

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/323883838>

Actes des 16 èmes Journées Scientifiques Annuelles de la SOACHIM ; Etude préliminaire Sur l'effet des extraits de feuilles d'Artemisia annua et de Moringa oleifera sur Toxoplasma...

Conference Paper · August 2015

CITATIONS

0

READS

278

6 authors, including:



Amivi Tete-Benissan

Université de Lomé

36 PUBLICATIONS 52 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Mlatovi Degbe

Université de Lomé

9 PUBLICATIONS 9 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Isabelle Dimier-Poisson

University of Tours

85 PUBLICATIONS 1,321 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Bioactives molecules in treatment of asthma [View project](#)



nanovectors [View project](#)

Etude préliminaire
Sur l'effet des extraits de feuilles d'*Artemisia annua* et de *Moringa oleifera* sur *Toxoplasma gondii*
***in vitro* :**

**Amivi Tété-Bénissan^{1*}, Mlatovi Dégbé¹, Françoise Debierre-Grockiego²,
Isabelle Dimier-Poisson², Kodjo Aklikokou¹, Messanvi Gbeassor¹**

1. Laboratoire de Physiologie animale et Pharmacologie, FDS /Université de Lomé BP 1515, Lomé -Togo

2. Laboratoire d'Immunologie Parasitaire, Vaccinologie et Biothérapie anti-infectieuse,
UMR 0483 - UFR de Pharmacie, Université François Rabelais, Tours (France)

* Auteur correspondant : colette.gassou@gmail.com / ateteben@tg.refer.org

Résumé

La toxoplasmose est causée par *Toxoplasma gondii*, un protozoaire intracellulaire obligatoire. Sa séroprévalence varie de 50 à 70% dans les régions humides de l'Afrique comme le Togo. L'infection est bénigne chez le sujet immunocompétent mais entraîne des conséquences graves chez la femme enceinte et les sujets immunodéprimés. Actuellement, le traitement de première intention est l'association pyriméthamine-sulfamide (molécules toxiques, tératogènes avec des résistances parasitaires). Dans le cadre de la recherche de traitement alternatif, les effets toxoplasmodicides des extraits alcooliques et hydro alcooliques des feuilles d'*Artemisia annua* et de *Moringa oleifera* sont testés *in vitro* sur *Toxoplasma gondii* et les cellules HFF. Les résultats indiquent que les deux extraits d'*Artemisia annua* ont un effet inhibiteur sur *Toxoplasma gondii* avec des CI 50 respectives de 1.18µg/ml et de 9.50µg/ml. Les tests de cytotoxicité révèlent que l'extrait hydro alcoolique d'*Artemisia annua* est plus toxique que l'extrait alcoolique. Les extraits de *Moringa oleifera* ne présentent aucune toxicité vis-à-vis des cultures de cellules HFF. Les extraits alcooliques d'*Artemisia annua* et de *Moringa oleifera* ont inhibé de l'invasion des cellules *in vitro* par *Toxoplasma gondii*. Ces résultats suggèrent qu'*Artemisia annua* serait un bon candidat pour les recherches sur les phytomédicaments à activité toxoplasmodicide

Mots Clés : *Toxoplasma gondii* ; *Artemisia annua* ; *Moringa oleifera* ; effets *in vitro*.

Abstract

Toxoplasmosis is an infection caused by the obligate intracellular parasite *Toxoplasma gondii*. Its seroprevalence varied from 50 to 70% in the wet areas of Africa as Togo. The infection is benign in immunocompetent subjects but involved serious consequences in the immunocompromised patients or during pregnancy. Sulfadiazine plus pyrimethamine are currently, the drugs of first choice for treatment of toxoplasmosis. Although this therapy is frequently associated with many side effects and not well tolerated. Thus, to find out less toxic drug active against the parasite, the purpose of this present study was to evaluate, the effects of *Artemisia annua* and *Moringa oleifera* alcoholic and hydro alcoholic extracts on *in vitro* *Toxoplasma gondii* and HF cells. The results indicate that *Artemisia annua* extracts have an inhibiting effect on *Toxoplasma gondii* with respective IC 50, 1.18µg/ml and 9.50µg/ml. Cytotoxicity tests reveal that hydro alcoholic extract of *Artemisia annua* is more toxic than alcoholic extract. *Moringa oleifera* extracts do not have any toxicity on HFF cells. The alcoholic extracts of *Artemisia annua* and *Moringa oleifera* inhibited invasion of *in vitro* cells by *Toxoplasma gondii*. These results suggest that *Artemisia annua* is a good candidate for research on the drugs with toxoplasmodicide activity.

