



HAL
open science

Screening phytochimique de plantes médicinales pour la lutte contre les ectoparasites des ruminants d'élevage

Julianna Peler

► **To cite this version:**

Julianna Peler. Screening phytochimique de plantes médicinales pour la lutte contre les ectoparasites des ruminants d'élevage. Sciences du Vivant [q-bio]. 2018. hal-02960819

HAL Id: hal-02960819

<https://hal.inrae.fr/hal-02960819>

Submitted on 8 Oct 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License



Institut National de Recherche Agronomique



***SCREENING PHYTOCHIMIQUE DE
PLANTES MEDICINALES POUR LA
LUTTE CONTRE LES
ECTOPARASITES DES RUMINANTS
D'ELEVAGE***

PELER Julianna

Année 2017/2018

Licence Biologie/Biochimie, spécialité Sciences de la Santé

Tutrice de stage UAG : Mme GONZALEZ-RIZZO Silvina

Maitre de stage : Mme MARIE-MAGDELEINE Carine

Référent de stage : Mr PHILIBERT Lucien

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je tiens à remercier tout l'équipe de l'Unité de Recherche Zootechnique (URZ) ainsi que les autres stagiaires pour leur accueil et leur soutien tout au long de ce stage.

Je souhaiterais particulièrement remercier Mme Carine MARIE-MAGDELEINE responsable du laboratoire de l'URZ, pour son accueil chaleureux, ses conseils avisés ainsi que son soutien.

J'aimerais également remercier de tout cœur Monsieur Lucien PHILIBERT pour son accompagnement, sa patience et pour avoir partagé ses connaissances.

Je remercie chaleureusement Madame Addie GOMBAULD pour m'avoir permis de trouver ce stage.

Je tiens également à remercier Leslie LAMBOURDE, ma collègue stagiaire, pour son aide et son soutien pendant toute la durée de ce stage.

De façon générale, j'aimerais remercier l'ensemble de ma famille pour la confiance qu'ils m'ont accordé durant ce stage.

PRESENTATION DE L'ORGANISME D'ACCUEIL

Premier institut de recherche agronomique en Europe et deuxième dans le monde en nombre de publications en sciences agricoles et en sciences de la plante et de l'animal, l'INRA mène des recherches finalisées pour une alimentation saine et de qualité, pour une agriculture durable, et pour un environnement préservé et valorisé.. C'est un organisme français qui a été fondé en 1946 afin de lutter contre la pénurie alimentaire ayant apparu à la suite de la Seconde Guerre Mondiale. Depuis lors, de nombreuses missions ont été menées afin de répondre aux besoins planétaires. Les recherches menées par l'INRA doivent répondre à plusieurs problématiques, notamment la nutrition humaine, le changement climatique, et l'épuisement des ressources fossiles. Les résultats de ces recherches ont un impact économique, social et environnemental et contribuent à l'évolution de la société.

Il existe 17 centres INRA dans toute la France, parmi lesquels le centre régional Antilles-Guyane qui est le seul implanté en milieu tropical. Les travaux qui y sont menés concernent la Guadeloupe, la Martinique et la Guyane, mais également toute l'outre-mer française et les pays des régions tropicales humides. Le site de Guyane est composé d'une Unité Mixte de Recherche (EcoFoG). Le site de Guadeloupe accueille trois unités : l'UMR ASTRE et les deux Unités de Recherche UR ASTRO et URZ.

Le stage s'est déroulé à l'URZ.

L'unité de recherche zootechnique (URZ)

L'URZ est composée de 24 agents, 1 laboratoire d'analyses. L'objectif principal est l'optimisation des productions animales au travers de la génétique, de l'alimentation et la santé des animaux étudiés. L'URZ travaille en étroite collaboration avec une unité expérimentale : la Plateforme Tropicale d'Expérimentations sur l'Animal (PTEA), qui est répartie sur 2 sites :

- le domaine de Gardel, spécialisé en expérimentations bovines, caprines sur le pâturage et en pathologie parasitaire.
- le domaine de Duclos, doté de dispositifs hors sols permettant des études

d'adaptation des porcs en milieu tropical donnant lieu à des expérimentations en pathologie et alimentation.

Les espèces animales concernées par ces recherches sont les bovins, caprins, ovins et porcins.

SOMMAIRE

Les parasites externes des petits ruminants	8
Les différents types de traitement	10
Les principaux métabolites secondaires	13
Matériel végétal	16
Réactifs chimiques.....	16
Préparation du matériel végétal.....	17
Manipulations pour chaque métabolite secondaire	17
annexes.....	29

RESUME

Les maladies causées par les parasites externes (ectoparasites) sont responsables de nombreuses pertes animales et par conséquent, de pertes économiques et alimentaires. Les multiples traitements proposés afin de lutter contre ce problème ne sont pas complètement efficaces.

Il existe des traitements alternatifs à base de plantes médicinales. En effet, certaines plantes sont connues pour leurs effets contre les ectoparasites, notamment grâce aux métabolites secondaires qu'elles contiennent.

Lors de ce stage, un screening phytochimique a été réalisé sur 6 plantes de Guadeloupe choisies sur la base d'enquêtes bibliographiques. Les résultats obtenus montrent que les plantes contiennent toutes des composés phénoliques et des composés triterpènes et stéroïdes.

Des études complémentaires devront être menées afin de confirmer l'activité antiparasitaire des plantes médicinales, et d'évaluer le rôle de ces métabolites.

