



HAL
open science

Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées

Sabrina Krief

► **To cite this version:**

Sabrina Krief. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Sciences du Vivant [q-bio]. Museum national d'histoire naturelle - MNHN PARIS, 2003. Français. NNT : . tel-00006170

HAL Id: tel-00006170

<https://theses.hal.science/tel-00006170v1>

Submitted on 29 May 2004

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.

MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

Année 2003

N° attribué par la bibliothèque

THÈSE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

Discipline : ÉCOLOGIE ET CHIMIE DES SUBSTANCES NATURELLES

Présentée et soutenue publiquement

par

Sabrina KRIEF

Le 5 septembre 2003

Titre

MÉTABOLITES SECONDAIRES DES PLANTES ET COMPORTEMENT ANIMAL :

SURVEILLANCE SANITAIRE ET OBSERVATIONS DE L'ALIMENTATION DE
CHIMPANZÉS (*Pan troglodytes schweinfurthii*) EN OUGANDA

ACTIVITÉS BIOLOGIQUES ET ÉTUDE CHIMIQUE
DE PLANTES CONSOMMÉES

Directeurs de thèse

Claude Marcel HLADIK et Thierry SÉVENET

JURY

M. Bernard BODO, Président
M. Richard W. WRANGHAM, Rapporteur
M. François TILLEQUIN, Rapporteur
M. Jean BOUTIN, Rapporteur
M. Jacques GUILLOT
M. Thierry SÉVENET
M. Claude Marcel HLADIK

À mon mari, Jean-Michel,

Qui chaque jour, par sa compréhension, sa sollicitude, sa tendresse et ses critiques a soutenu mes efforts et fait avancer cette étude.

Nous avons partagé chaque instant du travail de terrain, émerveillements et galères, mais toujours avec passion et bonne humeur. Ses photos illustrent cette thèse et traduisent notre bonheur d'être ensemble. Ce travail existe grâce et pour lui.

En témoignage de tout mon amour.

À mes parents,

Qui m'ont entouré de leur affection, m'ont fait grandir dans l'envie de comprendre et de découvrir la biologie.

Pour leur dévouement, leur présence constante au cours de toutes ces années d' « études », en espérant que ce travail sera digne de leurs espoirs et de leur confiance.

Avec toute ma tendresse.

À mes grands-parents,

Qui m'ont transmis et qui partagent la passion de la découverte d'autres paysages et d'autres cultures.

Pour leurs encouragements, l'intérêt constant qu'ils ont montré envers mon travail, pour avoir été toujours à mes côtés sans réserve et avec amour, qu'ils trouvent ici l'expression de mon plus profond attachement.

À mes beaux-parents, belles-soeurs et beaux-frères,

Qui depuis plus de 13 ans, subissent mes goûts originaux avec humour et parfois inquiétude. Pour leur confiance et leur présence, leur soutien et leur compréhension, je leur adresse ma plus sincère reconnaissance.

À mes amis,

*Et particulièrement à Alexandre et Alexandra,
En témoignage de toute mon affection.*

REMERCIEMENTS

À Monsieur Bernard Bodo,

Professeur au Muséum National d'Histoire Naturelle, Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles

Mes sincères remerciements de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse.

À Monsieur Richard Wrangham,

Professeur à Harvard University, USA, Laboratoire d'Anthropologie

Je suis extrêmement touchée de l'intérêt porté à ce travail.

Ma plus vive reconnaissance pour avoir accepté d'examiner ce travail et de venir en France pour assister à la soutenance de cette thèse.

À Monsieur François Tillequin,

Professeur à l'Université de Paris V, Laboratoire de Pharmacognosie

Toute ma gratitude pour avoir bien voulu faire part de ses observations à propos de ce travail et de participer à ce jury.

À Monsieur Jean Boutin,

Directeur du Département de Pharmacologie Moléculaire de l'Institut de Recherche SERVIER

Mes plus vifs remerciements pour avoir bien voulu examiner ce travail et participer à ce jury.

À Monsieur Jacques Guillot,

Professeur à L'École Nationale Vétérinaire d'Alfort, Laboratoire de Parasitologie

Ma sincère gratitude pour sa présence à ce jury de thèse.

À Monsieur Thierry Sévenet,

Directeur de Recherche au CNRS, Institut de Chimie des Substances Naturelles

Ma profonde reconnaissance pour avoir accepté de juger ce travail.

À Monsieur Claude Marcel Hladik,

Professeur au Muséum National d'Histoire Naturelle, Laboratoire d'Éco-anthropologie et d'Ethnobiologie

Toute ma gratitude pour sa présence dans le jury de cette thèse.

REMERCIEMENTS

J'exprime ma plus vive reconnaissance à Messieurs les Professeurs Pierre Potier et Jean-Yves Lallemand, directeurs successifs de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles de Gif-sur-Yvette, qui m'ont permis de réaliser ce travail très original dans le cadre de leur prestigieux laboratoire de chimie.

Ma plus profonde gratitude va à Thierry Sévenet, Directeur de Recherche au CNRS, pour la confiance qu'il m'a accordée, qui a été le moteur de ce travail. Pour avoir cru à la possibilité de conduire cette étude, et déployé beaucoup d'énergie pour convaincre ses collègues, il a rendu exceptionnelles les conditions de réalisation des missions, les collaborations avec les équipes du MNHN et de Chatenay-Malabry et mon intégration à l'ICSN. Ses encouragements constants, nos échanges parfois vifs mais toujours stimulants ont fortement contribué à l'avancée du projet. Pour avoir supporté mes *a priori* vis-à-vis de la chimie et m'y avoir initié, pour les efforts et le temps passé à valoriser mes résultats, sans réserve, qu'il trouve ici l'expression de toute ma sincère reconnaissance.

Je dois beaucoup à Claude-Marcel Hladik, Professeur au MNHN, qui suit et encourage depuis déjà quelques années mon travail sur les chimpanzés. Avec Annette Hladik, ils sont toujours d'une incroyable disponibilité et ouverture d'esprit. Un grand merci à Annette pour les identifications botaniques. Nos discussions, leurs qualités humaines, leurs conseils toujours précieux et jamais directifs ont enrichi mon travail et apporté beaucoup de gaieté à ce projet. Toute mon affection et mes remerciements pour leur aide et leurs attentions constantes.

Je suis profondément reconnaissante à Richard Wrangham, Professeur à Harvard University, USA, qui m'a fait confiance pour la réalisation de ce projet. Il m'a permis, avec Gilbert Isabirye-Basuta, de conduire mes recherches au sein de Kibale Chimpanzee Project, de bénéficier de ses infrastructures et de l'aide de ses assistants. Je lui adresse aussi toute ma gratitude pour avoir permis à Jean-Michel de m'accompagner dans cette formidable aventure et de m'aider dans la collecte des données et des plantes ce qui a fortement valorisé le temps passé en Ouganda. Un immense merci pour sa gentillesse, l'intérêt qu'il a porté à mon travail, la communication de données non publiées, ses conseils avisés et sa rigueur scientifique dans les commentaires de mes résultats.

Toute ma gratitude à Robert Barbault, Directeur de Recherche au CNRS, pour m'avoir offert l'occasion de réaliser cette thèse et pour ses conseils qui ont permis l'aboutissement de ce travail.

Je remercie le Professeur John Kasenene, directeur de Makerere University Biological Field Station, pour avoir autorisé ce travail dans le Parc National de Kibale et pour la gentillesse et l'empressement à répondre à mes demandes, au cours de mes séjours à Kanyawara. J'exprime aussi toute ma sympathie et mes remerciements à l'équipe du MUBFS pour leur assistance et leur gentillesse.

Merci à L'Uganda Wildlife Authority et à l'Uganda National Council for Science and Technology pour avoir autorisé cette étude à Kibale.

REMERCIEMENTS

J'adresse mes plus sincères remerciements aux « field managers » de Kibale Chimpanzee Project, Katie Pieta et Kim Duffy, pour leur assistance, leur accueil et les moments inoubliables, partagés à Kanyawara et en particulier, pour un Noël hors du commun. Je suis profondément reconnaissante à Kim pour son efficacité et sa collaboration pour les envois de *Trichilia rubescens*, pour m'avoir communiqué des nouvelles de Kanyawara et des chimpanzés et pour son sens de l'organisation.

Tout ce travail doit beaucoup aux assistants de Kibale Chimpanzee Project, Donor, Francis, John, Peter Christopher K, et Christopher M qui m'ont transmis leurs connaissances des chimpanzés et de la forêt. Leur bonne humeur et leur enthousiasme furent d'excellente compagnie dans les longs moments d'attente et de recherche des chimpanzés. L'aide de Moses Musana pour la collecte des plantes et son dynamisme ont été inégalables.

J'exprime ma sincère gratitude à Jacques Guillot, Professeur de Parasitologie à l'ENVA, qui, depuis ma formation vétérinaire, suit mon travail avec intérêt. Pour m'avoir permis de réaliser des coprologies au sein du Service de Parasitologie, dirigé par le Professeur René Chermette, pour ses conseils avisés, sa grande disponibilité et sa gentillesse, je lui adresse toute ma reconnaissance.

Je remercie vivement l'équipe de Parasitologie du MNHN pour la gentillesse de leur accueil, et particulièrement Philippe Grellier, Professeur au MNHN, pour la collaboration et la confiance qu'il m'a accordée lors de la réalisation des tests. Un grand merci à Mehdi Labaied, pour son aide chaleureuse et sa disponibilité dans la réalisation des essais.

J'adresse toute ma reconnaissance à l'équipe de Parasitologie de la Faculté de Pharmacie de Chatenay-Malabry. Pour les bons moments partagés autour des coprologies et leur aide active, je remercie vivement Christian Bories et Geneviève Madulo, Professeurs à la Faculté de Pharmacie, et pour m'avoir permis d'effectuer les essais biologiques dans la bonne humeur, un grand merci à Philippe Loiseau, Professeur à la Faculté de Pharmacie.

Je suis tout particulièrement reconnaissante à Bernard Bodo, Professeur au MNHN, qui m'a permis de réaliser les essais biologiques au sein de son équipe. J'ai eu le plus grand plaisir à travailler avec Valérie Bultel-Poncé, Chargée de Recherche au MNHN, je lui exprime ici toute mon affection.

Un grand merci à Lucile Allorge, Botaniste au MNHN, pour son aide dans les identifications botaniques, et pour m'avoir fait découvrir les trésors de la Phanérogamie du MNHN et quelques autres lieux magiques de la région parisienne avec enthousiasme.

Je présente mes remerciements les plus sincères à Anne-Marie Deluol, Docteur à L'Hôpital Saint-Antoine, pour son aide dans l'identification des protozoaires parasites.

Mes plus vifs remerciements aux membres de l'Institut de Recherche SERVIER, pour la réalisation des essais biologiques, et notamment à Jean Boutin et Olivier Nosjean pour leur empressement à répondre à mes questions.

REMERCIEMENTS

Ce travail doit beaucoup à la contribution de différentes personnes de l'ICSN.

Je remercie en particulier, Françoise Guéritte et Daniel Guénard, Directeurs de Recherche au CNRS, pour avoir accepté une étudiante hors-norme dans leur équipe et pour leurs conseils.

La valeur de l'aide apportée par Odile Thoison tout au long de ce travail est considérable. Je l'en remercie profondément.

Je remercie vivement Marc Litaudon, Ingénieur de Recherche au CNRS, pour ses conseils constructifs en chimie, mais aussi son ouverture d'esprit en biologie et en anthropologie, son esprit critique et sa bonne humeur. Je remercie l'équipe PSN et particulièrement, Barbara, Vanessa et Aline, qui ont fourni un énorme travail pour la réalisation des essais biologiques, en collaboration avec l'Institut de Recherche SERVIER.

Pour m'avoir aidé dans ma découverte de la chimie et avoir guidé dans mes manips de novice au milieu des rires, je suis très reconnaissante à Joëlle Dubois.

J'ai beaucoup apprécié le travail dans le service de CLHP : je remercie Marie-Thérèse Adeline pour sa disponibilité, ses conseils avisés associés à sa gentillesse et nos discussions à propos de l'Afrique qui ensoleillaient les journées d'hiver.

Un immense merci à Marie-Thérèse Martin pour sa patience, son calme bienfaisant et son soutien dans la dernière ligne droite et pour toutes les révélations que j'ai eu grâce à elle en RMN!

La gentillesse, la disponibilité et la chaleur humaine de Christiane Gaspard m'ont particulièrement touchée.

Enfin, à tous les étudiants et chercheurs et différents membres de l'ICSN, et notamment aux membres de l'Atelier Pilote d'Extraction, qui m'ont manifesté leur soutien et leur curiosité pour ce sujet « étrange », un immense merci. Sylviane, Camille, Vincent, Olivier, Vaishali, Sophie, Laetitia, Anne, Audrey, Anne-Laure, Véronique, Renata, Shaï et tous les autres m'ont transmis leurs astuces et leurs connaissances de chimistes dans la bonne humeur quotidienne, je les en remercie chaleureusement.

Je salue tout particulièrement l'incroyable soutien que j'ai trouvé dans les échanges avec Mike Huffman, Professeur à Kyoto University, Japon. Son avis sur mes résultats et nos discussions, scientifiques ou non, les corrections apportées à mon français, sa joie de vivre et son humour ont vivement stimulé ma dernière année de thèse. Qu'il trouve ici l'expression de toute ma reconnaissance et de ma sympathie.

Je suis toujours très reconnaissante à J.F. Debernard, Directeur Afrique de CEVA Santé Animale et J.F. Courreau, Professeur à L'ENVA, qui, il y a quelques années m'ont fait confiance et m'ont offert la chance de partir pour la première fois à la rencontre des chimpanzés, et qui, depuis, restent à mon écoute.

À tous ceux qui, directement ou indirectement ont contribué à ce travail, j'adresse mes plus sincères remerciements.

Tous mes remerciements au CNRS, départements de Sciences de la Vie et Chimie, pour m'avoir accordé une BDI, ainsi qu'à l'ICSN et au Muséum National d'Histoire Naturelle pour leur soutien financier.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	1
TABLE DES MATIÈRES	6
INTRODUCTION	13

PREMIÈRE PARTIE

LA ZOOPHARMACOGNOSIE, UNE ÉTUDE MULTIDISCIPLINAIRE DES MÉTABOLITES
SECONDAIRES DES PLANTES ET DU COMPORTEMENT ET DE LA SANTÉ DES ANIMAUX-
EXEMPLE DU MODÈLE CHIMPANZÉ

<i>I- LES MÉTABOLITES SECONDAIRES DES PLANTES : DIVERSITÉ, PHARMACOLOGIE ET ROLE ÉCOLOGIQUE</i>	17
--	-----------

A- Aperçu de l'immense diversité des structures et des fonctions pharmacologiques des métabolites secondaires des plantes..... **18**

1- Les composés phénoliques des plantes.....	18
1.1 Les shikimates.....	18
1.1.1 Les phénols.....	18
1.1.2 Les coumarines.....	19
1.1.3 Les lignanes et composés apparentés.....	20
1.1.4 Les dérivés d'extension du phénylpropane.....	21
1.1.5 Les tanins.....	23
1.2 Les polyacétates ou polykétides.....	24
1.2.1 Les quinones.....	24
1.2.2 Les orcinols et phloroglucinols.....	26
2- Les terpénoïdes et les stéroïdes.....	26
2.1 Les monoterpènes et les sesquiterpènes.....	26
2.2 Les diterpènes.....	28
2.3 Triterpènes et stéroïdes.....	28
2.3.1 Les saponosides.....	29
2.3.2 Les hétérosides cardiotoniques.....	29
2.3.3 Autres triterpènes.....	30
2.4 Les caroténoïdes.....	30
2.5 Les polyterpènes.....	31
3- Les alcaloïdes.....	31
3.1 Les alcaloïdes dérivés de l'ornithine et de la lysine.....	32
3.2 Les alcaloïdes dérivés de l'acide nicotinique.....	33
3.3 Les alcaloïdes dérivés de la phénylalanine et de la tyrosine.....	33
3.3.1 Les phénéthylamines.....	33
3.3.2 Les alcaloïdes isoquinoléiques.....	34
3.4 Les alcaloïdes dérivés du tryptophane.....	34
3.5 Les alcaloïdes dérivés de l'acide anthranilique.....	36
3.6 Autres dérivés azotés.....	36

B- Rôle écologique potentiel des composés secondaires..... **38**

1- Favoriser la coopération avec les animaux.....	38
2- Lutter contre la compétition avec d'autres plantes.....	38
3- Lutter contre la prédation et les attaques des agents pathogènes.....	38
3.1 Hypothèses sur le rôle écologique des tanins.....	39
3.1.1 Protection de la plante vis-à-vis des prédateurs herbivores et des pathogènes.....	40
3.1.2 Défense vis-à-vis des attaques microbiennes et imputrescibilité des tissus.....	42
3.1.3 Sous-produits de la dégradation des flavan-3-ols.....	42
3.1.4 Adaptation physiologique aux tanins.....	42
3.2 Hypothèses sur les fonctions des alcaloïdes.....	42
4- Les métabolites secondaires des plantes utilisés par les animaux.....	44

C- Méthodes traditionnelles de recherche de plantes médicinales	46
1- Approche chimiotaaxonomique	46
2- Étude ethno-pharmacologique	47
3- Échantillonnage systématique.....	47
D- Données chimiques et pharmacologiques sur quelques genres botaniques de plantes consommées par les chimpanzés	48
1- Le genre <i>Diospyros</i>	48
1.1 Activités pharmacologiques.....	49
1.2 Les principales classes de composés secondaires	49
1.2.1 Les terpènes.....	49
1.2.2 Les stéroïdes	50
1.2.3 Les naphthoquinones	50
1.2.4 Les polyphénols et tanins.....	51
1.2.5 α et β benzopyrones.....	51
1.2.6 Les caroténoïdes	51
2- Le genre <i>Uvariopsis</i>	51
2.1 Les acétogénines des Annonaceae	52
2.2 Activités biologiques des acétogénines.....	53
2.3 Le genre <i>Uvariopsis</i> et ses métabolites secondaires identifiés	55
3- Le genre <i>Trichilia</i>	56
3.1 Quelques exemples de molécules isolées du genre <i>Trichilia</i>	56
3.1.1 Les limonoïdes.....	56
3.1.2 Autres métabolites	58
3.2 Quelques activités biologiques des limonoïdes	59
II- LES COMPORTEMENTS ANIMAUX D' « AUTO-MÉDICATION »	60
A- Utilisation non alimentaire de plantes biologiquement actives.....	60
1- Lustrage du pelage :« <i>Fur rubbing</i> »	60
1.1 Quelques exemples de « <i>fur rubbing</i> ».....	60
1.2 Hypothèses pouvant expliquer le « <i>fur rubbing</i> ».....	61
2- Utilisation de plantes biologiquement actives dans la construction de nids.....	62
2.1 Ajout de matériel végétal frais à d'anciens nids	62
2.2 Hypothèses pouvant expliquer ce comportement	62
B- Consommation d'items à propriétés pharmacologiques	63
1- Comportements d'automédication observés chez des animaux captifs	63
1.1 Consommation de chloroquine par des souris impaludées.....	63
1.2 Consommation d'analgésiques par des poulets souffrant de boiteries	64
1.3 Survie de chenilles infectées par des parasitoïdes létaux	65
2- Comportements d'automédication chez les animaux sauvages	65
2.1 Ingurgitation de feuilles entières.....	66
2.1.1 Les observations	66
2.1.2 Hypothèses sur la fonction de l'ingestion de feuilles entières	66
2.1.3 Les mécanismes d'action potentiels	67
2.2 Mastication de tiges amères.....	68
2.2.1 Les observations	68
2.2.2 Hypothèse sur la fonction de ce comportement	69
2.2.3 La composition chimique de <i>Vernonia amygdalina</i>	69
2.2.4 Les activités biologiques des composés isolés de <i>Vernonia amygdalina</i>	70
2.3 La géophagie et ses fonctions potentielles	71
2.3.1 Apports en minéraux.....	71
2.3.2 Rôle de pansement digestif et d'antidiarrhéique	71
2.3.3 Détoxification et adsorption des toxines	72
2.3.4 La terre source de substances bénéfiques produites par la microflore	73
2.4 Consommation de charbon et bénéfice démographique.....	74
2.5 Régulation de la reproduction.....	74

III- BIOLOGIE, ÉCOLOGIE ET PRINCIPALES AFFECTIONS DES CHIMPANZÉS	78
A- Systématique et distribution géographique de <i>Pan troglodytes</i>	78
1- Premières classifications.....	78
2- Hypothèses actuelles sur la taxonomie des Grands Singes et distribution géographique	79
2.1 Classification	79
2.2 Distribution et caractères généraux des Hominoideae	81
2.3 La place de l'Homme parmi des Grands Singes	83
B- Quelques caractéristiques biologiques et éco-éthologiques des chimpanzés	86
1- Les premières études sur les chimpanzés	86
2- Écologie des chimpanzés	87
2.1 Habitat et densité de population.....	87
2.2 Budget d'activité	87
2.3 Régime alimentaire	87
2.3.1 Nombre d'espèces et d'items alimentaires.....	87
2.3.2 Composition du régime alimentaire.....	89
2.3.3 Temps consacré à l'alimentation	90
2.3.4 La culture alimentaire des chimpanzés	92
3- Organisation sociale des chimpanzés	94
3.1 Composition des communautés et des groupes	94
3.2 Les interactions sociales	94
3.3 Quelques aspects de la reproduction et des relations entre femelles	94
3.4 Force des liens sociaux et hiérarchie chez mâles.....	96
C- Quelques données de médecine vétérinaire sur les anthropoïdes sauvages	99
1- Affections bactériennes	99
1.1 Affections digestives d'origine bactérienne	99
1.2 Affections respiratoires d'origine bactérienne.....	100
1.2.1 La tuberculose	100
1.2.2 Autres affections.....	100
1.3 Infections cutanées d'origine bactérienne	100
1.3.1 La lèpre	100
1.3.2 Autres affections.....	100
2- Infections virales	101
2.1 Affections digestives d'origine virale	101
2.2 Pathologies respiratoires d'origine virale.....	101
2.3 Pathologies d'origine nerveuse.....	101
2.4 Affections cutanées d'origine virale	101
2.5 Les syndromes d'immunodéficience acquise	102
2.6 La fièvre hémorragique Ebola	102
3- Parasites des anthropoïdes	103
3.1 Parasites sanguins.....	103
3.1.1 Les agents du paludisme	103
3.1.2 Autres protozooses.....	104
3.2 Parasites digestifs.....	105
3.2.1 Parasites protozoaires	105
3.2.2 Helminthes	107
4- Principales causes de mortalité	111

DEUXIÈME PARTIE

ETUDE DU COMPORTEMENT ALIMENTAIRE ET SURVEILLANCE SANITAIRE DES CHIMPANZÉS DE KANYAWRA, OUGANDA-ÉTUDES BIOLOGIQUE ET CHIMIQUE DE QUELQUES PLANTES CONSOMMÉES

I- SURVEILLANCE SANITAIRE ET OBSERVATIONS COMPORTEMENTALES DE L'ALIMENTATION DES CHIMPANZÉS.....	113
A- Matériels et méthodes	113
1- Site d'étude	113
2- Sujets d'étude.....	116
2.1 Projet d'habitation	116
2.2 Régime alimentaire des chimpanzés de Kanyawara	116
2.3 Composition de la communauté.....	120
2.4 Le « territoire » de la communauté	124
3- Périodes d'étude	124
4- Méthodes d'observations comportementales	125
4.1 Évaluation du budget d'activité	125
4.2 Comportement et régime alimentaires	125
5- Méthodes de surveillance sanitaire.....	127
5.1 Observations cliniques	127
5.2 Coprologie	127
5.2.1 Au cours de la mission pilote de Novembre 1999.....	127
5.2.2 Au cours des deux missions 2000-2001.....	128
5.3 Analyses d'urine	129
5.4 Analyses statistiques	130
B- Résultats des observations comportementales et sanitaires des chimpanzés	133
1- Budgets d'activité	133
2- Comportement et régime alimentaires.....	134
2.1 Composition du régime alimentaire	134
2.1.1 Nombre d'espèces consommées.....	134
2.1.2 Temps consacré à l'alimentation	137
2.2 Diversité du régime alimentaire.....	141
2.2.1 Nombre d'espèces.....	141
2.2.2 L'entropie	141
2.2.3 Les restes des aliments trouvés dans les selles récoltées	141
2.3 Comportements alimentaires particuliers	142
2.3.1 Consommation de <i>Trichilia rubescens</i> (Meliaceae).....	142
2.3.2 Consommation de feuilles rugueuses	143
2.3.3 Consommation de plantes urticantes ou piquantes.....	143
2.3.4 Consommation de feuilles associées à d'autres aliments	145
2.3.5 Consommation d'écorces.....	145
2.3.6 Géophagie	146
2.3.7 Consommation de graines dans les crottins d'éléphants.....	148
2.3.8 Consommation de poussière de bois provenant d'un arbre mort	148
2.4 Ethnomédecine des plantes consommées par les chimpanzés.....	148
3- Évaluation de l'état sanitaire.....	158
3.1 Observations cliniques	158
3.1.1 Mutilations dues aux pièges des braconniers	159
3.1.2 Blessure de LB	161
3.1.3 Syndrome grippal de KK	163
3.1.4 Syndrome grippal d'AR.....	167
3.1.5 Problèmes digestifs d'OK	167
3.1.6 Abscès dentaire à la canine de TU	168
3.1.7 Animaux souffrant de rhinite et de toux	168
3.1.8 Animaux souffrant de diarrhée.....	168
3.2 Étude des parasites intestinaux par coprologie.....	170
3.2.1 Résultats de la mission pilote de novembre 1999	170
3.2.2 Résultats des missions 2000-2001.....	172

TABLE DES MATIÈRES

3.3 Analyse des échantillons urinaires.....	180
3.3.1 Aspect macroscopique des prélèvements.....	180
3.3.2 Proportion d'échantillons positifs.....	180
4- Mise en relation des résultats sanitaires et comportementaux	186
II- ETUDES BIOLOGIQUE ET CHIMIQUE DES PLANTES RÉCOLTÉES.....	188
A- Etude générale des activités biologiques des plantes récoltées	189
1- Les plantes récoltées.....	189
2- Essais biologiques pratiqués sur l'ensemble des extraits	192
2.1 Essais trypanocides <i>in vitro</i> (<i>Trypanosoma brucei brucei</i>).....	192
2.1.1 La trypanosomose à <i>Trypanosoma brucei</i> chez l'homme et son impact en Afrique	192
2.1.2 La trypanosomose chez le chimpanzé	193
2.1.3 Résultats des essais trypanocides	193
2.2 Essais sur les formes promastigotes de <i>Leishmania donovani</i>	194
2.2.1 Les leishmanioses et leur impact mondial	194
2.2.2 La leishmaniose chez le chimpanzé.....	195
2.2.3 Résultats des essais leishmanicides	195
2.3 Essais anti-paludiques	195
2.3.1 <i>Plasmodium falciparum</i> , fléau mondial, agent du paludisme	195
2.3.2 Le paludisme chez les chimpanzés.....	199
2.3.3 Activités antipaludique des extraits de plantes.....	199
2.4 Tests de cytotoxicité sur cellules cancéreuses.....	200
2.4.1 Les cancers	200
2.4.2 Activité cytotoxique sur cellules KB des extraits de plantes	201
2.5 Évaluation <i>in vitro</i> de l'activité anthelminthique	202
2.6 Propriétés antibiotiques et antifongiques.....	203
2.6.1 Essais sur <i>Staphylococcus aureus</i>	203
2.6.2 Essais sur <i>Escherichia coli</i>	205
2.6.3 Essais sur <i>Candida tropicalis</i>	205
2.7 Bilan des activités antimicrobiennes et cytotoxiques.....	206
2.8 Tests d'immunomodulation.....	207
2.9 Tests anti-VIH.....	208
2.9.1 L'impact du VIH chez l'homme.....	208
2.9.2 Le SIV chez le chimpanzé.....	208
2.9.3 Évaluation de l'activité anti-VIH-1	208
3- Essais biologiques sur les extraits bruts et leurs fractions effectués dans le cadre de la collaboration avec les laboratoires SERVIER.....	212
3.1 Cibles biologiques utilisées	212
3.1.1 Les récepteurs H3	212
3.1.2 Les récepteurs PPAR γ (Peroxisome Proliferator Activated Receptor)	213
3.1.3 Les récepteurs MCH (Melanine Concentrating Hormon)	213
3.1.4 Le récepteur NPY (Neuropeptide Y).....	214
3.2 Activités sur les récepteurs de la prise alimentaire	214
3.2.1 Activités des extraits bruts	214
3.2.2 Activités simultanées des extraits bruts et des fractions.....	218
3.2.3 Bilan des activités sur les récepteurs impliqués dans la régulation de la prise alimentaire.....	219
B- Étude particulière de quelques plantes récoltées.....	221
1- <i>Diospyros abyssinica</i> (Ebenaceae)- lot Ug. 7	221
1.1 Récolte et identification des échantillons	221
1.2 Bilan des activités biologiques de l'extrait brut.....	221
1.2.1 Essais anti-microbiens et cytotoxicité sur cultures cellulaires	221
1.2.2 Essais sur récepteurs impliqués dans la régulation de la prise alimentaire.....	222
1.3 Fractionnement de l'extrait brut.....	222
1.4 Détermination structurale	223
1.5 Activités biologiques des produits isolés	228
1.5.1 Activités antimicrobiennes et cytotoxiques sur cultures cellulaires.....	228
1.5.2 Activité sur les cibles impliquées dans la régulation de la prise alimentaire.....	228
2- <i>Uvariopsis congensis</i> (Annonaceae)- lot Ug. 12.....	229
2.1 Récolte et identification des échantillons	229
2.2 Bilan des activités biologiques.....	229