Keywords : *Toxoplasma gondii* ; *Artemisia annua* ; *Moringa oleifera* ; *in vitro* effect .

1. Introduction

La toxoplasmose est une affection parasitaire cosmopolite dont l'agent étiologique est le protozoaire intracellulaire obligatoire *Toxoplasma gondii* [1, 2]. On estime qu'un tiers de la population mondiale est infecté et sa séroprévalence varie de 50 à 70% dans les régions humides de l'Afrique comme le Togo. [2, 3]. Le parasite a pour hôtes intermédiaires les oiseaux et les mammifères dont l'homme; et pour hôtes définitifs, les félinés dont le chat. La contamination par voie orale se fait soit par la consommation de viande crue ou mal cuite contenant des kystes, soit par ingestion des oocystes excrétés par le chat. La contamination trans placentaire se produit lors de l'infection du fœtus par les tachyzoïtes de la mère. Ainsi, on observe trois formes cliniques : la toxoplasmose acquise bénigne, à 80% asymptomatique chez le sujet immunocompétent, la toxoplasmose congénitale (à l'origine de fœtopathies graves), la toxoplasmose de l'immunodéprimé (encéphalite) et la toxoplasmose oculaire conduisant à une chorioretinite toxoplasmique [4, 5]. On distingue une seule espèce pour le genre *Toxoplasma*: *T. gondii*, bien que les analyses génotypiques ont mis en évidence plus de 200 souches. Actuellement, le traitement de première intention est l'association pyriméthamine-sulfamide (molécules toxiques, tératogènes avec des résistances parasitaires). *Toxoplasma gondii* partage la même classe (*Coccidia*) que *Plasmodium falciparum*. Ainsi, les plantes utilisées pour le traitement du paludisme pourraient se révéler

efficaces contre la toxoplasmose. A cet effet, des ressources végétales comme *Artemisia annua* et *Moringa oleifera* peuvent être valorisées. *Artemisia annua* est très utilisée en médecine traditionnelle contre le paludisme, dont l'artémisine, un de ses principes actifs est retrouvé dans plusieurs spécialités pharmaceutiques. La plante possède aussi des propriétés antioxydante, antibactérienne, antiparasitaire [6, 7, 8]. Quant à *Moringa oleifera* elle est aussi utilisée pour le traitement traditionnel du diabète 2, paludisme, hypertension et infections diverses etc. Elle possède des propriétés nutritionnelles exceptionnelles [9, 10] Le but de cette étude est d'évaluer les propriétés toxoplasmicides de ces plantes sur des tachyzoïtes de *Toxoplasma gondii*. dans le cadre de la recherche de traitement alternatif. Ainsi, les extraits alcooliques et hydro alcooliques des feuilles d'*Artemisia annua* et de *Moringa oleifera* sont testés *in vitro* sur le parasite et les cellules HFF après avoir effectuée l'étude phytochimique et évalué l'activité anti oxydante des deux plantes.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

1.1. Le matériel végétal est constitué des extraits secs hydro-alcooliques et alcooliques des feuilles séchées de *Moringa oleifera* et d'*Artemisia annua*.

2.1.2. Cellules hôtes et parasites

Le parasite utilisé est la souche RH-β-gal de *Toxoplasma gondii*. Il est cultivé *in vitro* dans des fibroblastes humains de la lignée Human Foreskin Fibroblast (HFF).

2.2. Méthodes

2.2.1. Préparation des extraits secs: les feuilles sont lavées et séchées au laboratoire à l'abri de la lumière. Elles ont macérées soit dans le méthanol soit dans un mélange éthanol-eau (1v/v) pendant 72 heures. L'extrait brut est filtré et évaporé sous vide à 45°C à l'aide d'un rotavapor (Rotavapor R114, Buchi, Germany).