INTRODUCTION

Les ectoparasites constituent une des contraintes majeures au développement de l'élevage en milieu tropical. Depuis de nombreuses années, les choix stratégiques en matière d'élevage pour l'amélioration de la productivité (importation de races, croisement avec les races importées) ont fragilisé le cheptel et rendu plus aigues les pathologies liées aux parasites externes.

De nombreux moyens de luttés sont mis en œuvre, parmi lesquels : la recherche de nouvelles familles chimiques, la lutte intégrée, les races animales résistantes (ref). La phytothérapie est un autre moyen de lutte. En effet, traditionnellement les hommes ont toujours utilisé les plantes pour soigner leurs animaux, ou encore se soigner eux-mêmes (réf). Cependant, ces pratiques connues pour leur efficacité ne sont pas toujours validées scientifiquement.

L'objectif de ce stage est de caractériser la composition en métabolites secondaires de plantes traditionnellement utilisées contre les ectoparasites. Pour ce faire, nous avons effectué un screening phytochimique sur 6 plantes médicinales retrouvées en Guadeloupe et connues pour leur effet contre les ectoparasites.

BIBLIOGRAPHIE

LES PARASITES EXTERNES DES PETITS RUMINANTS

Les parasites externes chez les ruminants constituent l'un des problèmes les plus récurrents à l'élevage. En effet, de plus en plus de ruminants sont infectés par ces parasites.

Il existe plusieurs types de parasites externes, notamment les poux, les tiques et les acariens.

Les poux :

Les poux sont des parasites vivant sur la peau de l'animal, en particuliers dans les zones chaudes, hors des replis cutanés.

Ils peuvent être divisés en deux catégories : les poux broyeur et les poux piqueurs.

Les **poux broyeur** ne se nourrissent que de débris cutanés et infectent les mammifères ainsi que les oiseaux. Plus de 2500 espèces de poux broyeur ont été décrites.

Les **poux piqueurs**, au contraire, se nourrissent de sang et infectent uniquement les mammifères. Plus de 500 espèces de poux piqueurs ont été décrites.

L'infestation est facilement remarquable étant donné qu'elle entraîne des mouvements de grattage, qui aboutissent à une abondante perte de poils.

Les conséquences de l'infestation peuvent également être plus graves. En effet, les poux sont aussi des vecteurs d'agents pathogènes chez l'homme tels que :

- L'agent du typhus exanthématique mondial
- L'agent de la fièvre des tranchées
- L'agent de la fièvre récurrente cosmopolite à poux

Chez les ruminants, les poux n'ont pas de rôle dans la transmission de vecteurs.

Cependant, une infestation par les poux piqueurs entraîne un fort risque d'anémie s'ils ne sont pas traités.

Les tiques :

Aux Antilles, la propagation des tiques est souvent due aux Hérons garde-bœuf. On distingue deux types de tiques :

- BOOPHILUS MICROPLUS QUI EST UNE BACTERIE D'ORIGINE ASIATIQUE ET SE NOURRIT DU SANG DE L'HOTE
- AMBLYOMMA VARIEGATUM qui est une bactérie d'origine africaine pouvant entraîner des dermatophiloses (la peau est enflammée et suintante) ainsi qu'une accumulation de liquide autour du cœur et des poumons de l'animal infecté.

Les complications faisant suite aux infestations de tiques sont les ruptures vasculaires, les nécroses tissulaires prurigineuses, ainsi que des paralysies.

Les larves de mouches

Lorsqu'il fait chaud et humide, on observe une augmentation de la fréquence des maladies dues aux larves de mouches diptères.

On distingue trois types de larves :

- *Lucilia cuprina*, qui entraînent une inflammation de la peau, des irritations, et si elle n'est pas traitée à temps, la mort
- *Phormia regina*, responsables de la transmission de nombreuses maladies telles que la para tuberculose et la salmonellose
- *Calliphora* (plus de 80 espèces différentes), pouvant conduire à des maladies digestives, des problèmes liés aux os, ainsi que des douleurs

La contamination par les larves de mouches est souvent due à une mauvaise hygiène. L'odeur de l'urine, d'excréments ou de plaies infectées attire les mouches, poussant les femelles à pondre leurs œufs dans les tissus souillés. Une fois les œufs éclos, les larves vont s'enfouir sous la peau et entraîner rapidement la mort en l'absence de traitement.

Les acariens

Les *Psoroptes* sont des acariens spécifiques des mammifères, responsables de la **gale psoroptique**. Cette maladie touche de nombreuses espèces d'animaux. Etant donné que

les animaux atteints ont l'habitude de se gratter à divers endroits (comme les clôtures par exemple), il y a de forts risques de contagion.

40 à 50 jours après l'infestation, la maladie devient symptomatique. Les animaux commencent tout d'abord à se frotter et se gratter, puis la situation se dégrade, et on observe donc une apparition de plaies pouvant s'infecter. Si l'animal n'est pas traité à temps, un changement de comportement peut être observé, entraînant la mort. Ce parasite entraîne des irritations et la formation de croûtes favorables à son développement.

De plus, en été, la gale psoroptique (ovine et bovine) est souvent silencieuse. En effet, lors de la tonte et de l'exposition au soleil, les symptômes de la maladie ne sont pas du tout visibles. C'est pourquoi le diagnostic est souvent difficile à cette époque de l'année

LES DIFFERENTS TYPES DE TRAITEMENT

De nombreux traitements chimiques sont disponibles afin de lutter contre ces parasites. Il s'agit donc de trouver le traitement adapté à chaque parasite, avec les doses convenant à chaque animal et les précautions nécessaires.

