décoctés aqueux de *Cassia sieberiana*, *Khaya senegalensis*, *Terminalia avicennioides* et *Boscia senegalensis*.

Tableau IV : Doses létales (mg/kg) et constantes toxicologiques comparées des lyophilisats des macérés aqueux des quatre plantes (poudre neuve).

Plante	DL0	DL5	DL50	DL95	DL95/DL5	DL50/DL5
<i>Cassia sieberiana</i>	120	154	331	711	4,61	2,15
<i>Khaya senegalensis</i>	25	39	129	428	11,10	3,33
<i>Terminalia avicennioides</i>	25	48	139	399	8,27	2,88
<i>Boscia senegalensis</i>	250	359	921	2366	6,60	2,57

Tableau V : Doses létales (mg/kg) et constantes toxicologiques comparées des lyophilisats des décoctés aqueux des quatre plantes (poudre neuve).

plante	DL0	DL5	DL50	DL95	DL95/DL5	DL50/DL5
<i>Cassia sieberiana</i>	50	76	243	773	10,15	3,18
<i>Khaya senegalensis</i>	20	31	100	325	10,46	3,23
<i>Terminalia avicennioides</i>	20	31	100	325	10,46	3,23
<i>Boscia senegalensis</i>	250	359	921	2366	6,60	2,57

En conclusion, la TAA, maladie hautement préjudiciable à l'économie de l'élevage en Afrique au Sud du Sahara, peut être traitée par plusieurs plantes médicinales parmi lesquelles *Cassia sieberiana*, *Khaya senegalensis*, *Terminalia avicennioides* et *Boscia senegalensis*, objets de nos investigations. Ces plantes, par leurs propriétés phytochimiques et toxicologiques, laissent présager une certaine efficacité trypanocide. C'est l'étude de ces effets pharmacologiques que nous présentons dans la deuxième partie de ce travail.

DEUXIEME PARTIE :
ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

1.1. Objectifs de l'étude

1.1.1. Objectif général

L'objectif général de cette étude est d'évaluer expérimentalement l'activité trypanocide d'extraits aqueux des écorces de racines de *Cassia sieberiana* (Caesalpinaceae), *Terminalia avicennioides* (Combretaceae), *Boscia senegalensis* (Capparidaceae), et des écorces de tronc de *Khaya senegalensis* (Meliaceae).

1.1.2. Objectifs spécifiques

- Déterminer in vivo et in vitro, à partir des souris infectées, les concentrations efficaces (CE 100) de Vériben[®] (Témoin positif) ;
- Tester in vitro les effets des extraits aqueux des plantes sur du sang cardiaque des souris NMRI parasitées par *T. brucei brucei* ;
- Tester in vivo les effets des extraits aqueux des plantes sur la trypanosomose animale africaine expérimentale provoquée chez les souris NMRI par inoculation intra-péritoniale (ip) de *T. brucei brucei*.

1.2. Cadre de l'étude

Notre étude a été menée d'août 2004 à avril 2005, soit pendant une durée de 9 mois, au Centre International de Recherche Développement sur l'Élevage en zone Subhumide (CIRDES) situé à Bobo-Dioulasso, au Sud-ouest du Burkina Faso.

Nos recherches ont été menées dans le cadre du PROCORDEL au sein de l'Unité de Recherche sur les bases Biologiques de la lutte intégrée (URBIO). Cette unité consacre la plupart de ses travaux à l'étude des maladies parasitaires du bétail, et à leur contrôle.

1.3. Matériel

1.3.1. Matériel végétal (Figures 5, 6, 7, 8, 9, 10)

Le matériel végétal est constitué par les macérés et décoctés aqueux sous forme lyophilisée des écorces de racines de *Cassia sieberiana*, *Terminalia avicennioides*, *Boscia senegalensis*, et des écorces de tronc de *Khaya senegalensis*.

La récolte des plantes et leur transformation ont été faites par l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé (I.R.S.S) de Ouagadougou.



Figure 5: *Cassia sieberiana*



Figure 6 : Ecorces de *Cassia sieberiana*

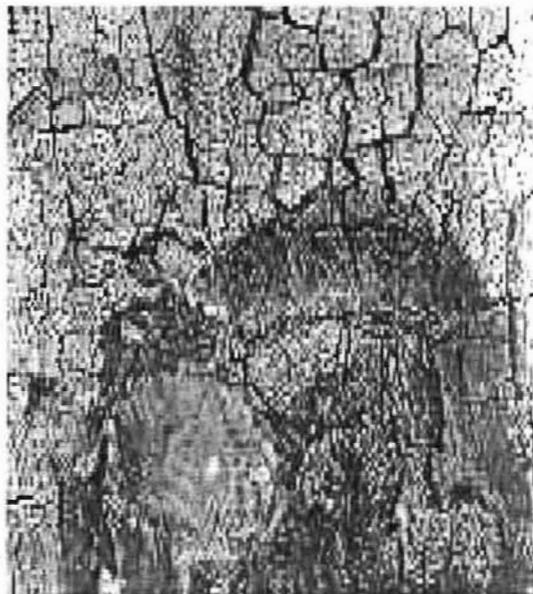


Figure 7 : Ecorces de *Khaya senegalensis*



Figure 8 : Ecorces de *Terminalia avicennioides*



Figure 9 : *Boscia senegalensis*

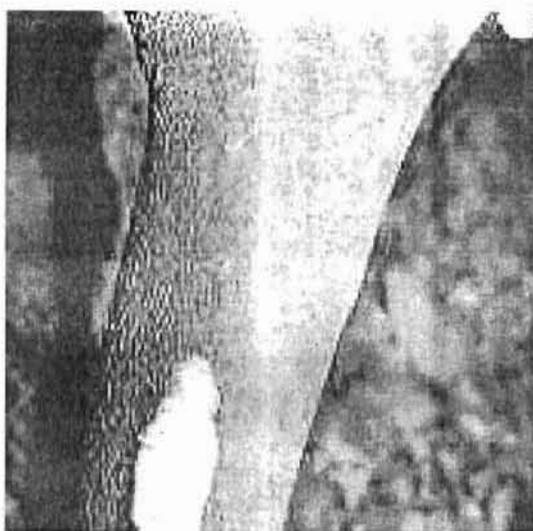


Figure 10 : Ecorces de *Boscia senegalensis*

1.3.2. Matériel biologique

1.3.2.1. Les souris

Ce sont des souris mâles ou femelles de souches NMRI de même génération et pesant environ 30 g. Elles proviennent des élevages du CIRDES et sont nourries au tourteau de blé et à l'eau courante. Elles sont élevées à une température ambiante de 23 à 25 °C avec 75 % d'humidité.

1.3.2.2. Les trypanosomes

Pour cette étude, nous avons utilisé la souche *T. brucei brucei* (référence : *Farakoba 80 / CRTA / 01*). Ces trypanosomes ont été cultivés sur souris et conservés en azote liquide au CIRDES.

1.3.3. Matériel d'étude biologique

- balance sartorius Laboratory, sensibilité 0,01g ;
- cellule de Neubauer 0,100 mm 0,0025 mm² ;

- agitateur magnétique Fisherbrand ;
- mixeur ;
- incubateur INSEL Hamble SO3 8DH England ;
- plaques de microtitration : 96 puits, 128,6 × 82,5 × H 11 mm en polystyrène de très haute transparence ou en PVC flexible ;
- tubes eppendorf ;
- embouts ;
- microscope Leitz Wetzlar Germany Laborlux S. ;
- tubes secs ;
- pipetmans : P. 5000, P. 1000, P. 200, P. 50, P. 10 ;
- seringues 1cc ;
- béchers 100 mL, Erlenmeyers 1000 mL ;
- tubes FALCON 15 mL, 50 mL ;
- ciseaux ;
- bistouris ;
- lames et lamelles ;
- eau distillée stérilisée;
- P.S.G.

1.4. Méthodes

1.4.1. Etudes pharmacologiques

1.4.1.1. Culture des trypanosomes

La culture des trypanosomes (*T. brucei brucei* Farakoba 80 / CRTA / 01) sur souris NMRI est le préalable indispensable à la mise en œuvre de tout test trypanocide. Les produits obtenus sont utilisés aussi bien pour les tests in vitro que pour les tests in vivo.

Les trypanosomes préalablement conservés dans du tampon PSG - glycérol en azote liquide, sont revitalisés par immersion dans un bain d'eau à 25°C pendant 2 minutes. Après le contrôle de leur viabilité par observation microscopique, ils ont été inoculés à des souris NMRI immunodéprimées par irradiation (680 rad/min. pendant 1 minute). Le développement de la parasitémie est ensuite suivi quotidiennement par examen microscopique d'une goutte de sang caudal obtenu après section de l'extrémité de la queue. Elle est estimée par la méthode de HERBERT et LUMSDEN [33]. Lorsque la parasitémie atteint 10^9 organismes par ml de sang, les souris sont anesthésiées par inhalation d'éther et le sang hyperparasité est collecté par ponction cardiaque dans un tube hépariné à l'aide d'une solution d'héparine 500.000 UI.

1.4.1.2. Recherche d'une dilution témoin

Le témoin positif utilisé est l'acéturate de diminazène (Vériben[®]).

1.4.1.2.1. Tests trypanocides in vitro (Annexes 5a, 5b, 5c)

Pour ces tests on utilise du sang de souris NMRI infectées et une solution mère de Vériben[®] aux concentrations respectivement de 10^6 trypanosomes / ml et 10^5 µg/ml. A partir de cette solution mère de Vériben[®] et par des dilutions successives avec le sang à 10^6 trypanosomes / ml, on obtient les solutions tests suivants : (Tableau VI)

Tableau VI : Solutions tests in vitro

Solution	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	10^4	10^3	100	10	5	2,5	1	0,5	0,25	0,1

Pour chacune des solutions tests, des témoins correspondants en remplaçant le Vériben dilué par le PSG et l'eau distillée stérilisée sont préparés. Après un comptage rapide des trypanosomes à l'aide de la cellule de Neubauer, un volume de 100 μl des dilutions préparées précédemment est distribué en duplicate dans 3 plaques de microtitration étiquetées 30 mn, 1 h et 3 h. Ces plaques sont ensuite mises dans un incubateur à 37°C en atmosphère humide avec une légère agitation. Chaque plaque est sortie à la fin de son temps d'incubation et on procède comme précédemment au comptage des trypanosomes.

Les tests sont repris 3 fois dans les mêmes conditions afin d'évaluer la répétabilité des résultats.

1.4.1.2.2. Tests trypanocides in vivo (Annexe 6)

Après la numération des trypanosomes à l'aide de la cellule de Neubauer, le sang cardiaque hyperparasité des souris NMRI est dilué avec du sang de souris NMRI non infectées afin d'avoir une concentration en trypanosomes de 10^3 trypanosomes/ml.

On dispose de 8 lots de 3 souris femelles pesant en moyenne 30 g. A chacune de ces souris, on inocule un volume de 0,2 ml du sang à 10^3 trypanosomes/ml. A la première parasitémie, elles sont traitées avec différentes dilutions de Vériben[®], à raison de 0,3 ml / souris soit 1 / 100 du poids (**Tableau VII**).

Tableau VII: Solutions tests in vivo

Lot	1	2	3	4	5	6	7	8
Concentration (µg/ml)	10 ⁴	10 ³	100	75	50	25	10	témoin négatif

La parasitémie est ensuite suivie quotidiennement par examen microscopique d'une goutte de sang caudal et ceci pendant 45 jours. Elle est estimée par la méthode de HERBERT et LUMSDEN [33]. Elle consiste, après examen de plusieurs champs d'une goutte de sang frais entre lame et lamelle, à comparer l'impression visuelle avec les différents dessins rapportés en **Annexe 7**. Le but étant de trouver le dessin se rapprochant le plus de l'impression visuelle. A chaque dessin correspond un chiffre qui est l'antilog du nombre de trypanosomes par ml.

1.4.1.3. Tests phytotrypanocides

1.4.1.3.1. Préparation des solutions tests

Chaque lyophilisat d'extrait est pesé et dissous dans de l'eau distillée stérilisée. Les concentrations de 12mg/ml ; 2,5mg/ml ; 2,5mg/ml ; 25mg/ml des macérés aqueux respectivement de *Cassia sieberiana*, *Khaya senegalensis*, *Terminalia avicennioides*, *Boscia senegalensis* et les concentrations de 5mg/ml ; 2mg/ml ; 2mg/ml ; 25mg/ml des décoctés aqueux de ces mêmes plantes sont ainsi préparées. Ce sont des concentrations préalablement déterminées sur la courbe de toxicité et qui correspondent à des DLo, c'est-à-dire des doses qui n'entraînent ni dommages ni mortalité chez les souris [53]. Ces solutions sont utilisées pour les tests phytotrypanocides in vitro et in vivo.

Pour le Vériben[®] (4,4 diazoamino dibenzamidine diacéturate), on l'utilise in vitro à la concentration de 10000µg/ml soit 10mg/ml et in vivo à la concentration de 100µg/ml soit à la dose de 1mg/kg. Ce sont les concentrations efficaces du Vériben[®] in vitro et in vivo.

1.4.1.3.2. Tests phytotrypanocides in vitro (Annexe 8)

Comme dans les tests trypanocides in vitro, on utilise le sang de souris à la concentration de 10^6 trypanosomes / ml qu'on distribue en duplicate dans les différents puits de deux plaques de microtitration. Chaque puits reçoit 100 µl du sang dans lequel on ajoute le même volume des différents extraits aqueux (macérés et décoctés) préparés précédemment.

Dans chaque plaque un milieu témoin positif est réalisé en remplaçant les extraits aqueux par le Vériben[®] à 10^4 µg/ml. Un milieu témoin négatif constitué uniquement par le sang parasité dilué est également déposé dans chaque plaque de microtitration (**Tableaux VIII et IX**).

On effectue rapidement un comptage des trypanosomes à T_0 à l'aide de la cellule de Neubauer.

Les plaques sont ensuite incubées sous atmosphère humide à 37°C pendant 1h. Au bout de ce temps, un comptage post-incubation des trypanosomes est enfin réalisé.

Un même test est répété trois fois dans les mêmes conditions pour évaluer la répétabilité des résultats.

