



Recherche des Pathogènes Zoonotiques et Évaluation des Propriétés Immunomodulatrices et Antiinfectieuses des Plantes de la Pharmacopée Gabonaise contre des Agents Infectieux dans le Contexte de la Covid-19



Rapport 2

Préambule

Financé par le Fonds OKOUME sous le management de la Direction de la Recherche, Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique, Libreville, Gabon, le projet de **Recherche des Pathogènes Zoonotiques et Évaluation des Propriétés Immunomodulatrices et Antiinfectieuses des Plantes de la Pharmacopée Gabonaise contre des Agents Infectieux dans le Contexte de la COVID-19 (PAZOPIA COVID-19)** résulte de la collaboration de l'Institut de Recherche en Ecologie Tropicale (IRET) et de l'Institut de Pharmacopée et Médecine Traditionnelle (IPHAMETRA).

Le projet PAZOPIA-COVID-19 se propose de déterminer le statut d'infection aux coronavirus (et autres agents infectieux zoonotiques) des animaux sauvages et de poissons consommés localement ainsi que les propriétés antiinfectieuses des plantes de la pharmacopée gabonaise contre ces zoonoses. Il s'agira de rechercher par les outils de biologie moléculaire les bactéries, parasites et virus (y compris les coronavirus) chez les espèces animales cibles. Les microbes détectés seront isolés par culture cellulaire pour une meilleure caractérisation et pour l'étude des propriétés anti-infectieuses. La physiopathologie de la COVID-19 étant complexe et en constante évolution, nous nous intéresserons essentiellement aux propriétés antivirales et immunomodulatrices.

Cette étude va fournir une checklist des agents infectieux zoonotiques (virus, bactéries, parasites) présents dans la viande de brousse et les poissons. Ceci constituera une base de données essentielles pour la mise en place de l'approche « une seule santé » au Gabon qui est une approche multisectorielle de surveillance de la santé impliquant les professionnels de la santé humaine, animale, et environnement. De plus, ces informations seront importantes dans l'élaboration des stratégies pour la sécurité sanitaire de ces aliments (AGASA).

La connaissance des propriétés anti- infectieuses des plantes de la pharmacopée gabonaise contre les coronavirus et autres agents zoonotiques d'importance pour la santé publique

permettra de proposer des phyto-médicaments ou les alicaments contre la COVID-19 et les autres zoonoses.

Rapport des Travaux Année 2022 partie IRET

I. Mise au point des protocoles de détection des virus zoonotiques

Du 14 Février au 10 Juin 2022, Dr Chimene NZE NKOGUE a effectué un stage au Centre de Contrôle et Prévention des maladies (CDC) à Atlanta à la division des pathogènes viraux spéciaux (Viral Special Pathogen Branch), équipe écologie virale dans le cadre du programme Hubert H. Humphrey, financé par le département d'état américain. La branche Viral Special Pathogens Branch (VSPB) du CDC joue un rôle de premier plan dans le renforcement des capacités pour détecter, prévenir et contrôler les maladies telles que les fièvres hémorragiques virales et d'autres causées par des virus dangereux. La philosophie de cette branche du CDC est de mettre l'accent sur l'origine des virus par la surveillance des réservoirs.

Ainsi, un programme de découverte virale sur les échantillons de tissus de chauves-souris collectées en Ouganda est en cours et c'est à l'aide de ces échantillons que Dr Chimene Nze Nkogué a mis au point les protocoles de détection pour Coronavirus, les Filovirus, et les Paramyxovirus. Les amorces utilisées pour la détection de 04 familles virales (Filovirus, Coronavirus, Paramyxovirus, Influenza) ont été offertes par le CDC-VSPB pour le projet PAZOPIA-COVID-19.

II. Mission de collecte des échantillons de viande brousse

Du 19 au 24 Juillet 2022, une mission conjointe de l'IRET et IPHAMETRA a procédé à la collecte des échantillons de viande brousse sur l'axe Libreville-Lambaréné.

Au total 29 spécimens ont été collectés appartenant à 6 espèces dont le céphalophe bleu, le porc épic, le pangolin, le chat huant, le hérisson, et le cercopithèque à nez blanc (*Cercopithecus nictitans*) (voir annexe1). Les spécimens étaient disséqués afin de prélever les

organes d'intérêt. Pour chaque spécimen, deux aliquots des organes suivants étaient faits : le foie, la rate, les poumons, les reins, et l'intestin. Un aliquot était immédiatement congelé et un autre aliquot était conservé dans le RNAlater. La banque d'organes est conservée dans les congélateurs au Laboratoire de Biologie Moléculaire et Microbiologie (LBMM) de l'IRET.