Traitement contre les poux

Plusieurs insecticides sont utilisés afin de traiter les animaux infectés. Les plus utilisés sont :

- Les insecticides de contact : le lindane, les organophosphorés ainsi que les Avermectines sont efficaces sur les deux types de poux (broyeurs et piqueurs), cependant il faut renouveler le traitement car la pupe est insensible
- Les insecticides systémiques : les Avermectines injectées par voie sous-cutanée ne sont malheureusement efficaces que sur les poux piqueurs.

Des traitements systémiques tels que l'Ivermectine et la doramectine ont été utilisés par voie sous-cutanée pour contrer les infestations de poux piqueurs.

L'Ivermectine, utilisée en surface est efficace sur les deux types de poux.

Traitement contre les tiques

Etant donné que les infestations par les tiques sont peu fréquentes, les traitements médicamenteux ne sont pas faciles à trouver, c'est pourquoi les infestations par les tiques sont très délicates.

La méthode traditionnelle afin de lutter contre les tiques consiste à arracher les parasites à main nues. Néanmoins, cela reste une méthode très longue (étant donné que les ectoparasites sont très nombreux). De plus l'arrachage des tiques logées dans les zones sensibles telles que l'anus peut entraîner des blessures au niveau de la peau, donc c'est une étape très minutieuse.

Par ailleurs, les élevages sont constitués d'une multitude d'animaux, et les traiter un par un reviendrait à une perte de temps considérable.

Traitement contre les larves de mouches

Dans le cas de lésions occasionnées par les larves, les individus doivent être tondu et les plaies doivent être soignées et protégées à l'aide d'un insecticide à bonne concentration.

Un premier traitement insecticide à base d'organophosphoré ou de pyréthrianoïde peut être appliqué.

Le traitement antibiotique doit être suivi d'une extraction des larves, mais cela reste une étape particulièrement longue.

La mise en place d'une couverture antibiotique telle que le *closantel* est alors nécessaire pour éviter les surinfections.

A trop forte dose, ces médicaments comportent de nombreux effets indésirables occasionnant une atteinte oculaire (provoquant la cécité), ainsi que des troubles cardiaques, digestifs et respiratoires.

Traitement contre les acariens

Au fil de l'histoire, de nombreux traitements ont été utilisés.

Les premiers traitements consistaient à frictionner l'animal avec du mercure, de la nicotine, de l'arsenic ou encore du soufre. Au vu de l'agressivité de ces traitements, on observait alors un endommagement des toisons ainsi qu'un amaigrissement important.

Depuis le XXème siècle jusqu'à l'heure actuelle, plusieurs procédés thérapeutiques sont utilisés : les organochlorés (interdits depuis quelques années chez les animaux de rente), les organophosphorés, les pyréthriinoïdes.

A partir des années 80, l'apparition de l'Ivermectine a offert un nouveau moyen de médication contre la gale psoroptique.

Toutefois, bien qu'ils soient très utiles, les traitements à base d'Ivermectine comportent de nombreux risques. En effet, les effets du médicament CLOSAMECTIN ont nécessité une suspension de mise sur le marché. Les effets indésirables observés pendant la durée du traitement (décubitus, cécité, ataxie) ont engendré une prise de mesures radicale.

LES METABOLITES SECONDAIRES

Les métabolites secondaires sont des molécules qui n'appartiennent pas à la classe des métabolites primaires (acides aminés, lipides, sucres, acides nucléiques).

Les métabolites secondaires sont spécifiques des plantes, des champignons et des bactéries.

Ce sont des éléments indispensables au bon développement et à la survie de la plante.

Ils ont des rôles très variés mais nécessaires à la croissance de la plante :

- Rôle de défense (sécrétions amères ou toxiques pour les prédateurs)
- Rôle dans la communication entre les plantes (messages d'alerte par exemple)
- Rôle pour attirer les insectes pollinisateurs

On distingue trois grands types de métabolites secondaires :

- Les composés phénoliques : regroupant les tanins, lignine, flavonoïdes
- Les composés azotés : regroupant les alcaloïdes, la bétalaïne, les hétérosides cyanogènes et glucosinolates
- Les composés terpéniques : regroupant les hémiterpènes (C5), les monoterpènes (C10), les sesquiterpènes (C15), les diterpènes (C20), les triterpènes (C30), les tétraterpènes (C40) et les polyterpènes (+ que C40).

LES PRINCIPAUX METABOLITES SECONDAIRES

Les Phénols

Les phénols sont des molécules jouant un rôle dans la défense des plantes. Ils peuvent protéger les plantes contre les rayonnements UV ou encore agir comme agent de défense contre les pathogènes.

Les composés phénoliques peuvent intervenir dans la baisse du taux sanguin, la réduction de certains cancers et maladies cardiovasculaires.

Les Tanins

Les tanins sont des composés faisant précipiter les protéines, ce qui explique la

sensation d'assèchement.

Ils ont aussi un rôle dans la protection contre les toxicités induites par différents agents (UV, métaux lourds, pollution...)

Les tanins sont retrouvés dans le vin qui, grâce à ses propriétés anti oxydantes, a des effets bénéfiques sur la prévention de maladies cardio-vasculaires.