	Sang dilué (10 ⁶ tryp/ml) 200 µl I	Sang dilué + Vériben [®] (10mg/ml) 100µl-100µl II	Sang dilué + <i>Cassia</i> (12mg/ml) 100µl-100µl III	Sang dilué + <i>Khaya</i> (2,5mg/ml) 100µl-100µl IV	Sang dilué + <i>Terminalia</i> (2,5mg/ml) 100µl-100µl V	Sang dilué + <i>Boscia</i> (25mg/ml) 100µl-100µl VI
Avant incubation	Nb de tryp/ml de sang = X	Nb de tryp/ml de sang = X	Nb de tryp/ml de sang = X	Nb de tryp/ml de sang = X	Nb de tryp/ml de sang = X	Nb de tryp/ml de sang = X
Après incubation (1h)	Nb de tryp/ml de ce mélange	Nb de tryp/ml de ce mélange	Nb de tryp/ml de ce mélange	Nb de tryp/ml de ce mélange	Nb de tryp/ml de ce mélange	Nb de tryp/ml de ce mélange

Tableau VIII : Plaque de microtitration réalisée : Macérés aqueux

Nb de tryp/ml = nombre de trypanosomes par ml

	Sang dilué (10 ⁶ tryp/ml) 200 µl I	Sang dilué + Vériben [®] (10mg/ml) 100µl-100µl II	Sang dilué + <i>Cassia</i> (5mg/ml) 100µl-100µl III	Sang dilué + <i>Khaya</i> (2mg/ml) 100µl-100µl IV	Sang dilué + <i>Terminalia</i> (2mg/ml) 100µl-100µl V	Sang dilué + <i>Boscia</i> (25mg/ml) 100µl-100µl VI
Avant incubation	Nb de tryp/ml de sang = Y	Nb de tryp/ml de sang = Y	Nb de tryp/ml de sang = Y	Nb de tryp/ml de sang = Y	Nb de tryp/ml de sang = Y	Nb de tryp/ml de sang = Y
Après incubation (1h)	Nb de tryp/ml de ce mélange	Nb de tryp/ml de ce mélange	Nb de tryp/ml de ce mélange	Nb de tryp/ml de ce mélange	Nb de tryp/ml de ce mélange	Nb de tryp/ml de ce mélange

Tableau IX : Plaque de microtitration réalisée : Décoctés aqueux

Nb de tryp/ml = nombre de trypanosomes par ml

1.4.1.3.3. Tests phytotrypanocides in vivo (Annexe 9)

❖ Infection expérimentale des souris

On sélectionne 132 souris NMRI femelles pesant en moyenne 30 g et répartis en 12 lots dont 10 lots de 12 souris chacun et 2 lots de 6 souris chacun correspondant aux lots témoins.

Après la numération des trypanosomes à l'aide de la cellule de Neubauer, l'inoculum est préparé en diluant de façon appropriée le sang cardiaque hyperparasité avec du sang de souris non infectées. On obtient ainsi une solution à la concentration de 10^3 trypanosomes / ml.

Chaque souris reçoit par voie intra péritonéale (ip) un volume de 0,2 ml de l'inoculum.

❖ Traitement des souris infectées

Les extraits aqueux et le Vériben[®] préparés précédemment sont administrés aux souris par voie intra péritonéale (ip). Le volume injecté par souris est de 0,3 ml soit 1 / 100 du poids. Dans chaque lot, 6 souris sont traitées 1 h avant infection (**Jo**) et les 6 autres à la première parasitémie (**Jp**) (**Tableaux X et XI**).

Les deux lots de 6 souris chacun sont pris comme témoins négatifs. Ces souris infectées ne sont donc pas traitées et reçoivent uniquement par voie ip de l'eau distillée stérilisée.

Tableau X : Tests phytotrypanocides in vivo : macérés aqueux

	<i>Cassia sieberiana</i> (12mg/ml) lot 1	<i>Khaya senegalensis</i> (2,5mg/ml) lot 2	<i>Terminalia avicennioides</i> (2,5mg/ml) lot 3	<i>Boscia senegalensis</i> (25mg/ml) lot 4	Témoin positif : Vériben ^h (0,1mg/ml) lot 5
Jo	6 souris	6 souris	6 souris	6 souris	6 souris
Jp	6 souris	6 souris	6 souris	6 souris	6 souris
Témoin négatif lot 6	6 souris infectées ne recevant pas de traitement (eau distillée stérilisée)				

Tableau XI : Tests phytotrypanocides in vivo : décoctés aqueux

	<i>Cassia sieberiana</i> (5 mg/ml) lot 1	<i>Khaya senegalensis</i> (2 mg/ml) lot 2	<i>Terminalia avicennioides</i> (2 mg/ml) lot 3	<i>Boscia senegalensis</i> (25 mg/ml) lot 4	Témoin positif : Vériben [®] (0,1mg/ml) lot 5
Jo	6 souris	6 souris	6 souris	6 souris	6 souris
Jp	6 souris	6 souris	6 souris	6 souris	6 souris
Témoin négatif lot 6	6 souris infectées ne recevant pas de traitement (eau distillée stérilisée)				

1.4.1.3.4. Suivi (Tableau XII)

La parasitémie est contrôlée quotidiennement par observation microscopique d'une goutte de sang caudal de la souris entre lame et lamelle. Le nombre de parasites par champ est relevé. Après 10 jours, le contrôle est fait 2 fois par semaine. Un suivi du poids corporel des souris se fait parallèlement.

La prononciation des symptômes cliniques au cours de l'infection est aussi appréciée (pelage, comportement, amaigrissement notable) ; les mortalités sont également enregistrées.

Tableau XII : Canevas de suivi des différents paramètres cliniques et paracliniques.

Paramètre	Suivi chez la souris
Signes cliniques	quotidien
Parasitémie	quotidien (10 jours), puis 2 fois/semaine (45 jours)
Mortalité	-
Poids vif corporel	1 fois / semaine

1.4.2. Méthode d'analyse des résultats

1.4.2.1. Recherche d'une dilution témoin

❖ In vitro

Les résultats sont analysés en fonction de deux paramètres (effet temps d'incubation dépendant et effet concentration ou dose dépendante) de manière à mettre en évidence la concentration de Vériben[®] entraînant une inhibition totale de la parasitémie (CE) et le temps efficace correspondant. Parallèlement, le solvant de dissolution (PSG, eau distillée stérilisée) ayant le plus grand pourcentage d'inhibition (I) de la parasitémie est mis en évidence.

Le pourcentage d'inhibition de la parasitémie est donné par la formule suivante :

$$I = (T_0 - T) / T_0 \times 100 ;$$

T₀ = nombre de trypanosomes dénombrés initialement ;

T = nombre de trypanosomes dénombrés après incubation ;

❖ In vivo

Il s'agit ici de déterminer la concentration efficace de Vériben[®]. En effet différentes dilutions de Vériben[®] sont administrées par voie intrapéritonéale à différents lots contenant le même nombre de souris préalablement infectées. Le but étant de déterminer après 45 jours la dilution de Vériben[®] ayant provoquée une inhibition totale de la parasitémie chez les souris.

1.4.2.2. Tests phytotrypanocides

❖ In vitro

Le pourcentage d'inhibition de la parasitémie à 1 h d'incubation en fonction du type d'extrait aqueux est apprécié. Cette appréciation est faite par rapport aux lots témoins (témoins positif et négatif). Il est donné par la formule précédente.

❖ In vivo

L'activité trypanocide des macérés et décoctés aqueux des différents extraits est analysée en fonction de deux paramètres :

- par rapport au témoin négatif, on détermine le taux de survie des souris infectées et traitées par ces extraits. Les résultats sont exprimés par le rapport souris survivantes sur souris traitées ;
- par rapport au témoin positif (Vériben[®]), on calcule le taux de guérison des souris traitées à différentes dates. Les résultats ici sont exprimés par le rapport souris guéries sur souris traitées.

CHAPITRE II : RESULTATS

Les données expérimentales sont transcrites en annexe. Elles ont permis de mettre en évidence le pourcentage d'inhibition de la parasitémie in vitro et les taux de survie et de guérison in vivo des souris traitées pour l'ensemble des produits testés (solvants de dissolution, Vériben[®], extraits aqueux de plante).

2.1. Dilution témoin

2.1.1. Tests trypanocides in vitro

- **Effet temps d'incubation dépendant**

Un effet temps d'incubation dépendant s'observe pour le Vériben[®]. En effet quelque soit la concentration utilisée, le pourcentage d'inhibition de la parasitémie est d'autant plus élevé que le temps d'incubation augmente. On observe par ailleurs un effet 100% après 1 h d'incubation à la concentration de 10^4 µg / ml soit 10 mg / ml (**Tableau XIII**).

Quant aux solvants de dissolution (PSG, eau distillée stérilisée), on observe le même effet temps d'incubation dépendant. Après 1h d'incubation et quelque soit la concentration, le témoin eau distillée stérilisée a un pourcentage d'inhibition nettement supérieur à celui du témoin PSG (**Annexe 10**)

Vériben® (µg / ml) temps	10 ⁴	1000	100	10	5	2,5	1	0,5	0,25	0,1
30 mn	67	50	36	33	33	28	25	25	25	17
1 h	100	75	69	67	33	28	25	25	25	25
3 h	100	100	100	100	50	39	33	33	33	33

Tableau XIII : Pourcentage d'inhibition in vitro du Vériben® : effet temps d'incubation dépendant

- **Effet concentration dépendante**

Un effet concentration dépendante s'observe également pour le Vériben[®]. Ainsi quelque soit le temps d'incubation (30mn, 1h, 3h), le pourcentage d'inhibition de la parasitémie augmente quand la concentration passe de 10 µg/ml à 10⁴ µg/ml. En dessous de 10 µg/ml les résultats sont très variables (pourcentage d'inhibition croissant ou constant). A 10⁴ µg/ml le Vériben[®] provoque une inhibition totale de la parasitémie après 1 h d'incubation (**Tableau XIV**).

Quant aux solvants de dissolution (témoin PSG, eau distillée stérilisée), on observe les mêmes effets que précédemment. Le témoin eau distillée stérilisée a également ici un effet inhibition de la parasitémie nettement supérieur à celui du témoin PSG (**Annexe 10**).

**Tableau XIV : Pourcentage d'inhibition in vitro du Vériben[®] :
effet concentration dépendante**

Vériben [®] (µg/ml)	Effet à différents temps d'incubation		
	30mn	1h	3h
10 à 10 ⁴	+	++	++
5	+	+	++
2,5	+	+	++
1	+	+	++
0,5	+	+	++
0,25	+	+	++
0,1	+	++	+++

NB : Le nombre de + est proportionnel à l'intensité de l'effet.

Au bilan, on constate que lorsque le temps d'incubation passe de 30mn à 1h puis à 3h le pourcentage d'inhibition de la parasitémie augmente parallèlement. Quelque soit par ailleurs le temps d'incubation, le pourcentage d'inhibition de la parasitémie est d'autant plus élevé que la concentration de Vériben[®] passe de 10µg/ml à 10⁴µg/ml. Notons qu'après 1h d'incubation, on observe un effet 100% d'inhibition à 10⁴µg/ml.

Sur l'ensemble des deux critères, effets temps d'incubation et concentration dépendants, nous retenons prioritairement la concentration de 10⁴µg/ml de Vériben[®] comme concentration efficace (CE100) et 1h comme temps efficace correspondant. L'eau distillée stérilisée sera prise comme le solvant de dissolution des extraits.

2.1.2. Tests trypanocides in vivo (Tableau XV)

Les souris en expérimentation ont été traitées par différentes dilutions de Vériben[®] à la première parasitémie soit 24h après infection.

Aux concentrations de 10⁴µg/ml et 10³µg/ml le Vériben[®] provoque la mort sous la seringue des souris. Par contre à 100µg/ml, on observe une inhibition totale de la parasitémie du 4^e jour après traitement (J 4) jusqu'à la fin de l'expérimentation (J 45). Aux concentrations de 75µg/ml et 50µg/ml le Vériben[®] a un effet inhibiteur fugace de la parasitémie, les souris traitées finissant par mourir respectivement à J 18 et J 14 après traitement. Aucune inhibition de la parasitémie ne s'observe chez les souris traitées par le Vériben[®] aux concentrations de 25µg/ml et 10µg/ml. La parasitémie chez ces souris augmente régulièrement et elles finissent par mourir à J 9 et à J 7 après traitement. Les souris du lot témoin négatif meurent 7 jours (J 7) après infection. Chez ces souris, on observe les signes cliniques classiques de la trypanosomose : amaigrissement, troubles nerveux (sommolence, membres postérieurs écartés voire paralysie du train postérieur, convulsions), troubles oculaires (larmolement et yeux injectés de sang).

Au bilan, la concentration efficace (CE100) de Vériben[®] in vivo est de 100µg/ml soit une dose efficace (DE100) de 1mg/kg.

Tableau XV : Effets in vivo du Vériben[®] sur l'évolution de la parasitémie

Vériben [®] (µg/ml)	Diminution de la parasitémie	Disparition de la parasitémie	Réapparition de la parasitémie	Mort
10 ³ à 10 ⁴				J 0
100	J 1 → J 3	J 4 → J 45		
75	J 1 → J 4	J 5 → J 9	J 10 → J 17	J 18
50	J 1 → J 5	J 6 → J 7	J 8 → J 13	J 14
25	J 1 → J 8			J 9
10	J 1 → J 6			J 7
Témoin négatif			J 1 → J 6	J 7

2.2. Effets phytotrypanocides

2.2.1. Tests phytotrypanocides in vitro

Les macérés aqueux de *Cassia sieberiana* et de *Khaya senegalensis* ont un pourcentage d'inhibition nettement supérieur à ceux de *Terminalia avicennioides* et de *Boscia senegalensis*. Comparés au témoin négatif, *Terminalia avicennioides* et *Boscia senegalensis* n'ont presque aucun effet inhibiteur. Par rapport au vériben[®], produit trypanocide de référence utilisé, on a la hiérarchie suivante :

Vériben[®] > *Khaya* > *Cassia* > *Terminalia* > *Boscia* ≥ témoin négatif (Figure 11)

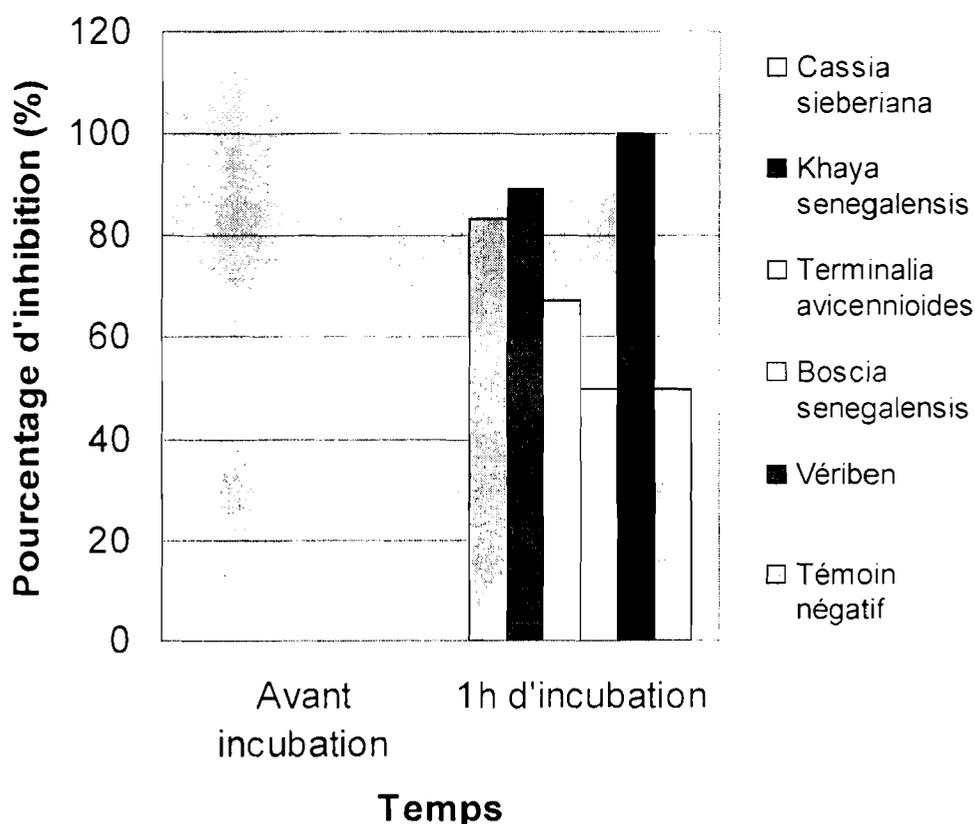


Figure 11 : Pourcentage d'inhibition de la parasitémie après 1h d'incubation : Macérés aqueux, Vériben[®] et témoin négatif.

