

PARTIE II : Alternatives face aux phénomènes de résistance des anthelminthiques

1. Alternatives aux traitements médicamenteux dans la lutte contre les strongyloses

Aujourd'hui, le grand public se préoccupe d'avantage de l'utilisation de substances chimiques en agriculture et de la présence de résidus médicamenteux dans les biens de consommation [22]. Des règles d'utilisation des anthelminthiques de synthèse (AHs) ont été établies suite à l'inquiétude justifiée des consommateurs de produits d'origine animale contenant d'éventuelles traces de résidus de médicaments. Ces règles visent à limiter l'usage des AHs et à choisir parmi les différentes familles de molécules selon l'usage des animaux, notamment dans les vocations laitières. En effet, les restrictions d'emploi des AHs sont plus strictes durant la lactation car l'élimination de certains médicaments se fait *via* le lait. Des délais d'attente pour la consommation du lait sont alors dus à cette restriction. Certaines molécules sont donc interdites chez les femelles en lactation [50].

Les AHs, et plus particulièrement les lactones macrocycliques, sont toxiques pour les organismes responsables de la décomposition des fèces de ruminants au pâturage. Aussi, l'Union Européenne encourage les projets visant la recherche de solutions alternatives à l'utilisation d'anthelminthique de synthèse.

Il existe différentes méthodes alternatives sur la phase libre. La gestion du pâturage permet de casser le cycle de vie du parasite et le compostage du fumier permet de détruire les larves et les œufs des parasites par la chaleur émise, plutôt que de l'épandre dans les pâturages. Au niveau de la phase interne du parasite, il existe d'autres méthodes telles que la sélection d'hôtes génétiquement résistants aux strongles ainsi que la vaccination des troupeaux constituant un moyen de prévention. Cette dernière technique n'a pas été développée pour les helminthes, bien qu'une stimulation immunitaire soit obtenue suite à des infections naturelles ou expérimentales. Les mécanismes immunitaires mis en jeu lors de l'expulsion des Helminthes par les ruminants sont mal connus.

Enfin, la dernière méthode est le recours à une alimentation raisonnée : des fourrages riches en tanins peuvent être utilisés pour nourrir les bêtes. De nombreuses études tendent en effet à prouver l'efficacité des tanins et notamment des tanins condensés dans la lutte contre les helminthes [22].

2. Alternatives développées au laboratoire PHARMA-DEV

Dans le cadre des projets CARES et MYCOVAL, de récents travaux portant sur l'activité anthelminthique d'extraits de champignons, ont montré qu'ils pouvaient être à l'origine de découvertes prometteuses dans le domaine de la pharmacologie antiparasitaire [7]. Les métabolites secondaires issus des champignons sauvages pourraient donc être une source originale de nouveaux antiparasitaires.

Ces résultats préliminaires ont été approfondis pour consolider leur potentiel thérapeutique antiparasitaire afin d'envisager à terme la mise en place en Midi-Pyrénées d'une filière de mycothérapie : c'est l'objectif du présent projet MYCOVAL. Ce projet cherche à concevoir des procédés d'extraction des métabolites secondaires fongiques d'une vingtaine d'espèces de champignons sauvages dit oubliés de la région Midi-Pyrénées. Ces extraits et leurs métabolites ont été évalués dans le domaine pharmacologique sur des modèles biologiques, concernant principalement les parasites affectant les animaux d'élevage (nématodes gastro-intestinaux). Les objectifs de ce stage ont été d'évaluer l'activité anthelminthique d'extraits de macromycètes récoltés en Midi-Pyrénées, d'étudier la composition chimique de ces extraits et de corrélérer l'activité éventuelle à la présence de métabolites secondaires particuliers ainsi que d'isoler la (ou les) molécule(s) responsable(s) de cette activité biologique par fractionnement bio-guidé.

Afin de poursuivre les études menées sur le projet MYCOVAL, un travail expérimental s'est déroulé au laboratoire de Pharmacochimie et Pharmacologie pour le Développement (PHARMA-DEV), à Toulouse.

3. Présentation du laboratoire PHARMA-DEV

Pharma-Dev est une unité mixte de recherche (UMR 152), entre l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD) et l'Université Paul Sabatier de Toulouse. L'équipe de pharmacognosie, ethnopharmacologie et pathologies du Sud (PEPS) de l'UMR Pharma-DEV, étudie et valorise des substances naturelles issues de la biodiversité végétale et fongique ou leurs analogues obtenus par synthèse totale ou par héli-synthèse, à visée antiparasitaire, anti-infectieuse et anticancéreuse. Il s'agit d'une part de rechercher des nouvelles classes de métabolites qui pourront être potentiellement des candidats pour de futurs médicaments, et d'autre part de confirmer et valider les usages médicaux traditionnels et d'augmenter les connaissances chimio-taxonomiques dans une approche fondamentale.