Les Flavonoïdes

Les flavonoïdes protègent les plantes contre les radiations UV et contre les infections bactériennes et virales.

Ils sont responsables des pigments colorés des fleurs (servant à attirer les insectes pollinisateurs) ainsi que des goûts amers et astringents (servant à repousser les animaux herbivores).

Les Quinones

Les quinones jouent un rôle important dans la défense des plantes. Leur action antibactérienne et fongicide permet aux plantes de contrer les attaques des champignons et insectes.

En médecine, leurs propriétés anticoagulantes et antispasmodiques bronchiques sont très exploitées.

Les Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances jouant un rôle de défense chez les plantes. En effet ils sont responsables de la toxicité de certaines plantes pouvant provoquer des contractions cardiaques et, à plus forte dose, un arrêt cardiaque.

Les alcaloïdes sont retrouvés dans la morphine et la quinine, qui sont des molécules très populaires pour leur pouvoir thérapeutique.

Les Anthocyanes

Les anthocyanes sont des molécules responsables de la couleur des feuilles, des fleurs, des fruits et des racines de beaucoup de plantes. On les retrouve dans les raisins noirs, les mûres, les prunes et permettent d'attirer les insectes pollinisateurs.

Les anthocyanes ont également un rôle protecteur car ils permettent d'absorber les rayons UV en agissant comme bouclier pour l'ADN et les composants cellulaires.

Leur activité antioxydante leur confère un rôle de protection contre les maladies cardiovasculaires.

Les Coumarines

Les coumarines sont des substances responsables de l'odeur du foin, rappelant la vanilline.

Ces substances sont utilisées en médecine, notamment pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et anti-œdémateuses.

Les Saponosides

Les saponosides sont des substances conférant aux plantes un pouvoir moussant. Ces substances sont très toxiques pour les animaux à sang froid.

Les saponosides sont exploités pour leurs vertus anti-inflammatoires, anti-œdémateuses et analgésiques.

Leurs propriétés veinotropes sont très utiles dans les traitements de l'insuffisance veineuse.

Les Stérols et Triterpènes

Les stérols sont des lipides végétaux dont la structure est très proche de celle du cholestérol animal. De ce fait, ils sont utilisés pour faire baisser le taux de cholestérol dans le sang.

Les triterpènes, eux, sont utilisés pour leurs propriétés immunomodulantes et potentiellement anti-cancéreuses.

MATERIELS ET METHODES

Le screening phytochimique est un ensemble de méthodes qui permet de détecter, dans la plante, la présence des substances appartenant à des classes de composés potentiellement physiologiquement actifs : les métabolites secondaires. Suite à un prétraitement de la matière végétale (infusion ou acération), les métabolites secondaires sont extraits de la plante. Ces derniers subissent une réaction spécifique lorsqu'ils sont mis en présence de réactifs chimiques donnés (Dohou et al. 2003). Cette réaction permet ainsi de les mettre en évidence. Il est alors possible à la fin d'un screening phytochimique d'établir une liste des métabolites secondaires présents dans la plante étudiée.

MATERIEL VEGETAL

Six plantes médicinales de Guadeloupe ont été sélectionnées à partir d'enquêtes bibliographiques menées par l'INRA concernant l'usage empiriques de plantes contre les ectoparasites:

- *Indigofera sp.* « Indigo » (I)
- *Petiveria alliacea*, « Douvan nèg » (DN)
- *Sida Rhombifolia*, « Balé onzè » (BO)
- *Momordica charantia* « Le Pawoka » (P)
- *Neurolaena lobata* « Herbe à pic » (HP)

Senna tora « Zépyant » (Zép)

Seule *Neurolaena lobata* « Herbe à pic » (HP) a été préalablement séchée aux micro-ondes et conservée à température ambiante. Les 5 autres plantes ont été fraîchement cueillies, puis conservées à -80°C.

Pour chaque réaction, seules les feuilles des plantes ont été utilisées.

REACTIFS CHIMIQUES

- Acétate d'éthyle
- Méthanol
- Réactif de Dragendorff (tétraiodobismuthate de potassium)
- Ammoniaque concentré et dilué à 10%
- Anhydride acétique
- Chloroforme
- Acide sulfurique concentré
- Chlorure ferrique
- Soude 1/10 et 0.2N

- Chlorure ferrique à 3% et 1%
- Poudre de magnésium
- Vanilline
- Alcool chlorhydrique 0.2N
- Ether de pétrole
- Ether éthylique

PREPARATION DU MATERIEL VEGETAL

Solution A

Infusé à 10% : 20 g d'organes broyés sont placés dans un erlenmeyer contenant 200mL d'eau bouillante. Boucher l'erlenmeyer et laisser infuser 20 minutes. Filtrer.

Solution B

Extraits méthanoliques : mettre 2g de matériel végétal sec et broyé dans 100ml de méthanol 50%. Après une sonication de 15min et agitation toute la nuit, filtrer les extraits et évaporer à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif. Les résidus sont repris dans quelques ml de méthanol pur.

Solution C

Filtrats d'éther éthylique: Faire macérer pendant 24h, 1g de poudre de matière végétal dans 20mL d'éther, puis filtrer.

MANIPULATIONS POUR CHAQUE METABOLITE SECONDAIRE

Pour chaque réaction effectuée, un témoin positif (plante témoin) a été utilisé afin de mieux apprécier les résultats obtenus.