2.2.2. Détermination de la composition phytochimique des extraits

Une détermination qualitative (Harbonne, 1973, Chhabra, 1990), et quantitative des grands groupes chimiques [alcaloïdes, saponosides, phénols totaux et tanins (réactif Folin-Ciocalteu), flavonoïdes totaux (Kosalec *et al.*, 2004) et polysaccharides (Dubois *et al.*, 1956) présents dans les échantillons secs puis dans les extraits hydro-alcooliques et alcooliques a été réalisée.

2.2.3. Détermination de l'activité anti-oxydante des extraits : elle réalisée par les tests à l'AAPH (2,2'-Azobis 2 Amidinopropane Dihydrochloride) et au DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

2.2.4. Détermination de l'activité toxoplasmicide des extraits *in vitro* est effectuée sur la souche RH-β-gal de *Toxoplasma gondii* cultivée dans des fibroblastes humains de la lignée Human Foreskin Fibroblast (HFF). La révélation se fait après lyse des cellules avec la CPRG (chlorophenol red β-D-galactopyranoside).

2.2.5. Le test d'invasion : le protocole reste le même que précédemment sauf que les plaques de culture sont centrifugées pour accélérer l'entrée des tachyzoïtes dans les HFF ; ensuite la révélation de l'activité de l'enzyme Beta-galactosidase effectuée.

2.2.6. Détermination de la cytotoxicité des extraits : les cellules utilisées sont celles de la lignée Human Foreskin Fibroblast (HFF). La révélation est faite avec le réactif UptiBlue©

2.2.6. Analyses statistiques

Le test de Kruskal Walis avec post-test de Dunn's est utilisé pour effectuer l'analyse statistique des données. Une valeur de $p < 0,05$ est considérée comme significative.

3. Résultats et discussion

3.1. Etude phytochimique des extraits de *A. annua* et *M. oleifera* dans les plantes

Le tableau I montre les résultats de l'évaluation qualitative des grands groupes chimiques dans les poudres et extraits secs de plantes. La relative abondance d'un groupe chimique est estimée selon l'intensité de la coloration obtenue.

Tableau I : Résultats de l'évaluation qualitative des différents groupes chimiques dans les extraits

	Alcaloïdes	Saponines	Tanins	Flavonoïdes
<i>Artemisia annua</i>	++	+	++	++
<i>Moringa oleifera</i>	++	+++	+++	+++

- : absence ; + : Trace ; ++ : Abondant ; +++ : très abondant

Tableau II : Etude quantitative sur les extraits alcooliques et hydro-alcooliques *A. annua* et *M. oleifera* .

	Phénols totaux µg Eq A.G /mg		Tanin µg Eq A.G /mg		Flavonoïdes Eq µg Eq Rutine /mg		Polysaccharides Eq Glucoce /mg	
	Eau- Ethanol	Ethanol	Eau- Ethanol	Ethanol	Eau- Ethanol	Ethanol	Eau- Ethanol	Ethanol
<i>Artemisia annua</i>	105,286	183,52	83,89	161,07	65,897	74,984	51,77	81,16
<i>Moringa</i>	103,98	277,36	30,34	215,85	151,686	284,21	442,43	277,39

oleifera

L’analyse des résultats de l’étude phytochimique montre que *Artemisia annua* et *Moringa oleifera* contiennent des composés à propriétés thérapeutiques tels que les polyphénols, les tanins, les flavonoïdes et les polysaccharides qui sont généralement retrouvés dans les spécialités pharmaceutiques antipaludéennes, antibactériennes et antifongiques.