Khaya senegalensis a le plus fort pourcentage d'inhibition de la parasitémie comparé aux macérés aqueux des autres plantes. Il est en cela suivi par *Cassia sieberiana*.

Quant aux décoctés aqueux de ces plantes, on constate que *Cassia sieberiana* et *Terminalia avicennioides* ont les pourcentages d'inhibitions les plus élevés. Comparés au témoin négatif, *Khaya senegalensis* et *Boscia senegalensis* n'ont aucun effet inhibiteur. Par rapport au vériben[®], produit trypanocide de référence utilisé, on a la hiérarchie suivante :

Vériben[®] > *Cassia* ≥ *Terminalia* > *Khaya* ≥ *Boscia* ≥ témoin négatif (Figure 12)

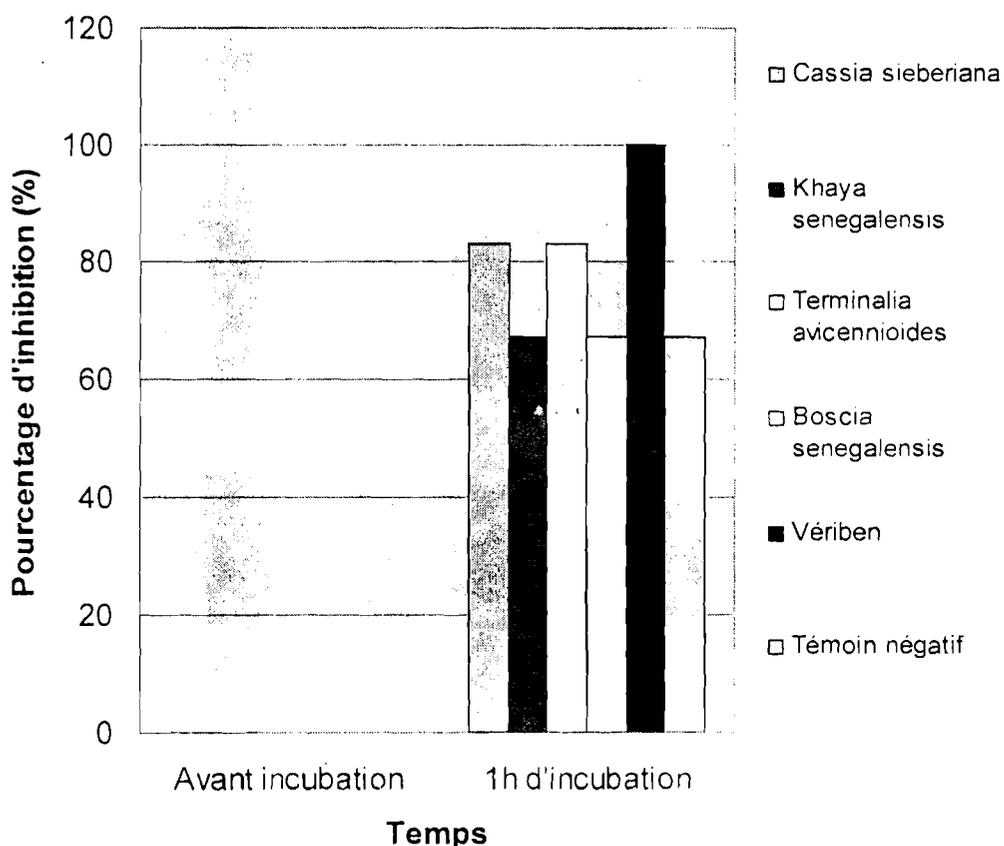


Figure 12 : Pourcentage d'inhibition de la parasitémie après 1h d'incubation : Décoctés aqueux, Vériben[®] et témoin négatif.

Au bilan, les macérés aqueux ont un pourcentage d'inhibition de la parasitémie sensiblement supérieur aux décoctés aqueux in vitro. *Cassia sieberiana* a le plus fort pourcentage d'inhibition de la parasitémie in vitro. Dans tous les cas, les extraits aqueux des quatre plantes ont un effet inhibiteur inférieur à celui du Vériben[®] (Figure 13).

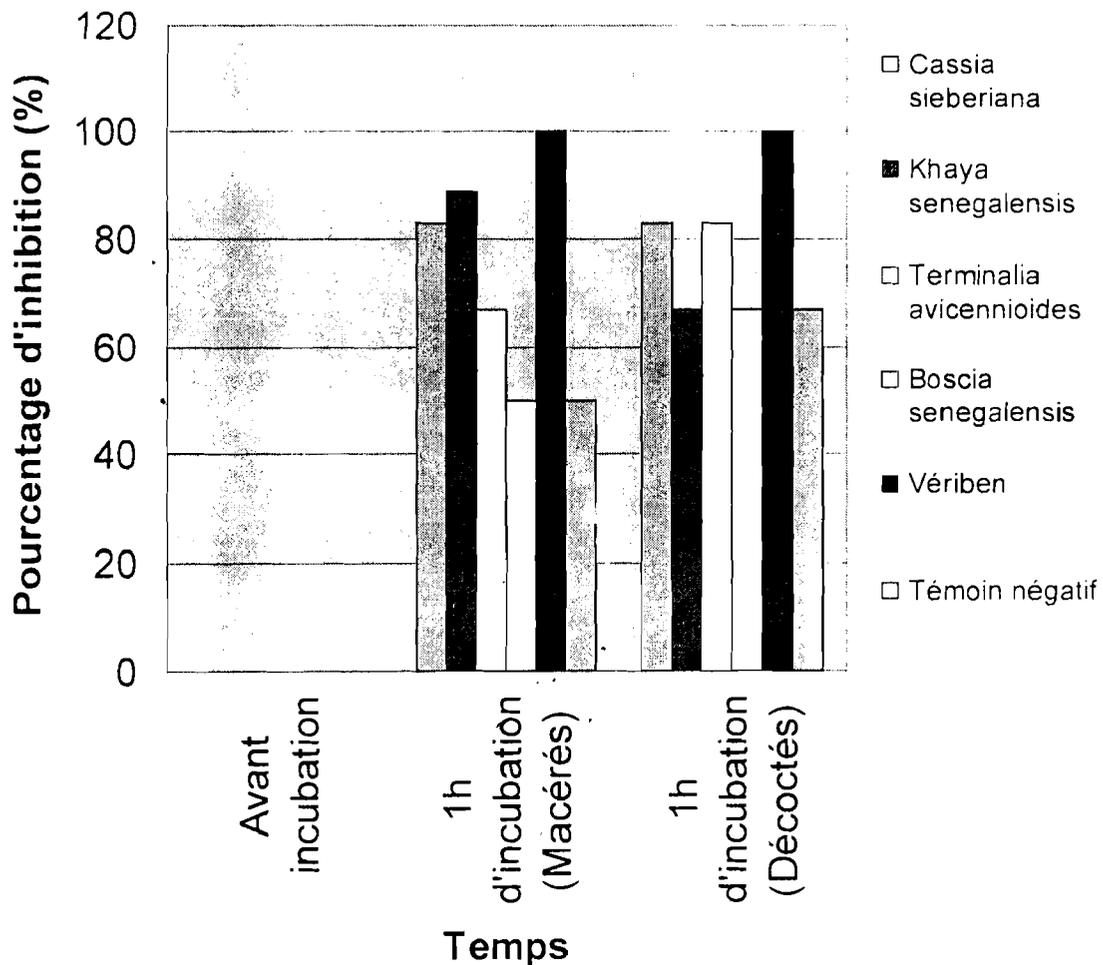


Figure 13 : Pourcentage d'inhibition de la parasitémie après 1h d'incubation : Macérés et Décoctés aqueux, Vériben[®] et témoin négatif.

2.2.2. Tests phytotrypanocides in vivo

Les traitements sont effectués selon deux modalités :

- un traitement à **Jo** (1h avant infection) correspondant à la stratégie prophylactique ;
- un traitement à **Jp** (à la première parasitémie) correspondant à la stratégie curative. Ici les souris ont été traitées 24h après infection.

❖ Macérés aqueux

- Taux de survie des souris (Figures 14 et 15)

Les résultats sont exprimés en pourcentage (%) et représentent le rapport souris survivantes sur souris traitées.

Les souris du lot témoin négatif meurent 6 jours après infection. Par rapport au témoin négatif, *Cassia sieberiana* et *Terminalia avicennioides* lorsqu'ils sont utilisés dans la stratégie prophylactique prolongent la survie de 33% des souris (soit 2 souris sur 6) au 6^e jour après traitement et infection. Cependant, 24h plus tard, toutes ces souris meurent. Par contre, utilisés dans une stratégie curative ces plantes ne prolongent que la survie de 17% des souris traitées (soit 1 souris sur 6). On constate chez cette souris survivante une inhibition totale de la parasitémie.

Khaya senegalensis, prophylactiquement ou curativement, ne prolonge que la survie de 17% des souris traitées 6 jours après infection. Dans les deux cas on constate la mort de la seule souris survivante 24h plus tard.

Quant à *Boscia senegalensis*, il prolonge dans la stratégie prophylactique la survie de 33% des souris jusqu'au 17^e jour après traitement. A partir de ce jour jusqu'à la fin de l'expérimentation, seule 17% des souris survivent. Lorsqu'on

l'utilise dans une stratégie curative, seule 17% des souris survivent jusqu'à la fin de l'expérimentation (45 jours).

Lorsque les macérés aqueux des quatre plantes sont utilisés de manière prophylactique, on a la hiérarchie suivante :

Boscia > *Cassia* ≥ *Terminalia* > *Khaya* (Figure 14)

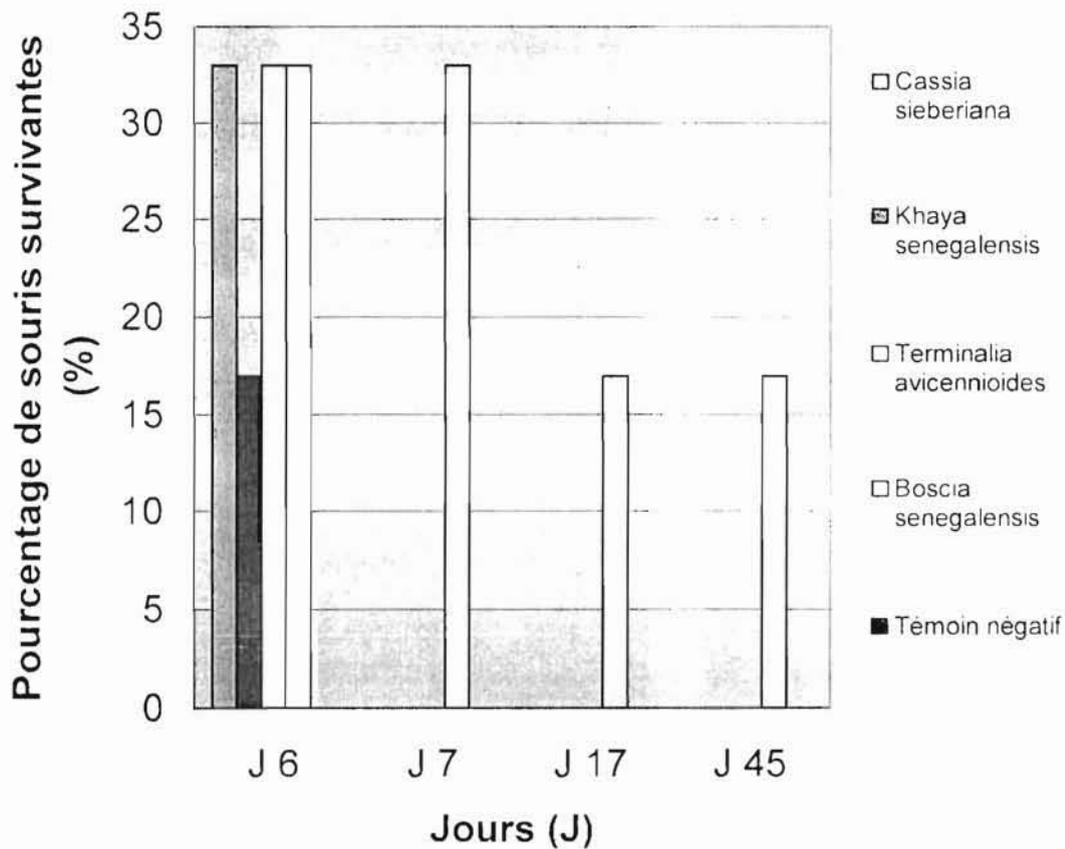


Figure 14 : Taux de survie des souris traitées par les macérés aqueux : Stratégie prophylactique.

Boscia senegalensis est donc comparativement aux autres plantes le plus actif sur la survie des souris traitées.

Lorsqu'ils sont utilisés dans une stratégie curative, on a la hiérarchie suivante :

Boscia ≥ *Cassia* ≥ *Terminalia* > *Khaya* (Figure 15)

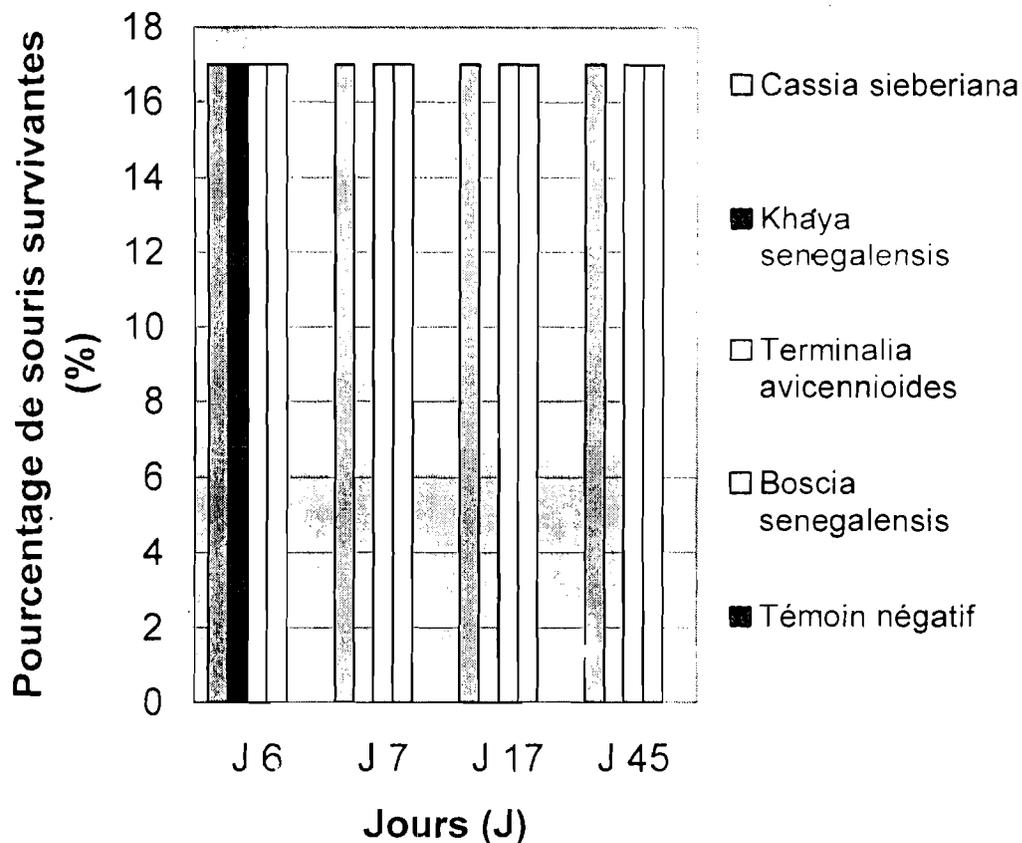


Figure 15 : Taux de survie des souris traitées par les macérés aqueux : Stratégie curative.