Phénols :

1. Préparation d'une solution d'HCl 5,5N avec un volume de 0,415ml pour 10ml d'eau
2. Préparation de chlorure ferrique à 3% avec une masse de g de chlorure de fer pour ml d'eau

3. Dans un tube, on met 2ml de solution A + 1ml de FeCl

Plante témoin : Thym (T)

Interprétation : L'apparition d'une coloration bleue virant au noir traduit une réponse positive.

Flavonoïdes :

1. Préparation d'alcool chlorhydrique avec 16ml d'alcool et 4ml d'HCl pur
2. Dans un tube, on met 2ml de solution A + 2ml d'alcool chlorhydrique + 0,2g de poudre de magnésium.

Plante témoin : Gliciridia (Gly)

Interprétation : L'apparition d'une coloration orange ou rouge témoigne de la présence de flavonoïdes.

Anthocyanes

1. Préparation d'une solution d'acide chlorhydrique 2N avec 3,32ml d'HCl pur pour 20ml d'eau
2. Dans un tube, on met 2ml de solution A + 2ml d'HCl 2N + 20 gouttes d'ammoniac concentré

Plante témoin : Fleur d'hibiscus (G)

Interprétation : Si la coloration rose-rouge vire au bleu-violacé après l'ajout des quelques gouttes d'ammoniaque, alors nous sommes en présence d'anthocyanes.

Flavanes

1. Préparation d'une solution de vanilline à 2% dans de l'acide chlorhydrique concentré avec une masse de 0,2g de vanilline pour 10ml d'HCl
2. Dans un tube, on met 2ml de solution A + 20 gouttes de solution de vanilline à 2%

Plante témoin : Feuille de pois d'angole (PA) et manguier (M)

Interprétation : L'apparition d'une coloration rouge indique une réaction

Proanthocyanidols

1. Dans un tube on met 2ml de solution A + 2ml d'HCl puis on place le tube dans un bain-marie à 90°C pendant 5 minutes

Plante témoin : Feuilles de manguier (M)

Interprétation : L'apparition d'une coloration rouge indique une réaction positive.

Tanins

1. Préparation du réactif de Stiasny avec 8ml de formol à 37% +4ml d'HCL concentré
2. Dans un tube on met 2ml de solution A + 1ml de réactif de Stiasny, l'ensemble est mis dans un bain-marie à ébullition
3. Récupération du filtrat obtenu, puis saturation de ce filtrat avec de l'acétate de sodium, et enfin ajout de quelques gouttes de chlorure ferrique

Plante témoin : Feuille de manguier (M)

Interprétation : L'apparition d'un précipité bleu-noir traduit la présence de tanins galliques, un précipité brun-vert celle de tanins catéchiques.

Coumarines

1. Préparation de la solution de soude 0,2N avec une masse de 0,08g de NaOH dans 10ml d'eau
2. Dans un tube on met 1g de plante sèche broyée + 1ml d'eau distillée
3. Préparation d'un papier filtre imprimé de la solution de soude 0,2N placé dans la partie supérieure du tube et l'ensemble est porté à ébullition dans un bain-marie

Plante témoin : Gliciridia (Gly)

Interprétation : Une fluorescence jaune de ce papier à la lumière U.V indique une réaction positive.

Quinones

1. Préparation d'une solution d'acide chlorhydrique N/10 avec 0,215ml d'HCl pour 25ml d'eau
2. Dans un tube, on met 2,5g de matériel végétal + 2,5ml d'HCl N/10 puis on laisse reposer pendant 2 heures
3. On ajoute 25ml de chloroforme
4. on filtre le tout et enfin on ajoute 5ml d'ammoniac dilué au ½

Plante témoin : Romarin (R)

Interprétation : Un virage de la phase aqueuse au jaune, rouge ou violet indique la présence de quinones.

Dérivés anthracéniques

1. Dans un tube on met 1g matériel végétal broyé avec 10ml de chloroforme, puis on le place au bain-marie à 40°C pendant 3 minutes et on filtre
2. On obtient un filtrat et une poudre épuisée par le chloroforme

Anthracéniques libres (réaction de Borntragger)

Dans un tube, on met 1ml de filtrat + 1ml d'ammoniaque

Interprétation : L'apparition d'une coloration rouge indique la présence d'anthracéniques libres.

Anthracéniques combinés

3. Dans un tube on met la poudre obtenue + 10ml d'eau distillée + 1ml d'acide chlorhydrique
4. On chauffe le tout dans un bain-marie bouillant pendant 15 minutes puis on filtre à nouveau
5. On prélève 5ml de filtrat + 5 ml de chloroforme, puis on prend la phase organique à laquelle on ajoute 1ml d'ammoniaque dilué à 10%

Plante témoin : Cassia alata

Interprétation : L'apparition d'une coloration rouge indique la présence d'anthraquinones sous la forme *O*-hétérosides.

Alcaloïdes

1. Quelques microlitres de solution B sont utilisés pour effectuer une CCM
2. On utilise comme solvant de migration un mélange d'acide éthanoïque/méthanol/ammoniaque 50% dans les proportions (9 : 1 : 1)
3. Après la migration, on pulvérise les spots fluorescents à 365nm avec le réactif de Dragendorff

Plante témoin : Feuilles de Bwalèt (Bwa)

Interprétation : L'apparition en lumière visible de taches orange témoigne de la présence d'alcaloïdes.