3.2. Activité antioxydante des extraits

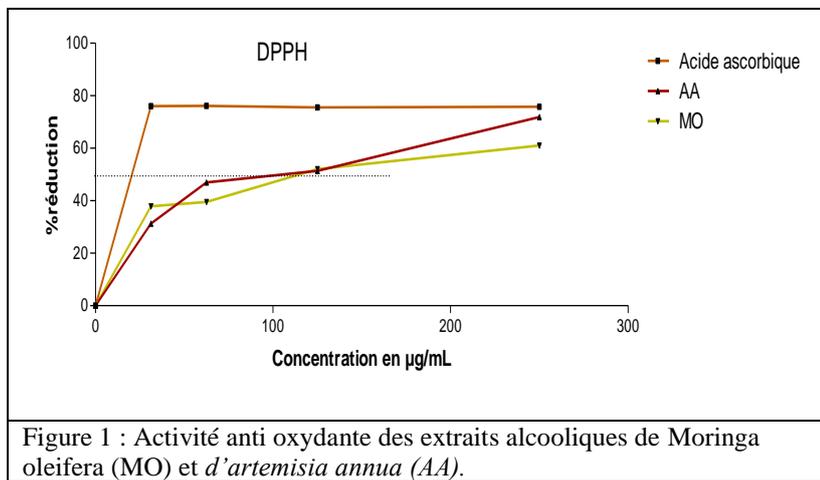


Figure 1 : Activité anti oxydante des extraits alcooliques de Moringa oleifera (MO) et d’artemisia annua (AA).

La figure 1 montre le taux de réduction des radicaux libres par les extraits de Moringa oleifera et d’artemisia annua qui possède l’activité antioxydante la plus élevée

3.3. Propriétés toxoplasmicides des extraits de plantes.

La figure 2 montre les résultats des effets des extraits alcooliques et hydro-alcooliques sur *Toxoplasma gondii*

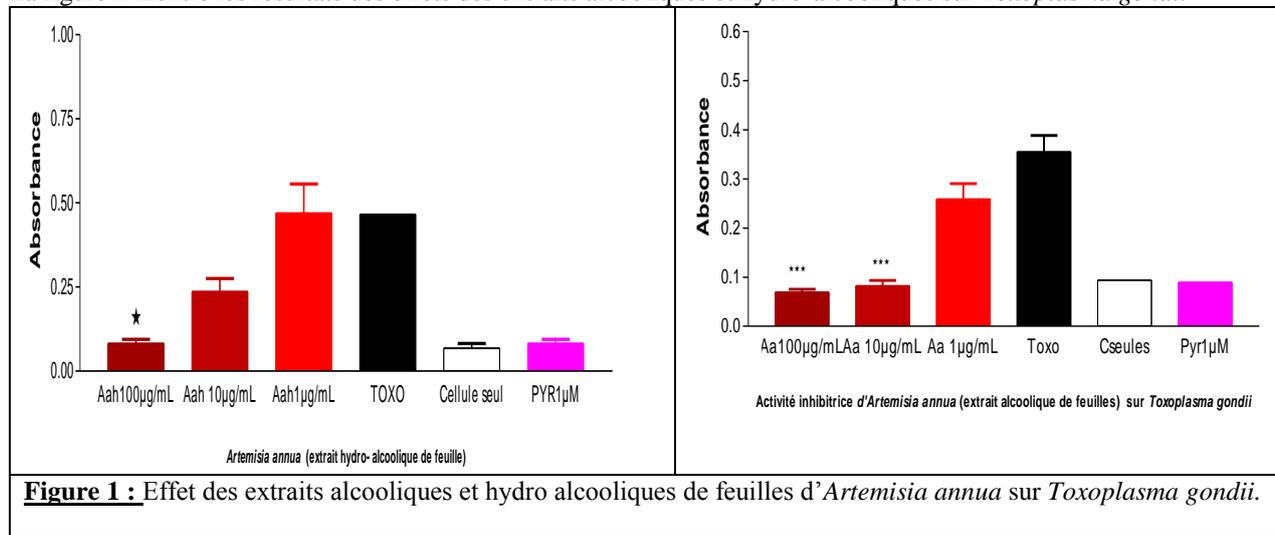


Figure 1 : Effet des extraits alcooliques et hydro alcooliques de feuilles d’Artemisia annua sur Toxoplasma gondii.