TABLE DES MATIÈRES

2.3 Fractionnement des extraits bruts	229
2.4 Détermination structurale	230
2.5 Activités biologiques des produits isolés	235
3- <i>Trichilia rubescens</i> (Meliaceae)-Lots Ug.22 et Ug. 25	236
3.1 Récolte et identification des échantillons	236
3.1.1 Récolte des feuilles de jeunes arbres	236
– lot Ug. 22	236
3.1.2 Récolte des feuilles de l’arbre adulte– lot Ug. 25	236
3.2 Bilan des activités biologiques.....	236
3.3 Fractionnement de l’extrait brut.....	237
3.3.1 Fractionnement de l’extrait de feuilles des jeunes arbres – lot Ug. 22.....	237
3.3.2 Fractionnement de l’extrait des feuilles de l’arbre adulte – lot Ug. 25	237
3.4 Détermination structurale	237
3.5 Activités biologiques des produits isolés	248
4- <i>Albizia grandibracteata</i> (Mimosaceae) (Lot Ug. 17).....	248
4.1 Récolte et identification des échantillons	248
4.2 Activités biologiques.....	248
4.3 Fractionnement de l’extrait brut.....	248
4.4 Bilan des activités biologiques.....	249
C- Partie expérimentale des études biologiques et chimiques des plantes récoltées	250
1- Récolte des plantes	250
2- Préparation des extraits bruts de plantes.....	251
3- Étude chimique des plantes récoltées	251
3.1 Méthodes générales	251
3.1.1 Chromatographies sur couche mince.....	251
3.1.2 Chromatographies sur colonne de silice	251
3.1.3 Chromatographie d’exclusion	251
3.1.4 Chromatographie Liquide Haute Performance.....	252
3.1.5 CL-SM	252
3.1.6 Spectre de Masse en impact électronique	253
3.1.7 Résonance Magnétique Nucléaire	253
3.2 Fractionnement automatique des extraits bruts pour la réalisation d’essais biologiques (Collaboration avec les Laboratoires SERVIER).....	253
3.2.1 Préparation des échantillons.....	254
3.2.2 CLHP des extraits	254
3.2.3 Mise en plaques	254
3.3 Étude chimique de <i>Diospyros abyssinica</i> (Ebenaceae)- lot Ug. 7	255
3.3.1 Fractionnement de l’extrait brut	255
3.3.2 Caractérisation des produits obtenus	256
3.4 Étude chimique d’ <i>Uvariopsis congensis</i> (Annonaceae) – lot Ug. 12	260
3.4.1 Fractionnement et isolement des produits des écorces	260
3.4.2 Fractionnement et isolement de produits à partir des feuilles.....	265
3.4.3 Caractérisation des produits obtenus	266
3.5 Étude chimique de <i>Trichilia rubescens</i> (Meliaceae) – Lot Ug.22 et Ug.25	269
3.5.1 Fractionnement des extraits de feuilles des jeunes arbres - Lot Ug.22	269
3.5.2 Fractionnement des extraits de feuilles de l’arbre adulte Lot Ug. 25.....	269
3.5.3 Caractérisation des produits obtenus	274
3.6 Fractionnement bioguidé de l’extrait d’écorce d’ <i>Albizia grandibracteata</i> (Mimosaceae) – Lot Ug. 17.....	278
4- Protocoles des essais biologiques.....	279
4.1 Essais trypanocides <i>in vitro</i> (<i>Trypanosoma brucei brucei</i>).....	279
4.2 Essais sur les formes promastigotes de <i>Leishmania donovani</i>	280
4.3 Essais anti-paludiques	280
4.4 Tests de cytotoxicité sur cellules cancéreuses	281
4.5 Évaluation <i>in vitro</i> de l’activité anthelminthique	282
4.6 Autres essais antimicrobiens.....	282
4.6.1 Mesure des diamètres d’inhibition par diffusion en milieu solide (technique des disques).....	282
4.6.2 Évaluation de l’activité antimicrobienne par la méthode de dilution en milieu liquide.....	284
4.7 Tests d’immunomodulation.....	284
4.8 Tests anti-VIH.....	284

TABLE DES MATIÈRES

4.8.1 Sur cellules MT4	284
4.8.2 Sur cellules PBMC	285
4.8.3 Sur cellules CEM-MS (cellules issues d'une lignée lymphoblastique).....	285
III- DISCUSSION ET PERSPECTIVES	286
A- Effets potentiels de l'alimentation sur la santé des chimpanzés	286
1- Composition du régime alimentaire et comportement alimentaire des chimpanzés de Kanyawara.....	286
1.1 Budget d'alimentation	286
1.2 Caractéristiques de la sélection alimentaire des chimpanzés	287
1.2.1 Une forte fibrosité de la ration alimentaire : du lest, des nutriments fermentescibles et des composés secondaires.....	287
1.2.2 Les figues, aliment de base pour les chimpanzés de Kanyawara ?	290
1.2.3 Facteurs, autres que la composition chimique, pouvant influencer la sélection alimentaire ...	293
1.3 Consommation occasionnelle d'items nutritionnellement pauvres ou inhabituels.....	295
1.3.1 Consommation d'écorces par les chimpanzés et utilisation par les tradipraticiens.....	295
1.3.2 Consommation de terre et de bois	296
1.3.3 Consommation d'items particuliers.....	296
2- Évaluation de l'état sanitaire des chimpanzés de Kanyawara	297
2.1 Étude parasitologique	297
2.2 Analyse urinaire	302
3- Avantages de l'association de plusieurs méthodes non –invasives pour le diagnostic vétérinaire en milieu naturel.....	304
4- Activités biologiques des plantes collectées	305
4.1 Étude générale des activités biologiques.....	305
4.2 Étude particulière de quelques espèces consommées par les chimpanzés	306
4.3 Quelques limites inhérentes aux méthodes employées	306
5- Un effet global préventif et ponctuel curatif de la consommation de plantes?.....	307
B- Hypothèses sur l'origine de la sélection de plantes biologiquement actives	309
1- Acquisition individuelle et transmission de nouvelles habitudes alimentaires et d'éventuels comportements d'auto-médication	309
2- Le chimpanzé, modèle de l'évolution humaine?.....	310
C- Perspectives et futures orientations.....	311
1- Étudier les comportements d'auto-médication chez les animaux captifs ou domestiques.....	311
2- Approfondir les observations sur les comportements d'auto-médication chez des animaux sauvages .	312
CONCLUSION.....	313
TABLE DES ILLUSTRATIONS	317
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	325
ANNEXES.....	343

« Dans la touffeur des forêts primaires, le long des bancs coralliens, sous la terre et au fond des océans, les formes vivantes, innombrables, survivent grâce à leurs armes chimiques. Un arsenal de molécules demeure dissimulé dans notre environnement proche. Cet entrepôt bien fourni a été lentement constitué ; plusieurs milliards d'années ont été nécessaires. Peut-on parler de Magasin du Bon Dieu ? Il permit aux premiers hommes de se soigner. Il reste encore à explorer. »

Pierre Potier

Dans *Le Magasin du Bon Dieu, les extraordinaires richesses thérapeutiques des plantes et des animaux* (2001)

Le 21^{ème} siècle s'ouvre et de nombreuses maladies à fort taux de mortalité restent encore sans traitement. Dans certains cas, on devrait plutôt dire sans traitement adapté, car les malades du paludisme ou du SIDA meurent souvent de n'avoir pas accès à des traitements trop coûteux. Des résistances aux médicaments les plus utilisés (et les moins chers) se répandent. La recherche de nouvelles molécules, plus actives, bon marché, sans effets secondaires trop marqués, est aujourd'hui une urgence pour l'homme.

La nature, ou comme l'appelle Pierre Potier « le Magasin du Bon Dieu », avec 250000 à 500000 espèces de plantes, ses micro-organismes et ses produits marins, est la source d'une formidable diversité de molécules, possédant parfois des propriétés thérapeutiques, mais servant aussi de modèles à l'imagination des chimistes, pour créer des molécules plus actives. Seule une poignée de ces richesses a été explorée.

Les méthodes usuelles de collecte de plantes pour la recherche pharmacologique sont, soit systématiques, soit basées sur la connaissance des particularités chimiques de certaines familles de plantes (chimiotaxonomie) ou encore, utilisent les médecines traditionnelles locales comme source primaire d'informations.

Si l'homme a appris à connaître son environnement pour en tirer avantage et se soigner, les animaux ont, chaque jour, pour survivre et se nourrir, à éviter les plantes les plus toxiques. La composition chimique actuelle des végétaux est la réponse à 300 millions d'années de pressions de sélection, exercées par les agents pathogènes et les prédateurs. Elle est aussi le résultat d'associations bénéfiques entre espèces. Faune et flore ont co-évolué, les individus les mieux adaptés et les plus aptes à survivre transmettant les meilleurs gènes. L'étude de ces interactions peut être une nouvelle source d'informations sur les activités biologiques des plantes et pourrait être favorisée en recherche pharmacologique.

Dès 1978, Janzen proposait que les animaux pourraient « soulager certains de leurs maux », en ingérant des plantes biologiquement actives. Des observations semblent aujourd'hui en témoigner : certains animaux incorporent dans leur alimentation ou dans leur environnement proche (construction des nids) des plantes à activité pharmacologique, qui ont pour conséquence d'éliminer les parasites et d'améliorer leur confort. L'observation d'un chimpanzé malade ingérant les tiges amères de *Vernonia amygdalina*, qui ne font pas partie de son alimentation habituelle, et recouvrant la santé (Huffman & Seifu, 1989) ou la consommation de terre ou de charbon de bois, de composition et de propriétés très proches des médicaments humains, actuellement vendus en pharmacie, ont amené certains auteurs à qualifier ces comportements d'auto-médication. Même si pour nos sociétés occidentales, le concept de médicament se distingue de celui d'aliment, et si les connaissances sur la perception consciente des animaux sont encore un sujet de débat, l'étude de ces comportements, appelée « zoopharmacognosie », peut orienter, à côté des méthodes habituelles, la collecte de plantes pour leur étude phytochimique.

C'est dans ce cadre multidisciplinaire que cette étude a été entreprise.

Dans une première partie, les bases bibliographiques, sur lesquelles s'est construit le projet de recherche, sont exposées : à quelques exemples de l'incroyable diversité des composés secondaires et des utilisations pharmacologiques que l'homme en a fait, succèdent des observations pouvant permettre de supposer un rôle écologique de défense des plantes contre les phytophages et les parasites.

Une revue de diverses utilisations par les animaux de produits qu'on pourrait qualifier de « médicamenteux » montre que ces comportements ne sont pas l'apanage des seuls primates. Diverses espèces - des insectes aux gorilles, en passant par les poulets- utilisent des éléments de leur milieu, pour favoriser leur bien-être. Dans le cadre de cette étude, visant à trouver des produits pouvant être utiles à la santé humaine, les observations étonnantes ayant trait aux chimpanzés sont plus particulièrement intéressantes, laissant entrevoir la faisabilité d'un tel travail.

Quelques caractéristiques de cette espèce choisie comme modèle d'étude sont ensuite présentées, soulignant la forte proximité phylogénétique, anatomique et physiologique avec l'espèce humaine. Des aspects de leur vie sociale, permettant de comprendre que des comportements « d'auto-médication » peuvent éventuellement être considérés comme culturels, mais aussi d'envisager leur apprentissage ou leur origine et leur transmission, sont évoqués. Les affections, propres à cette espèce et nécessaires à diagnostiquer lors de la surveillance sanitaire en milieu naturel, sont également décrites.

La deuxième partie inclue les résultats de l'étude de terrain et du travail phytochimique en laboratoire.

Le cadre exceptionnel du Kibale Chimpanzee Project, dirigé par Richard Wrangham et Gilbert Isabirye-Basuta a permis les observations des chimpanzés de la forêt de Kibale et la collecte de plantes potentiellement actives, à la Station de Recherche de l'Université de Makerere, en Ouganda. Des raisons éthiques et pratiques empêchant de réaliser des interventions invasives pour évaluer l'état sanitaire des animaux, l'étude s'est appuyée sur des méthodes non-invasives, innovantes pour un travail en conditions naturelles sur cette espèce, telles qu'un suivi individuel avec numération des parasites des fèces et analyses d'urine.

Le travail de phytochimie a été conduit sur les plantes récoltées en fonction de ces observations, à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles de Gif-sur-Yvette, que Pierre Potier, son directeur jusqu'en 2000, décrit comme « un temple dédié aux substances naturelles » et qui est le plus grand institut de recherche publique de chimie en France. Des collaborations multiples ont permis de réaliser des essais sur des cibles, correspondant aux agents responsables de maladies à lourd impact sur la santé humaine : SIDA, paludisme, trypanosomose ou leishmaniose, et sur des pathogènes pouvant altérer la santé des chimpanzés (helminthes, bactéries, levures). Les résultats des activités biologiques des plantes consommées, ainsi que l'isolement de quelques molécules responsables des activités, sont présentés. L'ensemble des données est discuté par rapport aux travaux publiés et les perspectives offertes par ce travail sont envisagées.

INTRODUCTION

I- LES METABOLITES SECONDAIRES DES PLANTES : DIVERSITE, PHARMACOLOGIE ET ROLE ECOLOGIQUE

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires que sont les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés diffèrent en fonction des espèces et, bien que leurs rôles soient encore mal connus, il est cependant clair qu'ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec les organismes vivants qui l'entourent. Ils sont probablement des éléments essentiels de la co-évolution des plantes avec les organismes vivants, tels que parasites, pathogènes et prédateurs, mais aussi pollinisateurs et disséminateurs. Ces différentes relations ont donné lieu à une extrême diversification des composés secondaires.

Il est bien sûr impensable de présenter dans le cadre de cette thèse un exposé détaillé des différents types de substances synthétisés par les plantes. Tout au plus, les pages qui suivent tracent un aperçu non exhaustif de différents composés rencontrés, de leur rôle lorsqu'il est connu, de leur activité biologique et de leur utilisation.

Si leur rôle écologique reste encore à préciser, leur utilisation par l'homme dans de nombreuses préparations thérapeutiques est très largement répandue. La pharmacognosie est étymologiquement la connaissance (*gnosis*) des poisons (*pharmacon*) d'origine naturelle. Ces substances toxiques possèdent, parfois à faible dose, des propriétés médicamenteuses et peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques. Les molécules naturelles responsables de ces activités servent aujourd'hui de modèle à la créativité des chimistes qui tentent d'en améliorer les activités ou d'en diminuer les effets secondaires et la toxicité. Par ailleurs, les limites entre plantes médicinales et aliments sont parfois peu nettes, et un champ d'application nouveau, la « nutraceutique », exploite ce fait.

La diversité des espèces utilisées et des métabolites secondaires déjà isolés laisse présager de l'ampleur de ce qui reste à découvrir. On considère effectivement que, jusqu'à ce jour, moins de 10 % des espèces de végétaux supérieurs qui peuplent actuellement la planète ont été explorées pour leurs propriétés chimiques et biologiques.

On peut classer les métabolites secondaires en plusieurs grands groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine. Quelques exemples représentatifs sont présentés ci-après, grâce à une revue des ouvrages de Bruneton (1993), Tyler *et al.* (1981) et Guignard (1996).

A- APERÇU DE L'IMMENSE DIVERSITÉ DES STRUCTURES ET DES FONCTIONS PHARMACOLOGIQUES DES MÉTABOLITES SECONDAIRES DES PLANTES

1- Les composés phénoliques des plantes

La biosynthèse du noyau aromatique est un processus fondamental de la biochimie végétale.

Par conséquent, la définition des composés phénoliques prend en compte, à la fois des éléments structuraux et l'origine biogénétique des composés. Ils se caractérisent par la présence d'un noyau benzénique, portant un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une fonction ester, éther ou hétéroside. Le ou les noyaux aromatiques peuvent être synthétisés soit par la voie du shikimate, soit par celle de l'acétate, ce qui permet de différencier deux classes de composés phénoliques. Par ailleurs, la voie des polyacétates intervient chez les végétaux supérieurs pour des composés possédant déjà un noyau aromatique obtenu par la voie des shikimates. Les composés obtenus sont dits mixtes (flavonoïdes).

1.1 Les shikimates

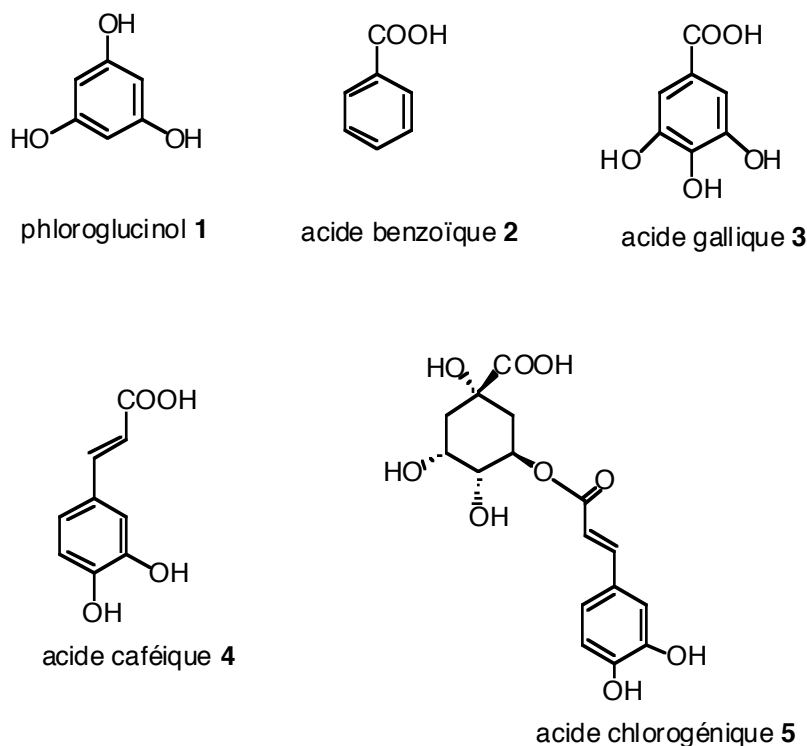
Le 3-déhydroshikimate, formé à partir de la condensation du phosphoénolpyruvate avec l'érythrose-4-phosphate, est réduit en shikimate, puis la phosphorylation de ce dernier et sa condensation avec une autre molécule de phosphoénolpyruvate, conduit à la formation du chorismate. Le chorismate occupe une position-clé dans le métabolisme, en particulier dans la formation des acides aminés aromatiques. Les phénylpropanes, tel l'acide cinnamique, sont des métabolites du shikimate susceptibles de se cycliser et d'aboutir à la formation des coumarines, de se dimériser comme dans le cas des lignanes, ou de se polymériser formant alors des lignines. Les flavonoïdes et les stilbènes résultent d'un allongement de la chaîne latérale.

1.1.1 Les phénols

Les phénols simples sont rares dans la nature (catéchol, phloroglucinol **1**...). Les acides phénols sont des dérivés de l'acide benzoïque **2** (composés en C6-C1) tels que l'acide gallique **3** élément constitutif des tanins hydrolysables ou de l'acide cinnamique (composés en C6-C3) comme l'acide caféique **4** qui sont souvent estérifiés.

L'artichaut (*Cynara scolymus* L., Asteraceae) ou encore le romarin (*Rosmarinus officinalis* L. Lamiaceae) contiennent des esters de l'acide caféique **4**. L'acide chlorogénique **5**, ester de l'acide quinique, largement présent dans le règne végétal, a des propriétés proches de celles des tanins.

Fig. 1 Quelques phénols et acides phénoliques



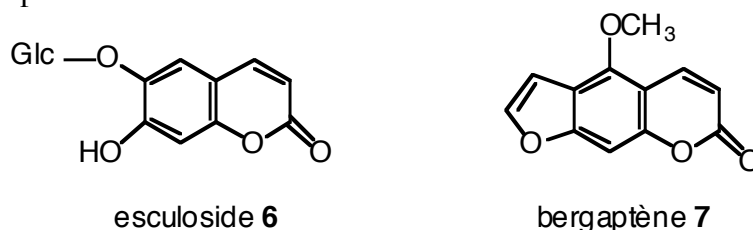
1.1.2 Les coumarines

Les coumarines sont des 2H-1-benzopyran-2-ones, lactones des acides *ortho*-hydroxy-Z-cinnamiques. L'isomérisation de la double liaison E en Z est réalisée par la lumière à 320 nm. Près d'un millier d'entre elles ont été décrites, et si les plus simples sont très largement distribuées dans le monde végétal, les plus complexes sont surtout décrites chez les Apiaceae et les Rutaceae. Les coumarines sont fréquemment hydroxylées en position 7 et ces hydroxyles peuvent être méthylés ou engagés dans une liaison hétérosidique.

L'esculoside **6**, présent dans l'écorce du Marronnier d'Inde, est considéré comme vasculoprotecteur et veinotonique ; c'est le principe actif de médicaments anti-hémorroïdaires.

La prénylation du noyau benzénique des coumarines aboutit à la formation de furano et pyranocoumarines. Elles sont responsables de la phototoxicité de certaines espèces végétales (Apiaceae ou Rutaceae), qui se manifeste par une dermatite aiguë. Le bergaptène **7** est d'ailleurs utilisé pour ses propriétés photodynamisantes dans le traitement du psoriasis, et certaines coumarines sont aussi utilisées dans les produits solaires.

Fig. 2 Quelques exemples de coumarines

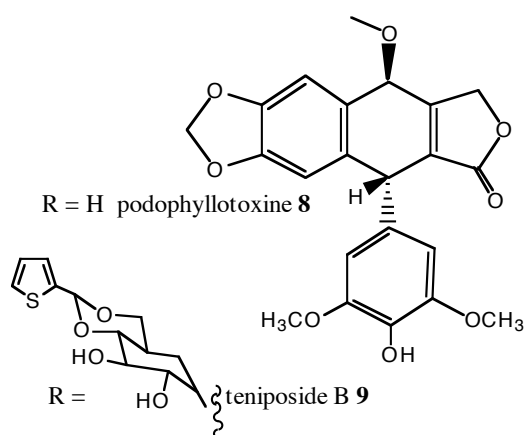


1.1.3 Les lignanes et composés apparentés

Les lignanes résultent de la condensation d'unités phénylpropaniques. Quatre groupes peuvent être considérés : les lignanes (liaison entre deux carbones β des chaînes latérales de deux unités dérivées du phénylpropane), les néolignanes (un seul carbone β est en jeu), les "oligomères", (condensation de 2 à 5 unités phénylpropaniques) et enfin les norlignanes avec un squelette en C17. Les néolignanes sont surtout présents chez les espèces primitives (Magnoliales, Pipérales) alors que les lignanes se trouvent souvent dans le bois des Gymnospermes et dans les tissus soumis à lignification chez les Angiospermes.

La podophyllotoxine **8**, extraite du rhizome de podophylle (*Podophyllum peltatum*, Berberidaceae) est une résine aux propriétés antimitotiques, source de dérivés semi-synthétiques antinéoplasiques, tel le téniposide **9** (Etophos®).

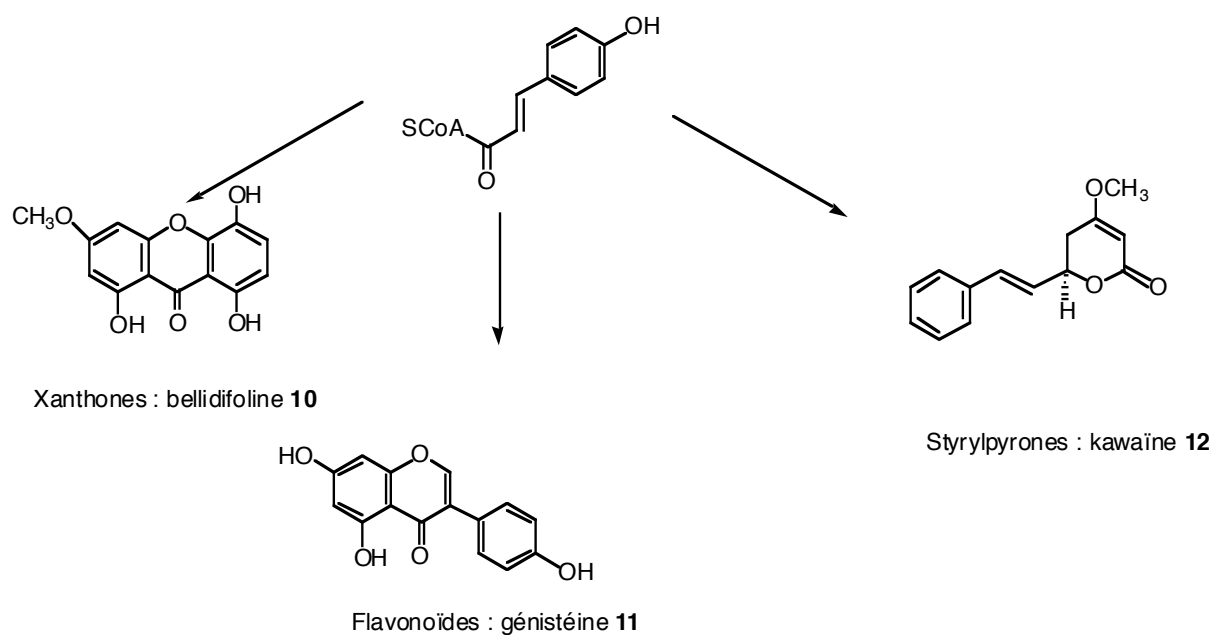
Fig. 3 Deux exemples de lignanes



1.1.4 Les dérivés d'extension du phénylpropane

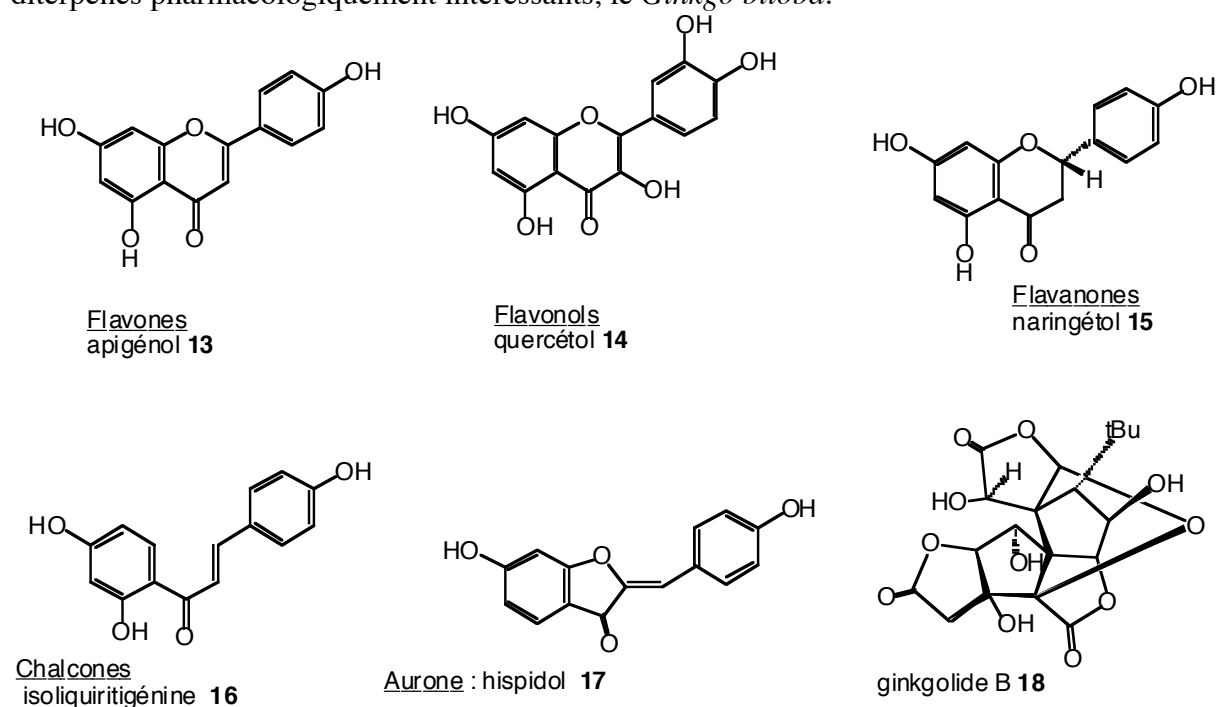
L'addition successive d'unités dicarbonées sur des composés de type phénylpropane est à l'origine de la formation des stilbénoides, des flavonoïdes et des isoflavonoïdes. Ainsi, les xanthones comme la bellidifoline **10**, les isoflavones comme la génistéine **11**, les styrylpyrones comme la kawaïne **12** présentés dans la figure 4.

Fig. 4 Exemples de dérivés d'extension du phénylpropane



Les flavonoïdes sont des pigments végétaux, simples ou glycosylés, responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Les flavones (par exemple, l'apigénol **13**) et flavonols (comme le quercétol **14**), incolores, ont un rôle de co-pigment et de protection alors que les flavonoïdes jaunes (chalcones comme l'isoliquiritigénine **16**, aurones dont l'hispidol **17**, et flavonols jaunes) et les anthocyanosides bleus et rouges sont directement visibles. Certains ne sont visibles que par les insectes, assurant la signalisation pour les pollinisateurs. Les flavonoïdes, dissous dans les vacuoles à l'état d'hétérosides ou dans des plastes particuliers, les chromoplastes, sont présentes dans la cuticule et les cellules épidermiques, assurant la protection des tissus contre les rayonnements solaires nocifs. Les flavonoïdes (plus de 3000) ont une origine biogénétique commune et on peut distinguer les flavonoïdes *sensu stricto* des dérivés flavaniques, des anthocyanosides et des isoflavonoïdes. Les flavones et flavonols représentent 80% des flavonoïdes *sensu stricto*.

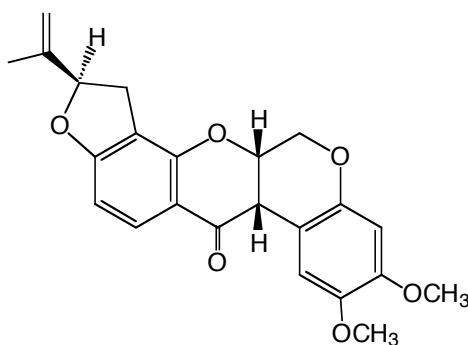
Fig. 5 Quelques flavonoïdes et un diterpène, le ginkgolide B, issu d'une plante à flavonoïdes et diterpènes pharmacologiquement intéressants, le *Ginkgo biloba*.



Les flavonoïdes peuvent se lier les uns aux autres par leurs carbones 6 et 8, formant un biflavonoïde. On attribue aux flavonoïdes des propriétés d'augmentation de la résistance capillaire et de diminution de la perméabilité membranaire (utilisation de citroflavonoïdes comme le diosmine ou du ginkgolide B **18** du *Ginkgo biloba* L. Ginkgoaceae) ainsi que des activités anti-inflammatoires et anti-allergiques.

Les isoflavonoïdes et les roténoïdes peuvent être rattachés au squelette du 3-phénylchromane. Leur distribution est restreinte et presque spécifique des Fabaceae malgré une très grande diversité structurale (plus de 700 connues). Les roténoïdes, et principalement la roténone **19**, sont largement utilisés comme insecticides et de nombreux isoflavonoïdes sont considérés comme des phytoalexines (cf rôles écologiques des composés secondaires). L'un d'eux, la génistéine **11**, présente dans le trèfle, peut provoquer des infertilités chez les ovins (Bradbury & White, 1954).

Fig. 6 Un insecticide naturel, la roténone **19**

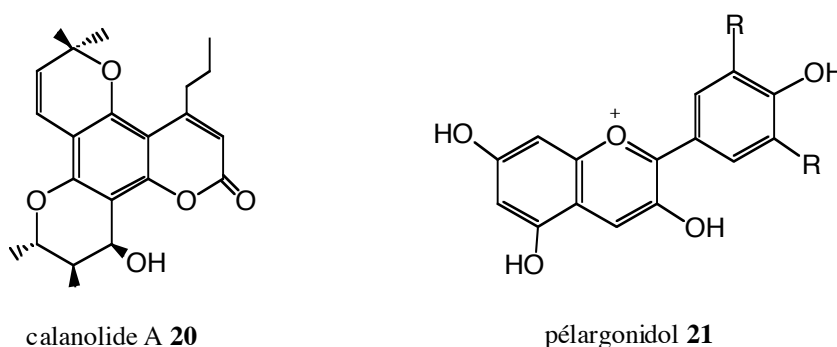


Les néoflavonoïdes, construits selon un enchaînement 1,1-diphénylpropane sont surtout isolés des Fabaceae, des Clusiaceae et des Rubiaceae. Les propriétés cicatrisantes

attribuées au baume de *Calophyllum* sont liées à la présence de calophyllolide. Le calanolide A **20**, coumarine contenue dans la même plante, a révélé une forte activité anti-VIH. Il est, pour cette raison, actuellement en étude clinique aux États-Unis.