Une autre mission de collecte sera programmée en 2023 dans la même zone.



A : Céphalophe bleu mort



B : Céphalophe bleu après dissection



C : Cercopithèque mort



D : Cercopithèque après dissection

Figure 1 : Espèces de viande de brousse échantillonnées

III. Participation aux journées de la Médecine Traditionnelle de l'IPHAMETRA

Dr Chimene NZE NKOGUE a fait une communication sur l'approche une seule santé lors des journées de la médecine traditionnelle que l'IPHAMETRA organise.

IV. Extraction des ADNs, ARNs et détection moléculaire

Compte tenu des délais de livraison du fournisseur MEDILAB, nous avons reçu les kits d'extraction d'ADN et ARN en 2023. Les extractions et la détection moléculaire sont en cours.

Rapport des Travaux Année 2022 partie IPHAMETRA

Le projet Okoumé débuté en 2021 met en collaboration IPHAMETRA et IRET. Il a pour but de **rechercher les pathogènes zoonotiques et d'évaluer les propriétés immunomodulatrices et antiinfectieuses des plantes de la pharmacopée gabonaise utilisées contre des agents infectieux dans le contexte de la Covid-19.** La première partie du projet a consisté à effectuer des commandes en équipement, solvants, réactifs et consommables, indispensables pour la réalisation du projet.

Dans un deuxième temps, des enquêtes sur le terrain auprès des tradithérapeutes et des vendeurs de plantes médicinales ainsi qu'une enquête en ligne ont été lancées. Les enquêtes ont été faites sur la base d'un questionnaire renseignant entre autres sur le nombre de plante entrant dans la composition d'un remède, la ou les plante (s) utilisée (s), le mode de préparation et la posologie du remède. Les résultats nous ont permis de déterminer que 32% des personnes ayant répondu au questionnaire en ligne avaient utilisé uniquement les plantes médicinales en prévention et ou en traitement de la COVID-19 contre 31% n'ayant consommé que les médicaments pharmaceutiques et 37% ayant consommé les deux (Figure 2). Ce qui montre que 69 % des personnes de l'enquête en ligne ont utilisé les plantes médicinales en prévention et ou en traitement de la COVID-19.

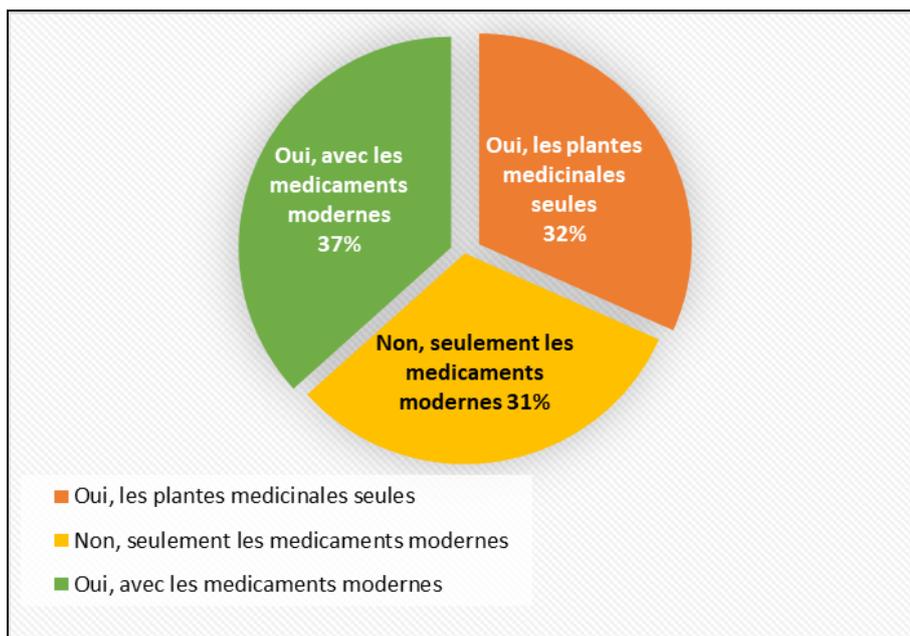


Figure 2 : Consommation des plantes en prévention et traitement de la COVID-19

Parmi les personnes ayant répondu au questionnaire en ligne, 51% avaient contracté la COVID-19 (Figure 3).