Saponosides

1. Quelques microlitres de solution B sont utilisés pour effectuer une chromatographie sur couche mince.

2. On utilise comme solvant de migration un mélange d'acide éthanoïque/méthanol/eau dans les proportions (100 : 13,5 :4)
3. La révélation se fait à la vanilline sulfurique (500mg de vanilline + 0,5ml d'acide sulfurique +50ml éthanol)

Plante témoin : Feuilles de châtaigne (C)

Stérols et Triterpènes

1. On évapore les échantillons à sec, puis on dissout le résidu dans 1ml d'anhydride acétique, puis dans 1ml de chloroforme
2. Répartition de la solution dans 2 tubes à essai + 1ml d'acide sulfurique concentré, sans agitation

Plante témoin : Huile d'olive (H)

Interprétation : La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et une coloration violette de la couche surnageant révèlent la présence de stérols et triperpènes.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats obtenus lors du screening phytochimique sont présentés ci-après.

Pour chaque réaction, les échantillons sont rangés dans l'ordre suivant :

Indigo (I) – Douvan nèg (DN) – Balé onzè (BO) – Pawoka (P) – Herbe à pic (HP) –
Zépyant (Zép) – Témoin positif

La lecture qualitative des résultats se fait selon le code suivant :

- : Absence de métabolites
- + : Présence de métabolites en concentration faible
- ++ : Présence de métabolites en concentration moyenne
- +++ : Présence de métabolites en concentration forte

Phénols :

Echantillon	Couleur finale	Résultat
Indigo	Jaune pale	-
Douvan nèg	Jaune	+
Balé onzè	Jaune	+
Pawoka	Vert	+
Herbe à pic	Noir	+++
Zépyant	vert pale	++
Thym	Vert pale	+

Les résultats montrent que le témoin n'a pas très bien répondu, mais que toutes les plantes étudiées, sauf l'échantillon I contiennent des phénols. La plante en contenant le plus est HP.

Recherche de flavonoïdes

Echantillon	Couleur finale	Résultat
Indigo	vert pale	+
Douvan nèg	blanc	+
Balé onzè	tansparent	-
Pawoka	jaune pale	+
Herbe à pic	orange vif	+++
Zépyant	transparent	-
Gliciridia	orange pale	++

D'après les résultats, on observe que seules BO et Z ne contiennent pas de flavonoïdes et que HP est riche en flavonoïdes.

Recherche de flavanes

Echantillon	Couleur finale	Résultat
Indigo	vert	-
Douvan nèg	jaune	-
Balé onzè	jaune	-
Pawoka	jaune	-
Herbe à pic	orange-brun	-
Zépyant	jaune	-
Manguier	orange très pale	++
Pois d'angole	jaune-orangé	+

D'après les résultats obtenus, aucune des plantes étudiées ne contient de flavanes.

De plus, à cause de la couleur initiale orange-brun de HP, il a été difficile d'apprécier le changement de couleur étant donné que la coloration attendue est rouge.

Recherche d'anthocyanes

Echantillon	Couleur finale	Résultat
Indigo	vert pale	+
Douvan nèg	jaune	-
Balé onzè	jaune pale	-
Pawoka	jaune	-
Herbe à pic	marron foncé	+
Zépyant	jaune pale	-
Hibiscus	vert	++

Etant donné que nous n'avons utilisé que les feuilles lors des expériences, seules les plantes à feuilles colorées I et HP ont répondu positivement à la réaction.

Recherche de proanthocyanidols

Echantillon	Couleur finale	Résultat
Indigo	marron foncé	++
Douvan nèg	jaune	-
Balé onzè	orange	+
Pawoka	jaune orangé	+
Herbe à pic	marron foncé	+
Zépyant	jaune	+
Manguier	orange	++

Nous remarquons que toutes les plantes étudiées sauf DN contiennent des proanthocyanidols, avec I qui en contient le plus.

Recherche de coumarines

Echantillon	Résultat
Indigo	-
Douvan nèg	-
Balé onzè	-
Pawoka	-
Herbe à pic	-
Zépyant	-
Gliciridia	++

Aucun échantillon de plante n'a montré de fluorescence. Nous pouvons en déduire qu'aucune des plantes étudiées ne contient de coumarines.

Recherche de tanins

Echantillon	Couleur finale	Résultat (catéchiques)
Indigo	orange pale	-
Douvan nèg	jaune pale	-
Balé onzè	jaune pale	-
Pawoka	jaune pale + précipité	+
Herbe à pic	brun clair + précipité	+
Zépyant	jaune très pale	-
Manguier	orange pale + précipité	++

Seuls P et HP ont répondu positivement à la recherche de tanins catéchiques.

Echantillon	Couleur finale	Résultat (galliques)
Indigo	orange	-
Douvan nèg	orange	-
Balé onzè	orange	-
Pawoka	orange	-
Herbe à pic	noir	+++
Zépyant	orange	-
Manguier	noir	+

Cependant, pour la recherche de tanins galliques, le témoin a faiblement répondu et seule HP a répondu positivement.

Recherche de quinones

Echantillon	Couleur finale	Résultat
Indigo	vert	-
Douvan nèg	jaune pale	-
Balé onzè	jaune pale	-
Pawoka	jaune très pale	-
Herbe à pic	vert (rouge en surface)	+
Zépyant	jaune très pale	-
Romarin	rouge	++

Seule HP contiendrait des quinones.