4. Matériels biologiques étudiés



4.1. Classification

Selon le Guide des champignons de G. Eyssartier et P. Roux [51], les deux macromycètes présentés (Figure 17) et étudiés dans ce projet, sont classés parmi « les champignons à face inférieure tapissée d'aiguillons, ou entièrement constitués d'aiguillons, avec ou sans pied, parfois en simple croûte sur le bois mort ». Tous les deux, poussant au sol, possèdent un pied bien développé et une chair coriace. Ils se différencient par une sporée* blanche pour *Phellodon* alors qu'*Hydnellum* possède une sporée brune. Une comparaison détaillée est décrite (Tableau 10).



Figure 17 : Photographie des champignons *Hydnellum ferrugineum* (gauche) et *Phellodon niger* (droite)

Tableau 10 : Comparaison des deux champignons étudiés

	<i>Phellodon niger</i> (Fr. : Fr.) P.Karsten	<i>Hydnellum ferrugineum</i> (Fr. : Fr.) P.Karsten
Règne	Fungi	
Embranchement	Basidiomycota	
Ordre	Thelephorales	
Famille	Bankeraceae	
Chapeau	3-8 cm Feutré-méchuleux Zoné et irrégulier Bleu-noir ou noir à bord blanchâtre	3-10 cm Feutré Exsudant des gouttes rouges en cours de croissance Blanchâtre, rose à brun-rouge
Aiguillons	Décurrents Assez longs Gris bleuté à gris-brun	Peu décurrents Blanchâtre puis brun-rouge
Pied	2 - 6 x 0,5 - 1,5 cm Central ou +/- excentré Velouté, Noirâtre	1,5 - 5 x 0,5 - 3 cm Feutré Brun-rouge
Chair	Coriace +/- zonée Noirâtre	Coriace Zonée Brun-rouge
Spores	3,5 - 5,5 x 2,5 - 4 µm Elliptiques à globuleuses Incolores Ornées de verrues épineuses	5,5 - 7 x 4,5 - 5,5 µm +/- globuleuses Brun-jaune Ornées de bosses grossières
Saveur	Douce	
Odeur	Un peu épicé	Farineuse à la coupe
Comestibilité	Sans intérêt	
Fréquence	Peu commun	
Habitat	Sous feuillus et sous conifères	Sous conifères (pins, épicéas)
Répartition	 <p>Présence certaine Présence probable</p> <p>d'après [52]</p>	 <p>Présence certaine Présence probable</p> <p>d'après [52]</p>

4.2. Molécules isolées dans la littérature

Afin d'étudier la composition des champignons étudiés dans cette étude, il est nécessaire de faire un état des lieux des molécules isolées et identifiées.

4.2.1. *Phellodon niger*

En 2010, Fang et al., isolent trois nouveaux composés à partir de *Phellodon niger* et isolent un certain nombre de composés déjà identifiés. Les nigernines A et B (**22**) et (**23**) (Figure 18) sont deux nouveaux diterpènes de type cyathane et la phellodonine (**24**) est un nouveau dérivé terphényle nitrogéné. Des composés tels que l'acide phellodonique (**25**) déjà isolés auparavant dans *Phellodon melaleucus* [53], et le 2',3'-diacetoxy-3,4,5',6',4''-pentahydroxy-p-terphenyl (**26**) isolé chez *Sarcodon leucopus* (famille des *Bankeraceae* [54]) ont aussi été identifiés dans *Phellodon niger* dans cette étude de 2010. La grifoline (**27**), isolée à partir d'*Albatrellus dispansus* (embranchement des basidiomycètes) [55] et l'acide 4-O-methylgrifolique (**28**), déjà identifié dans *Polyporus dispansus* (embranchement des basidiomycètes) [56], ont également été retrouvés chez *Phellodon niger* dans cette étude de 2010 [57]. Les composés (**22**), (**23**), (**24**), (**26**) et (**28**) ont démontré une activité cytotoxique sur les cellules tumorales et une activité antioxydante [57].