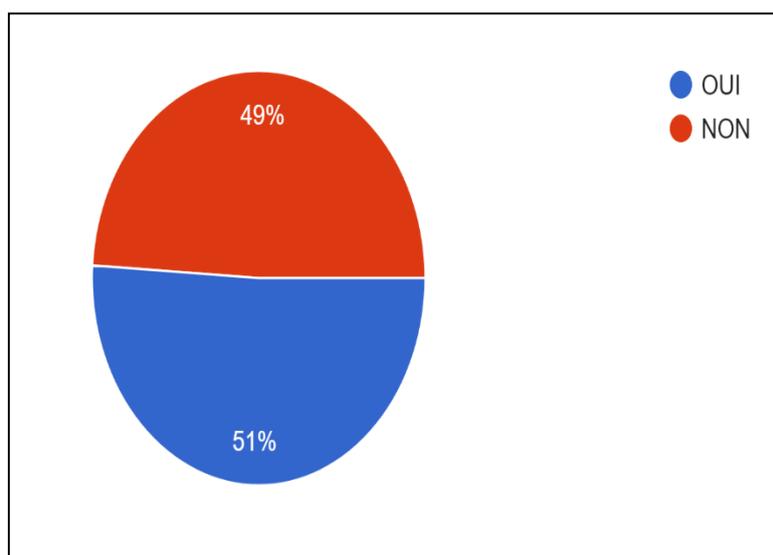


Figure 3 : Proportion des personnes ayant contracté la maladie

Les plantes étaient utilisées pour traiter les symptômes liés à la COVID-19 tels que la toux, les courbatures, la fatigue les difficultés respiratoires (Figure 4).

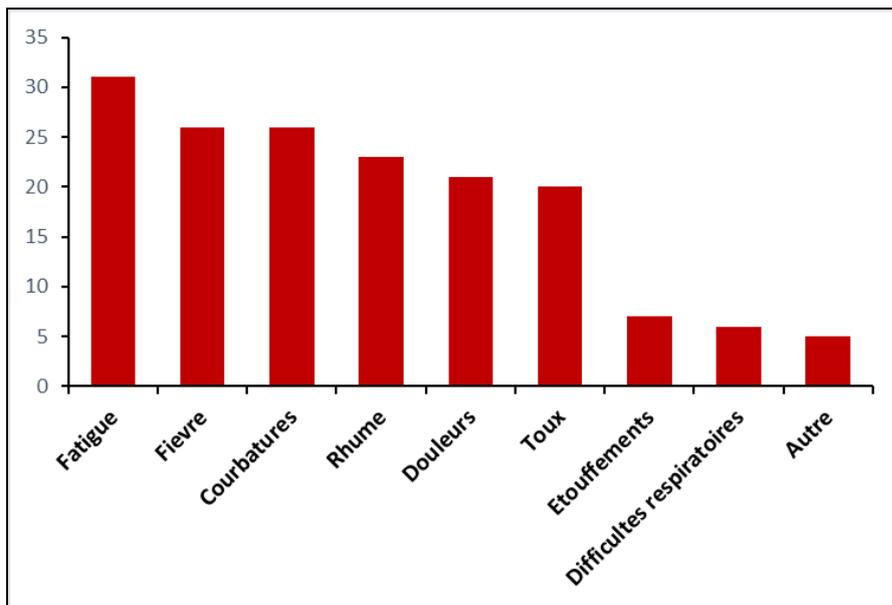


Figure 4 : Symptômes traités

Plus de 40 plantes ont été signalées lors des différentes enquêtes (Tableau 2). Certaines revenant plusieurs fois dans les citations ce qui nous a permis de mettre en évidence les plantes les plus utilisées (Figure 5).

Tableau 2: Plantes identifiées ayant été utilisées dans le cadre de la COVID-19

Alstonia congensis	Musa sp	Cylicodiscus gabunensis
Enantia chlorantha	Guiboursia ehi	Copaifera religiosa
Citrus sp	Costus lucanusianus	Kalanchoe pinnata
Carica papaya	Vernonia sp	Irvingia gabonensis
Aucouméa klaineana	Cola nitida	Distemonanthus
Zingiber officinale	Pterocarpus soyauxii	Harungana madagascariensis
Staudtia kamerunensis	Mentha suaveolens	Pseudospondias longifolia
Mangifera indica	Alium sativum	Tabernanthe iboga
Artemisia sp	Myragyna ciliata	Tetrapleura tetraptera
Senna sp	Syzygium aromaticum	Sarcocephalum pobeguini
Hyssopus officinalis	Ocimum sp	Cissus quadrangularis
Cymbopogon citratus	Moringa oleifera	Persea americana
Scyphocephalum sp	Annona muricata	