Cassia sieberiana, *Terminalia avicennioides* et *Boscia senegalensis* sont tous très actifs sur la survie des souris.

On constate que les macérés aqueux de *Boscia senegalensis*, de *Cassia sieberiana* et de *Terminalia avicennioides* ont un meilleur effet sur la survie des souris. *Boscia senegalensis* semble néanmoins être le plus actif. La stratégie curative est préférable à la stratégie prophylactique.

- Taux de guérison des souris

Les résultats sont exprimés en pourcentage (%) et représentent le rapport souris guéries (100% d'inhibition de la parasitémie) sur souris traitées.

Chez toutes les souris traitées par le Vériben[®] avant infection, on observe 100% d'inhibition de la parasitémie du 1^{er} au 4^{ème} jour après infection. Entre le 5^{ème} et le 9^{ème} jour, l'inhibition totale de la parasitémie intéresse 83% des animaux traités soit 5 souris guéries sur 6 infectées. A partir du 10^e jour de l'infection, la parasitémie réapparaît chez 5 souris sur 6 soit un taux de guérison de 17% (**Figure 16**).

Chez les souris traitées par le Vériben[®] à la première parasitémie, on observe 50% de guérison (soit 3 souris guéries sur 6 traitées) dès le premier jour après traitement. Ce taux de guérison augmente à 83% à J 5 pour redescendre à 50% jusqu'à la fin des essais (**Figure 17**).

Comparés au trypanocide de référence, les macérés aqueux des quatre plantes médicinales ont globalement un pourcentage d'inhibition de la parasitémie inférieur. Ainsi *Cassia sieberiana*, *Khaya senegalensis* et *Terminalia avicennioides*, utilisés de manière prophylactique, sont uniquement actifs à J 1 sur respectivement 83% et 100% des souris traitées. Par contre dans la stratégie curative, on observe l'effet inhibition de la parasitémie sur seulement 17% des souris traitées par *Cassia sieberiana* et *Terminalia avicennioides* de J 1 à J 30. *Khaya senegalensis* est inactif lorsqu'il est utilisé de façon curative.

Quant à *Boscia senegalensis*, il est le plus actif aussi bien prophylactiquement que curativement; il a un effet inhibition de la parasitémie à J 1 sur 83% des souris traitées préventivement et sur 33% (soit 2 souris guéries sur 6 traitées) de celles qui ont été traitées à la première parasitémie. De J 2 à J 30, il est uniquement actif sur 17% des souris traitées après infection. L'effet est sensiblement le même dans la stratégie prophylactique (**Figures 16 et 17**).

Dans la stratégie prophylactique on a la hiérarchie suivante :

Boscia > *Terminalia* ≥ *Khaya* > *Cassia* (Figure 16)

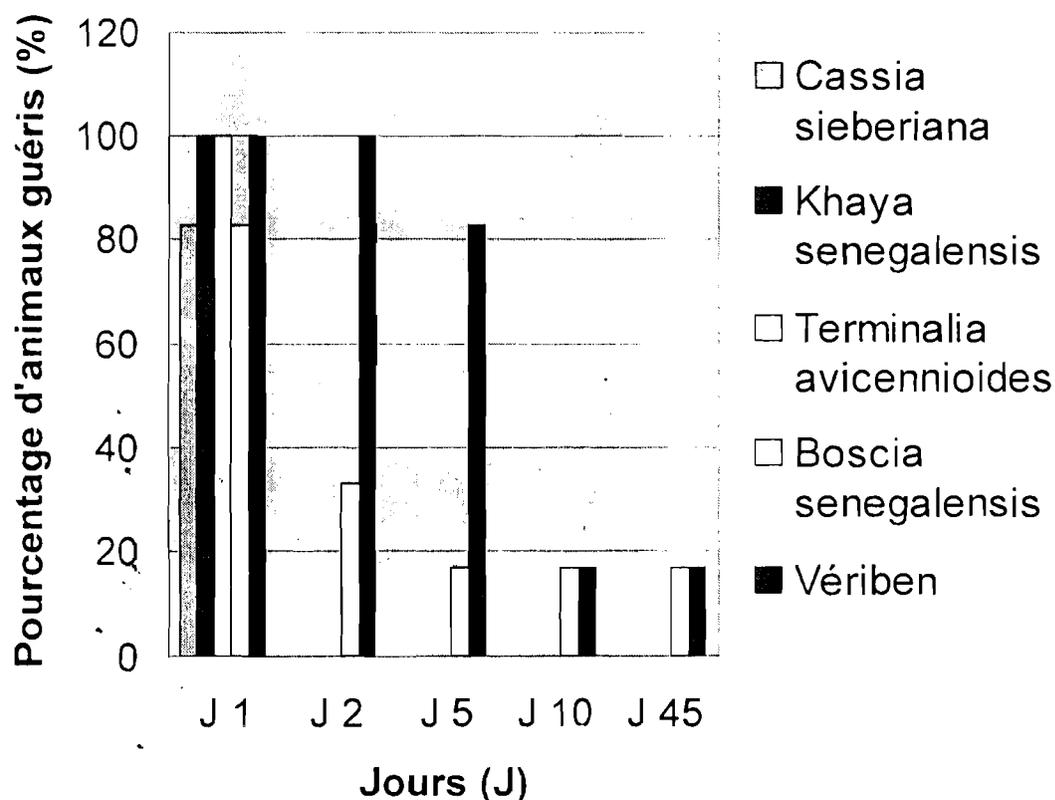


Figure 16 : Taux de guérison des souris traitées par les macérés aqueux : Stratégie prophylactique

Boscia senegalensis est le plus efficace dans la prévention de la trypanosomose chez les souris traitées.

Lorsque les souris sont traitées à la première parasitémie soit 24h après infection, on a la hiérarchie suivante :

Boscia > *Cassia* ≥ *Terminalia* > *Khaya* (Figure 17)

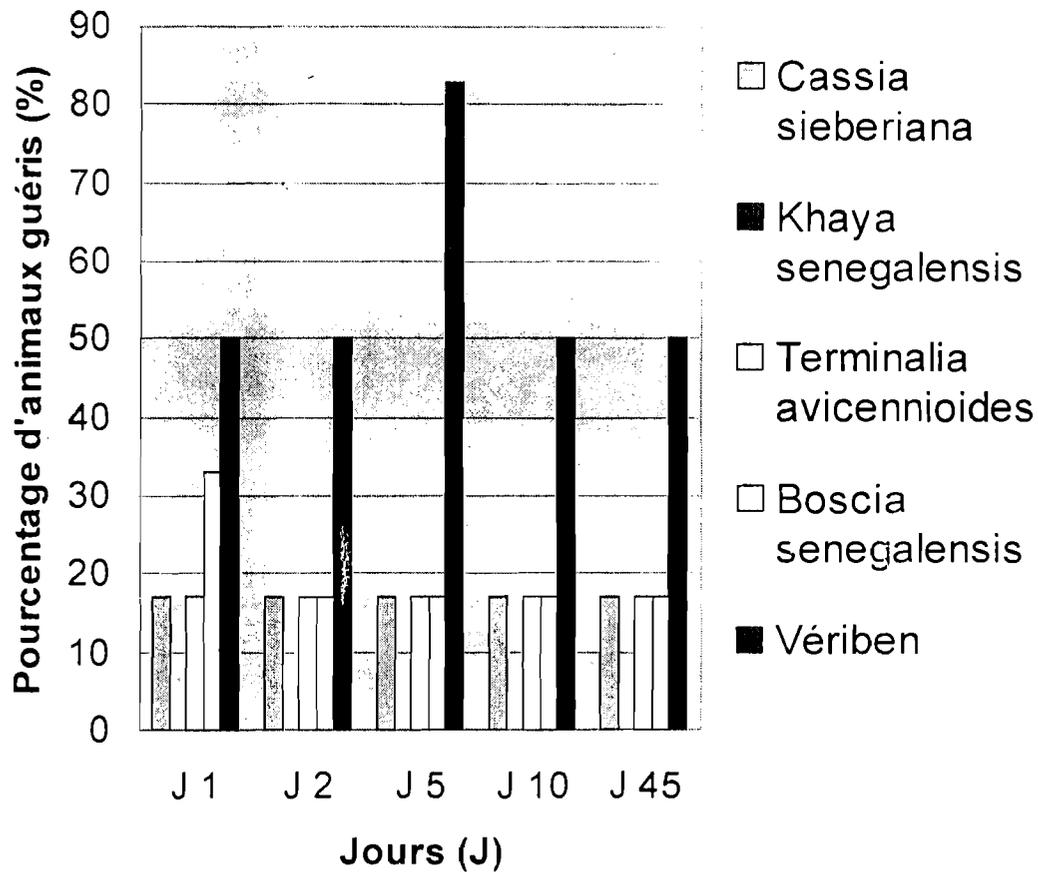


Figure 17 : Taux de guérison des souris traitées par les macérés aqueux :
Stratégie curative

Ici également *Boscia senegalensis* a, comparativement aux autres plantes, le plus d'effet sur l'inhibition de la parasitémie in vivo.

Dans l'ensemble, on constate que les macérés aqueux utilisés de façon préventive sont nettement moins actifs que lorsqu'ils sont employés après infection. Quelque soit la stratégie utilisée, *Boscia senegalensis* semble avoir le plus fort pourcentage d'inhibition de la parasitémie in vivo. Il est suivi par *Cassia sieberiana* et *Terminalia avicennioides*. Ceci confirme les résultats précédents selon lesquels *Boscia senegalensis*, *Cassia sieberiana* et *Terminalia avicennioides* sont les extraits les plus actifs sur la survie des souris.

❖ Décoctés aqueux

○ Taux de survie des souris

Comme précédemment, les résultats sont exprimés par le rapport souris survivantes sur souris traitées.

On observe comme dans le cas des macérés aqueux la mort de toutes les souris du lot témoin négatif 6 jours (J 6) après infection. Par ailleurs, quelque soit la stratégie utilisée (prophylactique ou curative), on constate la mort de toutes les souris traitées par les décoctés aqueux 6 jours après infection.

Ces résultats font apparaître que les décoctés aqueux de *Cassia sieberiana*, *Khaya senegalensis*, *Terminalia avicennioides* et *Boscia senegalensis* n'ont aucun effet sur la survie des souris infectées (**Tableau XVI**).

Tableau XVI : Taux de survie des souris traitées par les décoctés aqueux des 4 plantes : Stratégies prophylactique et curative

Plante	<i>Cassia sieberiana</i>	<i>Khaya senegalensis</i>	<i>Terminalia avicennioides</i>	<i>Boscia senegalensis</i>	Témoin négatif
J 6	0	0	0	0	0

○ Taux de guérison des souris

Un jour (J 1) après traitement au Vériben® et infection, on observe une inhibition totale de la parasitémie dans 67% des cas, soit 4 souris guéries sur 6 traitées. Mais 3 jours après, la parasitémie réapparaît chez ces souris.

Quant aux décoctés aqueux de *Cassia sieberiana*, *Khaya senegalensis* et *Boscia senegalensis*, ils sont actifs uniquement sur 50% des souris traitées (soit 3 souris guéries sur 6 traitées) un jour après traitement et infection. En effet 24h plus tard, (J 2), les animaux traitées refont la maladie. Le même phénomène s'observe chez les souris traitées par *Terminalia avicennioides*, à la différence qu'à J 1 le pourcentage de souris chez lesquelles on observe une inhibition totale de la parasitémie est de 67%.

D'une manière générale, la hiérarchie dans l'efficacité des différents produits utilisés dans le traitement prophylactique de la trypanosomose animale africaine est la suivante :

Vériben® > *Terminalia avicennioides* > *Cassia sieberiana* ≥ *Khaya senegalensis* ≥ *Boscia senegalensis* (**Figure 18**)

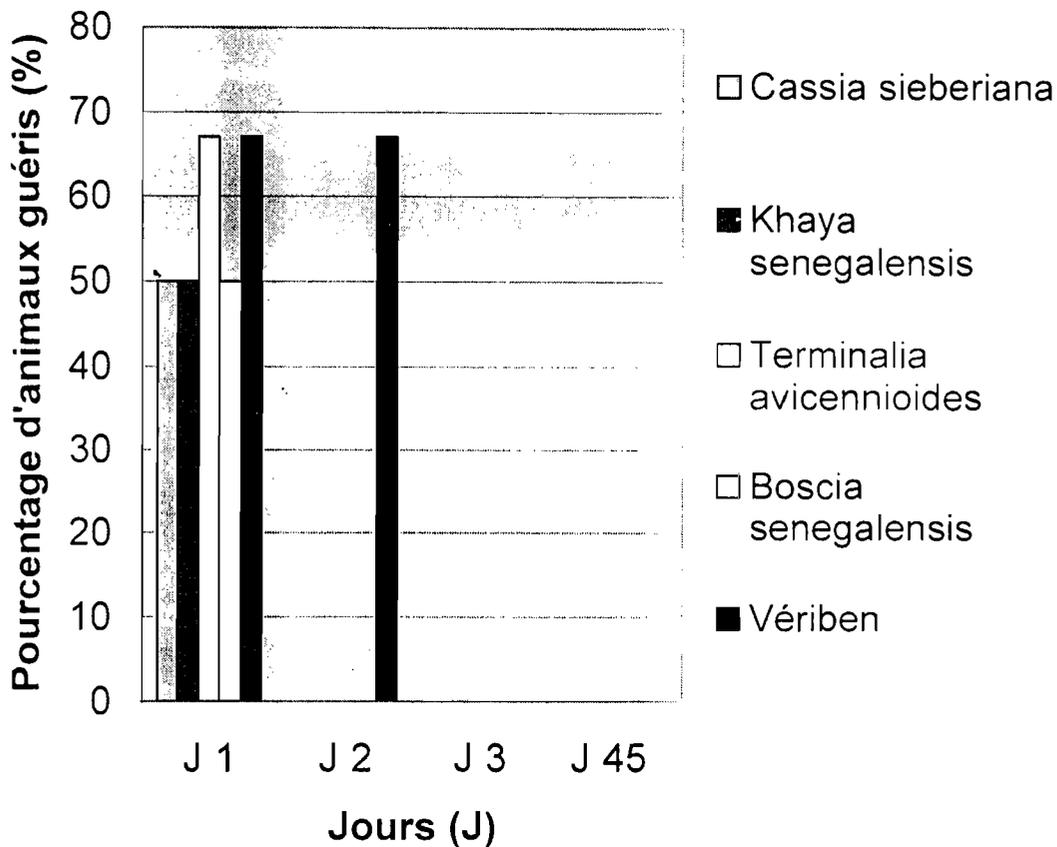


Figure 18 : Taux de guérison des souris traitées par les décoctés aqueux : Stratégie prophylactique

Dans la stratégie curative le Vériben[®] est actif dès le 2^e jour avec un taux de guérison de 67% des souris infectées. Cet effet inhibition totale de la parasitémie augmente à J 3 (100% de guérison) pour baisser ensuite à J 8 (83% de guérison). A partir de J 12, 83% des souris refont la maladie.