Les pigments colorés dérivés du cation flavylum existent sous forme d'hétérosides, d'anthocyanosides et de leurs génines, les anthocyanidols, tels que le pélargonidol **21** ou le delphinidol. Ils s'accumulent dans les vacuoles des cellules les plus externes, les rendant très visibles en raison de leur absorption dans l'UV mais leur conférant, également, un rôle d'écran protecteur. La formation des anthocyanes est favorisée par la lumière, mais aussi stimulée lors d'un traumatisme ou d'une infestation parasitaire.

Fig. 7 Le calanolide A issu de *Calophyllum* sp. et un exemple d'anthocyanidol, le pélargonidol



Les anthocyanosides, et particulièrement ceux issus du fruit de la myrtille (*Vaccinium myrtillus* L. Ericaceae) ou des feuilles de Vigne Rouge (*Vitis vinifera* L. Vitaceae), sont utilisés pour le traitement symptomatique des troubles circulatoires et en ophtalmologie au niveau de la rétine et de la choroïde. Leur usage en nutraceutique pour améliorer la vision nocturne est également répandu.

1.1.5 Les tanins

Les tanins du châtaignier (*Castanea* sp.), du chêne ou d'Anacardiaceae ont longtemps été utilisés pour rendre la peau animale fraîche imputrescible et résistante à l'eau, la chaleur et l'abrasion. Ces propriétés sont dues à l'aptitude des tanins à se combiner aux macromolécules (et donc aux fibres de collagène de la peau). Ceci explique, par ailleurs, que les tanins précipitent les protéines, la cellulose et les pectines mais aussi leur goût âpre et leur astringence caractéristiques, issus de la précipitation des glycoprotéines de la salive.

En 1962, les tanins sont définis comme des composés phénoliques hydrosolubles, de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000, ayant la propriété de précipiter la gélatine et d'autres protéines et de se colorer par les sels ferriques.

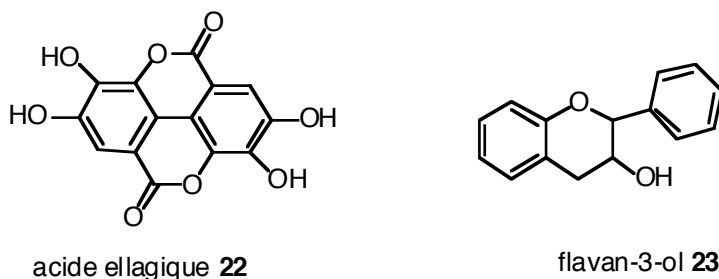
Aujourd'hui, on distingue :

- les tanins hydrolysables, esters d'un sucre, qui est très généralement le glucose, et de l'acide gallique **3** ou de l'acide ellagique **22**,
- les tanins condensés ou proanthocyanidols, non hydrolysables résultant de la polymérisation d'unités flavan-3-ols **23**. Ils forment dans les vacuoles des solutions pseudo-

colloïdales et peuvent aussi se fixer au niveau des lignines, renforçant encore l'imputrescibilité du bois de cœur.

La disparition des tanins, lorsque les fruits ont atteint leur maturation, montre que comme d'autres composés phénoliques, ils peuvent être ré-utilisés par la plante.

Fig. 8. Des éléments des tanins



*Les applications médicales des plantes à tanins découlent de leur affinité pour les protéines : ils ont un effet antidiarrhéique, et par voie externe, ils imperméabilisent les couches superficielles de la peau, sont vasoconstricteurs et limitent la perte en fluides. Ces propriétés, ajoutées par ailleurs à leur effet antiseptique, en font des molécules intéressantes pour la régénération des tissus en cas de blessure superficielle ou de brûlure, et les rendent utilisables dans le traitement des diarrhées infectieuses. Des galls du chêne (*Quercus infectoria*, *Fagaceae*), est d'ailleurs extrait le tanin officinal utilisé comme astringent dans les dermatoses et les brûlures, et comme hémostatique.*

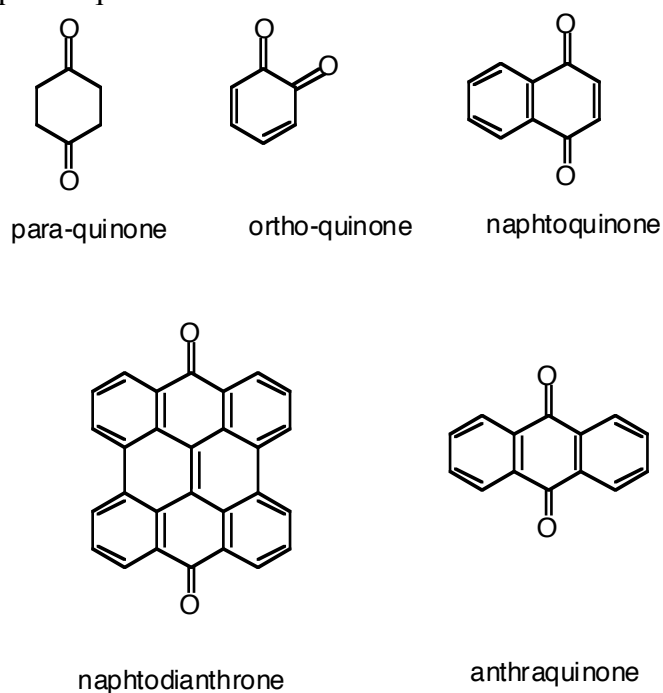
1.2 Les polyacétates ou polykétides

Résultant de l'union de plusieurs unités d'acétyl-CoA, leur réarrangement conduit à de nombreux métabolites importants. Les acétogénines dérivent de l'acétyl-CoA et sont apparentés aux acides gras. Ce sont des composés aliphatiques à longue chaîne (35 à 37 carbones) terminée par une lactone. Rencontrées quasi-exclusivement dans la famille des Annonaceae, les acétogénines ont des propriétés pharmacologiques variées, liées en général à leur toxicité (cf 1^{ère} partie, I-D).

1.2.1 Les quinones

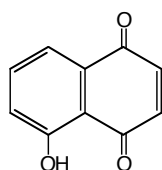
Les quinones résultent de l'oxydation de dérivés aromatiques caractérisés par un motif 1,4-dicétocyclohexa-2,5-diéniq (para-quinones) ou par un motif 1,2-dicétocyclohexa-3,5-diéniq (ortho-quinones). La dione peut être conjuguée aux doubles liaisons d'un noyau benzénique (benzoquinones) ou à celles d'un système aromatique polycyclique condensé : naphthalène (naphthoquinones), anthracène (anthraquinones), naphthodianthrène (naphthodianthrone)...

Fig. 9 Quelques motifs quinoniques



On retrouve des motifs quinoniques dans différentes classes de composés secondaires, par exemple à squelette terpénique, présents en particulier chez les Lamiaceae.

Si les naphthoquinones sont sporadiques chez les Angiospermes, les anthraquinones sont, elles, largement répandues, présentes à la fois chez les champignons et lichens et chez les Angiospermes. Beaucoup de naphthoquinones, comme la juglone **24**, sont antibactériennes et antifongiques conférant, par exemple, à certains bois tropicaux leur résistance aux attaques des micro-organismes (voir aussi 1^{ère} Partie, I-B). Des activités anti-protozoaires et antivirales sont décrites. Par ailleurs, certaines quinones ont un fort pouvoir allergisant provoquant des dermatites et des réactions prurigineuses.

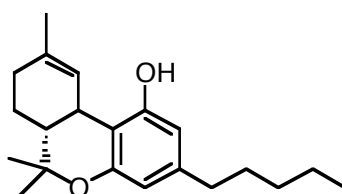
Fig. 10 La juglone **24**

Les hétérosides 1,8-dihydroxyanthracéniques exercent une action laxative et purgative. En effet, les hétérosides d'anthraquinones et de dianthrone ne sont pas hydrolysés avant d'atteindre le colon. Ils agissent en augmentant la motilité intestinale et provoquent une inhibition de la réabsorption d'eau, de sodium et de chlore. Les différentes drogues de ce groupe font l'objet d'un important marché qui relève souvent de l'automédication et peut engendrer des troubles non négligeables dont, en particulier, une dépendance. La feuille de Séné (*Cassia angustifolia* Vahl. et/ou *Cassia senna* L., Caesalpinaceae), l'écorce de Bourdaine (*Rhamnus frangula* L. Rhamnaceae) sont utilisées pour leur propriétés laxatives et entrent souvent dans la composition d'infusions.

1.2.2 Les orcinols et phloroglucinols

Les cannabinoïdes du chanvre (*Cannabis sativa* L. Cannabinaceae) et en particulier le THC **25** (Δ 9-tétrahydrocannabinol) sont responsables de son activité qui se traduit par des changements de la perception sensorielle, spatiale et temporelle (perturbation de la coordination motrice) et de l'altération de la mémoire à court terme, entraînant des troubles de la communication orale. A plus forte dose de THC, on peut observer dysphorie, anxiété et panique. Par ailleurs, le THC est un bronchodilatateur qui augmente la fréquence cardiaque et peut induire de l'hypotension orthostatique.

Fig. 11 Le tétrahydrocannabinol **25**



Le phloroglucinol **1** est le principe actif antispasmodique (Spasfon®) de l'aubier du tilleul et parmi les dérivés du phloroglucinol, on peut signaler des benzophénones de Clusiaceae comme le xanthochymol.

2- Les terpénoïdes et les stéroïdes

Issus des mêmes précurseurs, et formés à partir de l'assemblage d'unités à 5 carbones ramifiées, dérivées du 2-méthylbutadiène (polymères de l'isoprène), les terpénoïdes et les stéroïdes constituent probablement la plus large classe de composés secondaires. Comme les dérivés des acides gras, telles les acétogénines, les terpènes ont pour origine biosynthétique l'acétyl CoA ou le malonyl CoA. Néanmoins, ils ne sont pas spécifiques des végétaux puisque le squalène, le cholestérol ou encore des sesquiterpènes et des diterpènes se rencontrent chez les animaux. Cependant, l'extrême diversité des terpénoïdes chez les végétaux contraste avec le petit nombre détecté chez les animaux.

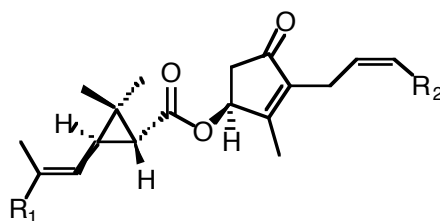
Le nombre d'unités isopréniques définit les différentes classes de terpènes : monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterterpènes (C25), triterpènes (C30) et tétraterpènes (C40). Les terpènes simples en C10 et C15 sont certainement apparus tardivement au cours de l'évolution et caractérisent les plantes vasculaires ayant développé des appareils sécréteurs.

2.1 Les monoterpènes et les sesquiterpènes

Issus du couplage de 2 unités isopréniques, les monoterpènes existent dans les huiles essentielles. Cyclisés en méthylcyclopentanes et glycosylés, ils constituent les iridoïdes. La glycosylation les rendant solubles, on les trouve non pas dans des appareils sécréteurs mais dans toutes les parties de la plante. Les sesquiterpènes, molécules en C15 se rencontrent aussi dans les huiles essentielles.

Les huiles essentielles de sarriette, cannelle, thym, girofle ou lavande ont des propriétés antiseptiques et antifongiques. On reconnaît à ces essences des activités antibiotiques, spasmolytiques et sédatives mais aussi des propriétés irritantes dans le cas, par exemple, d'ingestion d'huile essentielle d'eucalyptus ou de pin. Des monoterpènes dits irréguliers comme les pyréthrinés sont utilisés comme insecticides (ex : l'acide chrysanthémique **26** du Chrysanthème, insecticide) et sont à l'origine de composés synthétiques, les pyréthrinoïdes. Un exemple est le Decis®, utilisé en agrochimie pour la protection des cultures. Les pyréthrinés agissent par contact et sont toxiques pour les animaux à sang froid. Ils agissent sur le système nerveux entraînant incoordination, paralysie et mort.

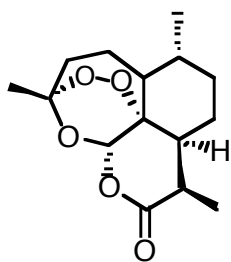
Fig. 12 Exemples de pyréthrinés



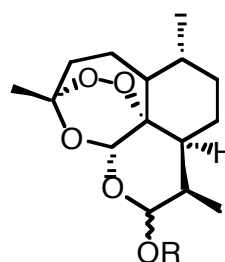
$R_1 = \text{COCH}_3$, acide chrysanthémique **26** série II
 $R_2 = \text{CH-CH}_2$ pyréthrinés I et II **27**
 $R_2 = \text{CH}_3$ cinérinés I et II **28**

Les lactones sesquiterpéniques sont caractérisées par la présence d'une γ -lactone. Elles sont majoritairement trouvées dans les Asteraceae où elles sont fréquemment localisées dans les poils sécréteurs des feuilles, des tiges et des bractées de l'inflorescence. Elles sont souvent responsables de phénomènes allergiques. Certaines sont antibactériennes et antifongiques et l'artémisinine **29** isolée de *l'Artemisia annua*, Asteraceae, a une forte action antipaludique. Cette armoise d'origine asiatique était traditionnellement utilisée en médecine chinoise pour traiter les fièvres et le paludisme. Des dérivés (artéméther **30**, artééther **31**, artésunate **32**) ont été préparés et sont utilisés dans le traitement du paludisme.

Fig. 13 L'artémisinine et des dérivés



Artémisinine **29**



$R = \text{CH}_3$: artéméther **30**

$R = \text{C}_2\text{H}_5$: artééther **31**

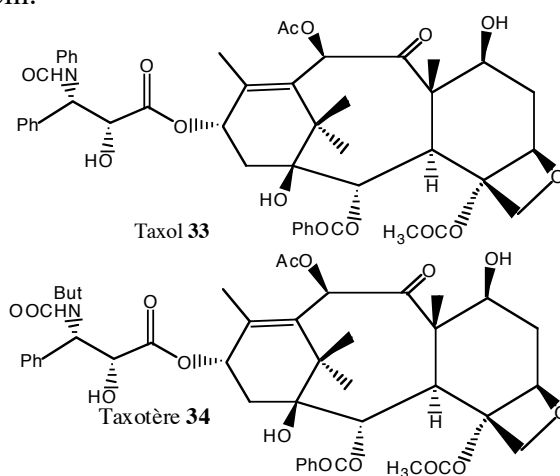
$R = \text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Na}$: artésunate sodique **32**

2.2 Les diterpènes

Ces composés en C₂₀ sont particulièrement abondants chez les Lamiaceae et les Asteraceae même si certains, telles les gibberellines, à rôle d'hormone de croissance, sont universels. Ils peuvent être acycliques ou bi- ou tri-cycliques. Les plus intéressants sur le plan pharmacologique sont les diterpènes tricycliques à noyau taxane, issus de différentes espèces d'ifs mais surtout de *Taxus baccata* L., Taxaceae. Le taxol **33** et son analogue hémisynthétique, le docétaxel **34** (Taxotère®), mis au point par P. Potier, F. Guéritte et D. Guénard à l'ICSN, Gif-sur-Yvette, sont utilisés dans le traitement des tumeurs de l'ovaire résistant aux autres thérapeutiques et dans celui des cancers du poumon et du sein.

Des diterpènes toxiques induisant des troubles digestifs violents ou des irritations cutanées ou oculaires graves ont été isolés d'Euphorbiaceae et de Thymelaceae.

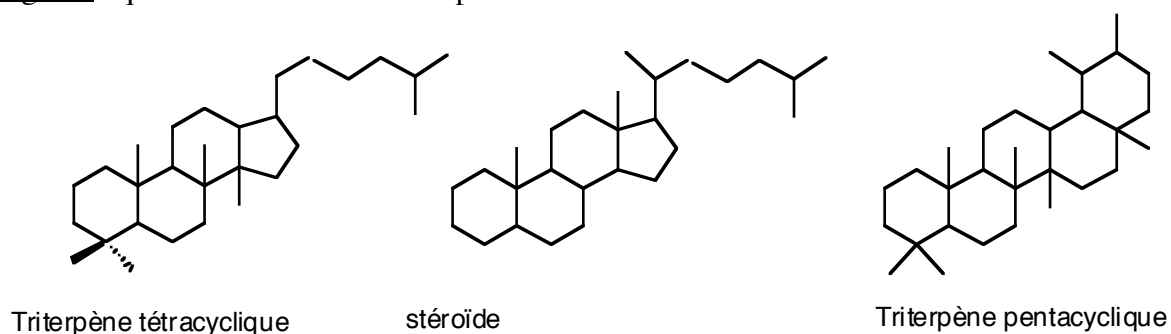
Fig. 14 Le taxol® et le taxotère®, diterpènes de l'if utilisés dans le traitement des tumeurs de l'ovaire, du poumon et du sein.



2.3 Triterpènes et stéroïdes

Les triterpènes sont des composés en C₃₀ issus de la cyclisation de l'époxysqualène ou du squalène. Les stéroïdes peuvent être considérés comme des triterpènes tétracycliques ayant perdu au moins trois méthyles. Ce sont des métabolites secondaires dont l'intérêt thérapeutique et l'emploi industriel est majeur. On peut en particulier noter l'intérêt des hétérosides cardiotoniques ou des sapogénines spirostaniques qui constituent les squelettes de base des contraceptifs, des anabolisants et des anti-inflammatoires. Mais il faut aussi souligner les problèmes liés aux saponosides, autres triterpènes, qui peuvent diminuer la valeur nutritive des fourrages ou expliquer la toxicité de certaines plantes.

Fig. 15 Squelettes de base des triterpènes



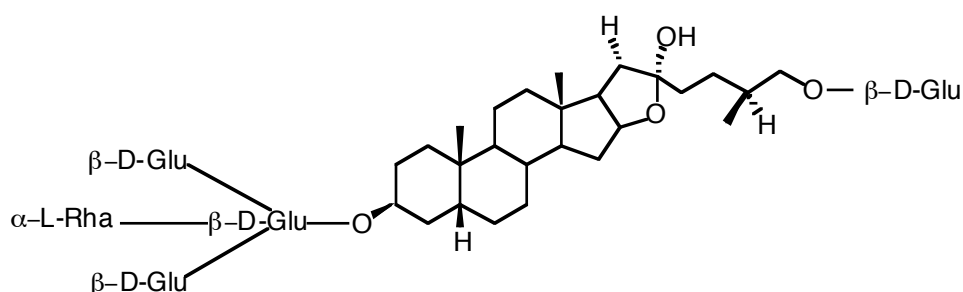
2.3.1 Les saponosides

Les saponosides constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux. Ils se caractérisent par des effets tensio-actifs leur conférant la propriété de former des solutions moussantes lorsqu'ils sont dissous dans l'eau. Ils peuvent être classés en deux groupes selon la nature de leur génine qui peut être stéroïdique ou triterpénique. Les génines stéroïdiques possèdent un squelette en C27 et six cycles. Les saponosides stéroïdiques sont rencontrés dans de nombreuses plantes, mais ils sont aussi caractéristiques des étoiles de mer. Certains ont servi pendant un temps à la synthèse des stéroïdes (diosgénines des *Dioscorea*). Ainsi la sarsapogénine, provenant de l'hydrolyse du sarsaparilloside **35**, a été utilisée comme matière première de synthèse des stéroïdes.

Les saponosides triterpéniques ont souvent un squelette pentacyclique, oléananes ou ursanes. Les chaînes osidiques des saponosides sont le plus souvent formées de 2 à 10 oses banals, liés à la génine par une liaison de type ester ou éther.

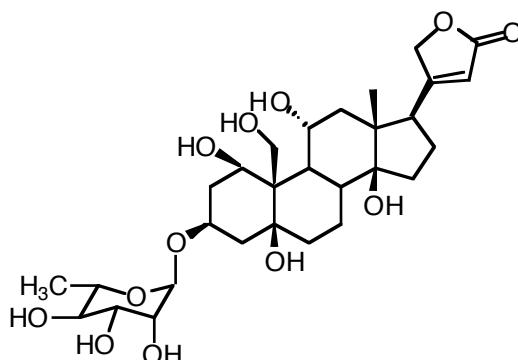
Il semble que les saponosides jouent un rôle de défense du végétal contre les pathogènes microbiens. Les interactions mises en jeu avec les stérols de la membrane ont pour conséquence des propriétés hémolytiques et une activité spermicide de certaines molécules. Elles sont toxiques pour les animaux à sang froid et en particulier pour les poissons et les mollusques. Certaines drogues à saponosides sont utilisées pour leurs propriétés antitussives (rhizome de la réglisse), mais aussi anti-œdémateuses (cotylédons de la graine de Marronnier d'Inde) ou encore analgésiques (*Platycodon grandiflorum*).

Fig. 16 Le sarsaparilloside **35** de *Smilax medica*.



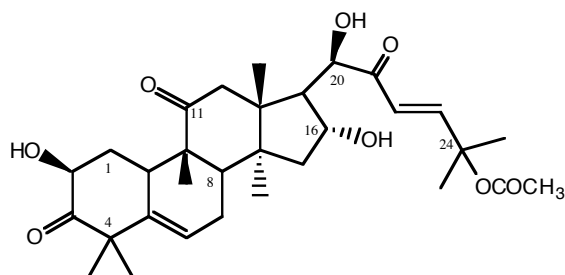
2.3.2 Les hétérosides cardiotoniques

Les glucosides cardiotoniques sont présents notamment dans les familles des Asclepiadaceae et des Apocynaceae. Ils sont de structure homogène, comprenant une génine stéroïdique de type cardénolide (C23) ou bufadiénolide (C24) et une partie osidique constituée d'un ose (ouabaïne **36**) et souvent d'un oligoside. L'activité cardiotonique est liée à la génine. Elle se traduit par une augmentation de la contractilité (effet inotrope positif), une diminution de la fréquence cardiaque (effet chronotrope négatif) et une diminution de la vitesse de conduction à la jonction auriculoventriculaire (effet dromotrope négatif). Les digitales (*Digitalis* sp. Scrophulariaceae) renferment des hétérosides de cardénolides mais seules la digitale pourpre (*Digitalis purpurea* L.) et la digitale laineuse (*Digitalis lanata* Ehrh.) sont utilisées pour l'extraction de la digitoxine, de la digoxine et de leurs dérivés.

Fig. 17 Exemple d'un hétéroside cardiotonique: l'ouabaïne **36**

2.3.3 Autres triterpènes

Les cucurbitacines sont des triterpènes tétracycliques, insaturés et polyfonctionnalisés, généralement caractéristiques de la famille des Cucurbitaceae. Toxiques et amères, elles ont des propriétés purgatives drastiques : c'est le cas des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis* L., Schrad.) et de la racine de bryone (*Bryonia dioica* Jacq.). Les cucurbitacines possèdent également une forte activité cytotoxique *in vitro* et antitumorale *in vivo* qui a pendant un temps suscité beaucoup d'intérêt. La cucurbitacine B **37** a été récemment isolée, à l'ICSN, d'une Rubiaceae de Nouvelle-Calédonie (M. Litaudon, comm. pers.).

Fig. 18 La cucurbitacine B **37**

Certains genres de l'Ordre des Rutales possèdent des molécules au squelette triterpénique modifié. Sont observées : une cyclisation comme dans le cas des limonoïdes ou une élimination de la chaîne latérale comme pour les quassinoïdes et une ouverture oxydante du noyau D (quassinoïdes) et /ou du noyau A (limonoïdes). Les limonoïdes (cf 1^{ère} partie, I-D) sont responsables de l'amertume qui se développe dans les jus d'agrumes après préparation et comme les quassinoïdes sont utilisés pour leurs activités insecticides et antiparasitaires. De nombreux quassinoïdes sont aussi cytotoxiques et antitumoraux.

2.4 Les caroténoïdes

Ce sont des molécules tétraterpéniques, constituées de l'enchaînement de 8 unités isopréniques, possédant un chromophore caractéristique (au moins 10 doubles liaisons conjuguées) expliquant leur couleur jaune-orangée et leur sensibilité à l'oxydation. Les caroténoïdes sont employés en industrie agro-alimentaire principalement pour leur pouvoir

colorant (safran : *Crocus sativus* L. Iridaceae) mais on peut aussi noter qu'ils sont préconisés en cas de photodermatose puisqu'ils interfèrent avec les processus de photo-oxydation.

2.5 Les polyterpènes

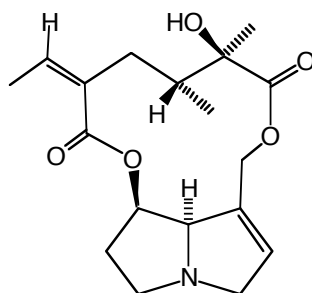
Hautement polymérisés (500 à 5000 restes), ce sont les composants des latex. Si le laticifère est endommagé, les particules de polyterpène s'agglomèrent et permettent de refermer les lésions.

3- Les alcaloïdes

Ce sont des produits azotés basiques, d'origine naturelle dont l'atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique et dont l'activité pharmacologique est significative. Les pseudo-alcaloïdes ne sont pas des dérivés des acides aminés. On les nomme alors alcaloïdes terpéniques et les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique. Les alcaloïdes ont, de plus, la propriété de réagir avec des sels de métaux lourds, ce qui permet leur caractérisation aisée (réactifs de Mayer, de Dragendorff, de Wasicky, de Bouchardat).

Des structures de type alcaloïde existent chez les animaux provenant parfois de la transformation d'alcaloïdes trouvés dans le régime alimentaire : ainsi la castoramine est issue de la métabolisation des alcaloïdes des nénuphars consommés par le castor et les alcaloïdes pyrrolizidiniques (ex : sénécionine **38**) proviennent de plantes (*Senecio*) consommées par les insectes (*Tyria*). D'autres semblent provenir du métabolisme de l'animal et sont excrétés par les glandes exocrines ou encore jouent un rôle dans la communication (phéromones) (voir aussi 1^{ère} partie, B).

Fig. 19 La sénécionine **38**



Ces observations laissent supposer un rôle de défense vis-à-vis des prédateurs qui converge dans les règnes animal et végétal. Leurs propriétés pharmacologiques concernent des domaines variés comme le système nerveux central (morphine, strychnine...), le système nerveux autonome (pilocarpine, atropine...), la cancérologie (vinblastine, ellipticine...), la parasitologie (quinine)...

La synthèse des alcaloïdes a lieu au niveau du réticulum endoplasmique, puis les alcaloïdes se concentrent dans la vacuole. Chez les pavots, ces vacuoles sont spécialisées en laticifères. Généralement, les alcaloïdes sont produits dans les tissus en croissance : jeunes feuilles, jeunes racines. Puis, ils gagnent ensuite des lieux différents et, lors de ces transferts, ils peuvent subir des modifications. Ainsi, la nicotine, produite dans les racines, migre vers les feuilles où elle est déméthylée. Chez de nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines.

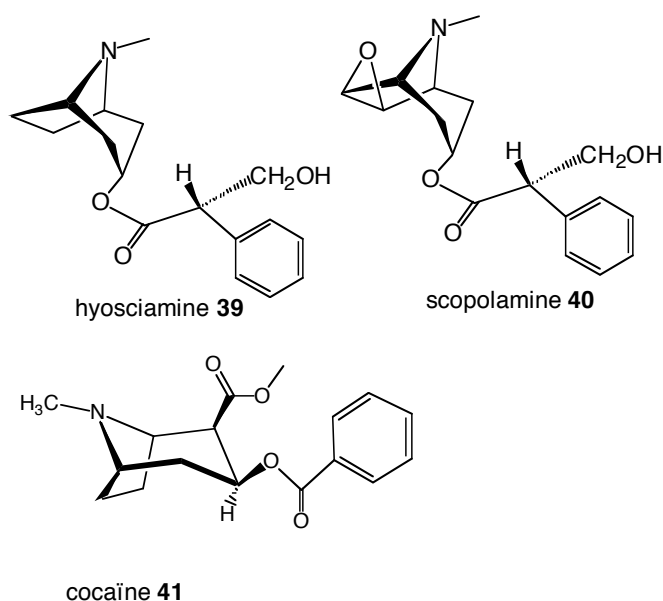
3.1 Les alcaloïdes dérivés de l'ornithine et de la lysine

L'ornithine (C4) et la lysine (C5) sont des acides aminés à l'origine de nombreux alcaloïdes. Des structures complexes sont observées lors de l'assemblage de plusieurs molécules de l'acide aminé ou lors de l'intervention d'autres précurseurs tels l'acétate (tropanes, élaeocarpine...), le tryptophane (élaeocarpidine), l'acide nicotinique (nicotine)...

Les alcaloïdes tropaniques sont fréquemment trouvés dans les Solanaceae, principalement la belladone (*Atropa belladonna* L.), le datura officinal (*Datura stramonium* L.) et la jusquiame noire (*Hyoscyamus niger* L.). De ces trois plantes sont extraites l'hyosciamine **39** et la scopolamine **40**. L'hyosciamine a une activité semblable à l'atropine. Ce sont des parasympatholytiques entraînant, à forte dose, tachycardie, paralysie des uretères, diminution du péristaltisme intestinal, diminution des sécrétions. La scopolamine a une activité semblable mais moins marquée surtout au niveau myocardique. Ces alcaloïdes ont été utilisés comme spasmolytiques (Buscopan ®).

D'autres familles, telles les Erythroxylaceae, produisent des alcaloïdes tropaniques : le cocaier est cultivé et utilisé depuis plus de 5000 ans par les populations andines pour sa capacité à réduire les sensations de faim et de fatigue grâce à la mastication des feuilles. La cocaïne **41**, qui en a été isolée en 1859, est un anesthésique local qui, au niveau périphérique, induit une hyperthermie, une mydriase et une tachycardie et provoque une sensation d'euphorie avec accoutumance. La chronicité de l'usage fait apparaître confusion mentale et accès dépressifs, ainsi que des complications cardiovasculaires importantes.

Fig. 20 Exemples d'alcaloïdes tropaniques



3.2 Les alcaloïdes dérivés de l'acide nicotinique

L'alcaloïde majoritaire des feuilles de tabac est la S(-)nicotine **42** dont les produits de combustion sont responsables de l'induction de cancers et de graves affections cardiovasculaires et pulmonaires. La dose mortelle de nicotine est voisine de 60 mg pour un adulte.

La graine du palmier *Areca catechu* L. contient aussi des alcaloïdes dérivés de l'acide nicotinique, telles l'arécoline **43**, la guvacine et la guvacoline. Elle entre dans la composition des chiques de bétel, qui, par l'intermédiaire des N-nitrosamines formés à partir des alcaloïdes, induit des cancers de la bouche. La drogue est aussi utilisée en médecine vétérinaire traditionnelle pour ses propriétés taenicides.