Recherche de dérivés anthracéniques

- Anthracéniques combinés

Echantillon	Couleur finale	Résultat
Indigo	orange	+
Douvan nèg	jaune pale	-
Balé onzè	jaune	-
Pawoka	jaune pale	-
Herbe à pic	orange	+
Zépyant	jaune	-
Cassia alata	rouge	++

- Anthracéniques libres

Echantillon	Couleur finale	Résultat
Indigo	vert	-
Douvan nèg	vert	-
Balé onzè	vert pale	-
Pawoka	vert pale	-
Herbe à pic	vert foncé	-
Zépyant	vert pale	-
Cassia alata	rouge	++

Les plantes testées ne contiennent aucun anthracéniques libres. Des traces d'anthracéniques combinés ont été mises en évidence chez I et HP

Recherche de Stérols et Triterpènes

Echantillon	Couleur finale	Résultat
Indigo	vert foncé + anneau orange	+
Douvan nèg	vert pale + anneau orange	+
Balé onzè	vert pale + anneau orange	++
Pawoka	vert + anneau orange	+++
Herbe à pic	vert foncé + anneau orange	+
Zépyant	vert + anneau orange	+
Huile d'olive	vert pale + anneau orange	+

Le témoin a faiblement répondu. Toutes les plantes étudiées ont répondu positivement à la recherche de stérols et triterpènes. C'est P qui en contiendrait le plus, suivie de BO.

Recherche de Saponosides

Echantillon	Résultat
Indigo	-
Douvan nèg	-
Balé onzè	-
Pawoka	-
Herbe à pic	++
Zépyant	-
Chataigne	+

Le témoin a faiblement répondu. Parmi les plantes évaluées, seul HP a pas montré un résultat positif pour la présence de saponosides.

Recherche d'Alcaloïdes

Echantillon	Résultat
Indigo	-
Douvan nèg	-
Balé onzè	-
Pawoka	-
Herbe à pic	++
Zépyant	-
Bwalèt	+

Les résultats montrent une faible réponse du témoin positif. Seul HP montre une réponse positive à la détection d'alcaloïdes.

Bilan :

Certains témoins ont faiblement répondu aux réactions, peut-être à cause de l'âge des échantillons ou de leur teneur en eau car ce sont majoritairement des échantillons frais qui ont été utilisés.

Les plantes évaluées ne contiennent ni flavanes, ni anthracéniques libres et ni coumarines. La plante contenant la plus grande variété de métabolites secondaires est HP.

Les types de métabolites secondaires communs à toutes les plantes étudiées sont les composés phénoliques et les composés triterpènes et stérols.

CONCLUSION

L'objectif de ce stage était de mettre en évidence les métabolites secondaires présents dans 6 plantes retrouvées en Guadeloupe et utilisées traditionnellement pour lutter contre les parasites externes des animaux.

Le screening phytochimique effectué sur les plantes médicinales met en évidence la présence d'une variété de métabolites secondaires dans les plantes étudiées. Les plantes évaluées ne contiennent ni flavanes, ni anthracèniques libres et ni coumarines. Les types de métabolites secondaires communs à toutes ces plantes, connues d'après enquête pour leur effet anti-ectoparasites, sont des composés phénoliques et des composés triterpènes et stérols. Ces derniers, connus pour leurs propriétés biocides, pourraient être responsables de l'activité antiparasitaire.

Il serait donc intéressant de poursuivre les travaux par des tests biologiques avec les extraits phénoliques et triterpènes et stérols des plantes afin d'évaluer leur efficacité antiparasitaire, et de vérifier si l'effet est lié à une action seule ou combinée de ces composés.

BIBLIOGRAPHIE

La gale ovine :

<http://www.capveto.fr/Uploads/capveto/html/R%C3%A9union%20gale%20ovine.pdf>

visité le 04/02/18

LA GALE PSOROPTIQUE OVINE, UTILISATION DE LA DORAMECTINE :

<http://theses.vet-alfort.fr/telecharger.php?id=573> visité le 06/02/187

Les maladies parasitaires des petits ruminants :

<http://www.dmipfmv.ulg.ac.be/parasitovet/m/doc1/PetitRum.pdf> visité le 06/02/18

Les métabolites secondaires

<http://dspace.univ->

[djelfa.dz:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/694/15.pdf?sequence=12&isAllowed](http://dspace.univ-djelfa.dz:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/694/15.pdf?sequence=12&isAllowed=y)

[=y](#) visité le 04/02/18

Les myiases cutanées des ovins :

<https://www7.inra.fr/opie-insectes/pdf/i160gourreau.pdf> visité le 06/02/18

Les tiques des ruminants dans les Petites Antilles :

[https://www6.inra.fr/productions-animales/1997-Volume-10/Numero-1-1997/Les-](https://www6.inra.fr/productions-animales/1997-Volume-10/Numero-1-1997/Les-tiques-des-ruminants-dans-les-Petites-Antilles-biologie-importance)

[tiques-des-ruminants-dans-les-Petites-Antilles-biologie-importance](https://www6.inra.fr/productions-animales/1997-Volume-10/Numero-1-1997/Les-tiques-des-ruminants-dans-les-Petites-Antilles-biologie-importance) visité le 05/02/18

Myases :