Quant aux décoctés aqueux de *Cassia sieberiana*, *khaya senegalensis*, *Terminalia avicennioides* et *Boscia senegalensis*, ils n'ont aucun effet curatif (Figure 19).

Il apparaît que les décoctés aqueux de *Cassia sieberiana*, *Khaya senegalensis*, *Terminalia avicennioides* et *Boscia senegalensis* sont pratiquement inactifs aussi bien sur la survie que sur l'inhibition de la parasitémie des souris traitées.

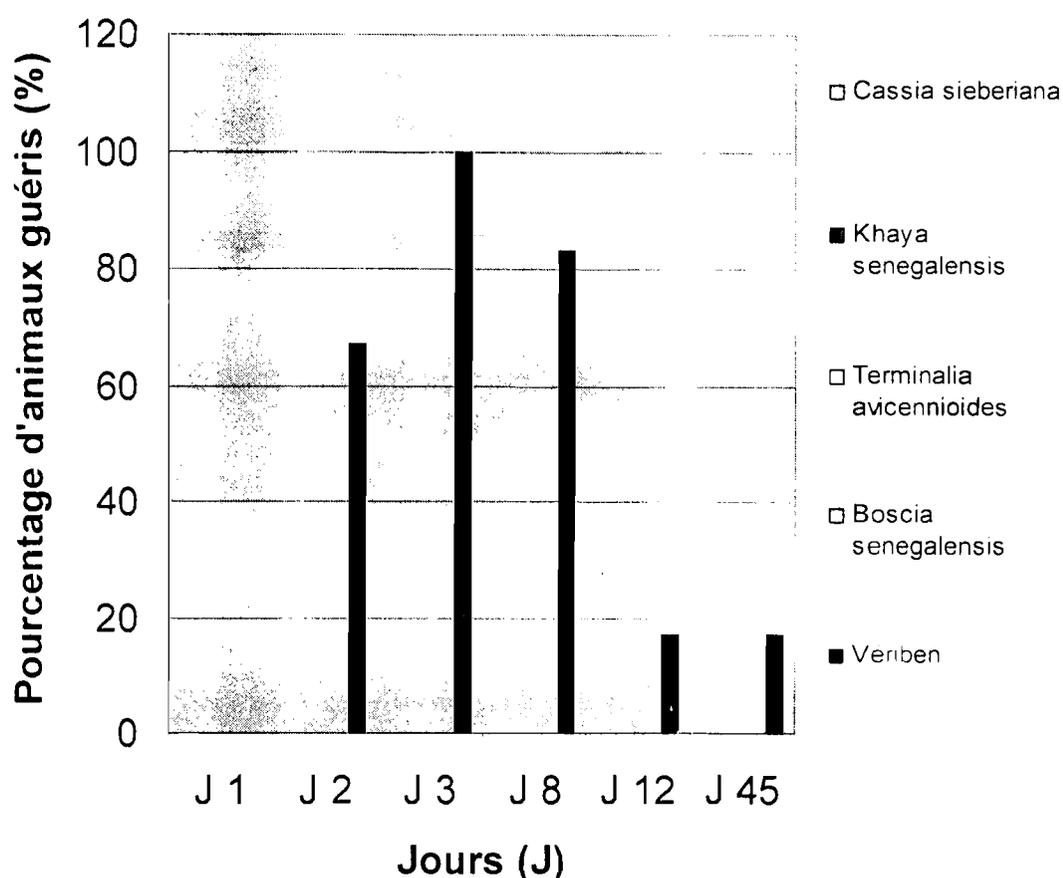


Figure 19 : Taux de guérison des souris traitées par les décoctés aqueux : Stratégie curative

En résumé, les macérés aqueux sont plus actifs que les décoctés aqueux dans le traitement de la trypanosomose animale africaine. La stratégie curative a donné de meilleurs résultats, comparée à la stratégie prophylactique. Quelque soit le type d'extrait aqueux utilisé, *Cassia sieberiana* a le plus fort pourcentage d'inhibition de la parasitémie in vitro. Il est suivi par *Terminalia avicennioides*. In vivo, *Cassia sieberiana*, *Terminalia avicennioides* et *Boscia senegalensis* sont les extraits aqueux les plus actifs en termes de prolongation de la survie et de l'inhibition totale de la parasitémie des souris infectées.

CHAPITRE III : DISCUSSIONS

3.1. Méthodes d'étude

3.1.1. Tests in vitro

Les tests in vitro sont basés sur des comptages parasitaires au microscope optique à l'aide de la cellule de Neubauer avant et après incubation. Des erreurs peuvent par conséquent survenir. On a tenté de les réduire par la répétition des tests à des jours différents.

Un automate serait préférable.

3.1.2. Tests in vivo

Ces tests peuvent être influencés par les réactions individuelles des souris. On peut y remédier en ramenant les souris au même degré d'immunité par irradiation. Mais cela réduirait le temps d'observation de l'expérience.

Par ailleurs, ici également la méthode de suivie parasitémique des souris est sujette à des biais. En effet, la méthode de HERBERT et LUMSDEN est basée sur la comparaison de l'impression visuelle de l'expérimentateur avec des dessins pré-établis (**Annexe 7**). Ce qui peut donner des résultats différents en fonction des expérimentateurs et pour un même expérimentateur en fonction de son état.

3.2. Résultats de l'étude pharmacologique

3.2.1. Effets trypanocides in vitro

Les extraits aqueux de *Cassia sieberiana*, *Khaya senegalensis*, *Terminalia avicennioides* et *Boscia senegalensis* ont comparativement au Vériben[®], dont le pourcentage d'inhibition de la parasitémie après 1h d'incubation est 100, un effet inhibiteur de la parasitémie plus faible.

Par rapport au témoin négatif dont l'effet inhibiteur de la parasitémie est de 50%, les macérés aqueux de *Cassia sieberiana*, *Khaya senegalensis* et *Terminalia avicennioides* n'augmentent l'inhibition de la parasitémie que respectivement de 33%, 39% et 17%. Quant-à *Boscia senegalensis* il n'a aucun effet sur l'inhibition de la parasitémie après 1h d'incubation.

Le même phénomène s'observe sensiblement avec les décoctés aqueux de ces plantes. En effet comparés au témoin négatif dont l'effet inhibiteur de la parasitémie est de 67%, seuls *Cassia sieberiana* et *Terminalia avicennioides* ont un effet positif (33%) sur l'inhibition de la parasitémie in vitro.

La différence d'activité observée entre les macérés et les décoctés aqueux pourrait être liée à la nature même de ces extraits en termes de mode de préparation, de propriétés phytochimiques et toxicologiques. Néanmoins ces résultats sont comparables à ceux obtenus par SAWADOGO [53] qui avait mis en évidence l'effet trypanocide supérieur des macérés aqueux par rapport aux décoctés aqueux pour les mêmes plantes. Le fort pourcentage d'inhibition de la parasitémie des témoins négatifs pourrait s'expliquer par le fait qu'il s'agit du sang nature, sans P.S.G qui est le milieu de survie des trypanosomes. En effet, EUZEBY [28] a montré le rôle capital du métabolisme glucidique dans la nutrition des trypanosomes. Ce sont de gros consommateurs de glucose et l'inhibition de leur chaîne métabolique est d'ailleurs à la base de l'étude des substances trypanocides.

Dans tous les cas *Cassia sieberiana* et *Terminalia avicennioides* semblent avoir le plus d'effet sur l'inhibition de la parasitémie in vitro; ce résultat est comparable comparable à ceux obtenus par SAWADOGO [53] et TAMINI [56]. Cette différence d'efficacité observée entre les plantes utilisées pourrait s'expliquer par les différences de concentrations utilisées.

3.2.2. Effets trypanocides in vivo

Les résultats obtenus montrent que les macérés aqueux ont également un effet trypanocide supérieur à celui des décoctés aqueux.

En effet, quelque soit la stratégie utilisée, les décoctés aqueux de *Cassia sieberiana*, *Khaya senegalensis*, *Terminalia avicennioides* et *Boscia senegalensis* ne prolongent pas la durée de survie des souris traitées. Ces résultats sont confirmés par ceux obtenus en terme d'inhibition totale de la parasitémie dans la stratégie prophylactique.

Par ailleurs, avec les macérés aqueux, on a constaté que la stratégie curative a donné des résultats mitigés avec 17% de souris guéries (soit 1 souris sur 6 traitées) pour *Cassia sieberiana*, *Terminalia avicennioides* et *Boscia senegalensis*.

Ces mauvais résultats (1 souris guérie sur 6 traitées pour les macérés aqueux) peuvent s'expliquer par le fait que les concentrations auxquelles les extraits ont été utilisés sont des concentrations infra-curatives.

Les trypanosomes, en l'occurrence *Trypanosoma brucei brucei* bien que sanguicole peut aussi se localiser dans des refuges extravasculaires (tissu musculaire, nœud lymphatique, liquide céphalo-rachidien,...) [28]. Ces refuges difficiles d'accès aux produits utilisés pourraient également expliquer les résultats obtenus. C'est ce qu'on appelle la résistance comportementale [24]. D'autre part, le passage inverse des trypanosomes des refuges extravasculaires dans le sang est possible et explique diverses rechutes de la parasitémie et des symptômes après traitement y compris avec le produit de référence [28].

Par ailleurs, la guérison de la seule souris pourrait être liée à une réactivité immunitaire propre à celle-ci ; hypothèse qui conduit à l'éventualité d'une inefficacité des extraits aqueux de *Cassia sieberiana*, *Khaya senegalensis*, *Terminalia avicennioides* et de *Boscia senegalensis* dans le traitement de la TAA.

CONCLUSION GENERALE

La trypanosomose animale africaine est une des contraintes majeures au développement de l'élevage et à l'autosuffisance en protéines animales du continent. En effet, elle affecte 37 pays situés dans les régions potentiellement les plus productives d'Afrique dont 7 millions de savane humide. Les pertes annuelles de viande sont estimées à près de 5 milliards de dollars américains [45]. Face à un tel fléau, et vue les limites des méthodes modernes de lutte, de nouvelles alternatives pour combattre la TAA s'imposent.

Parmi celles-ci, l'éthno-médecine vétérinaire africaine est de plus en plus explorée. En effet dans plusieurs régions d'Afrique, les éleveurs financièrement démunis ont souvent recours aux plantes de leur environnement pour soigner leur bétail. Au nombre de celles-ci, *Cassia sieberiana*, *Khaya senegalensis*, *Terminalia avicennioides* et *Boscia senegalensis* sont utilisées pour la prévention et le traitement de la trypanosomose animale africaine.

Notre étude a pour objectif l'évaluation expérimentale sur des souris, du potentiel trypanocide réel des extraits aqueux de ces quatre plantes. Elle s'est déroulée en trois étapes :

- ❑ La détermination d'abord, in vitro et in vivo, de la concentration efficace de Vériben[®], produit trypanocide de référence utilisé ;
- ❑ Ensuite, la mise en évidence par des tests in vitro sur du sang de souris du pourcentage d'inhibition de la parasitémie des extraits aqueux de plantes utilisées ;
- ❑ Enfin, des tests in vivo pour déterminer le taux de survie et de guérison des souris traitées par les extraits aqueux de ces plantes.

Au terme de cette étude, il ressort que :

- ❖ Les concentrations efficaces de Vériben[®] sont de 10⁴ µg/ml et de 100 µg/ml respectivement in vitro et in vivo. Par ailleurs, aussi bien in vitro qu'in vivo, le Vériben[®] a un effet trypanocide supérieur à celui des extraits aqueux de plantes utilisées ;

- ☛ Les macérés aqueux ont un potentiel trypanocide nettement supérieur à celui des décoctés aqueux ;
- ☛ In vitro, *Cassia sieberiana* a le pourcentage d'inhibition de la parasitémie le plus élevé (83%). Il est suivi par *Terminalia avicennioides* (67% pour le macéré aqueux et 83% pour le décocté aqueux) ;
- ☛ In vivo, la stratégie curative a donné de meilleurs résultats comparée à la préventive. Quel que soit par ailleurs la stratégie utilisée, les décoctés aqueux n'ont aucun effet positif sur la survie et l'inhibition de la parasitémie des souris traitées. Les meilleurs résultats sont obtenus avec les macérés aqueux de *Cassia sieberiana*, *Terminalia avicennioides* et *Boscia senegalensis* avec en moyenne 17% de taux de guérison.

Au regard de nos résultats et des protocoles expérimentaux rapportés par la littérature, des doses plus élevées allant jusqu'à DL₅ pourrait être utilisées dans les études ultérieures. Une telle approche permettrait d'approfondir l'effet trypanocide de *Cassia sieberiana*, la plus active des drogues et de mettre en évidence sans doute l'activité trypanocide des autres extraits inactifs à nos doses d'étude. C'est pourquoi nous suggérons la reprise des études toxicologiques et pharmacologiques des extraits aqueux de *Cassia sieberiana*, *Khaya senegalensis*, *Terminalia avicennioides* et *Boscia senegalensis* afin de déterminer les doses curatives de ces drogues.