Les résultats montrent que les extraits alcoolique et hydro alcoolique des feuilles d’Artemisia annua ont significativement inhibé le développement de Toxoplasma gondii respectivement aux doses de 10µg/mL et 100µg/mL (p<0.001) avec un IC50 =1,18µg/mL et de 100µg/mL (p<0.05) avec une IC50 de 9,50µg/mL. Cependant les extraits alcoolique et hydro alcoolique des feuilles de Moringa oleifera n’ont pas eu d’action inhibitrice sur Toxoplasma gondii. Les résultats observés dans cette étude avec les deux extraits d’Artemisia annua sont accord avec ceux de travaux antérieurs qui ont montré que l’infusion d’Artemisia annua aussi a une activité anti-toxoplasmique et inhibe le développement de Toxoplasma gondii in vitro [11]. Les feuilles d’Artemisia annua, contiennent de l’artémisinine qui est un composant des antipaludéens les plus souvent utilisés actuellement [7]. Les propriétés toxoplasmicides des extraits des feuilles d’Artemisia annua seraient liées à la présence d’autres composés spécifiques absents ou insuffisants dans l’extrait de Moringa oleifera [9, 11, 12].

Les résultats du test d’invasion qui est la capacité des extraits de plantes à empêcher la pénétration des parasites dans les cellules hôtes révèlent que les extraits alcooliques et hydro alcooliques d’Artemisia annua et de Moringa oleifera inhibent l’invasion des cellules HFF à la dose de 100µg/l. Pour Moringa oleifera l’extrait alcoolique des feuilles à 100µg/ml réduit

très légèrement le développement des cellules HFF sans être toxique tandis que l'extrait hydro-alcoolique ne réduit pas significativement la multiplication des cellules HFF. A la même dose (100µg/ml), l'extrait alcoolique d'*Artemisia annua* réduit la multiplication des cellules HFF, mais cette inhibition disparaît à 10µg/ml. La DL50 moyenne est estimée à 14.42µg/ml pour cet extrait. Pour l'extrait hydro-alcoolique à 100µg/ml il réduit faiblement la multiplication des cellules HFF, et cette inhibition disparaît rapidement à 10µg/ml. Le pouvoir hépato protecteur de *Moringa oleifera* expliquerait pourquoi son extrait alcoolique qui n'avait pas d'activité toxoplasmicide inhibe comme *Artemisia annua* l'invasion des cellules *in vitro* par *Toxoplasma gondii*.

3.4. Cytotoxicité des extraits *Artemisia annua* et de *Moringa oleifera*

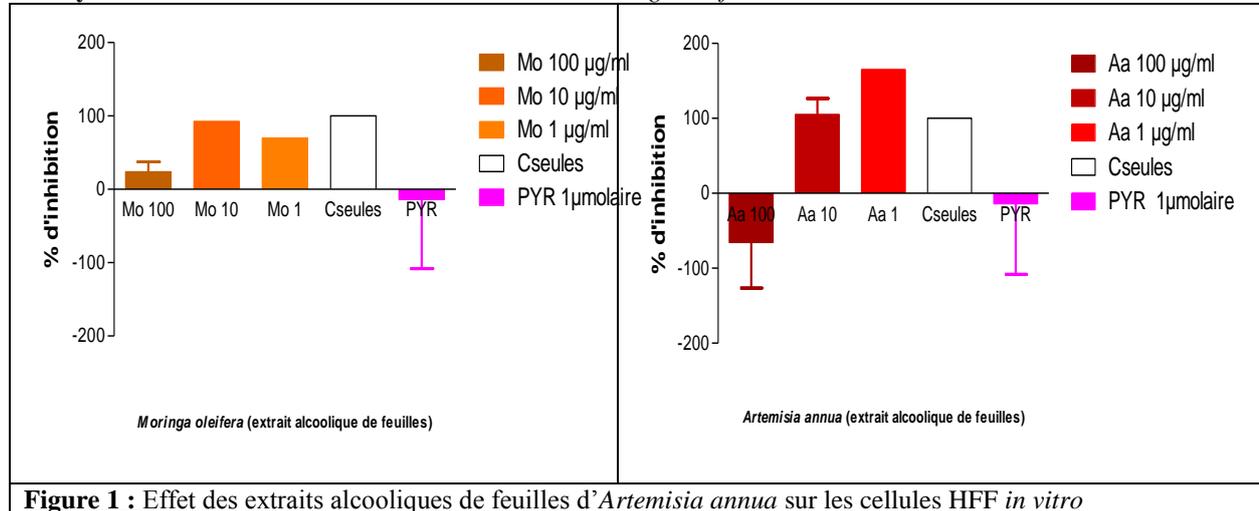


Figure 1 : Effet des extraits alcooliques de feuilles d'*Artemisia annua* sur les cellules HFF *in vitro*

Les tests de cytotoxicité ont révélé aussi que les extraits ne sont pas spécifiquement toxiques à ces doses testées. Ce qui confirme leurs utilisations comme plantes alimentaires.