Fig. 21 Alcaloïde pyridiniques : la nicotine **42** et un dérivé, l'arécoline **43**

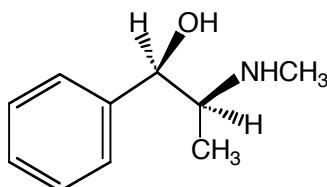


3.3 Les alcaloïdes dérivés de la phénylalanine et de la tyrosine

3.3.1 Les phénéthylamines

Les phénéthylamines sont présentes dans de très nombreux végétaux, mais souvent en trop faible quantité pour induire une toxicité. Néanmoins, même à faible concentration, elles peuvent entraîner des épisodes migraineux suite à la consommation d'avocat, de choux, de concombre ou encore d'épinards. Les *Ephedra* sp. (Ephedraceae) contiennent un alcaloïde, proche de l'adrénaline, qui peut être facilement synthétisé : l'éphédrine **44**. Sympathomimétique indirect, elle stimule l'automatisme cardiaque, accélère et amplifie les mouvements respiratoires et possède une action bronchodilatatrice: le chlorhydrate d'éphédrine a été utilisé dans la crise d'asthme paroxystique mais elle est maintenant plutôt utilisée pour ses effets vasoconstricteurs, notamment par pulvérisations nasales lors de rhinites ou de sinusites.

Fig. 22 La (-) éphédrine **44**



3.3.2 Les alcaloïdes isoquinoléiques

Les alcaloïdes isoquinoléiques comprennent, par exemple, des benzyltétrahydroisoquinoléines dont un alcaloïde, la papavérine **45**, est actuellement utilisé en thérapeutique pour des indications parfois contestées (troubles psycho-comportementaux liés à la sénescence cérébrale, séquelles d'accidents vasculaires cérébraux...). Ils sont particulièrement fréquents chez les Papaveraceae.

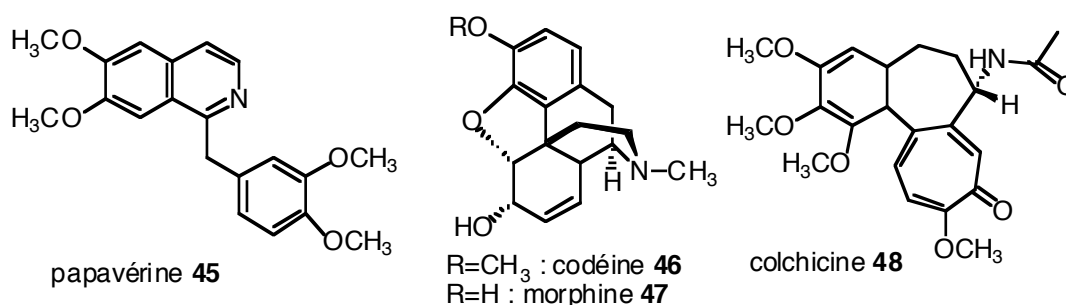
Les dimères, de type bisbenzyltetrahydroisoquinoléine, constituent, par exemple, les curares que l'on trouve dans les Menispermaceae et les Loganiaceae. Ils agissent par voie parentérale en bloquant la conduction de l'influx nerveux au niveau de la plaque motrice. Les *Erythrina* sp. (Fabaceae) contiennent aussi des alcaloïdes curarisants.

Les aporphinoïdes forment un très vaste groupe de plus de 500 alcaloïdes connus à ce jour dont deux principaux sont utilisées en France: la boldine, extraite du boldo (*Peumus boldus*, Monimiaceae) est utilisée pour les troubles dyspeptiques, et l'apomorphine qui dérive de la morphine est prescrite chez les parkinsoniens.

Les morphinanes sont spécifiques des *Papaver*. La morphine est abondante dans l'opium (10 à 15%) qui résulte de la collecte du latex qui s'écoule des capsules florales incisées. La codéine **46** en représente 2,5 à 5%, et la thébaïne moins de 1 %. La morphine **47** possède des effets analgésiques, induit une dépression respiratoire et déprime le centre de la toux. Les contre-indications et les effets secondaires (constipation, nausées, troubles psychiques, dépendance) sont nombreux.

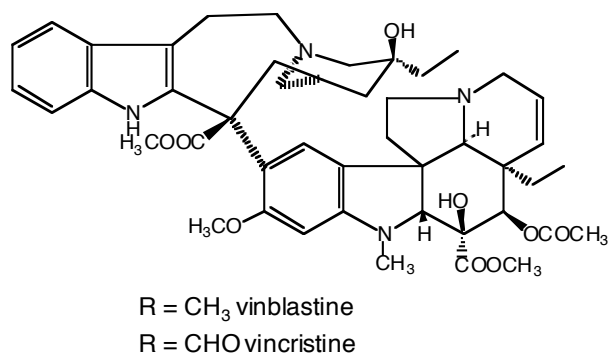
La colchique (*Colchicum autumnale* L., Liliaceae), connue des Grecs pour sa toxicité, est utilisée dès le 5^{ème} siècle. C'est actuellement une source industrielle de colchicine **48**, utilisée en traitement curatif de la crise aiguë de goutte. Elle possède en outre des propriétés anti-mitotiques.

Fig. 23 Quelques alcaloïdes dérivés de la phénylalanine et de la tyrosine



3.4 Les alcaloïdes dérivés du tryptophane

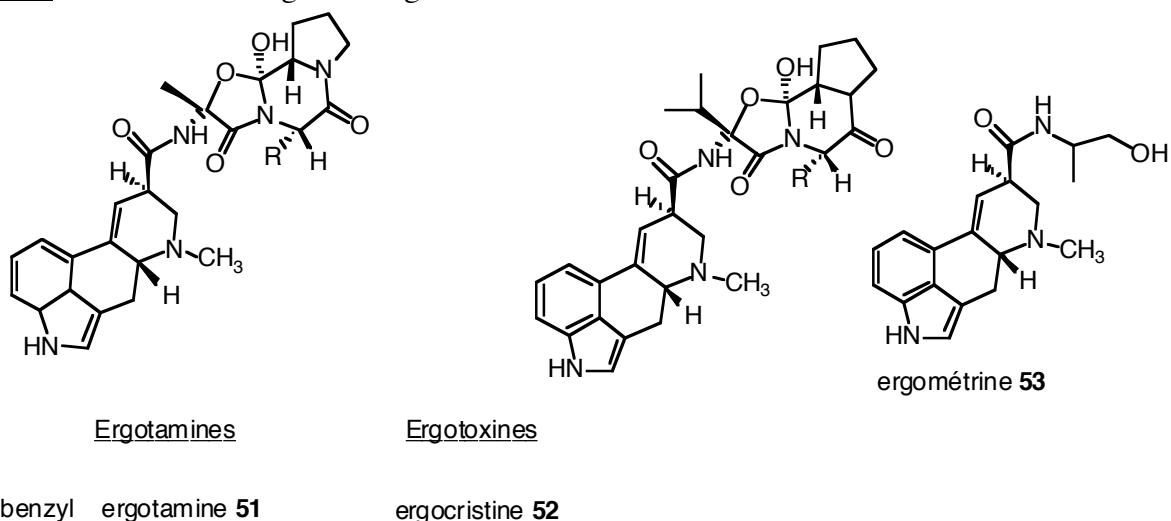
Le groupe de ces alcaloïdes a été particulièrement étudié à la suite de la découverte en 1950 de deux plantes à alcaloïdes d'intérêt thérapeutique : *Rauvolfia serpentina*, une Apocynaceae d'où la réserpine a été isolée, et la pervenche de Madagascar, *Catharanthus roseus*, aux propriétés antitumorales (vinblastine **49** et vincristine **50**). Un analogue de la vinblastine, la Navelbine®, a été mis au point à l'ICSN et commercialisé par les laboratoires Pierre Fabre pour son utilisation dans le cancer du poumon « non à petites cellules ».

Fig. 24 La vinblastine **49** et la vincristine **50**

Un autre groupe d'alcaloïdes, isolé de l'ergot de seigle, doit sa découverte à l'observation de phénomènes de toxicité animale et humaine, l'ergotisme, connu depuis l'an mille. Cette maladie, due à la contamination du seigle par un champignon *Claviceps purpurea*, a néanmoins permis la découverte d'alcaloïdes dont les propriétés ocytotiques étaient anciennement connues. Ils présentent une analogie structurale avec la noradrénaline, la dopamine et la sérotonine, ce qui explique leur affinité pour les récepteurs de ces amines biogènes.

La méthylergométrine est indiquée dans les hémorragies de la délivrance et du post-partum ou après césarienne, avortement. La dihydroergotamine est utilisée en traitement spécifique de la crise de migraine.

Fig. 25 Alcaloïdes de l'ergot de seigle

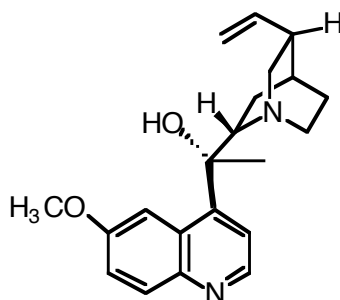


Par ailleurs, la présence d'alcaloïdes indoliques dans les feuilles des *Cinchona* (Rubiaceae) laisse présager la biogenèse des alcaloïdes quinoléiques à partir du tryptophane. *C. succirubra* est l'espèce officinale, originaire de l'Equateur. La quinine **54** en est extraite et reste aujourd'hui encore le traitement de choix du paludisme dans les zones de résistance à la chloroquine. Elle agit sur les formes endo-érythrocytaires : c'est un schizonticide.

Jusqu'au XVII^e siècle, aucun traitement du paludisme n'était connu en Europe. À cette époque, un missionnaire espagnol décrit la poudre du *quina* qui guérit les incas de la fièvre tierce. Puis des Jésuites ont rendu populaire en Italie cette poudre qui soignait la

mal'aria («maladie du mauvais air»). Charles II d'Angleterre et le fils de Louis XIV, le Grand Dauphin de France, furent soignés par cette poudre mystérieuse. Jussieu et La Condamine rapportent d'une expédition à Quito en Equateur, en 1737, des échantillons de la plante que Linné nomme *Cinchona*, en référence à la comtesse de Chinchon, femme du vice-roi du Pérou qui aurait guéri du paludisme grâce à ce remède. Plusieurs espèces de *Quinquina* sont aujourd'hui décrites et certaines furent cultivées. En 1820, Pelletier et Caventou isolèrent l'alcaloïde majoritaire, qui peut constituer jusqu'à 10% du poids sec de l'écorce de *Cinchona ledgeriana*, la quinine **54**, dont la structure ne sera connue que plus tard. La quinine est synthétisée en 1944 ; depuis, d'autres synthèses ont vu le jour et des dérivés sont utilisés.

Fig. 26 La (-)-quinine **54**



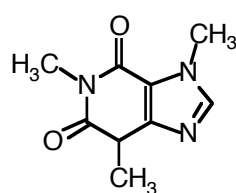
3.5 Les alcaloïdes dérivés de l'acide anthranilique

L'acide anthranilique est à l'origine d'alcaloïdes de divers types : quinoléines, quinolones simples et prénylées, furo- et pyrano-quinoléines, acridones, furo- et pyranoacridines et quinazolinones... Les quinoléines et les acridones sont principalement rencontrées dans les Rutaceae alors que les quinazolines sont connues dans plusieurs familles. Certaines quinoléines ont montré des propriétés antimicrobiennes. Des activités fébrifuges sont connues pour une quinazoline issue de *Dichroa febrifuga* Lour. (Saxifragaceae).

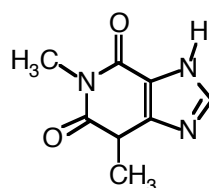
3.6 Autres dérivés azotés

Les bases puriques forment le squelette de base de dérivés à activité biologique telle la caféine **55** isolée des graines des caféiers (*Coffea* spp., Rubiaceae), des kolatiers (*Cola* sp., Sterculiaceae), et des feuilles des théiers (*Thea sinensis* L., Theaceae). Stimulant du système nerveux central et du système cardio-vasculaire, la caféine entre dans la formulation de nombreuses spécialités. La théophylline **56** est aussi présente dans les feuilles du théier et les graines du kolatier. C'est un bronchodilatateur indiqué dans le traitement des crises asthmatiques.

Fig. 27 Bases puriques



caféine **55**



théophylline **56**

☛ *Ces quelques exemples traduisent déjà la formidable variété de métabolites secondaires qu'offre la nature. La part de plantes inexplorées à la fois en chimie et en biologie est encore immense. Ceci offre l'espoir de découvrir des traitements pour des maladies encore dévastatrices et de proposer des thérapeutiques offrant des effets secondaires moindres.*

Les études actuelles portant sur les métabolites secondaires, s'attachent bien évidemment à explorer plus avant leurs activités pharmacologiques, mais leur présence est probablement un point-clé des interactions entre les plantes et les animaux qui sont, à la fois des vecteurs de la dissémination (pollen, graines) mais qui occasionnent aussi des dommages.

Leur rôle écologique est aujourd'hui encore l'objet de nombreuses hypothèses qui sont présentées ci-après.

B- RÔLE ÉCOLOGIQUE POTENTIEL DES COMPOSÉS SECONDAIRES

1- Favoriser la coopération avec les animaux

Les métabolites secondaires peuvent être des moyens de signalisation et d'interaction entre les plantes et les animaux disséminateurs ou pollinisateurs. Nous avons vu dans le chapitre précédent que certains métabolites secondaires interviennent dans les mécanismes d'attraction des animaux, nécessaires à la dispersion des graines et des insectes pollinisateurs par l'intermédiaire de couleurs (anthocyanes, caroténoïdes...) et d'odeurs (huiles essentielles et différentes substances volatiles). Il est par ailleurs remarquable que ces produits apparaissent souvent au moment précis où la collaboration entre les deux parties (plante et animal) est nécessaire. Dans certains cas, les plantes peuvent rapidement répondre à un changement de pollinisateur par une modification de leur coloration : par exemple, les fleurs d'*Ipomopsis aggregata* passent du rouge au blanc par une dilution des anthocyanes, lorsque leurs premiers pollinisateurs migrent (Paige & Whitham, 1985).

2- Lutter contre la compétition avec d'autres plantes

Des phénomènes d'allélopathie (« toxicité pour les autres ») sont connus pour différentes espèces de plantes. Ainsi les feuilles de noyer contiennent un glucoside phénolique qui, lorsqu'elles tombent au sol, s'hydrolyse et s'oxyde en juglone **24** sous l'action de la pluie. La juglone est une naphthoquinone, toxique pour la plupart des plantes, empêchant leur germination, excepté quelques-unes comme le paturin qui est devenu résistant (Harborne, 1988 ; Sévenet, 1994).

3- Lutter contre la prédation et les attaques des agents pathogènes

On prête aux métabolites secondaires des plantes un rôle de défense contre les prédateurs et les pathogènes. Certaines observations semblent en accord avec cette hypothèse.

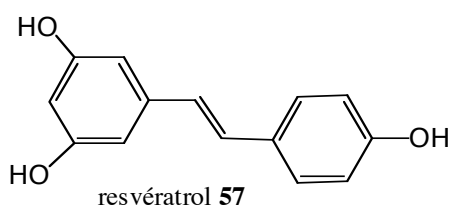
Les stades juvéniles de croissance des plantes sont les formes les plus vulnérables aux différentes attaques et sont, de plus, des étapes nécessaires à l'accession à un stade reproductif inhérent à la transmission des gènes. Ce sont souvent ces formes immatures qui produisent des défenses chimiques qui disparaissent ensuite. Ainsi, les plantes ou arbres immatures de la forêt boréale produisent en hiver, les composés suivants (Bryant *et al.*, 1992):

- Pinosylvine
- Pinosylvine méthyl ether
- Acide papyriférique
- Salicyaldéhyde
- Glucosides phénoliques
- 6-hydroxycyclohexenone
- 2,4,6-trihydroxydihydrochalcone

Dans ces forêts, les lièvres (*Lepus americanus*) ne mangent pas les jeunes plants de *Betula resinifera* qui produisent des terpénoïdes comme l'acide papyriférique, mais ils consomment les formes adultes qui n'en contiennent plus. Une association avec la saison a aussi été démontrée pour ces formes qui entrent en dormance en hiver. Le castor (*Castor canadensis*) évite, pour sa part, la consommation des jeunes plants *Populus tremuloides* qui sont riches en métabolites secondaires. Il est aussi notable que les plantes à croissance lente et celles à feuilles persistantes – peut-être à cause de leur plus longue exposition aux pathogènes et aux prédateurs – possèdent aussi un plus fort taux de défenses chimiques (Bryant *et al.*, 1992).

Dans certains cas, des molécules toxiques, appelées **phytoalexines**, peuvent être synthétisées seulement en cas d'agression microbienne. Ainsi, ce type d'attaque déclenche la synthèse de resvératrol **57**, un stilbène, par l'arachide (*Arachis hypogea*), ou de dianthalexine par l'oeillet (*Dianthus caryophyllus*). Parfois les produits existent sous forme inactive, ils ne deviennent toxiques que lors de l'infestation : c'est le cas des glucosides cyanogénétiques qui libèrent de l'acide cyanhydrique toxique pour un grand nombre de champignons (Guignard, 1996).

Fig. 28 Le resvératrol, une phytoalexine



Plusieurs hypothèses, avancées pour expliquer la présence des métabolites secondaires et les fonctions écologiques de deux classes de composés particuliers, les tanins et les alcaloïdes, sont évoquées ci-après.

3.1 Hypothèses sur le rôle écologique des tanins

Ces polymères de phénols, largement distribués dans le règne végétal, mais absents chez les animaux (Hagerman & Butler, 1991), ont pour caractéristique de se lier aux protéines, ce qui leur confère des propriétés particulières. On distingue, du point de vue structural, les tanins condensés (polymères de quercétol **14**) et les tanins hydrolysables (polymère d'acide gallique **3**) (cf 1.1.5) ; des rôles écologiques différents sont suggérés pour ces deux classes de composés.

3.1.1 Protection de la plante vis-à-vis des prédateurs herbivores et des pathogènes

➤ Diminution de la prise alimentaire chez les herbivores

▲ Formation de complexes avec les protéines et astringence

Les tanins alimentaires forment avec les mucoprotéines de la cavité orale des consommateurs, des complexes qui précipitent et sont responsables de l'astringence et de la sensation de sécheresse ressentie dans la bouche, considérée comme désagréable et répulsive pour les consommateurs.

Au contraire, une faible dose de tanins, comme celle présente dans le thé et le vin, est plaisante.

L'ajout de tanins à une ration entraîne généralement une baisse de la consommation de nourriture (Mole & Waterman, 1987). Ainsi Bushbaum *et al.* (1984) montrent que les oies du Canada (*Branta canadensis*) évitent les aliments contenant de fortes quantités (>5%) d'acide férulique et d'acide tannique. Cependant, dans les expériences conduites par Gauthier & Bédard (1990), aucun effet significatif n'a été noté pour des pulvérisations d'acide tannique et d'acide p-coumarique; par contre, l'acide férulique pulvérisé sur les aliments diminue significativement la consommation par les oies, seulement lorsque la concentration dépasse 4%. Cette concentration est supérieure au contenu habituel en phénols des plantes consommées (1 à 3%).

Une étude, menée sur la consommation d'*Acacia* sp. par les vervets d'Amboseli au Kenya, montrent que les tanins condensés des acacias consommés jouent un rôle significatif dans la composition du régime alimentaire. La sélection des aliments est négativement corrélée avec le contenu des arbres en tanins (Wrangham & Waterman, 1981). Il est de plus intéressant de remarquer que certains acacias sont susceptibles de répondre à une pression trop importante des prédateurs par une modulation de la quantité de tanins dans leurs feuilles. Le régime alimentaire d'une autre espèce de singes, *Presbytis johnii*, se caractérise aussi par une tendance à minimiser la quantité de tanins ingérés (Oates *et al.*, 1980).

▲ Texture coriace et diminution de l'appétence

Le rôle protecteur des tanins dans les feuilles est peut-être structurel : en rendant les feuilles plus coriaces, la formation des tanins condensés les rend moins vulnérables aux attaques des herbivores (Haslam, 1988).

➤ Toxicité et réduction de la digestibilité

La toxicité des tanins a été démontrée dans plusieurs études :
- des hamsters, soumis à un régime alimentaire contenant 4% de tanins, meurent après 3 jours (Mehansho *et al.*, 1987, cités par Hagerman & Butler, 1991).

- les tanins hydrolysables, en injection intrapéritonéale, sont hépatotoxiques pour les rats qui développent des tumeurs cutanées malignes à forte incidence au site d'injection sous-cutané (Kapadia *et al.*, 1976, cités par Hagerman & Butler, 1991).
- de plus, les animaux consommant des tanins ont donc tendance à être plus petits (Salunkhe *et al.*, 1990, cités par Hagerman & Butler, 1991).
- des susceptibilités variables à la toxicité des tanins ont été observées : les jeunes rats sont plus sensibles que les adultes aux tanins ajoutés dans l'alimentation (Joslyn & Glick, 1969, cités par Hagerman & Butler, 1991).

L'hypothèse la plus souvent avancée pour expliquer la toxicité des tanins se réfère à leur capacité à se lier aux protéines, impliquant leur mauvaise digestibilité. L'adjonction de tanins condensés ou hydrolysables à la ration de vertébrés herbivores augmente de façon significative le taux d'azote fécal (Hagerman & Butler, 1991). La variation de ce paramètre est généralement interprétée comme une diminution de la digestibilité des protéines alimentaires.

Cependant d'autres études mettent en évidence que la liaison aux protéines n'est sans doute pas la fonction unique permettant d'expliquer la défense des plantes vis-à-vis des prédateurs.

Robbins *et al.* (1991) montrent que des moutons nourris avec des aliments complétés en tanins excrètent seulement 40% de la quantité de tanins ingérés, suggérant donc que 60% sont absorbés et métabolisés alors que les cerfs excrètent tous les tanins ingérés.

En fait, la structure des tanins, celle des protéines et le système digestif des consommateurs semblent influencer considérablement l'effet des tanins sur la digestion. Pour Zucker (1983), les tanins hydrolysables, qui présentent moins de régularité dans leur structure, ont plutôt tendance à se lier à des protéines présentes dans le tube digestif des herbivores, alors que les tanins condensés interagiraient avec les protéines structurales des membranes cellulaires. Les tanins ont une affinité variable pour les protéines : ils établissent des liens forts avec les protéines de taille importante, avec une structure ouverte et flexible et riche en proline (Hagerman & Butler, 1991).

Certaines études remettent même en cause l'idée que les tanins hydrolysables des plantes agissent en réduisant la digestibilité. Dans les feuilles de chêne, les tanins hydrolysables restent très abondants et relativement constants au cours des saisons, alors que les tanins condensés sont surtout présents en fin de saison, quand les dommages causés par les insectes sont moins sévères. Scalbert & Haslam (1987) soulignent que la capacité de complexer les protéines change peu au cours du temps, alors que l'attaque des insectes est variable. Si les tanins sont impliqués dans un mécanisme de défense chimique, cette étude suggère qu'un autre mécanisme doit être invoqué.

Bien que l'inhibition de la digestion des protéines soit encore souvent considérée comme le mécanisme primaire de l'effet antinutritionnel des tanins (Harborne, 1988), il semblerait aussi que la diminution de croissance observée chez les animaux nourris avec des tanins soit liée à une inhibition de l'utilisation métabolique des acides aminés après leur absorption (Mole *et al.*, 1990).

3.1.2 Défense vis-à-vis des attaques microbiennes et imputrescibilité des tissus

Pour Zucker (1983), les tanins condensés avec leur structure régulière en hélice, ne peuvent être distribués dans le cytoplasme de la cellule mais doivent plutôt être complexés à des protéines de structure, n'intervenant pas dans le catabolisme, à la cellulose ou à des substances pectiques. Ils peuvent se fixer en particulier sur la paroi végétale. Comme ces interactions sont relativement irréversibles, les tanins condensés interviendraient dans deux fonctions importantes :

- la défense des parois et des organites cellulaires contre les attaques microbiennes
- le retard à la décomposition des feuilles qui tombent des arbres, ce qui semble être une réponse adaptative qui permet un apport plus constant de substrat au sol.

3.1.3 Sous-produits de la dégradation des flavan-3-ols

Haslam (1988) a proposé que les tanins pourraient être les sous-produits de la dégradation des flavan-3-ols, et n'auraient aucune fonction particulière. Néanmoins, l'énergie nécessaire pour la synthèse des tanins et la transmission des gènes responsables de la biosynthèse de ces produits ne peuvent permettre de valider cette hypothèse.

3.1.4 Adaptation physiologique aux tanins

Certains produits phénoliques de la dégradation des tanins, comme l'acide gallique **3**, peuvent être détoxiqués et excrétés (Hagerman & Butler, 1991). D'ailleurs, malgré tous leurs effets toxiques, les tanins sont courants dans les régimes alimentaires des herbivores : en dehors de l'éviction, des stratégies et des adaptations ont été mises en place. Des phénomènes de détoxication (Mukuru *et al.*, 1988, cités par Hagerman & Butler, 1991), la consommation d'agents de liaison aux tanins comme les protéines du lait (Christian & Sheshadri, 1989, cités par Hagerman & Butler, 1991), ou encore la production - déclenchée par la consommation de tanins - de protéines salivaires riches en proline qui se lient aux tanins chez le rat, la souris, certains ruminants, les marsupiaux et l'homme (Mole *et al.*, 1990). Ce phénomène n'existe pas chez le hamster, ce qui le rend plus vulnérable (Mehansho *et al.*, 1987), ont été observés. Pour valider l'hypothèse que les animaux possèdent effectivement des moyens de neutraliser les tanins, Robbins *et al.* (1987) ont montré que les cerfs, qui ont plus de risques d'être exposés à des aliments riches en tanins que des moutons d'élevage, ont une salive contenant des protéines plus riches en proline et plus apte à se lier aux protéines que les ruminants domestiques dont le régime alimentaire est plus stable.

3.2 Hypothèses sur les fonctions des alcaloïdes

Il a été vu précédemment que les alcaloïdes possèdent des activités biologiques et de nombreux effets pharmacologiques sur les vertébrés. Leur fréquente toxicité, même à faible dose, est souvent l'argument principal pour mettre en évidence la fonction de défense contre la prédation dans les interactions plante-herbivore.

A la toxicité des alcaloïdes due principalement à leur capacité d'interférer avec les neurotransmetteurs (i.e. acétylcholine, adrénaline, sérotonine, dopamine, GABA, ...) (Hartmann, 1991), s'ajoute un goût généralement amer, qui est un argument supplémentaire aux fonctions de défense chimique de la plante vis-à-vis des prédateurs. L'hypothèse, leur prêtant un rôle défensif par rapport à la prédation, est renforcée par leur présence chez les invertébrés marins, dans les exsudats de la peau des amphibiens (Daley & Spande, 1986) ou chez les arthropodes. Si les alcaloïdes ont effectivement une fonction de défense, alors, les organes végétaux qui ont un plus fort effet sur la valeur sélective (*fitness*) de la plante, comme les fleurs et les tissus périphériques des tiges et des feuilles, devraient en contenir une plus forte quantité : ceci est confirmé par les observations. En effet, même si les taux semblent faibles (en général moins de 1%), il faut prendre en compte la répartition très inégale des alcaloïdes principalement accumulés dans des parenchymes particuliers (Hartmann, 1991).

Certaines hypothèses suggèrent que l'investissement métabolique pour la synthèse des tanins, nécessaires en quantité relativement importante pour exercer des effets toxiques significatifs, serait plus important que celui nécessaire aux systèmes de défense allélochimique basés sur la production de petites quantités de toxines très actives, comme les alcaloïdes (Lebreton, 1982). En contrepartie, le système basé sur les tanins serait plus difficile à contrer par les phytophages.

L'étude comparée de la phytochimie de deux forêts africaines (Doula-Edea, au Cameroun et Kibale, en Ouganda) montre que la forêt du Cameroun, caractérisée par des sols pauvres, sableux et acides, contient une plus forte proportion d'espèces produisant de fortes concentrations de composés phénoliques alors que la végétation de Kibale est plus riche en espèces produisant des alcaloïdes (Gartlan *et al.*, 1980). La prédominance des tanins dans la végétation de la forêt camerounaise résulterait, soit d'une croissance des plantes sur un terrain pauvre, soit d'une durée de vie plus longue des feuilles, les rendant plus exposées aux prédateurs. Les sols riches, l'altitude et le climat tempéré de Kibale par opposition à la forêt pluviale de basse altitude de Doula-Edea, sont favorables à des espèces à croissance rapide, à feuilles décidues, produisant surtout des alcaloïdes.

Ces différents exemples illustrent la notion de « *trade-off* » : les plantes ayant mis en place un équilibre et un compromis entre les coûts investis pour se défendre contre les prédateurs, les effets dévastateurs de ces phytophages, les investissements nécessaires à la reproduction (attraction des pollinisateurs, des disséminateurs de graines...) et à la croissance sont maintenues en place et survivent, transmettant les gènes leur ayant permis ce succès.

Parfois, une course évolutive s'engage entre les phytophages et les plantes qui cherchent à s'en protéger, comme proposé dans le modèle d'Ehrlich et Raven (1964). Après avoir réduit l'attaque des prédateurs, un métabolite chimique peut être ensuite toléré, voire même attirer un consommateur qui, en s'y adaptant, sera à l'abri de la compétition alimentaire. Des nouvelles molécules seront alors produites par la plante suite à des mutations et des recombinaisons, accentuant la spécialisation de certains consommateurs et la production de produits toxiques.

4- Les métabolites secondaires des plantes utilisés par les animaux

Si beaucoup de plantes semblent à l'abri de l'attaque des prédateurs grâce à leur composition chimique, certaines subissent néanmoins l'attaque d'animaux qui se sont spécialisés, pouvant ainsi exploiter, voire même ravager, certaines espèces. En voici quelques exemples.

Des insectes peuvent utiliser des substances d'origine végétale comme protection par rapport aux prédateurs : la chenille du papillon *Danaus plexippus* se nourrit sur une Asclepiadaceae (*Asclepias curassavica*) contenant des cardénolides cardiotoxiques. Les prédateurs de ces insectes, des oiseaux, évitent alors ceux qui se sont nourris sur cette plante.

Les papillons Danainae se nourrissent sur le Sénéçon (*Senecio vulgaris*) qui contient des alcaloïdes pyrrolizidiniques comme la sénécionine. Cet alcaloïde est hydrolysé chez le papillon en rétronécine qui, en plus d'être toxique pour les prédateurs, est transformé chez le papillon mâle, en phéromones d'accouplement attirant les femelles (Harborne, 1988 cité par Sévenet, 1994).

Le doryphore américain, *Leptinotarsa decemlineata*, s'est adapté à la solanine de *Solanum tuberosum* (Solanaceae), mais ne peut se nourrir de l'espèce sud-américaine voisine, *S. demissum* qui contient un alcaloïde proche, la demissine.

Les *Dendroctonus* sont des coléoptères xylophages qui élaborent des phéromones à partir de monoterpènes qui proviendraient des arbres attaqués. L' α -pinène de l'arbre attire les femelles pionnières qui utilisent ce produit pour l'oxyder en trans-verbénol. Cette substance agit comme phéromone d'agrégation de ces coléoptères qui envahissent alors les pins. La conversion de l' α -pinène en trans-verbénol serait réalisée par *Bacillus cereus*, bactérie présente dans l'intestin des insectes. Lorsque le pin cesse de produire l' α -pinène, la colonisation s'achève. Un autre exemple montre que les insectes présentent parfois des adaptations remarquables aux composés chimiques de leur hôte : certaines chenilles se protègent des propriétés phototoxiques des furanocoumarines linéaires des plantes (ces plantes poussent généralement au soleil) en se mettant elles-mêmes à l'ombre dans un enroulement de feuilles pour manger, évitant d'une part les effets nocifs des métabolites et se protégeant d'autre part, de l'attaque éventuelle de prédateurs par cet écran de feuilles toxiques (Barbault, 1997).