On ne peut toutefois exclure l'éventualité de l'inefficacité de ces plantes dans le traitement de la trypanosomose animale africaine.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **AKE-ASSI Y. (1992).** Contribution au recensement des espèces végétales utilisées traditionnellement sur le plan zootechnique et vétérinaire en Afrique de l'Ouest. Thèse : Méd. Vét. : Lyon
2. **AKOL G.O. et MURRAY M. (1986).** Parasite kinetics and immune responses in efferent prefemoral lymph draining skin reactions induced by tsetse transmitted *Trypanosoma congolense*. *Veterinary parasitology*. **19** : 281-293
3. **ARBONNIER M. (2000).** Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest. – Montpellier : CIRAD ; MNHN ; UICN. - 539p
4. **ATAWODI S.E.; AMEH D.A.; IBRAHIM S. et al. (2002).** Ingenous knowledge system for treatment of trypanosomiasis in Kaduna state of Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology*, **79** (2) : 279-282
5. **AUBREVILLE A. (1950).** Flore forestière Soudano-Guinéenne. –Paris : Société d'Editions Géographiques, Maritimes et Coloniales. - 523p
6. **AUTHIE E. (1984).** Mise en évidence d'une résistance aux trypanocides parmi les souches de *Trypanosoma congolense* récemment isolés au Burkina Faso. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop.* **37** : 219-236
7. **BA A.S. (1993).** Passé, présent et perspectives de l'Ethno-Médecine Vétérinaire Africaine : Séminaire africain inter-régional d'ethnopharmacopée vétérinaire, Ouagadougou, Burkina Faso, 15-22 avril 1993. -17p
8. **BALTZ T.; BALTZ D.; GIROND C. et al. (1985).** Cultivation in a semi-defined medium of animal infective forms of *Trypanosoma brucei*, *T. equiperdum*, *T. evansi*, *T. rhodensiense* and *T. gambiense*. *EMBO Journal*. **4, 5** : 1273-1277
9. **BARRET J.C. (1997).** Control strategies for African trypanosomiasis: their sustainability and effectiveness. In: HIDE G., MOTRAN J.C., COOMBS G.H. et HOLMES P.H. *Trypanosomiasis and leishmaniasis*. Wallingford: CAB Int. eds. pp 347-362

10. **BOLY H.; THOMBIANO D.; HUMBLLOT P. et al. (1991).** Influence de *Trypanosoma congolense* sur la fonction sexuelle de taurins Baoulé. Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop. **44** : 475-480
11. **BOYT W.P. (1986).** Guide pratique pour le diagnostic, le traitement et la prévention de la trypanosomiase animale africaine. -Rome : FAO. -115p
12. **BRODEN A. (1904).** Les infections à trypanosomes au Congo chez l'Homme et les animaux : Communication préliminaire. Bulletin de la Société d'Etudes Coloniales : 116-139
13. **CHARTIER C.; ITARD J.; MOREL P.C. et al. (2000).** Précis de parasitologie vétérinaire tropicale. Coopération française : France. -p305
14. **CHICOTEAU P. ; BASSINGA A. ; SIDIBE I. et al. (1990).** Influence de l'exposition à un risque trypanosomien élevé sur la reproduction des vaches Baoulé au Burkina Faso. Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux. **43** (4) : 473-477
15. **CIRDES (2001).** Diagnostic et contrôle des hémoparasitoses animales et leurs vecteurs. Cours International de formation tenu du 5 au 17 novembre 2001 à Bobo-Dioulasso, Burkina Faso
16. **CIULEI I. (1982).** Methodology for analysis of vegetable drug. Practical manual on industrial utilization of medicine and aromatic plants. Bucharest: ministry of chemical industry. -pp16-27
17. **CLAUSEN P.H.; SIDIBE I.; BASSINGA A. et al. (1993).** Pathogenesis and pathology of African trypanosomiasis in Baoulé, N'Dama / Baoulé, cross bred and Zebu cattle in Burkina Faso 1. Clinical performance under high natural tsetse challenge. Tropical Medicine and Parasitology. **44**: 99-107

18. **CLAUSEN P.H.; SIDIBE I.; KABORE I. et al. (1992).** Development of multiple drug resistance of *Trypanosoma congolense* in Zebu cattle under high natural tsetse fly challenge in the pastoral of Samorogouan, Burkina Faso. Acta. Trop. **51**: 229-236
19. **CODJIA V.; MULATU W.; MAJIWA P.A.O. et al. (1993).** Epidemiology of bovine trypanosomiasis in the Ghibe Valley, Southwest Ethiopia. Occurrence of populations of *Trypanosoma congolense* resistant to diminazene, isometamidium and homidium. Acta. Trop. **53**: 151-163
20. **COULOMB J.; GRUVEL J.; MOREL P.C. et al. (1977).** LA TRYPANOTOLERANCE : synthèse bibliographique des connaissances actuelles. –Maisons Alfort : IEMVT. France. -277p
21. **DARGIE I.D. ; MURRAY P.K. ; MURRAY M. et al. (1979).** Bovine trypanosomiasis the red cell kinetics of Ndama and Zebu cattle infected with *Trypanosoma congolense*. -Canada: UN. -64p
22. **DESQUESNES M. (1997).** Les trypanosomoses du bétail en Amérique Latine, étude spéciale dans le plateau des Guyanes. Thèse : Doctorat en Parasitologie : Lille
23. **DIA M.L. (1997).** Epidémiologie de la trypanosomose cameline à *T. evansi* en Mauritanie. Thèse : Doctorat 3^e cycle : Université Montpellier I
24. **DIARRA B. (2001).** Caractérisation de la sensibilité à l'isoméamidium et au diminazène des phénotypes de trypanosomes isolés dans la province du Kéné Dougou au Burkina Faso. Thèse : Doctorat 3^e cycle : Dakar
25. **DIARRA B. ; DIALL O. ; GEERTS S. et al. (1998).** Field evaluation of the prophylactic effect of an isometamidium sustained- released device against trypanosomiasis in cattle. Antimicrobials agents and chemotherapy. USA. **42**: 1012-1014

- 26. DUSZENKO M.; FERGUSSON M.A.J.; LAMONT G.S. et al. (1985).** Cysteine eliminates the feeder cell requirement for cultivation of *Trypanosoma brucei* bloodstream forms in vitro. *Journal of Experimental Medicine*. **162** : 1256-1263
- 27. EMERY D.L.; WELLS P.W. et TENYWA T. (1980).** *Trypanosoma congolense*: specific transformation in vitro of leukocytes from infected or immunized cattle. *Experimental Parasitology*. **50**: 358-368
- 28. EUZEBY J. (1986).** Protozoologie médicale comparée. Vol 1 : Généralités-Sarcomastigophores (Flagellés, Rhizopodes)-Ciliés. –Lyon : Fondation Mérieux. -pp 463
- 29. GARDINER P.R. (1989).** Recent studies of the biology of *Trypanosoma vivax*. *Advances in Parasitology*. **28**: 229-316
- 30. GARDINER P.R. and MAHMOUD M.M. (1990).** Salivarian trypanosomes causing disease in livestock outside Sub-Saharan Africa. In: *Parasitic protozoa*, J.R. BAKER, Academic press. USA. **3**: 1-66
- 31. GEERTS S. et HOLMES P.H. (1998).** Drug management and parasite resistance in bovine trypanosomiasis in Africa. PAAT Technical and Scientific series, **1**: pp 31
- 32. HAMADAMA H. (1982).** La lutte contre la trypanosomose bovine sur le plateau de l'Amadaoua au Cameroun. Thèse: Méd. Vét: Dakar; (17)
- 33. HERBERT W.J. et LUMSDEN W.H.R. (1976).** *Trypanosoma brucei*: a matching method for estimating the host parasitemia. *Exp Practical, aol*. **40**: 427-431
- 34. HIGUCHI R. (1989).** PCR technology. In : Principles and applications for DNA amplification. Ed. H. A. ERLICH, Stockton Press, Stockton, U. K., 31-37

- 35. HODGE H.C. et STERNER J.H. (1943).** Determination of substances acute toxicity by LD50. American industrial hygien association. **10**: -p93
- 36. HOSTE C.M. (1987).** In Productions animales dans les régions d'Afrique infestées par les glossines. Compte rendu de réunion, 23-27 novembre 1987. Nairobi, Kenya. CIPEA / ILRAD, pp 530
- 37. ITARD J. (1986).** Les Glossines ou Mouches tsé-tsé. Institut d' Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux. France. pp 100
- 38. JAHNK H.E. (1988).** Livestock production systems in livestock developement in tropical Africa. Kiel, FRG: *Kieler Wissenschaftvalag Vauk.* pp 280
- 39. KERHARO J. et ADAM J.C. (1974).** La pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques. Paris : Ed. Vigot et Frères. - 1011p
- 40. LAVERAN A. (1902).** Sur un nouveau trypanosome des bovidés. Comptes rendus de l'Académie des Sciences de Paris. **134** : 512p
- 41. LEAK S.G.A. (1999).** Tsetse biology and ecology. Their role in the epidemiology and control of trypanosomiasis. CABI Publishing (CAB International) in association with the International livestock Research Institute.- pp 568
- 42. LEFEVRE P.C. ; BLANCOU J. et CHERMETTE R. (2002).** Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail en Afrique tropicale. Coopération française : France. -p312
- 43. LETOUZY R. (1970).** Manuel de Botanique forestière. Afrique Tropicale. Tome 2A ; Famille (1ere partie). Centre Technique Forestier Tropical, 1970 : pp 175-183

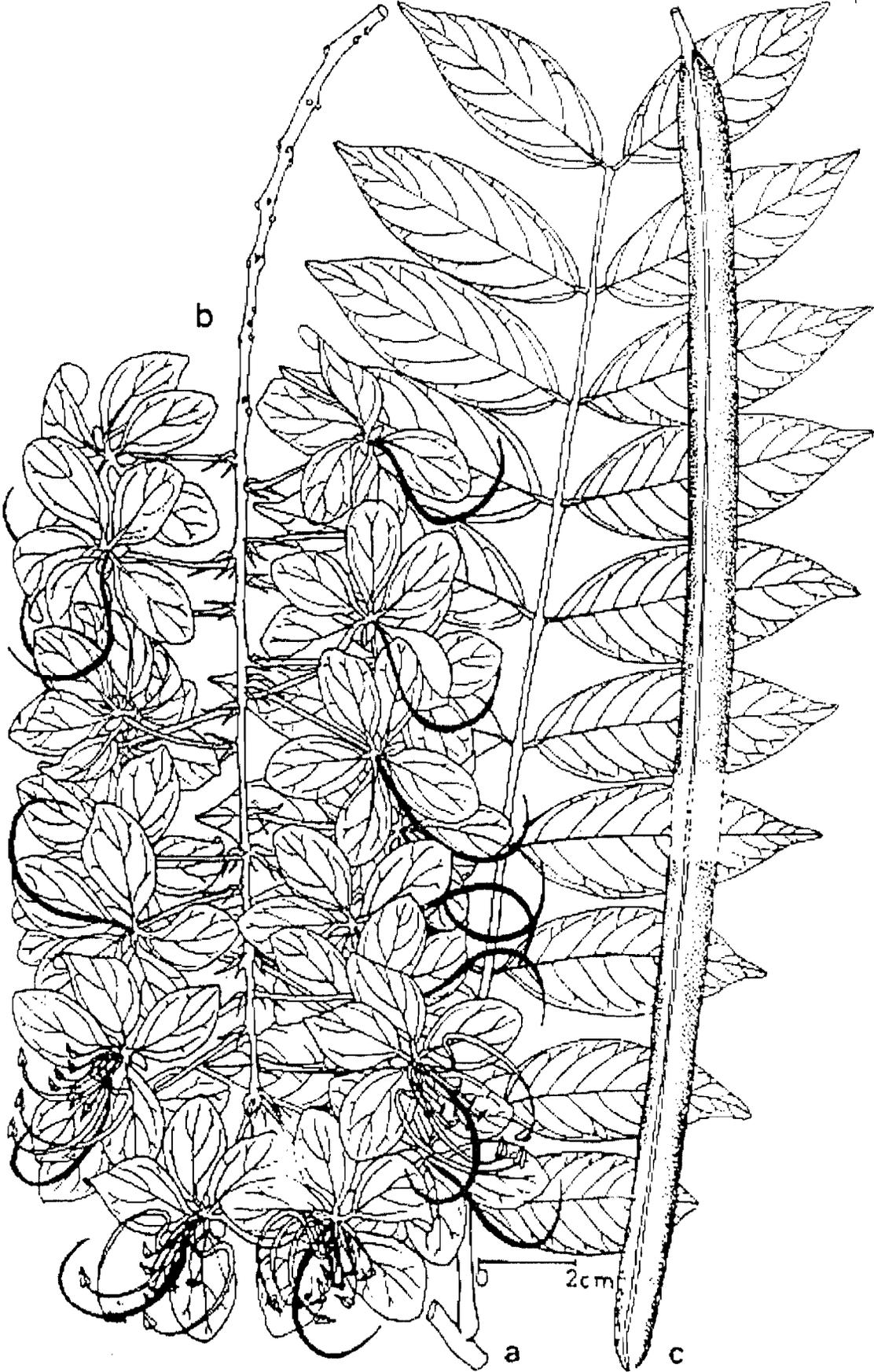
- 44. MEHLITZ D. (1986).** Le réservoir animal de la maladie du sommeil à *Trypanosoma brucei gambiense* : Etude et Synthèse de l'I.E.M.V.T. **18**
- 45. MORTELMANS J. (1986).** Quelques aspects économiques en rapport avec la parasitologie vétérinaire. *Tropicultura*. **4**: 112-116
- 46. MURRAY M.; MORRISON W.I.; MURRAY P.K. et Coll. (1985).** Trypanotolerance and review. *World Animal Review*. London: FAO; 1985- 137p
- 47. MURRAY M.; MURRAY P.K. and McINTYRE W.I.M. (1977).** An improved parasitological technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. *Trans. Royal Soc. Trop. Méd. Hyg.* **71**: 325-326
- 48. MUSA M. M. (2000).** Guide de la gamme des trypanocides. France: Merial : -p13
- 49. PEREGRINE A.S. (1994).** Chemotherapy and delivery systems: haemoparasites. *Vét parasitol.* **54**: 223-248
- 50. PLIMMER H.G. et BRADFORD J.R. (1899).** A preliminary note on the morphology and distribution of the organism found in the tsetse fly disease. *Proceedings of the Royal Society of London, B* **65**, 274
- 51. POLITZAR H. et CUISSANCE D. (1982).** SIT in the control and eradication of *Glossina palpalis gambiensis*. In: IAEA Proc of Conference on sterile male insect release for insect pest control, pp 101-109
- 52. POUSSET J. L. (1989).** Plantes médicinales africaines : Utilisations pratiques. –Paris : ACCT. -156p
- 53. SAWADOGO R. (2003).** Effet trypanocide des plantes médicinales du Burkina Faso : mise au point d'une méthode d'évaluation comparée d'extraits de quatre plantes sur les trypanosomes du bétail en Afrique. Thèse : Doctorat en pharmacie : Université de Ouagadougou

- 54. SIDIBE I. (1996).** Variabilité génétique de *Trypanosoma congolense*, agent de la trypanosomose animale : implications taxonomiques et épidémiologiques. Thèse : Doctorat ès Sciences : Université Montpellier II
- 55. SOFOWORA A. (1996).** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Traduit par Felicitas Cepleanu, Docteur ès Sciences, Editions KARTHALA; Académie suisse des sciences naturelles. -371p
- 56. TAMINI L. (1994).** Etude pharmacologique préliminaire de *Terminalia avicennioides* Guill. et Perr. (Combretaceae) : action sur la trypanosomose animale africaine. Mémoire de D.E.A. : Sciences Biologiques Appliquées : Université de Ouagadougou: 63p
- 57. THIOUNE O. (1985).** Contribution à l'étude de l'action fébrifuge et anti-inflammatoire des écorces de *Khaya senegalensis*. Mémoire de D.E.A. : Biochimie et Chimie des substances naturelles : Université de Dakar
- 58. TORO M.; LEON E. and LOPEZ R. (1987).** Haematocrit centrifugation technique for the diagnosis of bovine trypanosomiasis. -Rome: FAO, 1987
- 59. TOURE S.M. (1975).** Diagnostic des trypanosomiasés animales. -Dakar : LNERV. -11p
- 60. TOURE S.M. ; GUEYE A. et SEYE M. (1978).** Expérience de pathologie comparée entre les bovins zébus et N'Dama soumis à l'infection naturelle par des trypanosomes pathogènes. Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux **31** (3) : 293-313
- 61. TRAIL J.C.M. ; d'IETEREN G.D.M. ; FERON A. et al. (1991).** Effect of trypanosome infection, control of parasitemia and control of anemia development on productivity of N'Dama cattle. Acta Tropica. **48**: 37-45
- 62. TREVAN A.J.W. (1927).** The error of determination of toxicity. Proc. Royal. Soc. 1927; 101B: 483-514