Des tests complémentaires seront nécessaires pour préciser le composé actif ayant des propriétés toxoplasmicides contenu dans les feuilles d'*Artemisia annua*.

4. Conclusion

Les résultats préliminaires sur les extraits d'*Artemisia annua* et de *Moringa oleifera* indiquent que l'extrait alcoolique d'*Artemisia annua* qui possède une activité toxoplasmicide importante *in vitro* pourrait être un bon candidat pour les recherches ultérieures dans le cadre de phytomédicament pour le traitement de la toxoplasmose.

5. Bibliographie

- [1]. Dubey, J.P., Lindsay, D.S., Speer, C.A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and development of tissue cysts. *Clin. Microbiol. Rev.* (1998) 11 : 267-269.
- [2]. Montoya, J.G, Liesenfeld, O. Toxoplasmosis. *Lancet*, (2004) 363 (9425) : 1965-1976
- [3]. Grunitzky, E. K. et al .Toxoplasmose cérébrale en milieu hospitalier à Lomé (Togo) *Bull. Soc. Path. Ex.* (1995) 88 : 22-23)
- [4]. Dimier-Poisson, I., Fleur, A., Bout D., Mévélec MN. Induction of protective immunity against toxoplasmosis in mice by immunization with *Toxoplasma gondii* RNA Vaccine. (2006), 24: 1705–1709.
- [5]. Mets MB et Chhabra MS. Eye manifestations of intrauterine infections and their impact on childhood blindness. *Surv. Ophthalmol.* (2008), 53: 95-111.
- [6]. Heide L, Artemisinin in traditional tea preparations of *Artemisia annua*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* (2006), 100 : 802.
- [7]. De Ridder, S., Van der Kooy F., Verpoorte, R. *Artemisia annua* as a self-reliant treatment for malaria in developing countries. *Journal of Ethnopharmacology* (2008), 120: 302–314.
- [8]. Massiha, A., Khoshkholgh-Pahlaviani, M.M., IssazadehK., Bidarigh S.,Zarrabi S.. Antibacterial Activity of Essential Oils and Plant Extracts of *Artemisia* (*Artemisia annua* L.) *In Vitro. Z. J. Res. Med. Sc. (ZJRMS)* 2013; 15(6): 14-18
- [9]. Mishra, G., Singh, P., Verma, P., Kumar, S., Srivastav, S. Traditional uses, phytochemistry and pharmacological properties of *Moringa oleifera* plant: An overview; *Der Pharmacia Lettre*, (2011) 3(2): 141-164.
- [10]. Tété-Bénissan, A., Quashie, ML. A, Lawson-Evi, K., Kokou, K., Gbeassor, M. Récupération nutritionnelle chez les sujets malnutris VIH positifs et VIH négatifs après utilisation des feuilles de *Moringa oleifera* Lam. *JAPS* (2012). 15(2): 2184-2199
- [11]. de Oliveira, T.C., Oliveira Silva D.A., Rostowska C. et al. *Toxoplasma gondii*: Effects of *Artemisia annua* L. on susceptibility to infection in experimental models *in vitro* and *in vivo*, *Experimental Parasitology*, (2009) 122:233–241.
- [12]. Olasehinde G.I. Ayanda O. I., Ajayi A. A. and Nwabueze A. P *In-vivo* antiplasmodial activity of crude n-hexane and ethanolic extracts of *Moringa oleifera* (LAM.) seeds on *Plasmodium berghei*. *Int. J. Med. Plant Res:* (2012), 2169-

303X 1 (5) : 050-054.