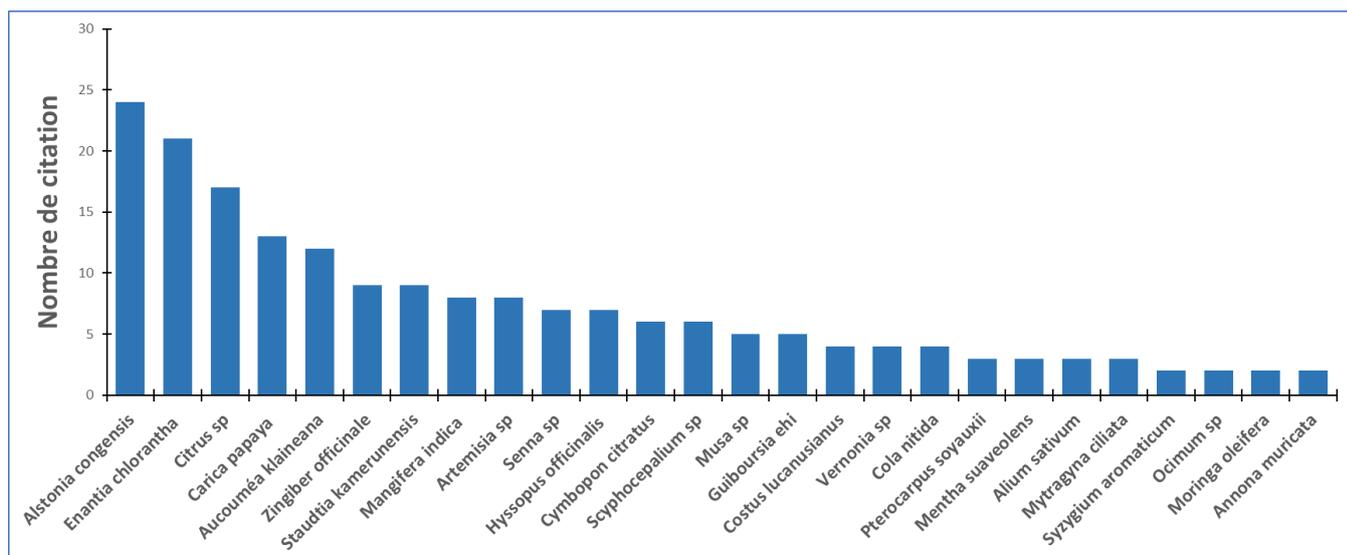


Figure 5 : Plantes les plus utilisées

Parmi les plantes les plus utilisées, nous avons sélectionnées 12 pour mener à bien notre projet (Tableau 3).

Tableau 3 : Plantes sélectionnées pour le projet

Plantes déjà récoltées	Plantes non récoltées
<i>Alstonia congensis</i>	<i>Ocimum gratissimum</i>
<i>Enantia chlorantha</i>	<i>Artemisia annua</i>
<i>Tabernanthe iboga</i>	<i>Staudtia kamerunensis</i>
<i>Macaranga monandra</i>	
<i>Aucomea klaineana</i>	
<i>Scyphocephalum ochocoa</i>	
<i>Scyphocephalum mannii</i>	
<i>Ocimum santum</i>	
<i>Coula edulis</i>	

Les plantes récoltées ont été séchées, broyées et ont fait l'objet d'extraction. Les extraits de plantes obtenus ont été analysés sur le plan de la composition phytochimique, puis des tests antimicrobiens sur des souches diverses provenant d'échantillons humains ainsi que sur des souches standards ont été effectués (Tableau 4). Les résultats ont montré la présence de plusieurs composés chimiques tels que les phénols, les alcaloïdes, les tanins les coumarines et les flavonoïdes. L'analyse de l'activité antimicrobienne a montré que 5 extraits de plantes

avaient des effets sur des isolats Gram négatif humains de types *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcessens*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Micrococcus sp*, et des souches Gram négatif multirésistantes (Figure 6).

Tableau 4 : Activité des extraits sur des bactéries isolées

Nom des plantes	<i>E. Coli</i>	<i>Serratia marcessens</i>	<i>Micrococcus sp</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Aucomea klaineana</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Macaranga monandra</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Scyphocephalum ochocoa</i>	-	+	-	+	-	+
<i>Scyphocephalum manni</i>	-	+	-	+	-	-
<i>Coula edulis</i>	++	++	++	++	++	++

- Pas d' activité; + activité faible; ++ activité modérée



Figure 6 : Représentation des diamètres d'inhibition

Les extraits ont également été testés sur des souches standard ATCC obtenues au laboratoire de microbiologie du CERMEL. Les résultats montrent que plusieurs extraits exercent une activité antibactérienne forte sur certaines souches (Tableau 5).