- 63. URQUHART G.M. (1988).** The pathogenesis and immunology of African trypanosomiasis in domestic animals. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and hygiene. London: FAO; -p76
- 64. WELLDE B.T.; REARDON M.J. et CHUMO D.A. (1989).** Cerebral trypanosomiasis in naturally infected cattle in the lambwe Valley, South Nyanza. Kenya. Annals of Tropical Medicine and Parasitology. **83** (suppl. 1): 151-160
- 65. WHITESIDE E.F. (1960).** Recent work in Kenya on the control of drug-resistant cattle trypanosomiasis. In: Proc. 8th Meeting of ISCTRC, Jos Nigeria, 1960. CCTA Publ, (62): -pp 141-154
- 66. WOO P.T.K. (1970).** The haematocrit centrifuge technique for diagnosis of African trypanosomiasis. Acta trop. **27**: 384-386
- 67. ZIEMANN H. (1905).** Beitrag zur Trypanosomenfrage. Cbl. Bakt. (I. Abt.). **38**: 307-429
- 68. ZWART D.; PERIE N.M.; KEPPLER A. et al. (1982).** Comparaison of methods for the diagnostic of trypanosomiasis in East African domestic ruminants. -Rome: FAO; 1982 – p28

ANNEXES

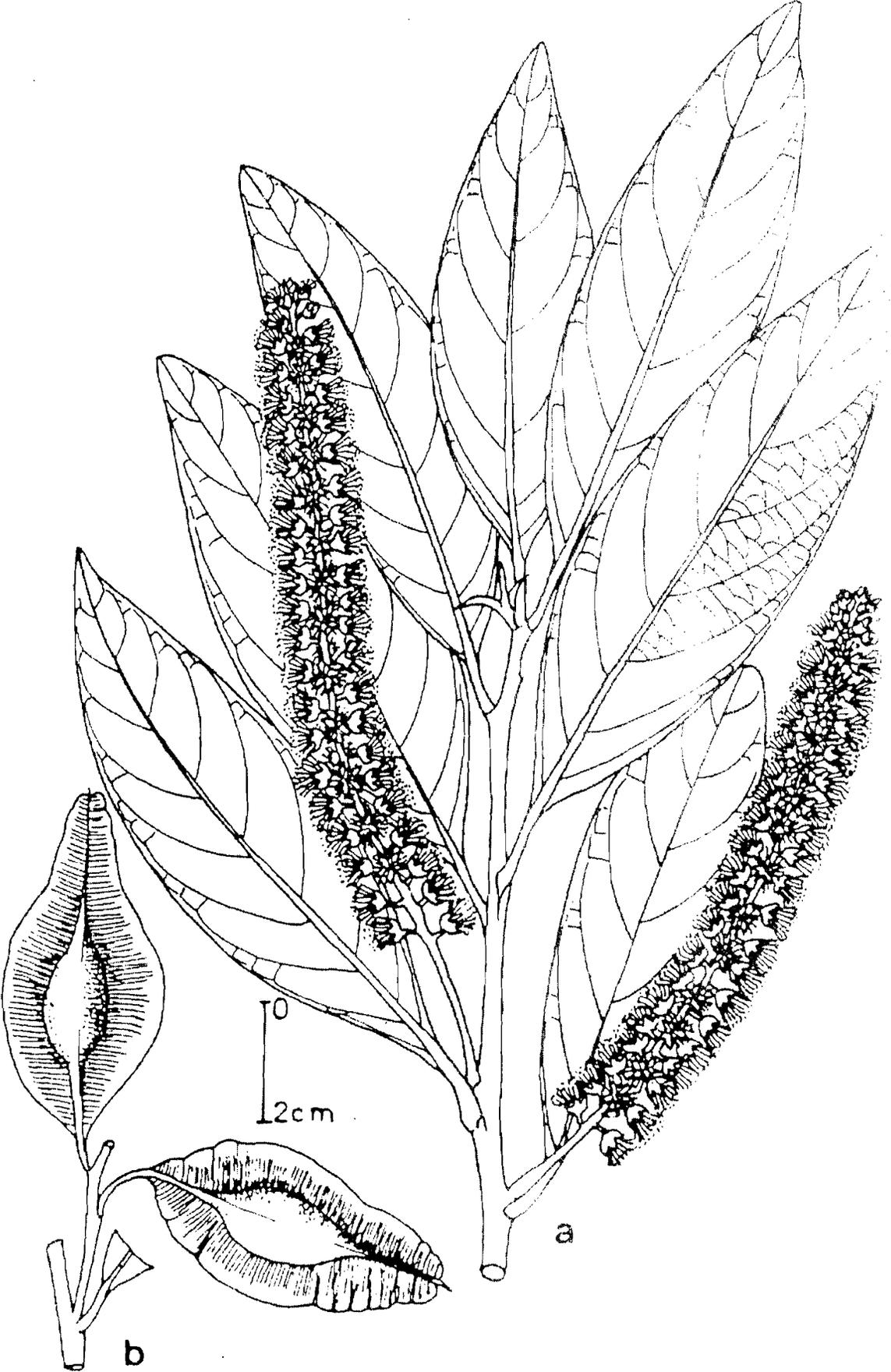
ANNEXE 1: *Cassia sieberiana*: a. feuillet; b. inflorescence; c. gousse



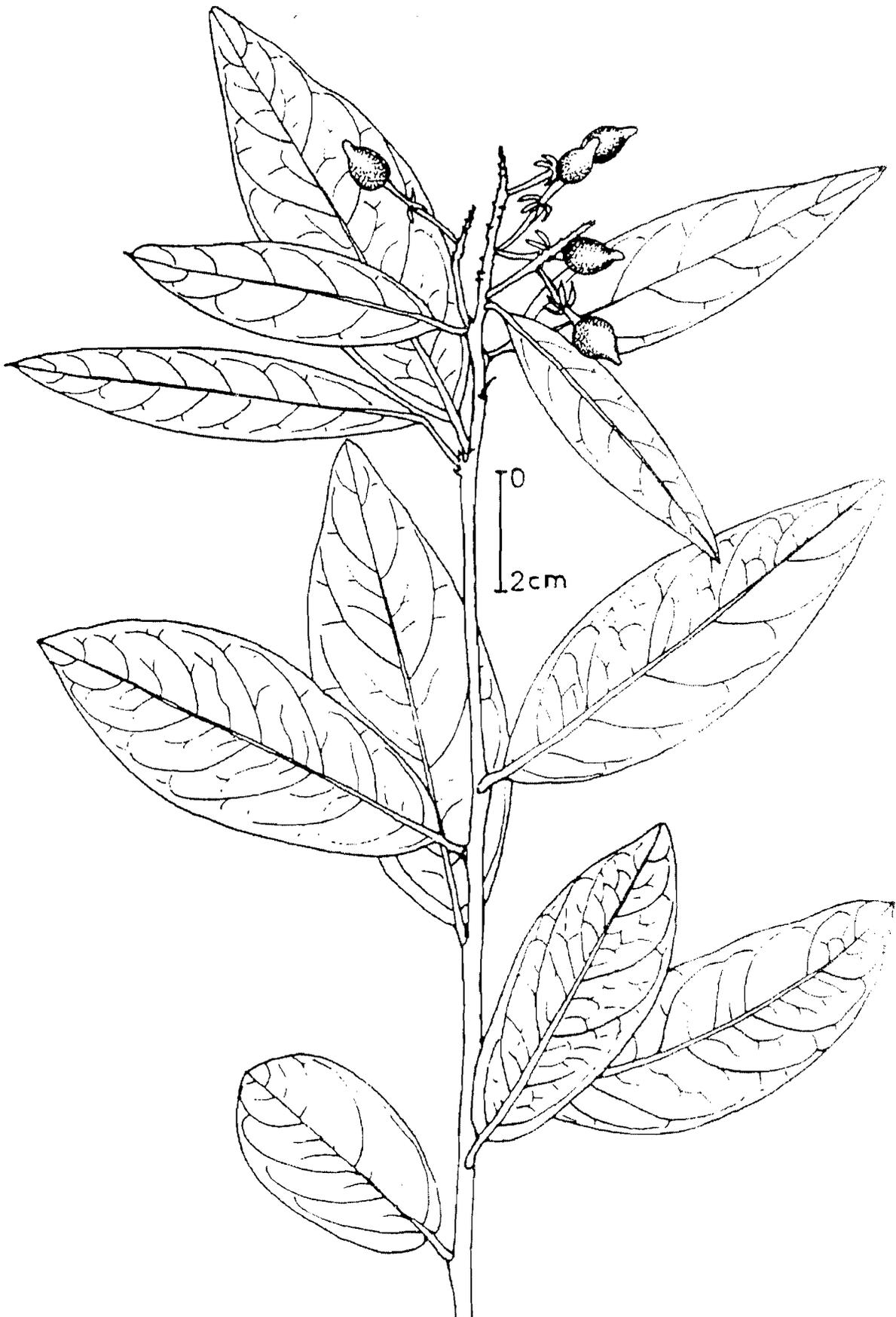
ANNEXE 2 : *Khaya senegalensis* : a. rameau florifère ; b. fleurs ; c. fruits



ANNEXE 3 : *Terminalia avicennioides* : a. rameau florifère ; b. fruits



ANNEXE 4 : *Boscia senegalensis* : rameau avec feuilles et fruits



ANNEXE 5a

Projet phytotrypanocide : Protocole d'étude de l'activité trypanocide in vitro du Veriben®

TESTS TRYPANOCIDES IN VITRO : recherche d'une dilution témoin

1. Peser 2,3g de granulé de veriben, soit 1,05g de principe actif ;
2. Pré diluer dans 10ml d'eau distillée stérilisée (**solution mère de veriben**) ;
3. Diluer en partie le sang cardiaque hyperparasité recueilli dans le tube hépariné avec du tampon PSG afin de déterminer sa concentration en trypanosomes par ml à l'aide de la cellule de Neubauer; elle est donnée par la formule :

$$\text{Trypanosomes / ml} = T \times \text{facteur de dilution de l'échantillon de départ} \times 10^4$$

T= nombre de trypanosomes dénombrés.

4. Diluer de nouveau le sang hyperparasité avec du sang de souris NMRI non infectées de façon à avoir une solution finale à la concentration de 10^6 trypanosomes/ml ;
5. Préparer la solution test 1 en mélangeant 3,6ml de sang parasité avec 400µl de la solution mère de veriben ;
6. Diluer ensuite séparément en 3 fois successives en ajoutant à chaque étape 200µl de la dilution précédente à 1,8ml de sang parasité ; on obtient les concentrations suivantes : solution test 2= 1000µg/ml de sang incubé ; solution test 3= 100µg/ml de sang incubé ; solution test 4= 10µg/ml de sang incubé ;

7. Préparer pour chacune des solutions test des témoins correspondants en remplaçant le veriben dilué par le tampon PSG, et des témoins correspondants en remplaçant le veriben dilué par l'eau distillée stérilisée ;
8. Effectuer rapidement un comptage des trypanosomes dans toutes les dilutions (tests et témoins) à l'aide de la cellule de Neubauer améliorée à T0 ;
9. Distribuer en duplicate un volume de **100µl**, les suspensions de trypanosomes préparées à l'étape 3, 4, et 5 en respectant le dispositif ci-dessous : couvrir trois plaques ELISA et les étiqueter 30mn, 1h et 3h.
Puits A1-A2 : solution test 1 ; Puits A3-A4 : Témoin correspondant contenant le tampon PSG à la place du veriben en respectant le même volume de 100µl ; Puits A5-A6 : Témoin correspondant contenant l'eau distillée à la place du veriben en respectant le même volume de 100µl ;
Puits B1-B2 : solution test 2 ; Puits B3-B4 : Témoin correspondant avec le PSG ; B5-B6 : Témoin correspondant avec l'eau distillée ; Puits C1-C2 : solution test 3 ; C3-C4 : Témoin correspondant avec le PSG ; C5-C6 : Témoin correspondant avec l'eau distillée ; Puits D1-D2 : solution test 4 ; D3-D4 : Témoin correspondant avec le PSG ; D5-D6 : Témoin correspondant avec l'eau distillée ;
10. Incuber les plaques à 37°C en atmosphère humide avec une légère agitation ;
11. Sortir successivement les plaques correspondant à 30mn, 1h, et 3h, et procéder à un comptage des trypanosomes comme précédemment (cf. étape 4) ;
12. Consigner tous les résultats dans le cahier de laboratoire mis à cet effet.
NB : (1) Le protocole doit être très bien assimilé avant le début des manipulations ; (2) Préparer tous les solutions test et les témoins

correspondants avant de saigner les souris ; (3) Les tests seront repris trois fois dans les mêmes conditions par le même technicien pour évaluer la répétabilité des résultats ; (4) Si les suspensions sont très troubles, diluer 1/1000 avec du PSG avant de procéder au comptage dans la cellule.

ANNEXE 5b

TESTS TRYPANOCIDES IN VITRO : recherche d'une dilution témoin (suite)

- 1) test 1 (**10000µg/ml**) = 3,6 ml sang parasité + 400 µl de la solution mère de Vériben®;
- 2) test 4 (**10µg/ml**) = 2 ml de sang parasité + 2µl de test 1;
- 3) test 5 (**5µg/ml**) = 1 ml de sang parasité + 500µl de test 4;
- 4) test 6 (**2,5µg/ml**) = 1 ml de sang parasité + 500µl de test 5;
- 5) test 7 (**1µg/ml**) = 1ml de sang parasité + 400µl de test 6;
- 6) Préparer pour chacune des solutions tests, des témoins correspondant en remplaçant le veriben dilué par le PSG et des témoins en remplaçant le veriben dilué par l'eau distillée stérilisée.
- 7) Comptage à To
- 8) Distribution dans les puits de 3 plaques ELISA et ceci en duplicate un volume de **100µl** des solutions tests 5 ; 6 ; 7 et des témoins correspondants suivant le dispositif ci-après :
Puits A1 A2 : test 5 ; A3 A4 : témoin PSG; A5 A6: témoin H2O
Puits B1 B2 : test 6 ; B3 B4 : témoin PSG ; B5 B6 : témoin H2O
Puits C1 C2 : test 7 ; C3 C4 : témoin PSG ; C5 C6 : témoin H2O

- 9) Sortir successivement les plaques correspondant à 30mn, 1h et 3 h et compter.

ANNEXE 5c

TESTS TRYPANOCIDES IN VITRO : recherche d'une dilution témoin (suite et fin)

- 1) test1 (**10000µg/ml**) = 3,6ml sang infecté + 400µl de la solution mère de veriben;
- 3) test 4 (**10µg/ml**) = 2µl test 1 + 2ml sang infecté;
- 4) test 8 (**0,5µg/ml**) = 100µl test 4 + 2ml sang infecté;
- 5) test 9 (**0,25µg/ml**) = 500µl test 8 + 1ml sang infecté;
- 6) test 10 (**0,1µg/ml**) = 400µl test 9 + 1ml sang infecté;
- 7) Comptage à T0 (des dilutions tests 8, 9 et 10); distribution dans les puits des plaques ELISA ; puis comptage à T30mn T1H T3H.