☞ Ces différents exemples montrent la multiplicité des stratégies et des interactions existant au sein des systèmes plantes-pathogènes-prédateurs. Aux mécanismes de défense des plantes, répondent des adaptations des insectes par exemple. Une co-évolution et une diversification des mécanismes s'ensuivent. Une utilisation plus particulière des plantes par les animaux à des fins thérapeutiques est suggérée et l'étude de tels comportements est appelée « zoopharmacognosie ».

En effet, si les animaux ont acquis des comportements leur permettant d'éviter la toxicité des plantes, on peut aussi supposer qu'ils ont développé des « stratégies » leur permettant d'en tirer bénéfice comme dans les exemples précédents. Notre travail a pour objectif de détecter de tels exemples dans le cas des chimpanzés, ce qui pourrait permettre de mettre en

évidence de nouvelles interactions plante/animal mais aussi de nouveaux métabolites secondaires utilisables en thérapeutique. Des cas particuliers de mauvais état général pourraient guider notre recherche, mais, plus simplement, on peut aussi suggérer que les animaux ingèrent régulièrement des plantes pour prévenir certaines infections parasitaires ou bactériennes.

Les méthodes traditionnelles de sélection des plantes pour leur criblage biologique sont de trois types et présentent différentes caractéristiques qui sont soulignées ci-après.

C- METHODES TRADITIONNELLES DE RECHERCHE DE PLANTES MEDICINALES

On estime que près de 70% de la population mondiale utilise les plantes médicinales pour se soigner et sont dépendants des pratiques de médecine traditionnelle (Farnsworth, 1990). Les coûts des médicaments de la pharmacopée occidentale sont souvent trop élevés pour être accessibles aux pays en développement.

En 1990, seulement 119 molécules extraites de 90 espèces de végétaux supérieurs étaient utilisées en médecine allopathique. Cependant ce chiffre doit être multiplié pour tenir compte des molécules naturelles modifiées par synthèse ou des copies synthétiques de molécules naturelles. Les stratégies de recherche de plantes potentiellement actives ont pour but de découvrir le plus grand nombre de nouvelles molécules actives pouvant ainsi générer des têtes de séries. D'après l'étude de Cragg *et al.* (1997), sur 520 nouveaux médicaments approuvés entre 1983 et 1994, 241 étaient d'origine naturelle (incluant les dérivés et les produits hémisynthétiques). Parmi ceux-ci, les médicaments d'origine naturelle sont prédominants dans le domaine des antibactériens (78%) et des anticancéreux (61%).

Par ailleurs, avec la connaissance du génome et du protéome, les cibles des essais biologiques se multiplient, offrant la possibilité de tester, pour chaque extrait de plante, des activités multiples sur des pathologies différentes. L'automatisation de ces essais permet de réaliser ces tests rapidement et seul l'approvisionnement en plantes est souvent un facteur limitant. La validation des cibles en terme de pathologie est aussi un autre obstacle.

La forêt tropicale reste le lieu qui offre le plus grand potentiel de recherche de nouveaux produits actifs. Cependant, vu le nombre important d'espèces restant inexplorées chimiquement et biologiquement, il apparaît nécessaire de réaliser une pré-sélection : si une plante est utilisée par des hommes depuis des siècles pour se soigner, on peut penser que cette utilisation est due à son efficacité. Par ailleurs, on peut utiliser les résultats des études sur certaines familles de plantes, la chimiotaxonomie ou encore, pour des questions de rapidité, préférer une sélection au hasard.

1- Approche chimiotaxonomique

Les connaissances actuelles sur les composés secondaires montrent que certaines familles de plantes sont particulièrement riches en substances actives. Cette méthode de collecte vise à sélectionner préférentiellement certaines plantes en fonction de la taxonomie, grâce aux précieuses indications fournies par la pharmacognosie. Ainsi la découverte de propriétés antitumorales de l'acronycine a entraîné une étude systématique des espèces néocalédoniennes du genre *Sarcomelicope*. Il est difficile de juger de l'efficacité de cette méthode : en effet, la découverte d'une molécule active dans une famille ou un genre stimule la recherche sur les plantes proches taxonomiquement, provoquant souvent un effet « boule de neige » dans un genre ou une famille au détriment des autres espèces. L'hypothèse de la richesse particulière d'un genre peut être biaisée par ce type de conséquences.

2- Étude ethno-pharmacologique

Cette approche se base sur la connaissance par les populations locales de leur environnement. Les plantes sélectionnées sont celles utilisées traditionnellement pour les soins.

Cette méthode est complexe et fait intervenir des facteurs subjectifs. Elle nécessite en premier lieu de gagner la confiance des tradipraticiens. L'identification des plantes doit ensuite être réalisée et l'interprétation des usages n'est pas toujours aisée, parfois entravée par le langage. Souvent l'organe de la plante utilisé n'est pas précisé dans les recueils d'ethnomédecine ou encore la dose reste approximative. Parfois les recettes font intervenir plusieurs plantes. Cette approche nécessite souvent l'intervention d'ethnologues, de botanistes et de pharmacologues ou de médecins pour rassembler l'ensemble des informations concernant les plantes utiles. Ces collaborations génèrent des perspectives intéressantes sur l'étude des relations entre les populations et les plantes.

Dans l'étude de Balick (1990), l'échantillonnage au hasard a fourni 6% de plantes actives dans un criblage *in vitro* pour des activités anti-VIH contre 25% en utilisant la méthode ethnobotanique apportant une indication sur l'avantage d'utiliser la collecte basée sur les savoirs traditionnels. Sur les 119 médicaments issus des végétaux supérieurs et utilisés en médecine allopathique, 74% d'entre eux ont été découverts par des chimistes qui cherchaient à connaître le principe actif responsable des propriétés ethnobotaniques attribuées à ces plantes (Farnsworth *et al.*, 1985). Il semble par ailleurs logique de tenter de bénéficier de l'expérience humaine qui s'est développée au cours de l'évolution.

3- Échantillonnage systématique

Cette méthode a pour but de collecter l'ensemble des plantes en fleurs ou en fruits d'une zone donnée, afin de pouvoir les identifier. Elle dépend de la saison de la récolte et du nombre d'espèces fertiles sur le site. Elle est rapide et ne nécessite pas d'étude préliminaire particulière. Elle n'offre pas de pré-sélection guidée par des connaissances mais un choix basé sur la disponibilité. C'est une méthode intéressante parce qu'elle est conçue sans *a priori* et que le criblage biologique sera le seul critère de sélection.

☞ *Quelle que soit la méthode choisie pour collecter les plantes potentiellement actives, il faut souligner qu'il est impératif de conserver la richesse et la diversité de ces habitats dont dépendent les populations locales et qui peuvent offrir de nouveaux espoirs pour la découverte de nouveaux principes actifs. L'agriculture et la déforestation ont parfois des effets dramatiques sur cette biodiversité et sur la richesse des habitats originels.*

Dans l'étude proposée dans le cadre de cette thèse, une nouvelle méthode originale de recherche de plantes biologiquement actives est proposée. La « zoopharmacognosie » (connaissance de substances potentiellement médicinales utilisées par les animaux, cf II de cette partie) est peut-être un moyen de guider la sélection des plantes.

Le paragraphe suivant présente quelques données bibliographiques sur trois plantes qui ont été étudiées au cours de ce travail, pour leurs activités biologiques et leur consommation par les chimpanzés.

D- DONNEES CHIMIQUES ET PHARMACOLOGIQUES SUR QUELQUES GENRES BOTANIQUES DE PLANTES CONSOMMEES PAR LES CHIMPANZES

Trois espèces parmi les nombreuses plantes consommées par les chimpanzés et récoltées au cours des missions de terrain- *Diospyros abyssinica*, *Uvariopsis congensis* et *Trichilia rubescens* - ont donné lieu à un travail phytochimique biologiquement guidé. Quelques données bibliographiques sur ces plantes dont la phytochimie est peu connue et, plus largement, sur les genres et les familles auxquelles elles appartiennent sont présentées.

1- Le genre *Diospyros*

Diospyros Linn. est le genre économiquement et numériquement le plus important de la famille des Ebenaceae. Cette famille comprend environ 500 espèces tropicales et subtropicales, regroupées en 3 genres principaux:

- *Diospyros*
- *Euclea*
- *Lissocarpa*

Le genre *Diospyros* compte 350 espèces qui sont le plus souvent des arbres et des arbustes, à feuilles alternes, à baies possédant de 1 à 10 graines et à bois de cœur noir et dur conférant à l'ébène sa réputation de robustesse et ses qualités décoratives.

Les plus fines ébènes sont obtenues de *D. dendo*, *D. crassiflora* et *D. mespiliformis* en Afrique, et de *D. melanoxylon* en Inde. Certaines ébènes ne sont pas noires mais rouges (*D. rubra*), vertes (*D. chloroxylon*) ou encore blanches (*D. chrysophyllos*). Une autre espèce économiquement importante est *D. kaki*. Cet arbre porte des fruits très riches en tanins et donc très astringents lorsqu'ils sont immatures, qui deviennent juteux et sucrés à maturité, lorsque les tanins se transforment en cristaux insolubles (Mallavadhani *et al.*, 1998). En Inde, *D. melanoxylon* sert aussi à l'élaboration de cigarettes.

Parmi les 350 espèces décrites, au moins 130 ont été étudiées pour leur composition chimique depuis l'identification des tanins de *D. kaki* en 1900.

1.1 Activités pharmacologiques

Les extraits de *Diospyros* sont responsables de nombreuses activités. En voici quelques exemples :

Tableau I. Quelques exemples d'activités pharmacologiques in vitro de différentes espèces de *Diospyros* sp. (d'après Mallavadhani et al., 1998).

Propriétés pharmacologiques	Espèces et partie de plante
Activités antimicrobiennes	
Antibactériennes	graines de <i>D. melanoxylon</i> et <i>D. mespiliformis</i>
Antivirales	<i>D. chloroxylon</i>
Anti-amibes	<i>D. pergrina</i>
Anti-inflammatoires	
	feuilles de <i>D. leucomelas</i> ; écorce de <i>D. montana</i>
Activités sur les fonctions cardiorespiratoires, dépresseur du SNC	
Bradycardisant	<i>D. cordifolia</i>
Hypotenseur	écorce de <i>D. montana</i> , <i>D. cordifolia</i> ; feuilles de <i>D. kaki</i> ; graines de <i>D. exsculpta</i>
Inhibition de la croissance des cellules tumorales	
	écorce de <i>D. montana</i> , tiges de <i>D. morrisiana</i> , écorce des racines de <i>D. zombensis</i>

1.2 Les principales classes de composés secondaires

1.2.1 Les terpènes

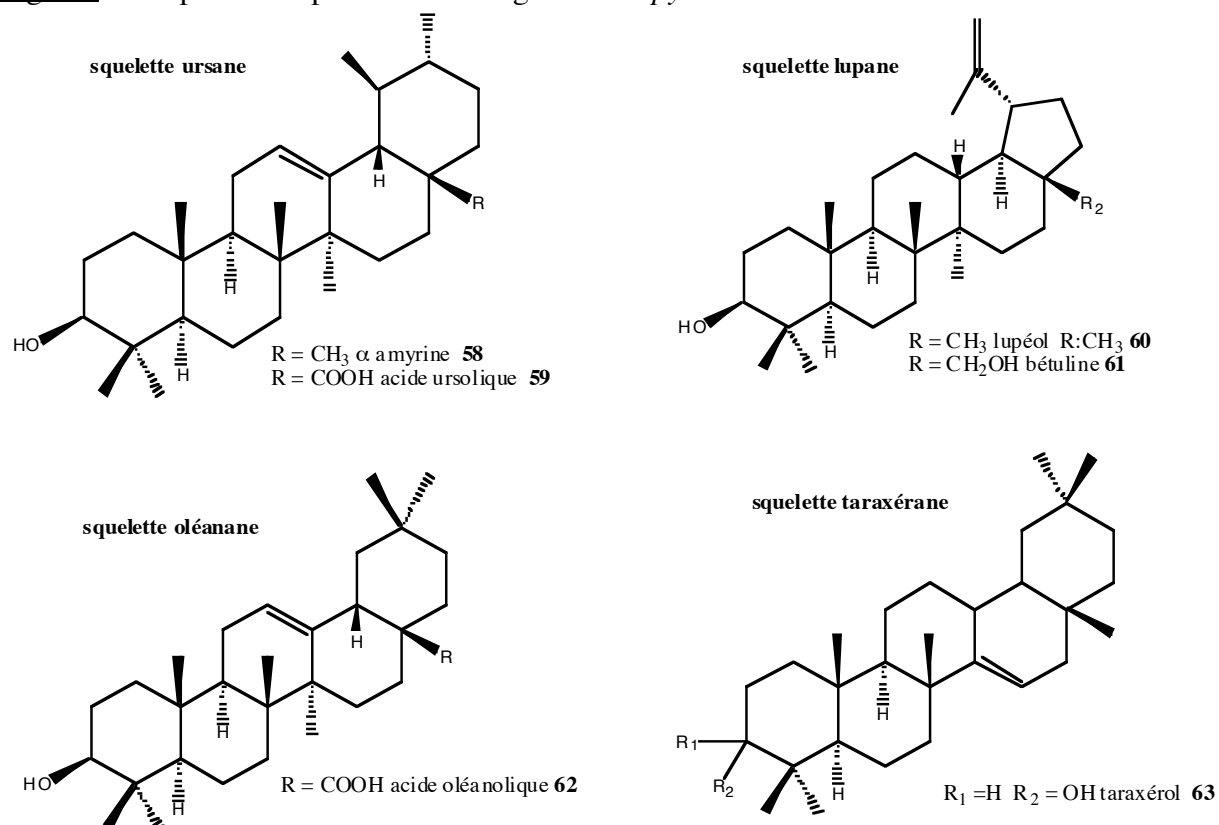
Les triterpènes sont largement distribués et sont rencontrés dans 90% des *Diospyros* étudiés (Mallavadhani et al., 1998).

Ils ont un squelette pentacyclique (cf supra, 2.3), le plus souvent de type :

- *ursane* : α amyrine **58**, acide ursolique **59**,
- *lupane* : lupéol **60**, bétuline **61**,
- *oléanane* : acide oléanolique **62**,
- *taraxérane* : taraxérol **63**,
- *friedelane* : friedeline.

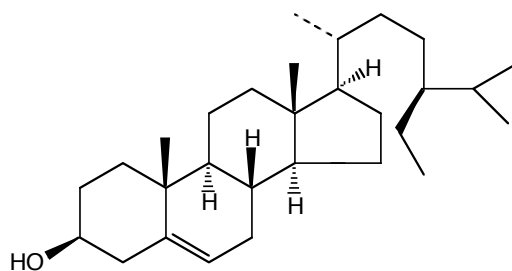
Les trois premiers types de composés ont des propriétés

- Anti-tumorales
- Anti-VIH
- Anti-inflammatoires

Fig. 29 Exemples de terpènes isolés du genre *Diospyros*

1.2.2 Les stéroïdes

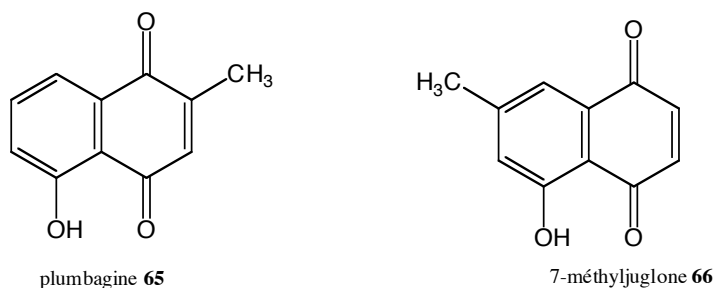
Le squelette le plus couramment rencontré est de type β-sitostérol **64**.

Fig. 30 Le β sitostérol **64**

1.2.3 Les naphtoquinones

De nombreux métabolites de la classe des juglones **34** ont été isolés des *Diospyros*. Ces espèces sont caractérisées par leur capacité à produire des 1,4-naphtoquinones. Les premières à avoir été isolées de *D. hebecarpa* sont la plumbagine **65** (qui est trouvée le plus souvent dans les feuilles et le bois de cœur des *Diospyros*) et la 7-méthyljuglone **66** (isolée surtout des écorces et du bois des différentes espèces).

On trouve des métabolites substitués et des métabolites oligomériques de ces deux composés.

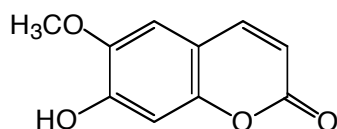
Fig. 31 Deux naphthoquinones isolées du genre *Diospyros*

1.2.4 Les polyphénols et tanins

Ces composés confèrent aux fruits de *Diospyros*, et particulièrement au kaki, son astringence. Leurs feuilles en contiennent aussi. Delphinidine, cyanidine et acide gallique **3** (cf supra 1.1.5) sont les polyphénols les plus courants. Des applications en cosmétologie ont été trouvées.

1.2.5 Les α et β benzopyrones

Un nombre significatif d' α et β -benzopyrones de type coumarine (cf. supra 1.1.2) et flavonoïdes (cf. supra 1.1.4) ont été isolées. Parmi les coumarines, la scopolétine **67** et ses glucosides sont largement répandus.

Fig. 32 La scopolétine **67**

1.2.6 Les caroténoïdes

Au moins 14 caroténoïdes ont été isolés des *Diospyros*, tout particulièrement de *D. kaki* où ils s'accumulent quatre fois plus dans la peau que dans la pulpe du fruit. Des néocaroténoïdes ont aussi été trouvés dans *D. kachiya*.

2- Le genre *Uvariopsis*

Uvariopsis Engl. (Engler & Diels, 1899, cité par Gereau & Kenfack, 2000) est un genre uniquement africain composé d'arbres et d'arbustes appartenant à la famille des Annonaceae.

Cette famille est très vaste et comprend environ 130 genres et 2300 espèces (Gleye, 1998), certaines d'importance économique. Ainsi, certains représentants des genres *Annona* et *Rollinia* sont cultivés en Amérique tropicale pour leurs fruits et le jus d'*Annona muricata* est particulièrement apprécié au Pérou et au Vénézuéla. L'ylang-ylang (*Cananga odorata*)

produit des fleurs parfumées, très utilisées en parfumerie. Les Annonaceae sont aussi largement utilisées en médecine traditionnelle pour leurs propriétés thérapeutiques.

On distingue deux sous-familles d'Annonaceae en fonction de l'évolution du gynécée :

- les *Annonoideae*, à carpelles libres ou accolés dans la fleur,
- les *Monodoroideae*, à carpelles soudés en un ovaire uniloculaire donnant un fruit syncarpique.

Une classe de composés chimiques est spécifique des Annonaceae, les acétogénines.

2.1 Les acétogénines des Annonaceae

Les acétogénines sont des composés d'origine naturelle possédant 35 ou 37 atomes de carbone, dérivant de l'acétyl-CoA et provenant probablement du métabolisme des acides gras. Elles se caractérisent par :

- une longue chaîne alkyle (portant ou non des fonctions oxygénées et des insaturations)
- 1 à 3 cycles tétrahydrofuraniques (THF)
- une γ -lactone à une extrémité.

On distingue en fonction du nombre et de la position des THF **cinq types structuraux** :

Type A : acétogénines mono-THF

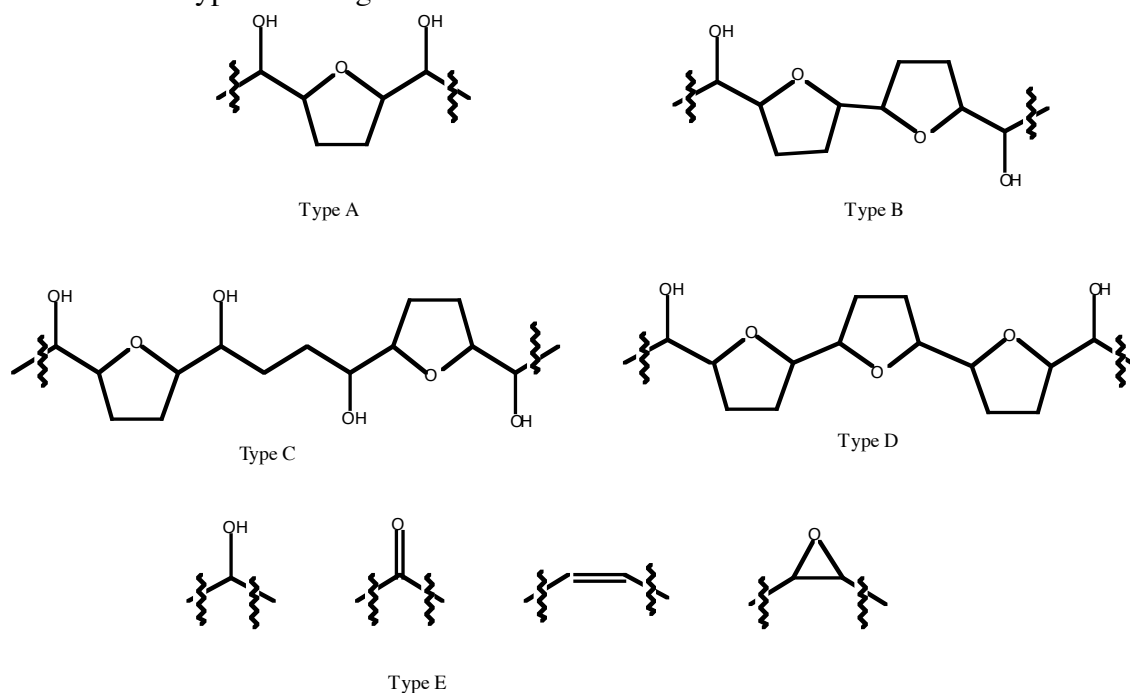
Type B : acétogénines bi-THF à cycles adjacents

Type C : acétogénines bi-THF à cycles non adjacents

Type D : acétogénines tri-THF à cycles adjacents

Type E : acétogénines sans THF mais possédant des fonctions oxygénées et qui sont considérées comme des précurseurs biogénétiques des acétogénines d'autres types.

Fig. 33 Les différents types d'acétogénines des Annonaceae.



On y associe une classification en sous-types en fonction de la lactone :

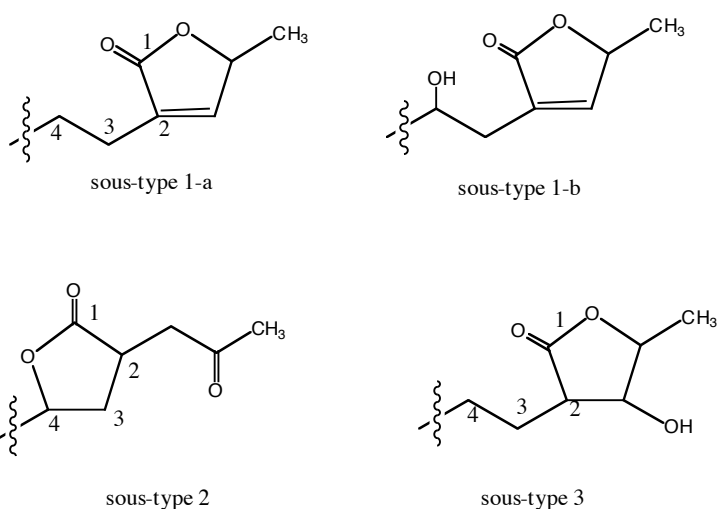
Sous type 1-a : acétogénines à γ -méthyl-butylolactone α , β -insaturée.

Sous type 1-b : acétogénines à γ -méthyl-butylolactone α , β -insaturée et groupement hydroxyle en 4.

Sous type 2 : acétogénines à α -acétyl-butylolactone sont probablement des artéfacts d'extraction des acétogénines de sous-type 1-b, consécutifs à un réarrangement en milieu basique ou alcoolique.

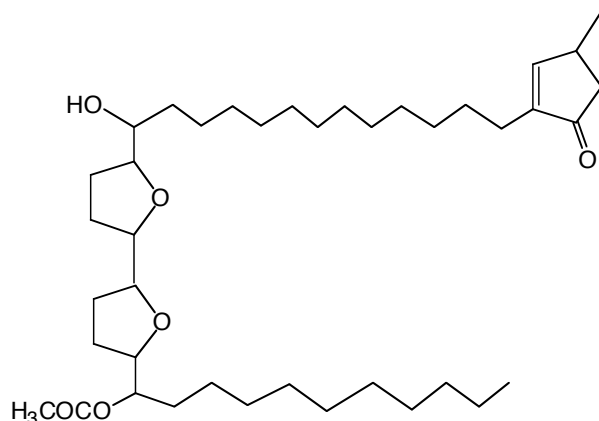
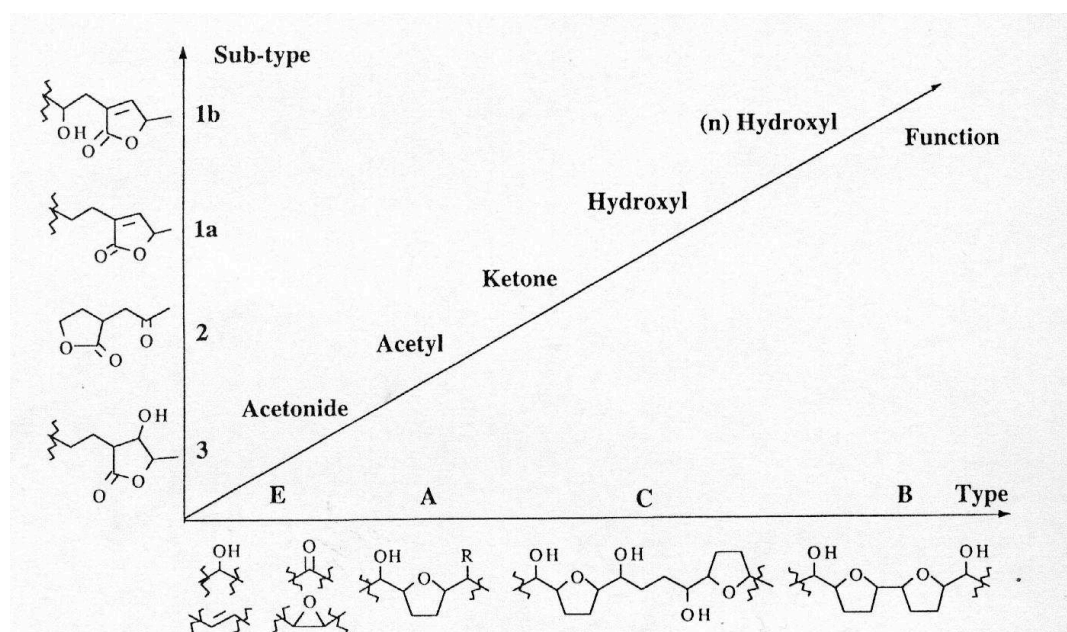
Sous type 3 : acétogénines à γ -méthyl-butylolactone β -hydroxylée qui sont probablement les précurseurs des composés de sous-type 1 par déshydratation.

Fig. 34 Les sous-types des acétogénines des Annonaceae



2.2 Activités biologiques des acétogénines

La première acétogénine isolée, l'uvaricine **68**, possède une activité *in vivo* sur un modèle de leucémie lymphocytaire P388 (Jolad *et al.*, 1982). Aujourd'hui, on note que la cytotoxicité est une propriété générale des acétogénines. Cependant les propriétés anti-tumorales des acétogénines semblent difficilement utilisables en thérapeutique notamment à cause de deux limites : d'une part, l'inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses pourraient n'être que transitoire et réversible à long terme, laissant supposer que les acétogénines seraient plutôt des agents cytostatiques que cytotoxiques (Queiroz, 1999) et d'autre part, leur toxicité s'exerce aussi vis-à-vis des cellules saines.

Fig. 35 Exemple d'une acétogénine cytotoxique, l'uvaricine **68**Fig. 36 Relation structure-activité des acétogénines des Annonaceae (après Cavé *et al.*, 1996)

Certaines acétogénines présentent des activités *in vitro* sur *Leishmania*, *Trypanosoma* et *Plasmodium*. De nombreuses plantes de la famille des Annonaceae sont utilisées traditionnellement comme insecticides et il a été montré que les acétogénines sont responsables de ces propriétés (Rupprecht *et al.*, 1990). Des acétogénines présentent aussi un large spectre antibactérien (Padmaja *et al.*, 1993).

Leur mécanisme d'action reste mal connu. Une activité inhibitrice au niveau de la chaîne respiratoire (complexe I : NADH ubiquinone oxydoréductase), entraînant une déplétion en ATP et l'asphyxie cellulaire, a été montrée. Les cellules cancéreuses se multipliant très vite seraient particulièrement sensibles à une telle privation en ATP (Degli Esposti *et al.*, 1994).

2.3 Le genre *Uvariopsis* et ses métabolites secondaires identifiés

Fries (1959) classe le genre *Uvariopsis* dans la sous-famille des *Annonoideae*, tribu des *Unoneae*. *Uvariopsis* se distingue des genres voisins des *Annonaceae* par des critères botaniques, par exemple, des fleurs dimères et des pétales réduits à 4 (Leboeuf & Cavé, 1972). Actuellement, seules 14 espèces d'*Uvariopsis* sont décrites (Gereau & Kenfack, 2000). Peu d'études chimiques ont été publiées sur des plantes de ce genre.

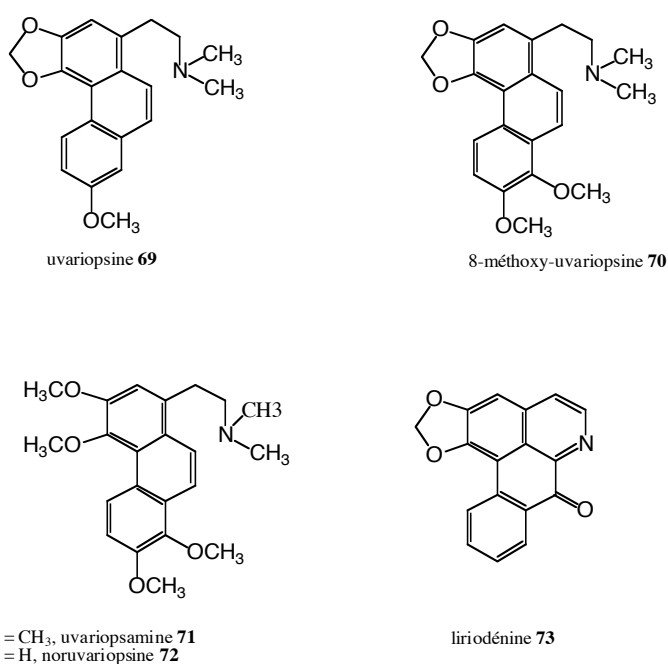
U. solheidii, originaire de la République du Congo, a révélé la présence d'une classe structurale d'alcaloïdes (cf. supra I-3) encore non rencontrée dans cette famille : la classe des dérivés de l' amino-éthyl-phénanthrène ou aporphines ouvertes. Dans la famille des *Annonaceae*, jusqu'alors des dérivés de l'aporphine, de la benzyloisoquinoléine et de la berbérine étaient connus. Les écorces d'*Uvariopsis guineensis* ont permis l'isolement de **5 aporphines ouvertes** dont 4 sont nouvelles :

- L'uvariopsine **69**, déjà isolée de *U. solheidii*,
- La 8-méthoxy-uvariopsine **70**
- L'uvariopsamine **71**
- La noruvariopsamine **72**
- Le N-oxyde de l'uvariopsamine

Trois autres alcaloïdes, des **oxoaporphines**, ont été identifiés : la liriodénine **73**, ainsi que deux dérivés méthoxylés.