Tableau 5 : Activité antibactérienne des extraits sur les souches standard ATCC.

Nom des plantes	<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. Aureus (multirésistant)</i>
<i>Aucomea klaineana</i>	+	+++	++	+++	+++	+++
<i>Alstonia congensis</i>	-	+	-	+	-	+
<i>Coula edulis</i>	++	+++	++	+++	+++	+++
<i>Enantia chlorantha</i>	-	+++	+	+++	+++	+++
<i>Macaranga monandra</i>	+	+++	++	+++	+++	+++
<i>Scyphocephalum ochocoa</i>	+	+++	++	+++	+++	+++
<i>Scyphocephalum manni</i>	+	++	++	+++	+++	++
<i>Tabernanthe iboga</i>	-	++	-	++	++	++

- Pas d' activité; + activité faible; ++ activité modérée ; +++ activité forte

Des communications sous forme de présentation orale et de poster ont été présentées au cours des journées internationales de la médecine traditionnelle organisées en septembre 2022 à IPHAMETRA.

En perspective, nous comptons continuer l'étude en :

- Effectuant une dernière mission visant à récolter les plantes restantes et à compléter l'échantillonnage de viandes de brousse ;
- Poursuivant les tests antibactériens sur les souches isolées et les souches standard ATCC ;
- Effectuant des tests antiinflammatoires et d'immunomodulation ;
- Effectuant les tests antiviraux sur le SARS -2 virus de la COVID-19.

Annexe

N°	Sample ID	Species	Village	X	Y
1	NA001	CHAT HUANT (M)	GRAVIER	0636022	9936428
2	CB001	CEPHALOPHE BLEU (F)	KOUNGOULE	0637393	9942575
3	PANG001	PANGOLIN (F)	KOUNGOULE	0637393	9942575
4	PANG002	PANGOLIN (F)	KOUNGOULE	063739	9942575
5	PANG003	PANGOLIN (F)	FOURPLACE	0652819	9979277
6	PANG004	PANGOLIN (M)	FOURPLACE	0652820	9979277
7	PANG005	PANGOLIN (F)	FOURPLACE	0652821	9979277
8	PANG006	PANGOLIN (F)	FOURPLACE	0652822	9979277
9	PANG007	PANGOLIN (F)	KOUNGOULE	0637393	9942575
10	CB002	CEPHALOPHE BLEU (F)	KOUNGOULE	0637393	9942575
11	CEPH001	NICTITANS (F)	GUIDOUMA	0688985	9820731
12	CB003	CEPHALOPHE BLEU (F)	REMBO	0693937	9814534
13	PC001	PORC-EPIC (F)	MOULANDOUFOUALA	067606	9827692
14	CB004	CEPHALOPHE BLEU (M)	MOULANDOUFOUALA	067606	9827692
15	CB005	CEPHALOPHE BLEU (F)	MOULANDOUFOUALA	067606	9827692
16	CB006	CEPHALOPHE BLEU (F)	MOULANDOUFOUALA	067606	9827692
17	CB007	CEPHALOPHE BLEU (M)	MOULANDOUFOUALA	067606	9827692
18	NANG008	PANGOLIN (M)	MOULANDOUFOUALA	067606	9827692
19	CEPH002	NICTITANS (M)	MOULANDOUFOUALA	067606	9827692
20	PC002	PORC-EPIC (F)	KESSI 2	0675473	9870822
21	OLA001	AULACODE (F)	MANIENGUE	0665721	9891252
22	NIT001	NICTITANS (M)	MASSIKA (1)	0652249	9909198
23	CB008	CEPHALOPHE BLEU (F)	KOUNGOULE	0637393	9942575
24	CB009	CEPHALOPHE BLEU (F)	KOUNGOULE	0637393	9942575
25	CB010	CEPHALOPHE BLEU (M)	KOUNGOULE	0637393	9942575
26	NAN002	CHAT HUANT (F)	KOUNGOULE	0637393	9942575
27	PAN009	PANGOLIN (M)	KOUNGOULE	0637393	9942575

28	CEPH03	NICTITANS (M)	EKOUK	0649109	9990194
29	CB011	CEPHALOPHE BLEU (F)	AGRICOLE	0640125	5180

Annexe 1 : Tableau1: Liste des échantillons de viande de brousse collectés