ANNEXE 6

TESTS TRYPANOCIDES IN VIVO : recherche d'une dilution témoin

- 1) Sélectionner 8 lots de 3 souris NMRI mâles ou femelles pesant en moyenne 30g;
- 2) les infecter avec la souche *T. brucei brucei* à raison de 0,2ml/souris; la suspension de départ doit être à la concentration de 10^3 trypanosomes/ml;
- 3) à la première parasitémie, les traiter avec différentes dilutions de Vériben® à raison de 0,3ml /souris.

Lot	1	2	3	4	5	6	7	8
Concentration (µg/ml)	10^4	10^3	100	75	50	25	10	témoin négatif

4) Protocole de dilution:

- peser 2,3g de granulé de Vériben® soit 1,05g de principe actif, et le diluer dans 10ml d'eau distillée: solution mère (SM) de Vériben® = 10^5 µg/ml;
- test 1 (10^4 µg/ml) = 300µl SM + 3ml d'eau distillée;
- test 2 (1000µg/ml) = 300µl test 1 + 3ml d'eau distillée;
- test 3 (100µg/ml) = 300µl test 2 + 3ml d'eau distillée;
- test 4 (75µg/ml) = 10µl SM + 13ml d'eau distillée;
- test 5 (50µg/ml) = 500µl test 3 + 1ml d'eau distillée;
- test 6 (25µg/ml) = 500µl test 5 + 1ml d'eau distillée;
- test 7 (10µg/ml) = 400µl test 6 + 1ml d'eau distillée.

Annexe 1

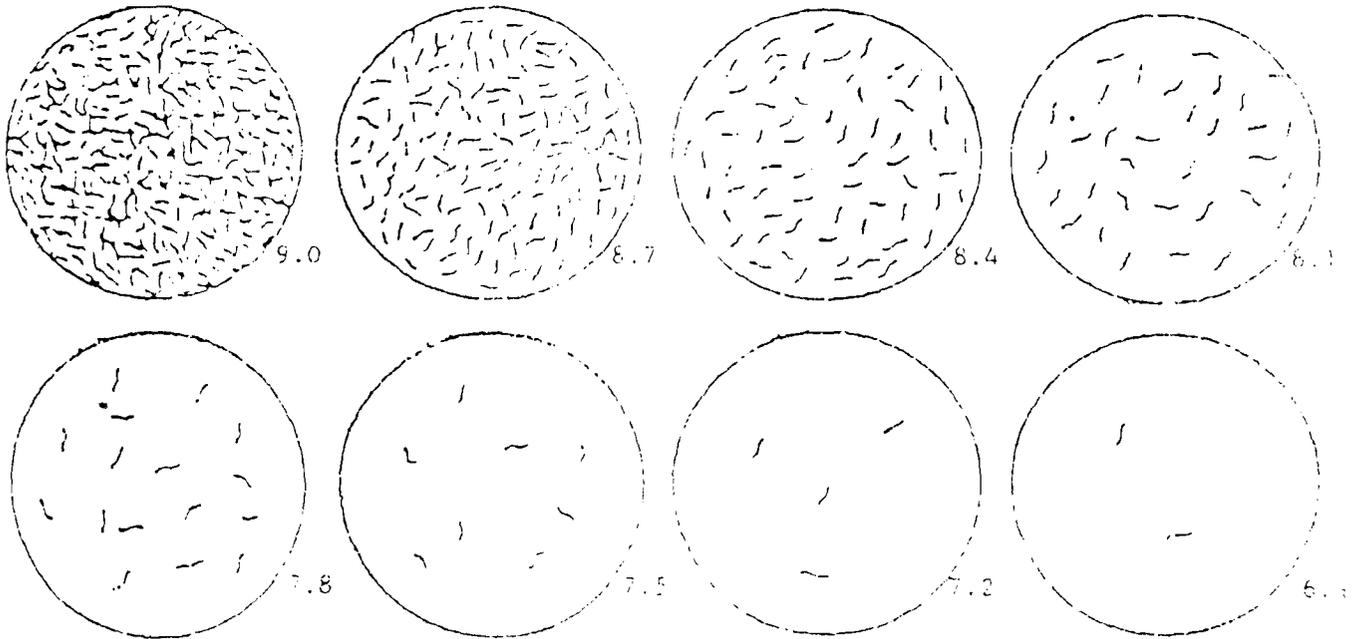
C. - Techniques de dénombrement des trypanosomes

① Méthodes rapides d'estimation de la parasitémie

☛ méthode de Herbert et Lumsden ("matching method")

Utilisable lors du diagnostic des trypanosomes sur état frais (pas de concentration)

Examiner attentivement plusieurs champs de l'état frais et comparer l'impression visuelle avec les dessins ci-dessous. Trouver le dessin se rapprochant le plus de l'impression visuelle. Le chiffre indique l'antilog du nombre de trypanosomes par ml



5 champs
4-5 tryps = 6.6
2-3 tryps = 6.3

10 champs
2-3 tryps = 6.0

20 champs
2-3 tryps = 5.7
1 tryp = 5.4
0 tryp = < 5.4

antilog	5.4	5.7	6	6.3	6.6	6.9	7.2	7.5	7.8	8.1	8.4	8.7	9
nb de trypanos par ml ($\times 10^6$)	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	125	250	500	1000

4:05

ANNEXE 8

TESTS PHYTOTRYPANOCIDES IN VITRO

1) Diluer le sang cardiaque hyperparasité, après comptage à l'aide de la cellule de Neubauer, de façon à avoir une concentration en trypanosomes de départ de 10^6 trypanosomes / mL ;

2) Pour les extraits (macérés et décoctés aqueux), utiliser les mêmes concentrations que celles utilisées dans les tests in vivo ; pour le Vériben®, la concentration efficace à 1h d'incubation est de 10000µg / ml;

3) Distribuer en duplicate dans les puits, suivant le procédé ci-après, 100µl de sang parasité auquel il faut ajouter la même quantité d'extraits ou de vériben (volume total / puits = 200µl) ; couvrir deux plaques ELISA et les étiqueter T0 et T1h :

Puits A1 A2 : sang parasité + Cassia ;

Puits B1 B2 : sang parasité + Khaya ;

Puits C1 C2 : sang parasité + Terminalia ;

Puits D1 D2 : sang parasité + Boscia ;

Puits E1 E2 : sang parasité + Vériben (témoin positif) ;

Puits F1 F2 : sang parasité (témoin négatif)

4) Faire un comptage à T0 (Plaque T0);

5) Incuber la plaque T1h à 37°C sous atmosphère humide avec une légère agitation pendant 1h ; la faire sortir et faire un comptage à l'aide de la cellule de Neubauer;

6) Reprendre le test 3 fois dans les mêmes conditions.

ANNEXE 9

TESTS PHYTOTRYPANOCIDES IN VIVO

- 1) Sélectionner 132 souris NMRI femelles pesant en moyenne 30g.
- 2) Les répartir en 12 lots suivant le tableau ci-après; dans chaque lot 6 souris seront traitées 1h avant infection (Jo) et les 6 autres à la première parasitémie (Jp) :
S = souris

Macérés aqueux					
	Cassia (12mg/ml) lot 1	khaya (2,5mg/ml) lot 2	Terminalia (2,5mg/ml) lot 3	Boscia (25mg/ml) lot 4	Témoin positif (veriben) lot 5
Jo	6 s	6 s	6 s	6 s	6 s
Jp	6 s	6 s	6 s	6 s	6 s
Témoin négatif lot 6	6 souris infectés ne recevant pas de traitement (eau distillée stérilisée)				

Décoctés aqueux					
	Cassia (5mg/ml) lot 1	khaya (2mg/ml) lot 2	Terminalia (2mg/ml) lot 3	Boscia (25mg/ml) lot 4	Témoin positif (veriben) lot 5
Jo	6 s	6 s	6 s	6 s	6 s
Jp	6 s	6 s	6 s	6 s	6 s
Témoin négatif lot 6	6 souris infectés ne recevant pas de traitement (eau distillée stérilisée)				

3) Protocole de dilution :

MACERES AQUEUX

- *Cassia sieberiana*

- concentration requise : **12mg/ml**
- Préparation : 1,2g + 25ml d'eau distillée (**48mg/ml**) : diluer ensuite au 1/4

- *khaya senegalensis*

- concentration requise : **2,5mg/ml**
- Préparation : 1,25g + 50ml d'eau distillée (**25mg/ml**) : Diluer ensuite au 1/10

- **Terminalia avicenoides**

- concentration requise : **2,5mg/ml**
- Préparation : 1,25g + 50ml d'eau distillée (**25mg/ml**) :
Diluer ensuite au 1/10

- **Boscia senegalensis**

- concentration requise : **25mg/ml**
- Préparation : 1,25g + 50ml d'eau distillée

DECOCTES AQUEUX

- **Cassia sieberiana**

- concentration requise : **5mg/ml**
- Préparation : préparer une solution de **25mg/ml** puis diluer
au 1/5

- **khaya senegalensis**

- concentration requise : **2mg/ml**
- Préparation : 2g + 250ml d'eau distillée (**8mg/ml**) puis
diluer au 1/4

- **Terminalia avicenoides**

- concentration requise : **2mg/ml**
- Préparation : 2g + 250ml d'eau distillée (**8mg/ml**) puis
diluer au 1/4

- **Boscia senegalensis**

- concentration requise : **25mg/ml**
- Préparation : 1,25g + 50ml d'eau distillée

TEMOIN POSITIF: Vériben®

$$DLo = 100\mu\text{g/ml} = 0,1\text{mg/ml} = 1\text{mg/kg}$$

- 4) volume de sang à inoculer = 0,2ml/souris à raison de 10^6 trypanosomes/souris;
 - 5) volume d'extrait à inoculer = 0,3ml/souris soit 1/100 du poids;
 - 6) suivi parasitologique chaque jour jusqu'au 10ème jour puis 2 x /semaine jusqu'au 45è jour; parallèlement enregistrer quotidiennement les signes cliniques et 1 x /semaine le poids vif corporel des souris en expérimentation. Noter le nombre d'animaux morts par jour et par lot.
-

ANNEXE 10

Pourcentage d'inhibition in vitro de la parasitémie : Recherche du solvant de dissolution

	T 30mn	T 1h	T 3h
10000µg/ml			
Témoin PSG	33	89	100
Témoin eau distillée	50	100	100
1000 µg/ml			
Témoin PSG	25	67	100
Témoin eau distillée	50	89	100
100 µg/ml			
Témoin PSG	25	66	89
Témoin eau distillée	25	70	100
10 µg/ml			
Témoin PSG	23	50	100
Témoin eau distillée	30	60	100
5 µg/ml			
Témoin PSG	23	30	40
Témoin eau distillée	33	40	40

	T 30mn	T 1h	T 3h
2,5 µg/ml			
Témoin PSG	20	25	30
Témoin eau distillée	20	25	30
1 µg/ml			
Témoin PSG	18	20	25
Témoin eau distillée	18	20	25
0,5 µg/ml			
Témoin PSG	15	15	20
Témoin eau distillée	20	20	20
0,25 µg/ml			
Témoin PSG	15	15	20
Témoin eau distillée	20	20	20
0,1 µg/ml			
Témoin PSG	15	15	20
Témoin eau distillée	20	20	20

SERMENT DES VETERINAIRES DIPLOMES DE DAKAR

<< Fidèlement attaché aux directives de Claude BOURGELAT, fondateur de l'enseignement vétérinaire dans le monde, je promets et je jure devant mes maîtres et mes aînés :

- ✓ D'avoir en tous moments et en tous lieux le souci de la dignité et de l'honneur de la profession vétérinaire ;
- ✓ D'observer en toutes circonstances les principes de correction et de droiture fixés par le code de déontologie de mon pays ;
- ✓ De prouver par ma conduite, ma conviction, que la fortune consiste moins dans le bien que l'on a, que dans celui que l'on peut faire ;
- ✓ De ne point mettre à trop haut prix le savoir que je dois à la générosité de ma patrie et à la sollicitude de tous ceux qui m'ont permis de réaliser ma vocation.

**QUE TOUTE CONFIANCE ME SOIT RETIRER S'IL
ADVIENT QUE JE ME PARJURE >> !**

LE (LA) CANDIDAT (E)

**VU
LE DIRECTEUR
DE L'ECOLE INTER-ETATS
DES SCIENCES ET MEDECINE
VETERINAIRES DE DAKAR**

**VU
LE PROFESSEUR RESPONSABLE
DE L'ECOLE INTER-ETATS DES
SCIENCES ET MEDECINE
VETERINAIRES DE DAKAR**

**VU
LE DOYEN
DE LA FACULTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE
DE L'UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP
DE DAKAR**

**LE PRESIDENT
DU JURY**

**VU ET PERMIS D'IMPRIMER _____
DAKAR, LE _____**

**LE RECTEUR, PRESIDENT DE L'ASSEMBLEE
DE L'UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP
DE DAKAR**

**ETUDE DU POTENTIEL TRYPANOCIDE D'EXTRAIT
PLANTES MEDICINALES POUR LE TRAITEMENT
TRYPANOSOMOSE ANIMALE AFRICAINE**

**REVUE DE
LA**

RESUME

La TAA est une maladie hautement préjudiciable à l'économie de l'élevage en Afrique. Les contraintes liées aux méthodes modernes de lutte (lutte antivectorielle ; chimiothérapie et/ou chimioprophylaxie) notamment la chimiorésistance ont conduit à l'exploration de nouvelles alternatives pour combattre cette maladie. Parmi celles-ci, on note l'utilisation de plantes médicinales dont *Cassia sieberiana*, *Khaya senegalensis*, *Terminalia avicennioides* et *Boscia senegalensis*, objets de nos investigations.

Les résultats des études pharmacologiques portant sur le potentiel trypanocide des macérés et décoctés aqueux de *Cassia sieberiana*, *Khaya senegalensis*, *Terminalia avicennioides* et *Boscia senegalensis* ont montré que globalement les macérés aqueux ont un potentiel trypanocide nettement supérieur à celui des décoctés aqueux. In vitro, *Cassia sieberiana* a le pourcentage d'inhibition de la parasitémie le plus élevé (83%). Il est suivi par *Terminalia avicennioides* (67% pour le macéré aqueux et 83% pour le décocté aqueux). In vivo, la stratégie curative a donné de meilleurs résultats comparée à la préventive. Les extraits aqueux les plus efficaces sont ceux de *Cassia sieberiana*, *Terminalia avicennioides*, *Boscia senegalensis* avec en moyenne 17% de taux de guérison des souris traitées.

Au regard de ces résultats, il serait judicieux de reprendre les études toxicologique et pharmacologique de ces plantes afin de déterminer les doses curatives de ces drogues. Cela permettrait peut être de révéler leur potentiel trypanocide.

Mots clés : Macérés aqueux – Décoctés aqueux – Potentiel trypanocide – TAA – Taux de survie et de guérison – Inhibition de la parasitémie – Burkina Faso

Adresse de l'auteur : M. VITOLEY Sèna Hervé. S/C : 03 BP : 2712

Tél. (00229) 302908 COTONOU / Email : viseh@hotmail.com