Dans les différentes revues portant sur les acétogénines des *Annonaceae* (Ruprecht *et al.*, 1990 ; Cavé *et al.*, 1996), aucune mention n'est faite de l'isolement d'acétogénines dans le genre *Uvariopsis*.

Fig. 37 Molécules isolées d'*Uvariopsis guineensis*



3- Le genre *Trichilia*

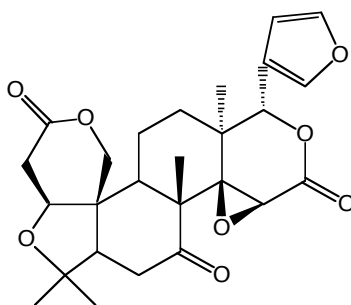
Le genre *Trichilia*, qui compte environ 230 espèces identifiées, se caractérise, comme un grand nombre de Meliaceae, principalement par la production de limonoïdes.

3.1 Quelques exemples de molécules isolées du genre *Trichilia*

3.1.1 Les limonoïdes

La publication de la structure de la limonine **74**, en 1973, a stimulé la recherche de composés de cette classe et depuis, plus de 300 limonoïdes ont été isolés de plantes appartenant à l'ordre des Rutales.

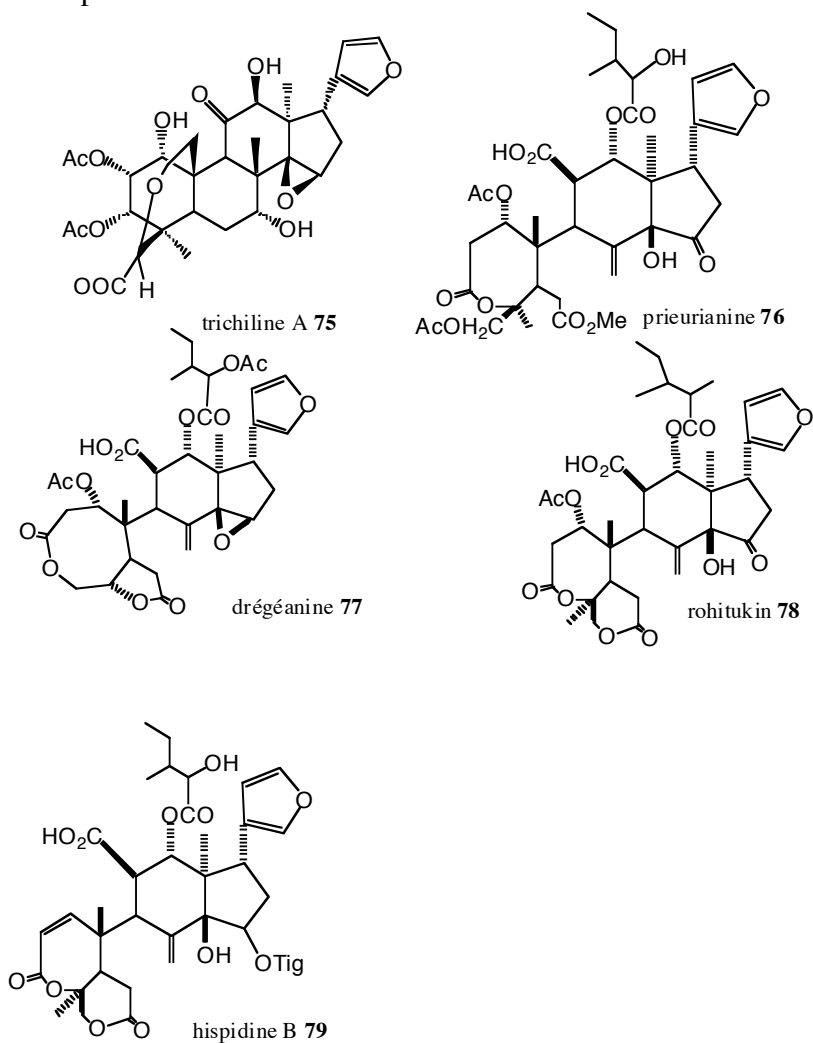
Fig. 38 La limonine **74**



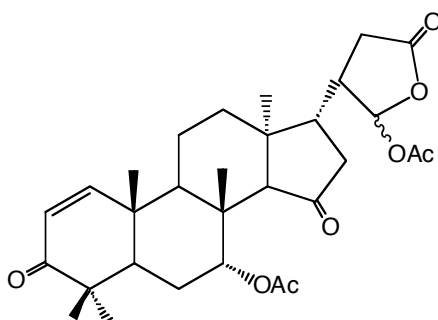
Une revue des différents limonoïdes extraits des Meliaceae et des Cneoraceae (Connolly, 1983) montre les différents types de structures des limonoïdes.

- Les trichilines, comme la trichiline A **75**, ont été isolées de *Trichilia roka*. Ce sont des tétra-nortriterpénoïdes en C₂₆ avec un squelette carboné intact ayant des propriétés anti-nutritionnelles.
- Par contre, dans certains cas, les cycles peuvent s'ouvrir.
 - Un seul cycle peut être modifié comme dans le cas du 6 β -acétoxy-7 α -obacunol isolé de *T. trifolia*.
 - C'est aussi le cas des tétratriterpénoïdes complexes dont 2 cycles (A et B) sont modifiés. On peut citer par exemple, le prieuriane **76** isolés de *T. prieuriana*, ou la drégéanine **77** provenant de *T. dregeana* (Mulholland & Taylor, 1980). La trichavensine est un dérivé du prieuriane isolé de *T. havanensi* (Rodriguez-Hahn, 1996). Les hispidines A et B **78** et la rohitukin **79** présentent des modifications de ces deux cycles. Les rubrines isolées de *T. rubra* (Musza *et al.*, 1995) sont aussi des A, B seco-limonoïdes.
 - Trois cycles peuvent être modifiés : A, B et D comme dans le cas des limonoïdes isolés de *Trichilia elegans* ssp. *elegans* (Garcez *et al.*, 1997).

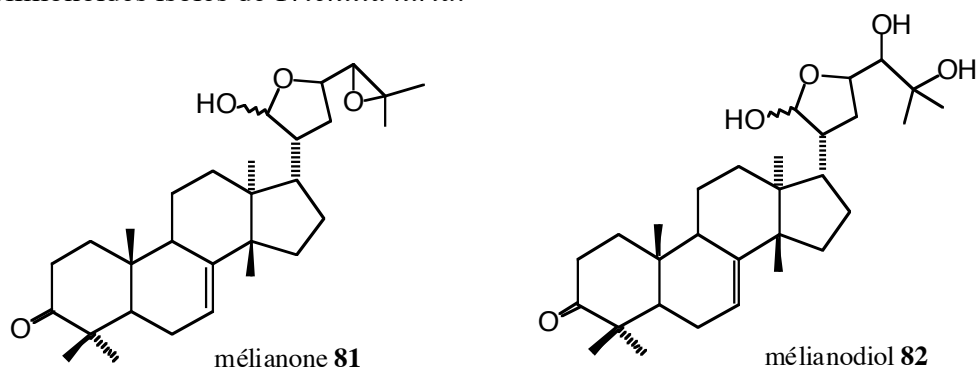
Fig. 39 Exemples de limonoïdes



Certains limonoïdes possédant des chaînes γ -hydroxybuténolides ont aussi été décrits (Cortez *et al.*, 1998).

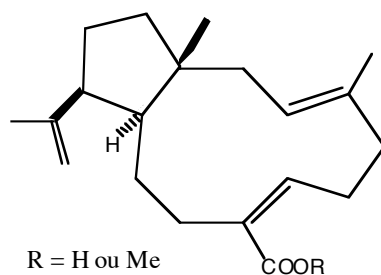
Fig. 40 Méliacine buténolide **80** isolée de *Trichilia stipulata*

- Plusieurs protolimonoïdes ont aussi été isolés : la prieurone et le prieurianoside par exemple, proviennent de *T. prieuriana* (Olugbade & Adesanya, 2000) alors que la mélianone **81**, le méliandiol **82** et la bourjotinolone A sont issus de *T. hirta* (Cortez *et al.*, 1992).

Fig. 41 Protolimonoïdes isolés de *Trichilia hirta*.

3.1.2 Autres métabolites

T. trifolia contient aussi des diterpènes de type dolabellane (Ramirez *et al.*, 2000). Ce type de squelette est fréquemment trouvé dans les invertébrés marins (mollusques).

Fig. 42 Exemple de diterpènes du type dolabellane isolés de *Trichilia trifolia*.

Dans les tiges de *T. claussenii*, Pupo *et al.* (1997) n'ont pas trouvé de limonoïdes mais ils ont pu isoler des **stéroïdes** de type androstane et pregnane.

Dans cette espèce, des γ -lactones ont été isolées des fruits (Pupo *et al.*, 1998).

Lors l'étude de *T. stipulata*, des **lignanes** ont été identifiés (Cortez *et al.*, 1998).

3.2 Quelques activités biologiques des limonoïdes

• Propriétés insecticides

Parmi les limonoïdes au squelette intact, les trichilines ont une activité sur les larves de *Spodoptera eridania* à 200 ou 300 ppm. Certains seco-limonoïdes, telle la prieurianine **76** ou la rohitukin **78** sont aussi actifs contre les insectes (Champagne *et al.*, 1992).

• Activités antitumorales

La mélianone **81**, la prieurianine **76**, et l'époxyprieurianine sont actives sur la lignée cellulaire de leucémie murine P-388 (Champagne *et al.*, 1992).

• Activités antiparasitaires

Il semble que les activités antipaludiques des limonoïdes soient conditionnées par la présence de sites réactifs sur le cycle A (Champagne *et al.*, 1992).

☞ Cette courte revue des connaissances sur ces trois espèces de plantes permet d'envisager les différentes classes de métabolites secondaires qu'elles peuvent contenir et qui sont potentiellement actives sur la santé des chimpanzés.

Même si la limite entre l'alimentation et les usages médicaux est parfois peu marquée chez l'homme, on cherchera, dans le cadre de cette étude, à évaluer et à caractériser l'ingestion à but nutritionnel par les chimpanzés de celle pouvant éventuellement être guidée par la recherche de métabolites secondaires susceptibles d'agir sur le bien-être des animaux (effet vermifuge, purgatif, antibiotique ...).

II- LES COMPORTEMENTS ANIMAUX D' « AUTO-MÉDICATION »

Le chapitre précédent a montré l'incroyable diversité de ces composés singuliers, appelés les métabolites secondaires, dont le rôle (si rôle il y a) à l'échelle de la plante est encore souvent inconnu. Il a quand même été montré qu'ils sont les médiateurs de nombreuses interactions entre les plantes qui les élaborent et les autres organismes vivants. Ils sont probablement des outils majeurs de la co-évolution entre les plantes, les herbivores et les organismes pathogènes ce qui a encore favorisé leur diversité et la création continue de nouveaux types de molécules en fonction des pressions subies.

Bien que leur rôle d'arme chimique contre les prédateurs soit une des hypothèses dominantes pour expliquer leur existence, quelques exemples développés précédemment montrent que des adaptations de la part des prédateurs existent.

Dans ce chapitre, seront envisagés quelques exemples, où les animaux semblent tirer avantage des composés secondaires des plantes ou d'autres propriétés de leur environnement, pour améliorer leur bien-être ou leur santé.

A- UTILISATION NON ALIMENTAIRE DE PLANTES BIOLOGIQUEMENT ACTIVES

1- Lustrage du pelage « *Fur rubbing* »

1.1 Quelques exemples de « *fur rubbing* »

Plusieurs études rapportent des observations concernant des animaux frottant leur corps avec des éléments prélevés dans leur environnement.

Au cours d'une étude menée au Costa Rica, M. Baker (1996) a observé des **capucins** (*Cebus capucinus*) qui appliquaient sur leur fourrure des plantes appartenant à au moins quatre genres : des fruits de *Citrus* (Rutaceae), des gousses de *Sloanea terniflora* (Elaeocarpaceae), des feuilles et/ou des tiges de *Clematis dioica* L. (Ranunculaceae) et de *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). Les singes mordent et roulent entre leurs mains le matériel végétal avant de le frotter sur différentes parties de leur corps. Les gousses de *Sloanea terniflora* sont pubescentes, et lorsque la majorité des poils qui les couvre a été arrachée par le frottement, les singes utilisent une nouvelle gousse. Les tiges de *Clematis* et les feuilles de *Piper* sont déchiquetées en petits morceaux au moyen de la bouche et roulées entre les mains puis mélangées à de la salive. La mixture obtenue est frottée vigoureusement

sur la fourrure. Les épisodes de *fur rubbing* ont été observés plus souvent en saison des pluies qu'en saison sèche. Des individus seuls peuvent pratiquer le *fur rubbing*, mais de petits groupes, ou la troupe entière, se livrent parfois simultanément à ce comportement.

De la même façon, **les lémuriens** peuvent frotter sur leur corps des insectes tels que les mille-pattes (Birkinshaw, 1999, Simmen, comm. pers.). Ainsi, une femelle lémur brun (*Eulemur macaco*) après avoir mordu un *Charactopygus* sp. (Spirotreptidae), s'est frotté le ventre et la queue vigoureusement à plusieurs reprises avec le corps de l'insecte enduit de salive.

Les **ours bruns** ont aussi été observés mâchant les racines de *Ligisticum porteri* (Apiaceae), puis étalant leur salive mêlée aux racines sur leur fourrure (Siegstadt, données non publiées, dans Huffman, 1997).

1.2 Hypothèses pouvant expliquer le « *fur rubbing* »

➤ Une erreur de choix ?

L'insecte utilisé par le lémurien aurait pu être confondu avec un de ceux, comestibles, que mangent habituellement les lémurs bruns, mais des observations rendent cette hypothèse improbable : un lémur brun captif auquel un mille-pattes fut présenté à plusieurs reprises, manifesta le même comportement de *fur-rubbing* à chaque fois (Birkinshaw, 1999).

➤ Un comportement de marquage ?

De tels comportements de *fur rubbing* pratiqués parfois en groupe chez les capucins peuvent renforcer la communication olfactive et être utilisés pour renforcer les liens sociaux ayant un effet proche de celui du *grooming*. Le *fur rubbing* induit une odeur reconnue comme un marquage par le groupe. Il apparaît en effet que les odeurs jouent un rôle important dans la sélection des items utilisés dans le *fur rubbing* par les capucins : des objets nouveaux, similaires en apparence et en texture ou en odeur, ne sont pas utilisés, excepté ceux contenant de la citronnelle ou des odeurs de matériels utilisés pour le *fur rubbing* (Baker, 1997).

➤ Une utilisation des propriétés chimiques des éléments utilisés ?

Il est remarquable que les plantes utilisées pour le *fur rubbing* par les capucins possèdent deux caractéristiques : elles sont soit piquantes - comme les *Citrus* et le *Piper*- soit stimulantes ou rubéifiantes comme les tiges de *Clematis* ou les poils irritants des gousses de *Sloanea*. Les espèces choisies par les singes sont utilisées, en Amérique Latine, pour traiter les pathologies cutanées. Des métabolites secondaires, possédant en particulier des propriétés insecticides et anti-microbiennes, ont été isolés de ces genres (Baker, 1997).

Le mille-pattes utilisé par le lémurien dégageait une forte odeur. Lorsqu'ils sont menacés, les mille-pattes sécrètent des substances chimiques provenant de glandes latérales : ce sont des aldéhydes, des quinones, des phénols, du chlore ou de l'iode qui peuvent avoir des propriétés sédatives, répulsives, irritantes ou toxiques sur les prédateurs (Birkinshaw, 1999).

Dans l'Ouest Américain, la plante avec laquelle l'ours se frotte (*Ligisticum porteri*) est utilisée par les populations locales comme anesthésique local et antibactérien. Elle contient une lactone glucosidique, un alcaloïde, des saponosides, et de l'acide férulique (Siegstadt dans Huffman, 1997).

☉ *Vues les utilisations en médecine traditionnelle de ces plantes et leurs propriétés pharmacologiques, des utilisations à des fins médicinales permettant le contrôle des ectoparasites ou de problèmes dermatologiques d'origine non parasitaires, ont été suggérées et semblent les plus probables. Un conditionnement, opérant par le mieux-être ressenti, peut l'expliquer.*

2- Utilisation de plantes biologiquement actives dans la construction de nids

2.1 Ajout de matériel végétal frais à d'anciens nids

Les oiseaux, tels les passereaux, réutilisent leurs anciens nids. Les études de Clark & Russel Masson (1985) montrent que l'étourneau (*Sturnus vulgaris*) incorpore, dans les anciens nids, de la végétation fraîche. Les oiseaux utilisent de petites quantités de plantes pour lesquelles ils parcourent parfois de longues distances.

2.2 Hypothèses pouvant expliquer ce comportement

Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer un tel comportement :

- **camouflage du nid**
- **diminution de la dessiccation des nids**
- **amélioration des propriétés thermiques**
- **sélection du partenaire et rôle dans l'appariement** Fauth *et al.* (1991)
- **utilisation de plantes à propriétés pharmacologiques pour réduire les ectoparasites et autres pathogènes**

Cette hypothèse a été particulièrement étudiée car, en réutilisant leurs anciens nids, les oiseaux ont à faire face à des risques élevés de contamination par des pathogènes qui induisent parfois une forte mortalité chez les jeunes.

L'étude de Clark & Russel Masson (1985) montre que les plantes ne sont pas choisies au hasard : elles sont plus odorantes, contenant des concentrations plus fortes de composés volatils que des plantes prises au hasard dans l'environnement des oiseaux. Différents paramètres ont été choisis et étudiés afin de tester l'hypothèse d'une action chimique des plantes utilisées.

- Une des plantes préférées par les oiseaux (*Solidago rugosa*, Asteraceae) contient des sesquiterpènes 2-bornyl acétate et du farnésol qui ont la capacité de **réduire la capacité reproductrice des ectoparasites**.
- La carotte sauvage (*Daucus carota*), qui est une des plantes souvent utilisée pour la reconstruction des nids, **réduit significativement le nombre de parasites hématophages** (*Ornithonyssus sylviarum*) trouvés dans les nids par comparaison avec les nids sans nouvelle végétation. De plus, **le taux d'hémoglobine** des poussins élevés

dans des nids contenant de la carotte sauvage est plus fort que celui des poussins venant des nids contrôlés (Clark & Russel Masson, 1988).

Fauth *et al.* (1991) montrent aussi que les effets négatifs sur la couvée des parasites hématophages peuvent être réduits par la présence de végétation fraîche, **les poids moyens des oisillons** provenant de nids où la végétation fraîche a été enlevée étant inférieurs. Les observations menées en laboratoire par Clark & Russel Masson (1988) confirment leurs données de terrain : les plantes sélectionnées par les oiseaux peuvent retarder l'infestation des nids par des parasites et diminuer les risques d'anémie chez les poussins.

Dans l'étude de Gwinner *et al.* (2000), les plantes ajoutées aux anciens nids ne diminuent pas directement le nombre d'ectoparasites. Elles améliorent, par contre, **la condition sanitaire de la couvée**, peut-être en stimulant le système immunitaire, ce qui permet de mieux réagir face aux différentes infestations.

Il semble que la sélection soit effectuée par discrimination olfactive. En effet, Clark & Russel Masson (1987) ont montré que malgré la petite taille de leurs bulbes olfactifs, les passereaux sont capables de discriminer des odeurs et ils suggèrent que la sélection des plantes ajoutées aux anciens nids est effectuée grâce aux propriétés odorantes des substances volatiles responsables des activités.

☛ *Les observations portant sur plusieurs espèces de vertébrés permettent de suggérer que les animaux utilisent en usage externe des éléments du milieu naturel pour améliorer leur confort et contrer les désagréments et pathogènes provenant de leur environnement, susceptibles d'avoir un impact sur leur fitness (valeur sélective).*

B- CONSOMMATION D'ITEMS A PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES

1- Comportements d'automédication observés chez des animaux captifs

1.1 Consommation de chloroquine par des souris impaludées

Il est généralement admis que les animaux évitent de consommer des aliments à goût amer. Le "test de préférence des deux bouteilles" montre que si la majorité des espèces évite de consommer des solutions amères de quinine au dessus d'un certain seuil, certaines espèces ingèrent néanmoins de petites quantités (entre 10 et 40% de leur consommation de fluide) des solutions plus concentrées de quinine. Pourtant, certaines espèces animales semblent consommer des substances décrites comme amères par l'Homme. Même si la plupart des substances toxiques sont associées à une certaine amertume pour les humains, l'inverse n'est pas nécessairement vrai : de nombreuses substances amères ne sont pas toxiques. De plus, les composés secondaires qui peuvent présenter des effets pharmacologiques bénéfiques pour les animaux ont souvent un goût amer. Par conséquent, des animaux malades peuvent accroître leur *fitness* (valeur sélective) en consommant des substances à goût déplaisant.

Dans les expériences décrites par Vitazkova *et al.* (2001), des souris (*Mus musculus*) sont infectées par *Plasmodium berghei berghei*, agent du paludisme murin. Elles manifestent des symptômes, sans développer de fièvre, qui aboutissent à la mort en deux semaines. Deux traitements oraux peuvent permettre la guérison : une chimiothérapie basée sur la

chloroquine, alcaloïde amer ou un régime alimentaire déficient en protéines. Pendant l'étude, l'opportunité a été donnée aux souris impaludées de consommer à volonté des solutions plus ou moins concentrées (0,01, 0,1 et 1mM) de chloroquine. Une première expérience montre que **les souris saines évitent de consommer les solutions les plus concentrées en chloroquine**, sans pour autant les rejeter puisque ces solutions constituent 10 à 40% des liquides consommés.

Trois groupes de souris sont constitués : des souris saines qui ont accès à de l'eau pure et à une solution à 1mM de chloroquine, des souris impaludées ayant le choix entre ces deux boissons et des souris impaludées n'ayant que de l'eau pure à disposition. Les souris infectées ayant à disposition une solution de chloroquine ont une parasitémie et une mortalité statistiquement moins élevée que celles n'ayant que de l'eau pure : 40% des souris n'ayant pas de chloroquine sont mortes dès le 12^{ème} jour post-infection alors que **jusqu'au 20^{ème} jour post-infection aucune souris pouvant boire une solution de chloroquine n'est morte**. Par contre, **les souris infectées et les souris saines consomment des quantités statistiquement équivalentes de chloroquine** à la concentration de 1mM. Même si à cette concentration, la boisson n'est pas plaisante, elle est néanmoins consommée de façon répétée et ce comportement d'essai est fortement favorable. Par ailleurs, ce comportement d'essai de substances amères existe pour des produits n'ayant pas de valeur médicinale.

☞ *On peut supposer que, par un tel comportement d'échantillonnage spontané des substances amères, un animal malade accroît ses chances d'en consommer une possédant des propriétés bénéfiques. Par là même, les quantités de chaque substance consommée sont faibles, permettant ainsi d'éviter le risque de mortalité par intoxication. Cette expérience ne permet pas de conclure que des souris peuvent développer des préférences vis-à-vis de substances à propriétés thérapeutiques, mais peut laisser entrevoir que leur comportement alimentaire a évolué de façon à réguler leur parasitémie et à maintenir une homéostasie.*

1.2 Consommation d'analgésiques par des poulets souffrant de boiteries

Les boiteries sont très fréquentes chez les volailles d'élevage et jusqu'à 25% des poulets élevés industriellement souffrent de douleurs entraînant des difficultés locomotrices. Une étude portant sur l'auto-administration d'analgésiques par des poulets d'élevage a été menée par Danburry *et al.* (2000). L'anti-inflammatoire utilisé, le carprofen (Zenecarp Injection®, C-Vet Pharmaceuticals) est un anti-inflammatoire non stéroïdien, ayant des propriétés analgésiques qui améliore la mobilité chez les poulets d'élevage.

Dans un premier temps, l'expérience a consisté à comparer la consommation volontaire de nourriture supplémentée en carprofen par des poulets sains et des poulets boiteux et à déterminer s'il se produisait une auto-sélection de médicaments. Les concentrations plasmatiques de carprofen détectées sont linéairement corrélées aux quantités ingérées. Cette première expérience a montré que **les poulets boiteux consomment une fois et demie plus d'analgésique que les poulets sains**.

Au contraire, les poulets sains ont tendance à éviter la nourriture contenant l'anti-inflammatoire, ce qui permet de suggérer une **aversion pour ce type d'aliments supplémenté en carprofen chez les animaux en bonne santé**. De fortes doses d'anti-inflammatoires non stéroïdiens produisent, chez les animaux comme chez l'homme, des effets

secondaires comme des maux d'estomac pouvant expliquer l'évitement des aliments fortement supplémentés en carprofen par les animaux sains.

Dans la seconde expérience, la mobilité a été évaluée sur une échelle allant de 0 à 5 et il apparaît que **la consommation d'anti-inflammatoire est corrélée avec la sévérité de la boiterie.**

☞ *Ces observations tendent à montrer que les poulets sont capables d'équilibrer leur ingestion de médicament analgésique de façon à diminuer la douleur. Par ailleurs, les effets secondaires du produit entraînent chez les poulets une limitation de leur consommation.*

1.3 Survie de chenilles infectées par des parasitoïdes létaux

Les Lépidoptères *Platyrepia virginialis* sont parasités par des larves de mouches, *Theleia americana*, qui se développent dans l'abdomen de leur hôte. Par définition, un parasitoïde tue son hôte, mais certaines chenilles survivent à l'émergence de leur parasitoïde et deviennent adultes sans perte apparente de fécondité. La survie des Lépidoptères dépend de la plante sur laquelle ils se nourrissent. Karban & English-Loeb (1997) ont mené une expérience afin de déterminer si l'infestation par le parasitoïde influençait le choix alimentaire de l'hôte.

Des chenilles sont placées dans des enclos possédant du lupin (*Lupinus arboreus*) et de la cigüe (*Conium maculatum*).

Les chenilles parasitées ont tendance à se nourrir de cigüe alors que les chenilles saines préfèrent le lupin.

Leur survie en dépend : les chenilles non parasitées ont plus de chances de survivre si elles sont placées sur *L. arboreus* alors que les chenilles parasitées accroissent leur probabilité de survie en mangeant *C. maculatum*. De plus, les masses des pupes parasites de chenilles ayant mangé *C. maculatum* sont plus importantes. La masse est généralement corrélée à la fécondité.

Le comportement alimentaire des insectes parasités est donc modifié par la présence des parasites.

Des études ont montré que les parasites peuvent modifier le comportement alimentaire des insectes de façon à augmenter leurs possibilités de transmission à un autre individu. Les insectes, par ailleurs, répondent parfois au parasitisme en se déplaçant vers un habitat plus chaud, favorable à l'élimination du parasite (Moore, 1997).

☞ *Dans cette étude, les insectes choisissent l'espèce de plante qui leur permet une survie plus longue tout en étant favorable au développement du parasitoïde. Le choix de la plante hôte serait modulé par les interactions entre l'insecte et son parasite.*

2- Comportements d'automédication chez les animaux sauvages

Chez les grands singes africains, deux comportements d'automédication - la mastication de tiges amères et l'ingurgitation de feuilles entières - sont particulièrement documentés et sont l'objet de recherche multidisciplinaire (voir par exemple le site internet C.H.I.M.P.P.).

L'existence d'au moins un de ses deux comportements a été rapportée dans 10 sites, aussi bien en Afrique de l'Est (Tanzanie, Ouganda, République Démocratique du Congo), qu'en Afrique centrale (République du Congo) et en Afrique de l'Ouest (Côte d'Ivoire,

Guinée). Ils sont pratiqués par plusieurs espèces et sous-espèces de grands singes. La majorité des informations proviennent de trois sites où sont observés des chimpanzés de la sous-espèce *P. t. schweinfurthii*: Gombe et Mahale en Tanzanie, et Kibale en Ouganda.

2.1 Ingurgitation de feuilles entières

2.1.1 Les observations

Le comportement d'ingurgitation de feuilles entières a été observé dès 1977 à Gombe (Wrangham, 1977). En 1983, Wrangham & Nishida décrivent la particularité de la consommation de ces plantes du genre *Aspilia* (*A. pluriseta* O. Hoffm., *A. rudis* Oliv. & Hiern et *A. mossambicensis* Oliv., Asteraceae), dont les feuilles rugueuses sont avalées sans être mâchées dans deux communautés de chimpanzés de Tanzanie, à Gombe et à Mahale. Les feuilles sont habituellement choisies une par une. La feuille entière, ou la partie distale de celle-ci, est ensuite placée dans la bouche et frottée contre le palais puis roulée, avant d'être avalée sans être mâchée. Chaque feuille est mangée lentement et par conséquent, la fréquence d'ingestion est faible. À Gombe, l'ingestion d'*Aspilia* est observée seulement aux premières heures de la matinée, avant 7h30 et plus fréquemment pendant la saison des pluies. Les feuilles sont retrouvées intactes dans les selles.

De tels comportements ont été observés pour 30 espèces de plantes dans 9 populations de chimpanzés (*P. troglodytes schweinfurthii*, *P. t. troglodytes*, *P. t. verus*) ainsi que dans deux communautés de bonobos (*Pan paniscus*) (Huffman, 1997, Dupain *et al.*, 2002) et de gorilles des plaines (*Gorilla gorilla graueri*) (cf. annexe 2). Pour au moins quatre espèces de feuilles (*A. mossambicensis*, *Trema orientalis* (Ulmaceae), *Ficus exasperata* et *Ficus mucosa* (Moraceae), il a été observé qu'elles pouvaient soit être ingurgitées entières, tôt le matin, soit être mâchées si elles étaient consommées à d'autres périodes (Huffman, 1997).

2.1.2 Hypothèses sur la fonction de l'ingestion de feuilles entières

L'absence de mastication des feuilles conduit les chercheurs à suggérer que les feuilles doivent être consommées pour une raison autre qu'un apport calorique. Dès 1983, Wrangham & Nishida suggèrent un potentiel effet pharmacologique de la consommation d'*Aspilia*.

Wrangham, en 1995, émet l'hypothèse que le comportement d'ingurgitation de feuilles entières peut être mis en relation avec une infection parasitaire. Il montre que, dans la communauté de Kanyawara, les segments du cestode *Bertiella studeri* ne sont trouvés dans les fèces que pendant une période de sept mois, pendant laquelle l'ingestion des feuilles entières (*Aneilema aequinoctiale*, Commelinaceae, *Rubia cordifolia*, Rubiaceae et *Hyparrhenia cymbaria*, Poaceae) est plus fréquente.

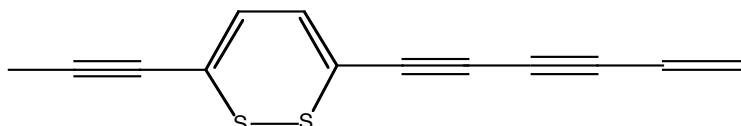
Huffman émet aussi l'hypothèse d'une action potentielle des feuilles d'*Aspilia* sur une autre espèce de parasite *Oesophagostomum stephanostomum* : en effet, il a été observé que certains individus pratiquaient la mastication de tiges de *Vernonia amygdalina* le même jour où ils ingéraient des feuilles entières. Sur une étude portant sur 254 selles, 6 de 9 selles contenant *O. stephanostomum* renfermaient aussi des feuilles entières (Huffman, 1996).