En 2011, Fang et al [58], isolent à nouveau quatre nouveaux diterpènes de type cyathane, appelés nigernine C (**29**), D (**30**), E (**31**) et F (**32**). Ils retrouvent également trois composés déjà connus, la sarcodonine δ (**33**) [59], le 1,2-diacetoxy-3-(4'-hydroxyphenyl)-4,7,8-trihydroxy-dibenzo-furane (**34**) [60] et l'acide grifolique (**35**) [56].

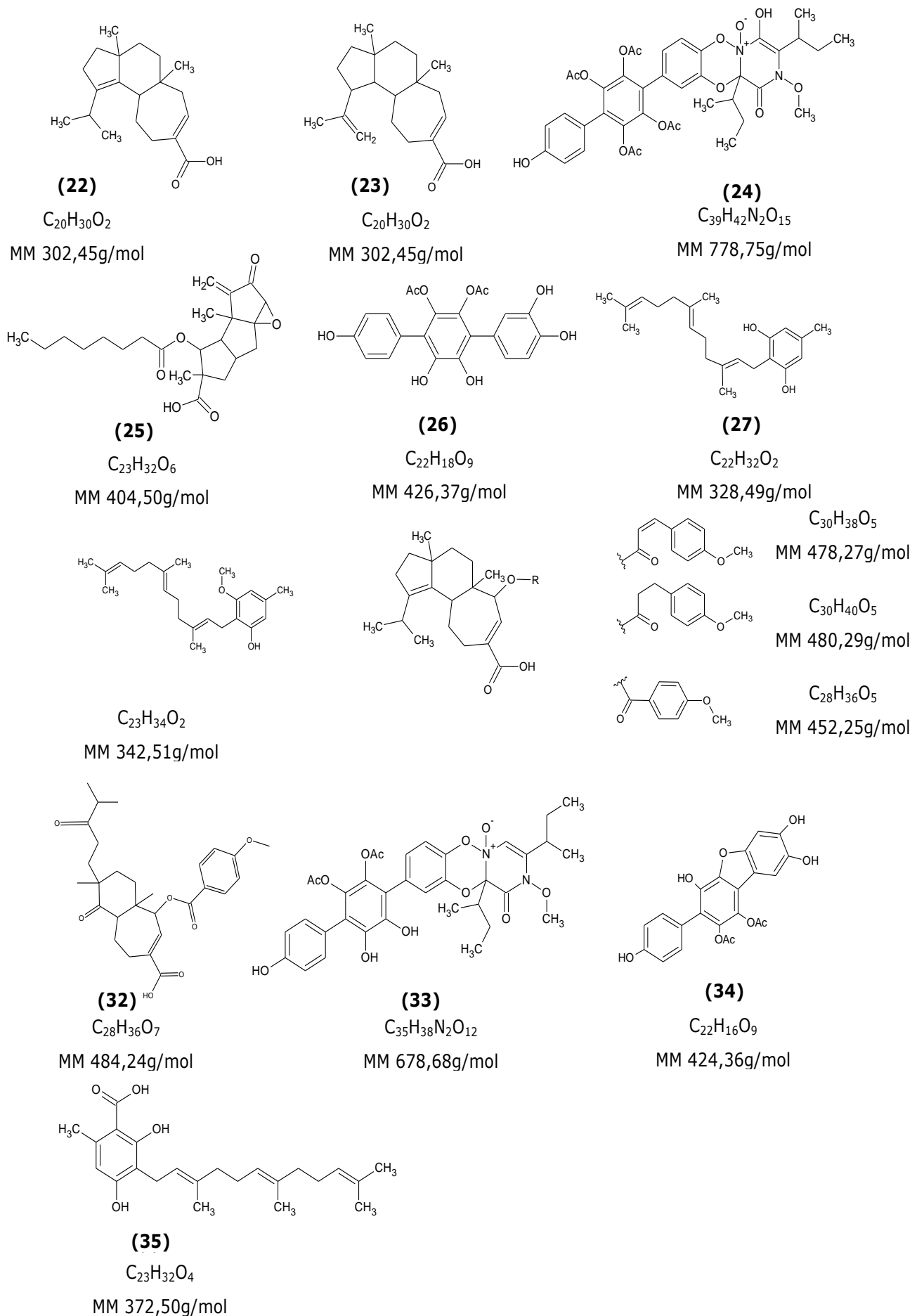


Figure 18 : Structures des composés identifiés chez *Phellodon niger*

4.2.2. *Hydnellum ferrugineum*

Deux pigments, l'hydnuferrogine (**36**) (Figure 19) et l'hydnuferroginine (**37**) ont été isolés par Gripenberg en 1974 [61] et en 1981 [62]. L'acide théléphorique (**38**) est aussi retrouvé dans cette espèce d'*Hydnellum* [61]. Gripenberg explique en 1974 qu'un précurseur commun, donne d'une part l'acide théléphorique par deshydrogénation et d'autre part l'hydnuferrogine par oxydation (Figure 20). Aucune activité n'a été reportée pour l'hydnuferrogine et pour l'hydnuferroginine. En revanche, l'acide théléphorique a révélé une activité inhibitrice de la prolyl endopetidase (PEP). Un taux anormal de PEP est supposé participé au développement d'une démence de type Alzheimer [63].