<http://theses.vet->

[alfort.fr/Th_multimedia/repro_ovicap/male/htm/voies_genitales/myase/myase.htm](http://theses.vet-alfort.fr/Th_multimedia/repro_ovicap/male/htm/voies_genitales/myase/myase.htm)

visité le 04/02/18

Myiase, ou infestation de larves parasitaires de mouches :

http://www.medirabbit.com/FR/Skin_diseases/Parasites/Mouche/Fly_fr.htm visité le

06/02/18

Parasites externes : poux, tiques et gales :

[https://fr.virbac.com/home/bovins/gestion-du-parasitisme/parasites-externes--poux-](https://fr.virbac.com/home/bovins/gestion-du-parasitisme/parasites-externes--poux-tiques.html)

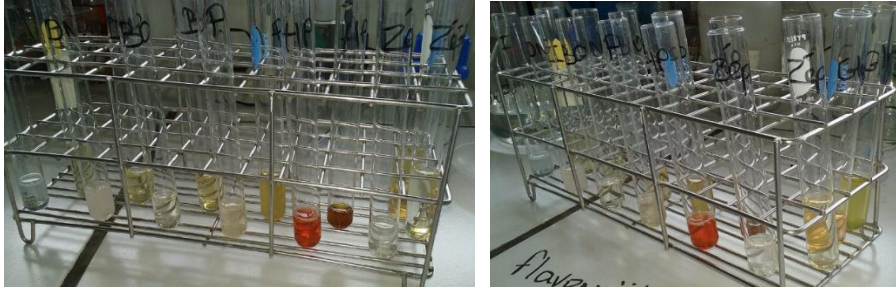
[tiques.html](https://fr.virbac.com/home/bovins/gestion-du-parasitisme/parasites-externes--poux-tiques.html) visité le 05/02/18

Substances d'origine végétale :

<http://fsesnv.univ->

[biskra.dz/images/stories/cours_bio/les%20substances%20dorigine%20vgtales.pdf](http://fsesnv.univ-biskra.dz/images/stories/cours_bio/les%20substances%20dorigine%20vgtales.pdf)

visité le 07/02/18

Fig. 3 : Résultats obtenus pour la recherche de flavonoïdes :

Les échantillons de départ (sans réaction) sont placés derrière tandis que les produits des réactions sont placés devant. Cela permet de mieux apprécier le changement de couleur dû aux réactions.

Fig. 4 : Résultats obtenus pour la recherche de flavanes :**Fig. 5 : résultats obtenus pour la recherche d'anthocyanes :**



Fig. 6 : Résultats obtenus pour la recherche de proanthocyanidols

Fig. 7 : Résultats obtenus pour la recherche de tanins :



Fig. 8 : Résultats obtenus pour la recherche de quinones



Fig. 9 : Résultats obtenus pour la recherche d'anthracéniques combinés :



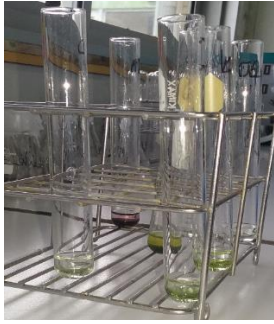


Fig. 9 : Résultats obtenus pour la recherche d'anthracéniques libres

Fig. 10 : Résultats obtenus pour la recherche de stérols et triterpènes :

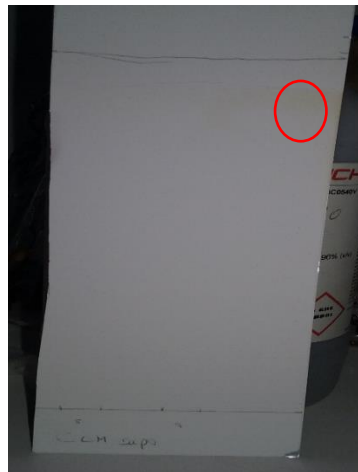
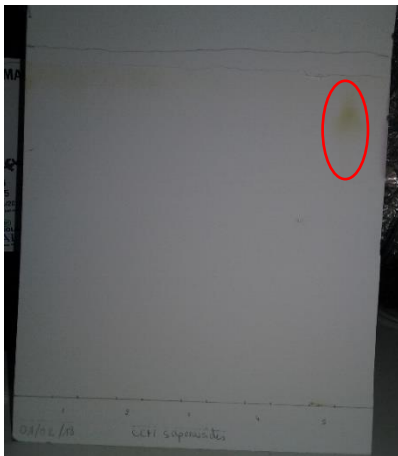
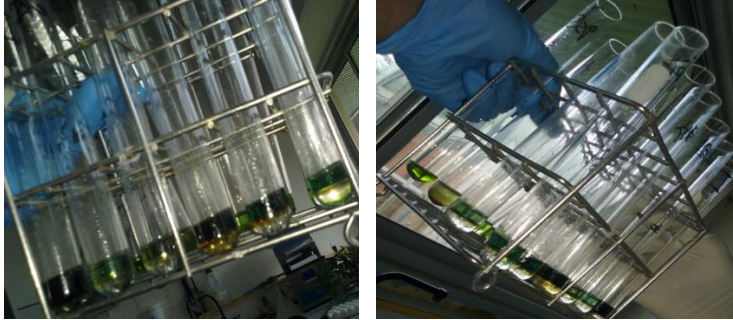


Fig. 11 : Résultats obtenus pour la recherche de saponosides

Fig. 12 : Résultats obtenus pour la recherche d'alcaloïdes :