2.1.3 Les mécanismes d'action potentiels

➤ Une action chimique ?

En explorant la composition chimique des feuilles d'*Aspilia mossambicensis*, la thiarubrine A **83**, un puissant antibiotique ayant aussi des propriétés antifongiques et anthelminthiques a été isolée des feuilles de cette plante en 1985 (Rodriguez *et al.*, 1985).

Fig.43 La thiarubrine A **83**



Cependant, l'isolement de ce composé dans les feuilles d'*Aspilia* n'a pas pu être reproduit ultérieurement, bien que les études aient porté sur 27 échantillons de trois espèces d'*Aspilia* (*A. mossambicensis*, *A. rudis* et *A. africana*) collectées dans plusieurs sites (à Mahale, Gombe, en Ouganda ou au Kenya) (Page *et al.*, 1992, Rodriguez & Wrangham, 1993, Page *et al.*, 1997). De plus, Page *et al.* (1997) soulignent que des essais biologiques ont été pratiqués sur les feuilles de différentes espèces d'*Aspilia* et aucune activité sur *Candida albicans* n'a été notée, alors que cette souche est sensible à la thiarubrine.

Par contre, Page *et al.* (1992) confirment la présence de thiarubrine dans les racines d'*Aspilia*. Les techniques d'analyse s'étant aujourd'hui affinées, il serait intéressant de contrôler et de rechercher la présence de thiarubrine dans les feuilles d'*Aspilia*. Il n'est pas improbable que des variations saisonnières ou intraspécifiques expliquent la non-reproductibilité des analyses précédentes.

Par ailleurs, des tests ont été pratiqués *in vitro* dans le dessein de détecter une action chimique potentielle des feuilles de *Rubia cordifolia* sur les parasites intestinaux de type *Strongyloides* (Messner & Wrangham, 1996). Les feuilles de cette espèce sont aussi avalées entières par les chimpanzés de Kibale, en Ouganda. Les résultats ont montré que les extraits méthanoliques des feuilles n'avaient pas d'action sur la mobilité des parasites cultivés à partir de selles de babouins.

Les données précédentes, ajoutées au fait que, si les feuilles ne sont pas mâchées, les produits contenus semblent difficilement disponibles au niveau stomacal, ont conduit les auteurs à suggérer l'hypothèse d'une action physique des feuilles.

➤ Une action mécanique

L'examen de trois selles contenant des feuilles entières et des vers a montré que certains vers étaient fermement attachés à la surface rugueuse des feuilles d'*Aneilema aequinoctiale* (Commelinaceae) emprisonnés entre les trichomes, des poils courts et flexibles. La majorité des autres vers ont été trouvés à l'intérieur des feuilles pliées (Huffman, 1997). La forte corrélation entre l'expulsion des vers intestinaux, la présence de feuilles dans les selles et l'observation de vers attachés à la surface des feuilles ont amené Huffman à supposer une action mécanique de type « velcro » plutôt que l'action chimique initialement évoquée.

De plus, l'irritation produite sur un estomac et un tube digestif vides par les feuilles rugueuses induirait une augmentation de la motilité intestinale et une augmentation des sécrétions. Ceci aurait pour conséquence une augmentation du transit digestif, avec diarrhée, ayant pour effet une vidange intestinale et un contrôle de la charge parasitaire (Huffman, 2001).

Les observations menées sur les bonobos à Iyema-Lomako en République Démocratique du Congo confortent cette hypothèse (Dupain *et al.*, 2002). Les bonobos ingèrent lentement, dans les deux heures qui suivent leur réveil, les feuilles entières de *Manniophyton fulvum* (Euphorbiaceae) qui sont retrouvées intactes dans les selles, principalement en saison des pluies. Par ailleurs, la prévalence d'*Oesophagostomum stephanostomum* est aussi plus forte en saison des pluies au contraire des infections à *Strongyloides* et *Troglodytella* qui ne sont pas corrélées à la saison.

☞ *La multiplicité des sites et des espèces de grands singes pour lesquels des comportements d'ingurgitation de feuilles ont été observés (cf annexe 3) ainsi que les analyses coprologiques ont permis de préciser les données concernant les éventuels comportements d'automédication. L'action physique des feuilles avalées est retenue comme le mécanisme le plus probable favorisant l'expulsion des parasites digestifs.*

Néanmoins, ce suivi porte sur l'ensemble d'un groupe et aucune observation individuelle montrant une amélioration de l'état d'un animal ayant pratiqué ce comportement n'est encore documenté.

Par contre, dans le cas de la mastication des tiges amères, des observations précises sont publiées.

2.2 Mastication de tiges amères

2.2.1 Les observations

Les premières observations d'un chimpanzé malade recouvrant la santé après ingestion de tiges de *Vernonia amygdalina* Del., Asteraceae, ont été rapportées par Huffman et Seifu en 1989. Une femelle du groupe M de Mahale Mountains, en Tanzanie, souffrait de troubles gastro-intestinaux, se traduisant par des difficultés à déféquer, de l'anorexie et de l'apathie. Elle a été observée mâchant des tiges amères de *V. amygdalina* après avoir retiré la partie externe de la tige pour en extraire le jus amer, rejetant ensuite les fibres restantes. Le jour de cette consommation, son budget d'activité a montré qu'elle a passé beaucoup de temps allongée, sans manger. Dans l'après-midi du second jour, elle avait retrouvé l'appétit, et son état de santé semblait de nouveau satisfaisant.

Les observations ultérieures ont montré que cette plante n'est guère répandue sur le territoire des chimpanzés de ce groupe. Son usage demande souvent un détour. Seules de petites quantités sont ingérées (des tronçons de 5 à 120 cm, en moyenne 54,57 cm) pendant une durée relativement courte (de 1 à 8 minutes) (Huffman, 1997). Les animaux du même groupe ne se joignent pas à cette consommation, mais les enfants de mères malades ont été observés goûtant les tiges épluchées par leur mère (Huffman & Seifu, 1989). Une femelle a

été observée empêchant son enfant de consommer les restes de tiges de *Vernonia*, laissés par un mâle adulte (Huffman, 1997).

Malgré une disponibilité égale, régulière au long de l'année (Nishida & Uehara, 1983), la consommation des tiges de *Vernonia* est rare et hautement saisonnière, les observations ayant lieu généralement en saison des pluies. Ces observations laissent à penser qu'un facteur autre que la disponibilité saisonnière influence l'ingestion de ces tiges amères.

2.2.2 Hypothèse sur la fonction de ce comportement

Ces premières observations ont poussé Huffman et Seifu (1989), à suggérer une utilisation non nutritionnelle de cette plante dont la consommation est rare par les chimpanzés de ce groupe.

Une étude longitudinale de la faune parasitaire intestinale des chimpanzés de Mahale a montré que trois espèces de Nématodes *Strongyloides fulleborni*, *Trichuris trichiura* et *Oesophagostomum stephanostomum* étaient particulièrement fréquentes. Une augmentation de l'incidence des infections en saison des pluies a été montrée seulement pour les infections à *O. stephanostomum* qui sont par ailleurs étroitement associées, soit à la consommation de tiges amères, soit à l'ingurgitation de feuilles entières (Huffman *et al.*, 1997b). Les infections répétées à *O. stephanostomum* peuvent causer des complications, telles des infections secondaires bactériennes, des diarrhées, des douleurs abdominales, des pertes de poids et un affaiblissement général.

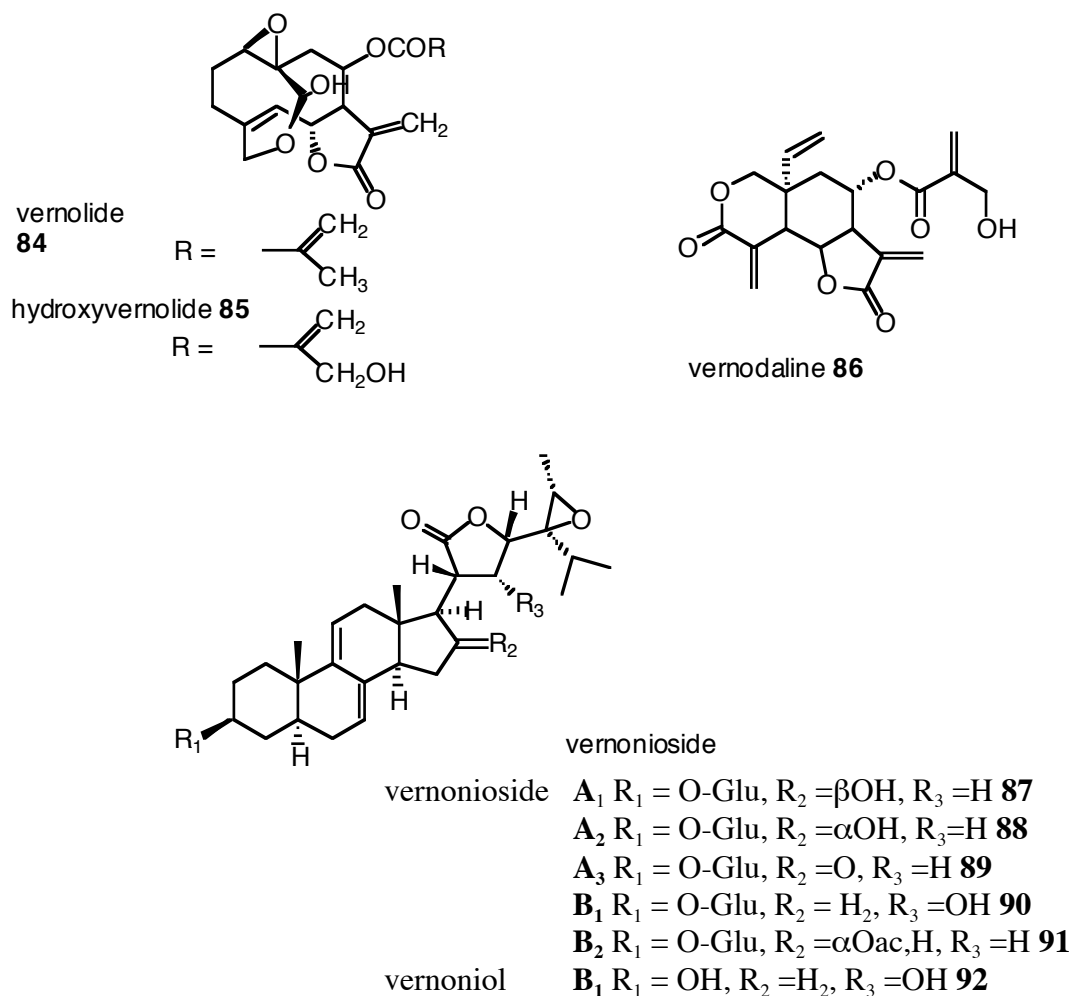
Ces symptômes pourraient agir comme un stimulus, poussant les animaux à des comportements particuliers comme la consommation de tiges amères (Huffman, 1997).

2.2.3 La composition chimique de *Vernonia amygdalina*

Dans de nombreux groupes ethniques africains, *Vernonia amygdalina* est utilisée pour traiter les fièvres paludiques, les schistosomiasis, les dysenteries amibiennes et les infestations parasitaires intestinales.

Les analyses phytochimiques des échantillons de *V. amygdalina* ramassés à Mahale parmi les plantes consommées par les chimpanzés ont abouti à l'isolement de deux principales classes de composés, des lactones sesquiterpéniques et des saponosides stéroïdiques:

- 4 lactones sesquiterpéniques déjà connues
 - vernolide **84**
 - hydroxyvermolide **85**
 - vernodaline **86**
 - vernodalol
- 7 nouveaux glucosides stéroïdiques de type stigmastane
 - vernonioside A1 **87**, A2 **88**, A3 **89** et A4
 - vernonioside B1 **90**, B2 **91** et B3
- deux aglycones correspondant à ces hétérosides
 - vernoniol A1
 - vernoniol B1 **92**

Fig.44 Molécules isolées de *Vernonia amygdalina*

2.2.4 Les activités biologiques des composés isolés de *Vernonia amygdalina*

Les lactones sesquiterpéniques, isolées de plusieurs espèces de *Vernonia*, sont connues pour leurs propriétés anthelminthiques, anti-amibiennes, antitumorales et antibiotiques. Elles ont aussi une forte activité antiplasmodiale (Jisaka *et al.*, 1992).

Le vernionioside B₁, saponoside stéroïdique, inhibe la mobilité des schistosomes adultes et de leur capacité de ponte.

L'activité des aglycones est également bonne contre le paludisme et les amibiases (Ohigashi *et al.*, 1994).

La vernodaline est très active sur les schistosomes, mais elle est aussi très toxique (2 mg en IP provoquent la mort d'une souris).

Il est intéressant de noter qu'elle est abondante dans les feuilles et l'écorce des tiges mais qu'elle se trouve en très faible quantité dans la moelle des tiges. Ceci pourrait expliquer la sélection des tiges par les chimpanzés, et le fait qu'ils enlèvent les feuilles et l'écorce avant de consommer l'intérieur des tiges. Ils éviteraient ainsi la trop forte toxicité des autres parties de la plante.

☛ *Des comportements élaborés de consommation de plantes sont liés à une amélioration de l'état sanitaire des animaux, évaluée par des études longitudinales portant sur un groupe d'individus mais surtout par l'observation d'individus malades.*

La consommation d'autres éléments de l'environnement, comme la terre ou le charbon de bois, sont l'objet de nombreuses études.

2.3 La géophagie et ses fonctions potentielles

La consommation de terre est répandue chez différentes espèces animales mais aussi chez les humains. D'après la littérature ethnographique, on reconnaît à la consommation de terre des vertus antidiarrhéiques, des propriétés permettant d'éviter les maux d'estomac ou les vomissements ou encore la capacité d'enlever le goût amer. Une corrélation a aussi été établie entre la consommation de terre issue de termitière très riche en calcium par des femmes Africaines enceintes et leur régime alimentaire fortement déficient en produits laitiers (Aufreiter *et al.*, 2001).

Une série d'études géochimiques et minéralogiques de la terre consommée par les primates et le bétail a été entreprise en Afrique (Rwanda, Uganda, Tanzanie, Guinée), en Asie (Sumatra, Bornéo, Japon) et en Amérique (Porto-Rico) par l'équipe de Mahaney associée au Geophagy Research Project de l'Université d'York (Toronto, Ontario).

2.3.1 Apports en minéraux

On a suggéré que la terre est consommée par les primates non humains pour ses **apports en minéraux** (Oates, 1978 ; Davies & Baillie, 1988 ; Heymann & Hartmann, 1991)

Oates (1978) a analysé la composition minérale de la terre ainsi que les plantes d'eau consommées par des colobes noirs et blancs (*Colobus guereza*) de Kanyawara, Kibale en Ouganda. Il suggère que les plantes d'eau peuvent combler des déficits minéraux induits par une consommation exclusive de plantes de zones sèches alors que la composition de la terre laisse supposer qu'elle est ingérée pour d'autres raisons.

2.3.2 Rôle de pansement digestif et d'antidiarrhéique

Par contre, les terres consommées, provenant parfois de termitières (Mahaney *et al.*, 1996), ont une composition minérale proche de préparations pharmaceutiques, utilisées en médecine humaine et vétérinaire, pour traiter les diarrhées et les maux d'estomac (Kaopectate™)(Mahaney, 1993 ; Mahaney *et al.*, 1997).

Par ailleurs, la terre pourrait être consommée pour ses fonctions anti-acide. En effet, le système digestif particulier de certaines espèces de primates produit par fermentation de fortes quantités d'acides gras, ce qui induit une acidification pouvant entraîner une acidose fatale ; la terre ingérée pourrait agir comme un tampon et **réguler le pH digestif** (Oates, 1978 ; Davies & Baillie, 1988). L'étude du parasitisme intestinal de macaques rhésus (*Macaca mulatta*) vivant en liberté a montré que 89% de la population étaient infestés par un ou plusieurs parasites, mais ne manifestaient aucun symptôme (Knezevich, 1998). Les macaques pratiquent couramment la géophagie (76% des individus pendant l'étude) et l'auteur suggère que ce comportement peut contrecarrer, grâce à la composition de la terre consommée proche de celle du Kaopectate™, les potentiels effets négatifs, telles les

diarrhées, pouvant être provoquées par le parasitisme. Toxines bactériennes ou parasitaires et organismes pathogènes pourraient être isolés, immobilisés et éliminés par les fèces ou encore les particules d'argile pourraient agir comme une **barrière protectrice de la muqueuse intestinale**. Par ailleurs, la consommation de terre **ralentit probablement le transit digestif** (Aufreiter *et al.*, 2001).

2.3.3 Détoxification et adsorption des toxines

Des **propriétés d'adsorption des tanins** et de détoxification des aliments riches en composés secondaires nocifs ont été suggérées pour d'expliquer les consommations de terre chez les animaux (Hladik & Guéguen, 1974 ; Oates, 1978).

➤ *Chez les oiseaux*

L'action préventive de l'adsorption des produits toxiques des plantes par la géophagie a été montrée **chez les perroquets et les oies** (Gilardi *et al.*, 1999 ; Wink *et al.*, 1993). En effet, les tests pratiqués *in vitro* sur les sols consommés par les perroquets ont montré que chaque gramme de terre consommée peut adsorber de 90 à 125 mg de quinine et 6 à 8 mg d'acide tannique. Des expériences réalisées *in vivo* montrent que, chez les perroquets recevant des solutions de quinidine, associées ou non à de l'argile, la quantité circulante d'alcaloïdes (quinidine) était réduite de 60% par rapport à ceux n'ayant pas reçu d'argile (Gilardi *et al.*, 1999).

➤ *Chez les primates*

Des analyses pratiquées comparativement sur des sols consommés et non consommés par les chimpanzés de Mahale en Tanzanie ont montré que les termitières sélectionnées - appartenant souvent aux insectes de la sous-famille des Macrotermitinae - ont des caractéristiques chimiques et minérales particulières. Les sols se caractérisent à la fois par la combinaison d'halloysite et de kaolinite, par une plus forte proportion de fer et par leur faculté à **absorber les toxines d'origine alimentaire ou produites par les micro-organismes** (Mahaney *et al.*, 1999 ; Aufreiter *et al.*, 2001). Les capacités d'adsorption des sols ont été évaluées en utilisant comme modèle des métabolites toxiques des plantes des alcaloïdes de type quinolizidine (spartéine, lupanine), tropane (atropine) et quinoléine (quinine). Les sols montrent de bonnes capacités d'adsorption, comparables à celles de charbons par exemple, sans dégrader les alcaloïdes (contrôle par CG et CG-SM).

Chez les gorilles de montagne (*Gorilla gorilla beringei*), cette hypothèse de détoxification est aussi retenue : en effet, certains groupes de gorilles étudiés à Karisoke, Rwanda, consomment occasionnellement (5 à 6 fois par an) de la terre provenant d'excavations érodées (Mahaney *et al.*, 1990). Au cours de visites pouvant durer près de 30 mn, les gorilles creusent la terre et mangent la poudre sèche au prix d'une dépense d'énergie importante (Mahaney, 1993). Ces sous-sols (« regolith ») sont particulièrement recherchés en saison sèche. Mahaney *et al.* (1995) suggèrent que la géophagie pourrait améliorer les problèmes digestifs, liés aux changements alimentaires saisonniers et particulièrement, les diarrhées liées à la consommation de pousses de bambous, riches en cyanure.

À Madagascar, l'hypothèse que l'Hapalémur doré (*Hapalemus aureus*) pouvait consommer un bambou très toxique (*Cephalostachium viguieri*), sans pâtir des effets nocifs du fait de l'ingestion concomitante de terre, a été testée (Jeannoda *et al.*, 2003). En effet, cette plante contient aussi des composés cyanogénétiques (15 mg de HCN pour 100 g de matériel frais consommé). L'Hapalémur doré consomme environ 500 g de bambou par jour, soit près de 12 fois la dose quotidienne de cyanure considérée comme létale pour un lémur adulte, sans qu'il semble en souffrir (Glander *et al.*, 1989). Des mécanismes de détoxification du cyanure en thiocyanate, par le foie par exemple, ou encore l'inhibition de la libération du cyanure par un pH digestif très acide, semblent improbables dans cette espèce qui consomme peu d'acides aminés soufrés et n'a pas de système digestif très spécialisé. Mais d'autres composés toxiques ont aussi été mis en évidence. Ce bambou n'est jamais consommé par les deux autres espèces d'Hapalémurs sympatriques (*H. griseus* et *H. simus*). Les extraits de la plante, associés ou non à de la terre, sont létaux pour les souris tant par injection intra-péritonéale que *per os* (Jeannoda *et al.*, 2003). Ce test n'a pas permis de mettre en évidence la capacité éventuelle de la terre à rendre le bambou consommé moins toxique en tout cas pour la souris. La stratégie alimentaire par laquelle l'Hapalémur doré résiste à la toxicité de la plante n'a pas encore pu être expliquée.

2.3.4 La terre source de substances bénéfiques produites par la microflore

Le sol est une **source de microflore et de microfaune**. Les observations concernant les ciliés *Troglodytella abrassarti* et *T. gorillae* montrent que ces entodiniomorphes, présents dans le système digestif d'animaux venant d'être capturés, disparaissent rapidement en captivité, en même temps que se développent des troubles digestifs (Kortland, 1984). Ces organismes pourraient favoriser la digestion de la cellulose et agir comme symbiotes. Leur origine est inconnue, mais Aufreiter *et al.* (2001) évoquent la possibilité d'un maintien de la bonne santé des primates grâce à ces microorganismes, pouvant appartenir aux microorganismes du sol.

Enfin, **le sol peut aussi être enrichi en substances bénéfiques par les insectes** dont les chimpanzés pourraient tirer bénéfice : Currie *et al.* (1999) ont montré que les fourmis *Acromyrmex octospinosus* portaient sur la surface de leur abdomen des **bactéries actinomycètes productrices d'antibiotiques**, leur permettant de préserver la culture des champignons dont elles se nourrissent de l'attaque de champignons parasites *Escovopsis* (Ascomycota). Parmi les 22 espèces de fourmis attines, représentant 8 genres, étudiées pour rechercher cette bactérie, toutes avaient développé cette symbiose. Une quantification des actinomycètes, de bactéries non filamenteuses et de levures, a été réalisée sur les termitières consommées à Mahale et Gombe par comparaison à des échantillons de terre pris à 5 m de chaque termitière (Ketch *et al.*, 2001). Les résultats, significatifs, montrent une plus forte concentration d'actinomycètes dans les termitières (11 vs 1,7 CFU/g, P = 0,037). Pour les bactéries non filamenteuses, la différence n'est pas significative malgré un nombre plus important dans les termitières (15 vs 5,3 CFU/g). L'impact thérapeutique éventuel de la consommation de ces terres riches en microorganismes reste à évaluer.

Par ailleurs, les terres analysées contiennent, certes, une forte quantité de fer, mais il n'est pas libéré à pH acide. Ceci peut être bénéfique pour les géophages : en effet, une large gamme de bactéries et champignons pathogènes pour l'homme prospèrent en présence de fer et les individus souffrant d'hypersidérémie (augmentation du taux de fer sanguin) sont plus susceptibles aux pathogènes.

Les raisons qui peuvent pousser les primates à consommer de la terre sont probablement multiples, mais la façon dont elle est choisie reste inconnue : Huffman a observé que les chimpanzés suçaient souvent la terre des termitières avant de la casser et de l'avalier (Aufreiter *et al.*, 2001) et Bolton *et al.* (1998) ont observé que les Macaques sentaient la terre avant de l'ingérer. La kaolinite souvent très abondante dans les sols consommés a une odeur prononcée et les enfants à Mahale disent manger la terre des termitières en saison des pluies à cause de la bonne odeur qu'elles dégagent. Au-delà des habitudes culturelles, le goût et l'odeur peuvent guider les primates vers des sols possédant des caractéristiques intéressantes pour leur santé.

2.4 Consommation de charbon et bénéfice démographique

Les colobes (*Procolobus kirkii*) de l'île de Zanzibar, en Tanzanie, consomment du charbon provenant de troncs d'arbres calcinés (Struhsaker *et al.*, 1997). Cette ingestion est pratiquée par les individus de toutes classes d'âge vivant à proximité des humains. Ce comportement semble transmis dans cette espèce de singes de la mère au jeune, par imitation. Le charbon est utilisé en médecine humaine pour traiter les troubles digestifs et il adsorbe aussi les phénols. Sa consommation permettrait d'atténuer les effets néfastes des tanins présents en forte quantité, en particulier dans les feuilles de badamier (*Terminalia catappa*) et de manguier (*Mangifera indica*). Le succès de cette adaptation à dépasser les défenses chimiques des espèces dominantes semble expliquer des taux de natalité et des densités plus forts pour les populations ayant accès au charbon, par rapport aux autres vivant en forêt. La consommation de charbon aurait, pour les colobes de Zanzibar, une valeur fonctionnelle analogue à la géophagie.

2.5 Régulation de la reproduction

On peut supposer que les phytohormones et les métabolites secondaires présents dans le régime alimentaire des primates peuvent influencer sur leur reproduction (Glander, 1994) en agissant à la fois sur :

- la fertilité,
- le sexe des descendants,
- l'intervalle entre les naissances,
- la période des mises-bas.

Glander (1980) a suggéré que les naissances pouvaient être concentrées en saison où les aliments sont de bonne qualité (peu de métabolites secondaires dans le régime alimentaire). Par ailleurs les composés chimiques secondaires des plantes consommées par les mammifères peuvent avoir une action inhibitrice sur l'ovulation et la gestation (Berger *et al.*, 1977 ; Starker *et al.*, 1976).

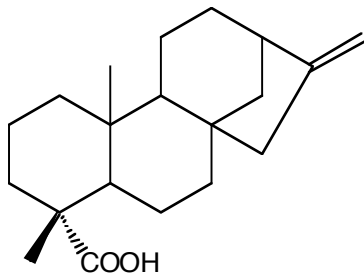
Chez les cailles de Californie (*Lophortyx californicus*), le succès reproducteur est largement diminué par la sécheresse du climat. Ainsi, des phyto-oestrogènes (formononétine et genistéine **11**) sont présents en plus forte quantité en saison sèche dans les feuilles de plantes annuelles du désert. La reproduction est alors inhibée et le nombre de jeunes réduit, alors que les années humides permettent une production abondante de jeunes (Starker *et al.*, 1976).

Des poids utérins significativement inférieurs, une inhibition du développement folliculaire et une diminution de la fertilité des rongeurs *Microtus montanus* ont été observés chez les sujets nourris avec des régimes alimentaires complétés en extraits de blé d'hiver (Berger *et al.*, 1977). Deux molécules sont responsables de cet effet inhibiteur : le 4-vinyl-guaiacol et le 4-vinyl-phénol. Des travaux similaires ont été menés sur une des plantes qui constitue l'aliment majoritaire de ces rongeurs en milieu naturel : *Distichlis stricta* possède aussi des acides cinnamiques inhibiteurs de la reproduction, mais ceux-ci sont plus abondants après la floraison ce qui correspond à la fin de la saison de reproduction des *M. montanus*.

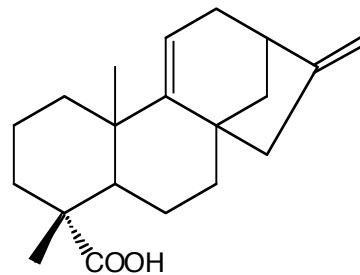
Les travaux menés dans ce domaine sur les **grands singes** sont rares.

Cependant, les femelles chimpanzés consomment significativement plus souvent des feuilles d'*Aspilia* que les mâles (Wrangham & Goodall, 1989). *A. mossambicensis* est utilisée en ethnomédecine, en particulier comme galactagogue et pour diminuer les troubles menstruels. Deux diterpènes (les acides kaurénoïque **93** et grandiflorénique **94**), isolés d'*Aspilia* spp. collectés à Mahale et Gombe, ont des propriétés utéro-stimulantes *in vitro* sur des cellules utérines de cochons d'Inde. Ceci laisse présager que l'ingestion de ces plantes peut avoir des effets secondaires sur la reproduction (Page *et al.*, 1992).

Fig.45 Les acides kaurénoïque et grandiflorénique, isolés d' *A. mossambicensis*



acide kaurénoïque **93**



acide grandiflorénique **94**

Néanmoins, le comportement spécifique lié à l'ingestion de ces feuilles, qui ne sont pas mâchées, ne permet pas d'affirmer que ces composés sont disponibles en quantité suffisante pour avoir un effet significatif.

☛ *L'ensemble des observations décrites précédemment permet de distinguer deux sortes de comportements dits d'automédication.*

- *Le premier, relatif au risque, interviendrait à titre préventif. Dans ce cas, si le risque est prédictible et saisonnier, les changements de régime alimentaire peuvent être déterminés génétiquement et donc ne pas dépendre des individus et de l'apprentissage social (Lozano, 1998). Le régime alimentaire normal contiendrait donc naturellement des métabolites secondaires qui agiraient régulièrement sur la santé des animaux permettant, par exemple, de maintenir un état de santé sub-clinique.*
- *Par contre, dans certaines occasions, le régime alimentaire ne serait pas suffisant pour contrer une infection, et un comportement d'auto-médication de*

type curatif pourrait être mis en oeuvre. La recherche d'items qui ne font pas partie du régime alimentaire habituel permettrait alors de limiter les symptômes et peut-être de traiter la maladie.

L'échantillonnage des produits amers par les souris, la consommation régulière de feuilles entières par les chimpanzés en saison des pluies, l'ajout de matériel frais dans le nid par les oiseaux ou encore la friction du corps par des produits insectifuges illustrent l'effet prophylactique et de maintien sanitaire des comportements d'auto-médication.

Par contre, la consommation d'analgésique par les poulets souffrant de boiterie, l'ingestion de tiges de Vernonia amygdalina par les chimpanzés malades, abondent dans le sens de l'existence de comportement de type curatif, induit par une sensation de malaise physique.

Néanmoins, la limite entre les deux types d'action n'est pas franche : ainsi, la géophagie peut être considérée comme un moyen prophylactique pour éviter les déséquilibres minéraux, maintenir le pH digestif et adsorber les composés secondaires des plantes couramment consommées ; cependant en agissant comme antidiarrhéique par sa composition proche du Kaopectate™, on peut également prêter à la terre consommée une action thérapeutique.

Dans les deux cas, il est intéressant d'étudier l'impact des aliments sur la santé et les stratégies écologiques employées par les animaux au travers des interactions mises en oeuvre avec les pathogènes et les plantes pour vivre dans leur milieu naturel.

Par ailleurs, deux questions principales restent en suspend et sont largement débattues :

- (1) *Quel est le déterminisme de ce comportement ? Peut-on parler d'une action volontaire et consciente ou n'implique-t-il que des réponses à des stimulus physiologiques ?*
- (2) *Comment se transmettent ces comportements ? Sont-ils culturels et traduisent-ils une tradition communautaire ?*

Ces questions seront envisagées dans la discussion générale de ce travail.

Dans le chapitre précédent, la revue bibliographique des potentiels comportements d'automédication a montré que les observations menées sur les Grands Singes africains, et plus particulièrement sur les chimpanzés, procuraient les exemples les plus convaincants.