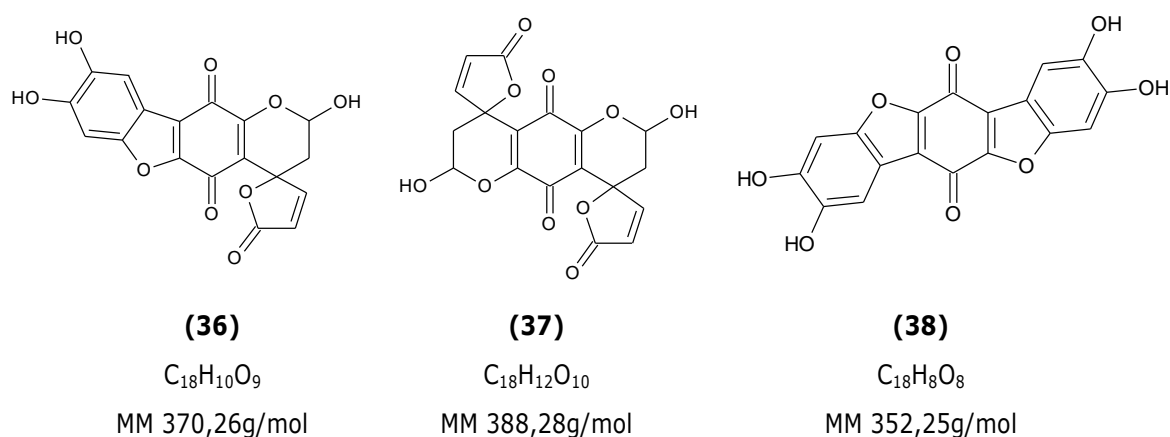


Figure 19 : Structures des composés identifiés chez *Hydnellum ferrugineum*

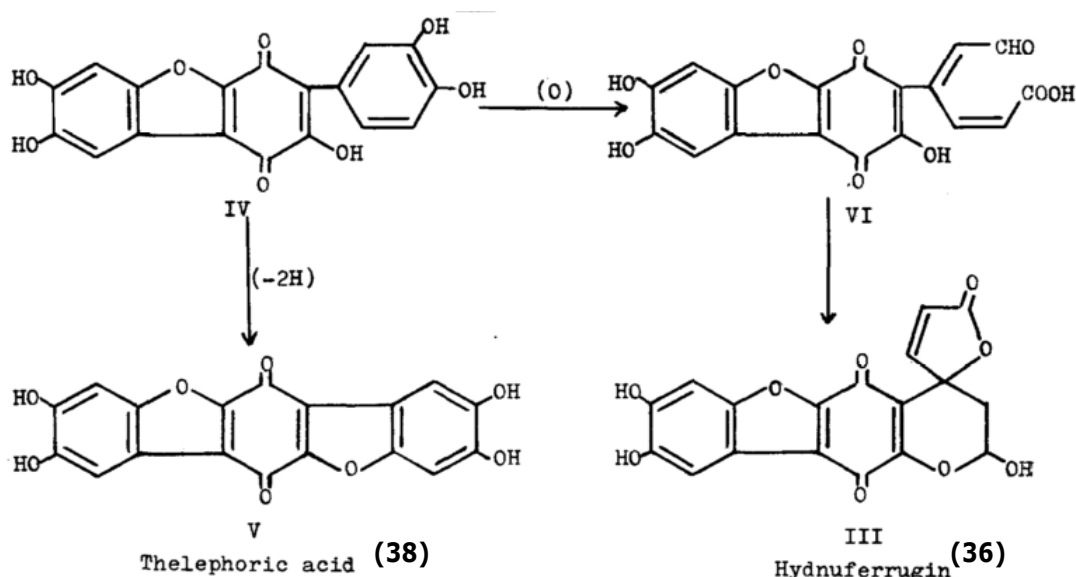


Figure 20 : Formation de l'acide théléphorique (**38**) et de l'hydnuferrogine (**36**) à partir d'un précurseur commun [61]