C'est pour cette raison, ainsi que pour sa proximité taxonomique avec l'homme, que le « modèle chimpanzé » semble pertinent dans cette étude, dont l'objectif est d'isoler et d'identifier des produits naturels pouvant être utiles pour l'homme.

Le chapitre qui suit présente donc les caractéristiques de l'espèce, en insistant sur les aspects permettant d'expliquer ce choix, mais aussi d'apporter des éléments de discussion aux résultats de l'étude.

Dans un premier paragraphe, **la place phylogénétique de l'homme et du chimpanzé** seront présentées, soulignant les débats toujours actuels sur leur proximité taxonomique.

Dans un second paragraphe, l'état des connaissances actuelles sur **l'écologie et la biologie des chimpanzés en milieu naturel** sera exposé, avec une attention particulière pour l'alimentation. Ces données serviront de base de comparaison et apporteront des éléments pour juger de la part nutritionnelle des items ingérés. Elles doivent aussi permettre d'appréhender les notions de culture et de tradition, qui ont été démontrées dans les sociétés de grands singes. En effet, à la lumière des premières observations concernant les comportements d'automédication, il semble que des différences importantes existent entre les communautés étudiées, pouvant être rapprochées de ce qui a déjà été observé à propos des utilisations d'outils ou des comportements de chasse. Par ailleurs, les connaissances sur le comportement des chimpanzés, qui sont encore incomplètes, car récentes, laissent présager de la complexité des relations qui unissent les individus et par conséquent de la façon dont les pratiques circulent entre individus et entre communautés.

Par la suite, une brève **revue des connaissances actuelles portant sur les maladies et les agents pathogènes** susceptibles d'atteindre les chimpanzés est nécessaire afin :

- de *diagnostiquer les maladies* qui affectent les chimpanzés pendant les missions et particulièrement d'identifier les parasites présents dans les selles,
- de *suggérer celles qui sont éventuellement prévenues* par l'ingestion de composés secondaires,
- de *déterminer les cibles biologiques* intéressantes pour travailler dans un domaine pharmacologique utile à la médecine humaine,
- de pouvoir *discuter les résultats des essais biologiques en les appliquant aux chimpanzés*.

III- BIOLOGIE, ECOLOGIE ET PRINCIPALES AFFECTIONS DES CHIMPANZES

La proximité phylogénétique du Chimpanzé et de l'Homme a été - et est toujours - l'objet de nombreuses recherches et débats : d'abord morphologiques et anatomiques, les études se sont ensuite appuyées sur des critères comportementaux et des analyses mettant en œuvre les techniques les plus perfectionnées pour tenter de classer les grands singes entre eux et surtout par rapport à l'Homme.

On entend encore souvent que le propre de l'homme est l'utilisation d'outil ; or dès 1871, Darwin citait des observations décrivant l'utilisation d'outils en pierre par les chimpanzés. Collaboration entre différents individus, chasse avec partage du butin, fabrication et utilisation d'outils, ont longtemps été considérés comme typiques de l'humanité mais sont aujourd'hui décrits chez les chimpanzés. Nos ancêtres communs avec le chimpanzé ne remontent, semble-t-il, qu'à 6 millions d'années, et en tant que primates, nous partageons plus de 50 millions d'années d'histoire commune. C'est pourquoi, une meilleure connaissance du chimpanzé, outre son intérêt intrinsèque, peut permettre d'aider à la reconstitution de l'histoire de l'homme (Joulian, 1995) et peut être à guider la recherche de composés à visées thérapeutiques pour l'homme.

A- SYSTEMATIQUE ET DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE DE *PAN TROGLODYTES*

1- Premières classifications

C'est en **septembre 1738** qu'est rapportée, pour la première fois, en Europe une femelle chimpanzé qui sera présentée au public londonien. Cet animal venant de Guinée est alors appelé *quimpézé*, mot issu d'une langue bantoue. En 1740, un mâle chimpanzé est exhibé pour la première fois à Paris. Au cours du XVIII^{ème} siècle, la dénomination de l'animal évoluera jusqu'au terme chimpanzé (Ducros & Ducros, 2001).

En 1758, dans la dixième édition du **Systema Natura**, le suédois Charles Linné classe l'Homme, les singes et les chiroptères dans le même ordre, celui des primates (Bariel, 1994). L'audace de cette classification est considérée comme une atteinte à la dignité humaine.

Au contraire, **Cuvier** accepte l'hypothèse de Blumenbach qui oppose l'ordre des "Bimanes", dont l'Homme est le seul représentant, à celui des "Quadrumanes" (singes et prosimiens).

Ce n'est qu'en 1863 que **Huxley**, après une minutieuse comparaison anatomique, montre la non-légitimité de l'hypothèse soutenue par Cuvier.

En 1871, Darwin établit clairement les relations de parenté entre l'Homme et les grands singes et retient même une origine africaine pour ces espèces.

Cependant la position systématique de l'Homme parmi les primates reste variable.

En 1931, Simpson classe les humains et les grands singes dans la super famille des Hominoïdés qui comprend la famille des Pongidés (chimpanzés, gorilles, orangs-outangs et parfois gibbons et siamangs) et la famille des Hominidés dont l'Homme est le seul représentant (dans Bariel, 1994).

Dans les années 1960, la séparation Homme / grands singes fut remise en cause suite à divers travaux génétiques. Le haut degré d'identité révélé entre l'Homme et les grands singes africains fut confirmé par des études variées : hybridation d'ADN, électrophorèse, tests immunologiques, caryologie, comparaison de séquences protéiques ou nucléotidiques.

Goodman, en 1963, propose une nouvelle classification des Hominoïdés, déduite de l'analyse des protéines (dans Bariel, 1994) :

- Hylobatidés : gibbon, siamang
- Pongidés : orang-outang
- Hominidés : homme, chimpanzé, gorille

2- Hypothèses actuelles sur la taxonomie des Grands Singes et distribution géographique

2.1 Classification

Dans le langage courant, en français, la classification sépare les primates en trois groupes :

- les prosimiens,
- les singes (*Monkeys*),
- les Anthroïdés (en anglais *Apes* : la langue française n'ayant pas de terme adapté pour traduire ce mot utilise souvent, par abus de langage, le mot singe) qui se caractérisent par leur absence de queue et parmi lesquels on compte les Gibbons (*Lesser Apes*) et les Grands Singes (*Great Apes*).

La biologie moléculaire a diversifié les analyses phylogénétiques, utilisant de nombreuses molécules de type immunoglobulines, β globulines, ADN mitochondrial ou nucléaire... pour tenter de comprendre les polymorphismes et mieux démêler les liens phylogénétiques. Les reconstructions s'additionnent, confirmant ou contredisant les hypothèses traditionnellement admises sans vraiment aboutir à un consensus. L'étude des fossiles qui prend en compte les restes cranio-dentaires, mais aussi les os longs et le squelette post-cranien, les changements fauniques, la paléoclimatologie et la paléo-écologie restent les points de départ essentiels pour la détermination des âges des faunes fossiles et pour la reconstitution de la phylogénie ; mais seules des études pluridisciplinaires seront capables de valider l'un ou l'autre des différents scénarios proposés (Senut, 1998 ; Pickford, 1998).

L'ordre des Primates comprend de 179 à 203 espèces selon les auteurs.

Nous utiliserons **la classification proposée par Bariel (1994)** pour décrire rapidement la taxonomie des Primates.

L'ordre des Primates est divisé en **deux sous-ordres**,

- **les Prosimiens** (galagos, loris, tarsiers, hapalémurs, makis...)
- **les Simiens**. Parmi ces derniers, on distingue :
 - les Singes du Nouveau Monde : **les Platyrrhiniens** (ouistitis, tamarins, capucins, hurleurs, singes araignées...)
 - les Singes de l'Ancien Monde : **les Catarrhiniens** (mangabeys, vervets, cercopithèques, macaques, babouins, colobes, gibbons, chimpanzés, orangs-outans, gorilles...)

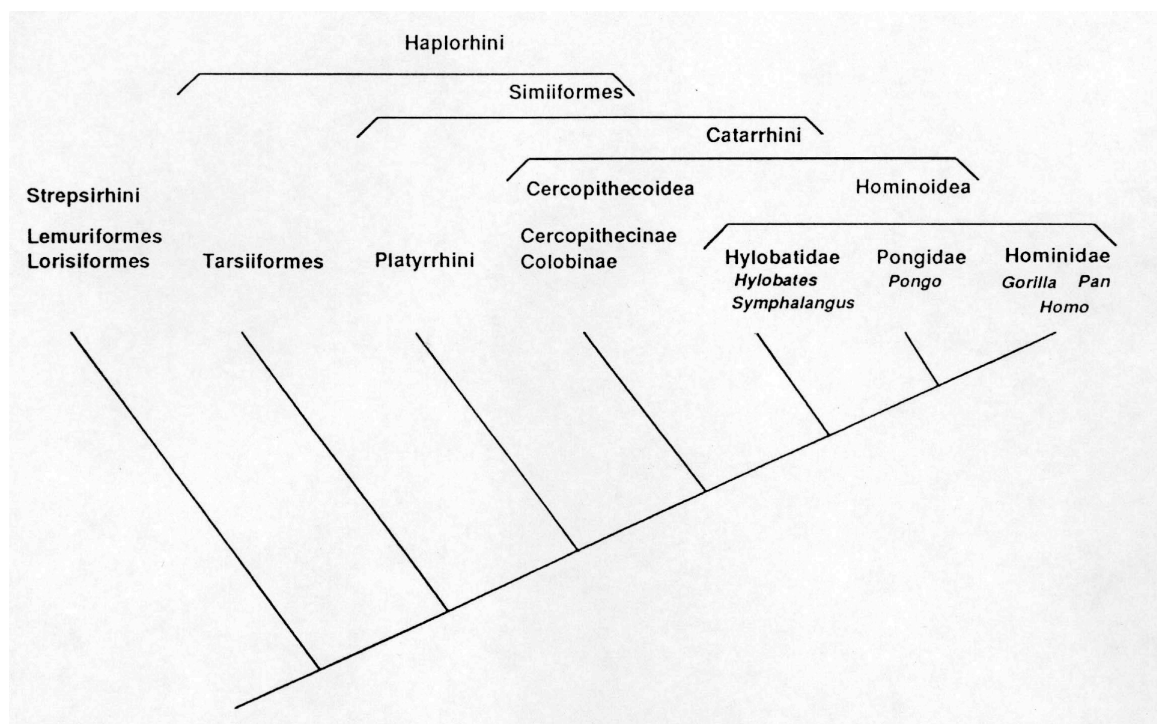
Quatre familles composent l'infra-ordre des **Catarrhiniens** :

- les Cercopithécidés,
- les Hylobatidés,
- les Pongidés,
- les Hominidés.

La figure 46 présente la classification des primates.

L'apparition des premiers primates sur terre est estimée à 70 millions d'années, ce qui est récent comparé aux autres mammifères, dont l'âge est évalué à 200 millions d'années. Entre 65 et 35 millions d'années, les primates se sont dispersés en Europe et Amérique du Nord. Prosimiens et simiens ont divergé à l'Éocène puis les phylums des singes de l'Ancien et du Nouveau Monde se sont séparés à l'Oligocène, entre 34 et 26 millions d'années (Ropartz, 1990). Aujourd'hui, seuls les macaques magot et japonais vivent en dehors des zones tropicales et subtropicales d'Afrique, d'Asie et d'Amérique.

Fig.46 Classification des primates (Bariel, 1994)

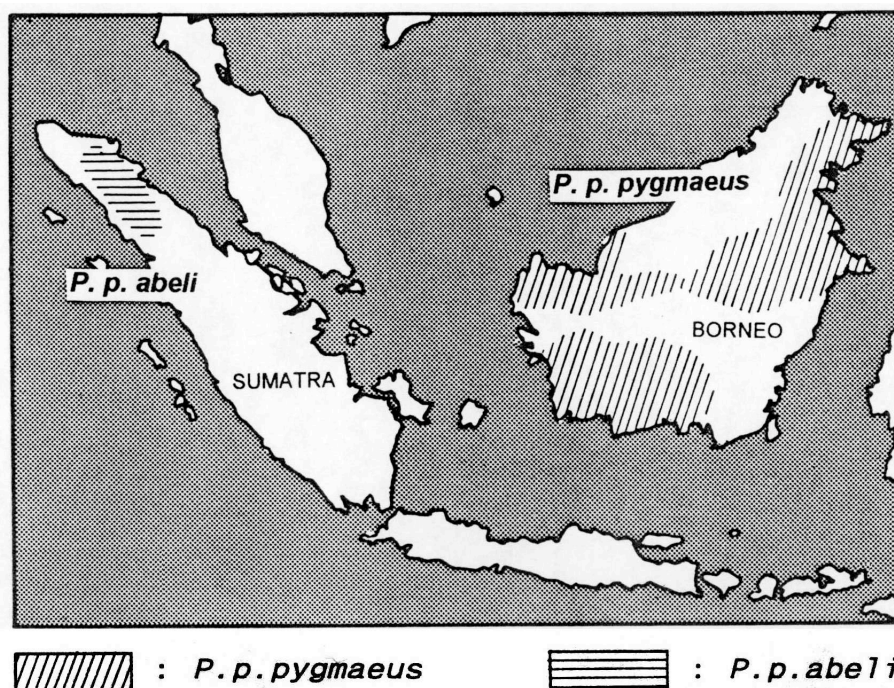


2.2 Distribution et caractères généraux des Hominoidea

La famille des Hylobatidés Blyth regroupe les gibbons (genre *Hylobates*, Illiger) et les siamangs (genre *Symphalangus*, Gloger) qui vivent dans la partie du sud-ouest asiatique et sur les îles de la plate-forme continentale de la Sonde. Ils utilisent un mode de locomotion particulier, la brachiation (déplacement suspendu par les bras sous les branches) qui alterne avec une locomotion bipède sur les branches. Ils possèdent des caractéristiques physiques propres à ce déplacement. Le tronc est court avec un dos peu musclé, des bras longs et souples et des jambes assez courtes. Le thorax est large et peu profond. Les espèces se distinguent par les couleurs et les cris.

La famille des Pongidés Elliot comporte un seul genre, *Pongo* Lacépède qui ne contient qu'une espèce *Pongo pygmaeus* Linné. Les orangs-outangs survivent dans les forêts de Sumatra et les plaines de Bornéo (Fig. 47). Ils sont brachiateurs et quadrumanes et sont principalement frugivores.

Fig. 47 Répartition géographique des deux sous-espèces d'orang-outang *Pongo pygmaeus* (Bariel, 1994).

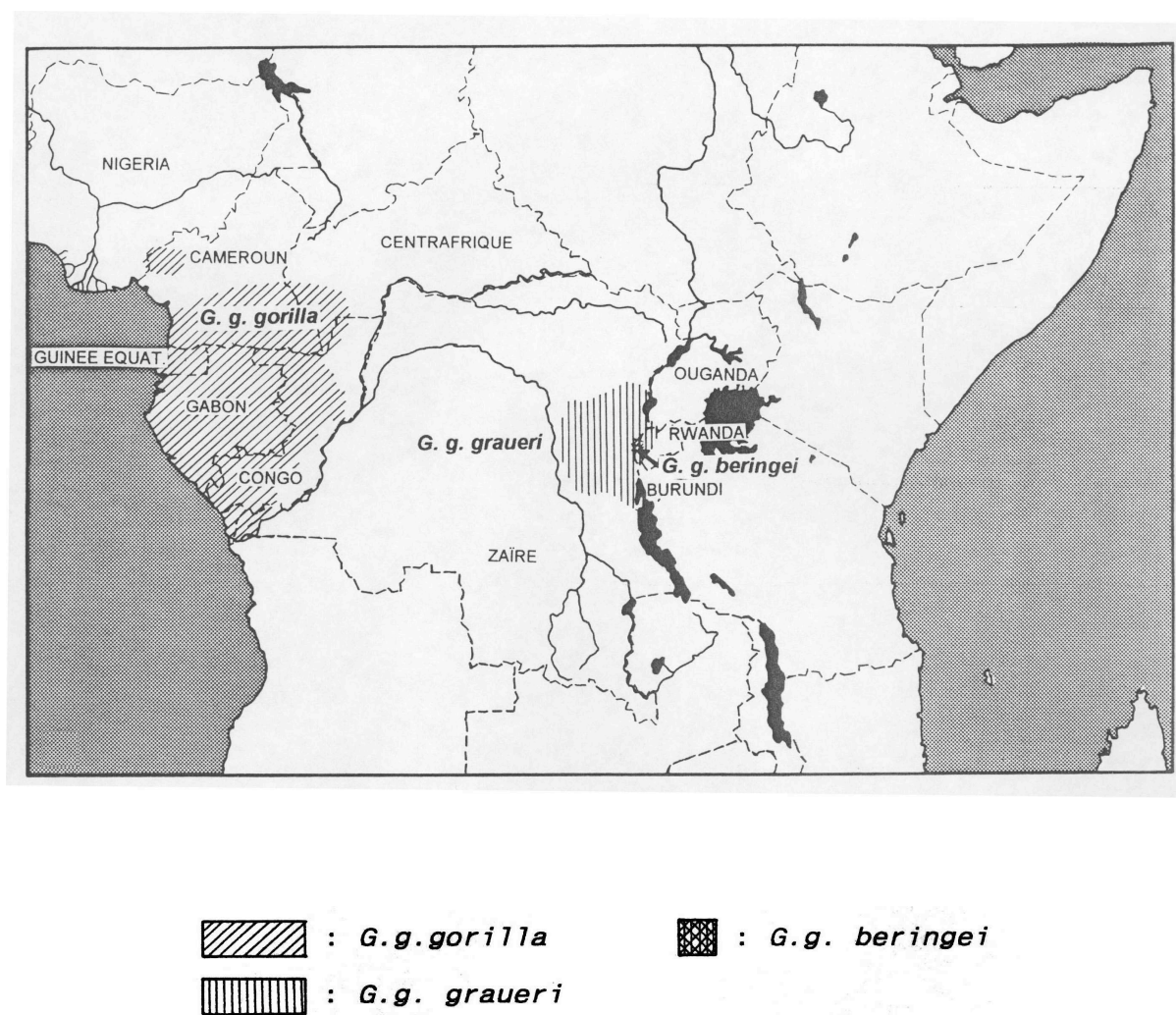


La famille des Hominidés Gray comporte trois genres : *Pan*, *Gorilla*, *Homo*.

Le genre *Gorilla* Geoffrey Saint Hilaire ne comprend qu'une espèce, *Gorilla gorilla* Savage et Wyman qu'on ne trouve qu'en Afrique centrale.

Les trois sous-espèces se répartissent dans les plaines de l'ouest pour *G. g. gorilla* Savage et Wyman (Cameroun, Centrafrique, Gabon, bassin du Congo, Guinée), les régions orientales pour le gorille des plaines orientales *G. g. graueri* Matschie et les zones montagneuses de République Démocratique du Congo (ex Zaïre), au Rwanda et en Ouganda pour le gorille des montagnes *G. g. beringei* Matschie. Les gorilles, et particulièrement les gorilles des montagnes, passent beaucoup de temps au sol, se déplaçant par *knuckle walking* en s'appuyant sur la face dorsale des doigts trois et quatre. La figure 48 présente la distribution géographique de l'espèce.

Fig.48 Répartition en Afrique des trois sous-espèces de *Gorilla gorilla* (Bariel, 1994).



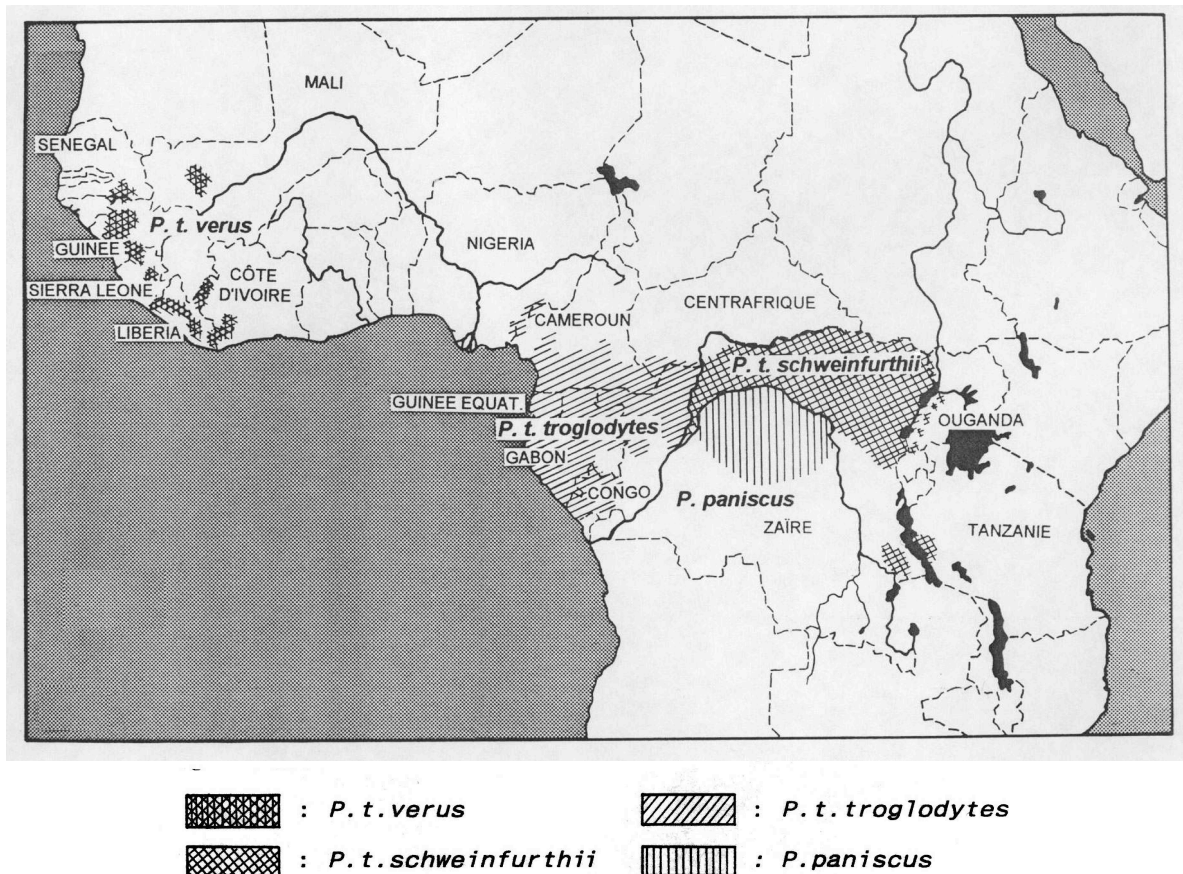
Le genre *Pan* Oken comporte deux espèces, le chimpanzé commun et le bonobo.

Le chimpanzé commun, *Pan troglodytes* Blumenbach connu depuis le XVII^{ème} siècle occupe la forêt tropicale africaine de la Guinée à la rive est du lac Tanganyika (Tanzanie) au nord du fleuve Zaïre. Il existe au sein de cette espèce, de grande variation dans la taille du corps, dans ses proportions et même dans le pelage et la couleur de la peau. On distingue trois sous-espèces. *P. t. troglodytes* Blumenbach vit en Afrique centrale entre la République Démocratique du Congo et le Niger. L'habitat de *P. t. verus* Schwarz se situe en Afrique de

l'ouest, de la Sierra Leone à la Guinée. *P. t. schweinfurthii* Giglioli habite l'Afrique centrale et l'Afrique de l'est, de la rive est du fleuve Lualaba au lac Victoria au nord et au lac Tanganyika au sud (Fig. 49).

Le chimpanzé pygmée ou bonobo, *Pan paniscus* Schwarz se rencontre uniquement en République Démocratique du Congo (ex Zaïre), au sud du fleuve Zaïre, enclavée limitée au sud par le fleuve Kasai et à l'est par le fleuve Lualaba (Hansinger *et al.*, 1973, Horn, 1980, Kano, 1984). L'habitat est de type forêt humide.

Fig. 49 Répartition géographique en Afrique des trois sous-espèces de chimpanzés, *Pan troglodytes*, et de l'espèce bonobo, *Pan paniscus* (Bariel, 1994).



Le genre *Homo* Linné a pour seule espèce actuelle *Homo sapiens* Linné, mais Wildman *et al.* (2003) proposent d'y placer les espèces du genre *Pan*.

2.3 La place de l'Homme parmi des Grands Singes

Les discussions à propos de la place de l'homme dans la classification et de son origine sont abondantes. La comparaison des molécules d'ADN des différentes espèces fournit des informations sur leur proximité phylogénétique. L'analyse chromosomique montre que **l'homme possède 23 paires de chromosomes contre 24 pour le chimpanzé** (Bariel, 1994). Treize paires sont absolument identiques, les autres ne diffèrent que par une inversion péricentrique de certains segments. Par ailleurs, le chromosome 2 de l'homme correspond à la fusion de deux chromosomes équivalents du chimpanzé. Les techniques immunologiques et électrophorétiques ont permis de montrer que **les protéines présentent une homologie de 99%**.

Actuellement, le statut taxonomique du bonobo (*Pan paniscus*) -espèce, sous-espèce ou genre- conduit à de nombreux travaux. Plus petit que le gorille, social, arboricole et terrestre, occupant des habitats variés et présentant un dimorphisme sexuel faible, le chimpanzé, semble, à cause de ses caractères généralistes, très proche de l'ancêtre humain (Zihlman, 1984). Mais ces caractères semblent encore accentués chez le bonobo. Depuis quelques années, le bonobo est considéré par beaucoup de chercheurs comme le prototype hominoïde parfait, morphologiquement proche de l'espèce ancestrale, à partir duquel ont divergé l'homme, le chimpanzé et le gorille. La comparaison morphologique d'*Australopithecus* (*afarensis* et *africanus*) et de *Pan paniscus* montrent que les proportions du corps, l'allure générale gracile, la taille et la capacité crânienne sont proches.

Mais cette hypothèse est rejetée par certains auteurs (Mc Henry, 1984). Pour Johnson (1981), *Pan paniscus* serait plutôt "un nain insulaire spécialisé" : certains de ses caractères "généralistes" seraient des adaptations à un habitat spécialisé et à une situation écologique unique, ayant sélectionné une petite taille.

Aujourd'hui, la taxonomie des grands singes diffère toujours grandement selon les auteurs : certains, comme Goodman (1999) ou Wildman *et al.* (2003), dans un très récent article, tendent à classer *Homo* et *Pan* dans le même genre, s'appuyant sur la comparaison de gènes humains à ceux des chimpanzés, gorilles, orang-outans. D'autres regroupent dans une sous-famille les genres *Gorilla*, *Pan* et *Homo*, distinguant les orang-outans (Groves, 1997). D'autres hypothèses conduisent à classer séparément les hommes ou encore à regrouper les quatre genres dans la famille des Hominidés (NCBI et Wilson et Reeder, 1993). Ces hypothèses sont présentées ci-après.

Goodman (1999) ; Wildman *et al.*, (2003)

Tribu des Hominini

Sous-tribu des Pongina : *Pongo*

Sous-tribu des Hominina :

- *Gorilla*
- *Homo*
 - *Pan*
 - *Homo*

Groves (1997)

Sous-famille des Ponginae : *Pongo*

Sous-famille des Homininae

- *Gorilla*
- *Pan*
- *Homo*

Wilson & Reeder (1993) ; NCBI

Famille des Hominidae

- *Gorilla*
- *Homo*
- *Pan*
- *Pongo*

Nowark (1991) ; Napier & Napier (1985)

Pongidae

- *Pongo*
- *Gorilla*
- *Pan*

Hominidae

- *Homo*

☞ Ainsi, la classification des primates n'est encore qu'hypothétique et Senut (1998) souligne qu'il serait plus logique et prudent de considérer une trichotomie (chimpanzé-gorille-homme), tant qu'aucun meilleur argument que ceux proposés actuellement par les nombreuses approches n'est apporté. Les recherches actuelles pour retracer l'évolution humaine à partir des observations des grands singes modernes se basent aussi sur les caractères éthologiques comme l'utilisation d'outils dans la recherche de nourriture, dans les soins corporels, dans les agressions, les techniques de chasse, le comportement sexuel et les différents types de locomotion (quadrupède ou bipède) afin de connaître plus précisément les évolutions possibles de chacune des espèces.

Certains voient dans les stratégies alimentaires des grands singes les prémices d'une histoire de l'utilisation de plantes médicinales.

Fig 50 Les sites d'étude des chimpanzés sauvages (d'après *Chimpanzee cultures*, 1994)
cf p. 85

B- QUELQUES CARACTERISTIQUES BIOLOGIQUES ET ECO-ETHOLOGIQUES DES CHIMPANZES

Les connaissances actuelles sur les chimpanzés sauvages ne sont encore qu'embryonnaires. Plusieurs facteurs sont en cause : la longévité, les écarts entre générations, la réduction des habitats, la difficulté d'observation dans le milieu forestier et la discrétion des animaux, mais aussi la complexité et la diversité des comportements entre les différents sites.

1- Les premières études sur les chimpanzés

C'est **dans les années 1890**, que pour la première fois, un occidental, R.L. Garner, observe des chimpanzés dans la nature. Il construit une cage pour se protéger et passe même du temps à essayer de leur apprendre à parler. Ce n'est que 40 ans plus tard que Henry Nissen part en Guinée Française pour étudier les chimpanzés. Mais, se déplaçant avec de nombreux porteurs pendant ses 4 mois de mission, il ne recueille que peu d'observations. En dehors de ces informations et de celles rapportées par des voyageurs, voilà tout ce qui était connu des chimpanzés jusqu'aux années 1960.

Les années 1960 voient l'apparition et la multiplication des recherches portant sur les chimpanzés dans différents pays africains.

Adriaan **Kortlandt** et Jane **Goodall** partent étudier les chimpanzés, le premier au Congo (actuelle République Démocratique du Congo), la seconde à Gombe, en Tanzanie, en 1960. **Itani et Izawa** avaient précédé ces études de brefs séjours d'observation de chimpanzés en 1958 et poursuivront leurs travaux en Tanzanie en 1961. En 1965, Toshisada **Nishida** commence ses observations à Mahale. En 1962, Vernon et Francesca **Reynolds** entreprennent l'observation des chimpanzés en Ouganda, à Budongo où par la suite Sugiyama puis Suzuki entreprendront leurs études. L'année suivante, Sabater-Pi étudie, en Guinée-Équatoriale, l'utilisation d'outils (Goodall, 1994).

Au cours des années 1970, les sites d'étude se diversifient et les projets se multiplient : au Cameroun, à Kibale en Ouganda, au Mont Assirik au Sénégal, dans la Forêt de Taï en Côte d'Ivoire et à Bossou en Guinée.

Ces études ont fourni des données de long terme pour certains sites : Gombe, Mahale, Bossou, Kibale et Taï ont apporté des années d'étude en continu sur des individus identifiés.

Fig. 50 Les sites d'étude des chimpanzés sauvages (d'après *Chimpanzee cultures*, 1994)
cf p. 85

☞ *40 années d'étude permettent d'appréhender certains aspects de la biologie et du comportement des chimpanzés en milieu naturel, mais elles soulignent aussi la complexité de leur écologie et de leur vie sociale et surtout les différences entre les diverses communautés étudiées. Il faut noter qu'à Gombe et Mahale, d'où proviennent une grande partie des observations, une alimentation artificielle a été utilisée pour habituer les chimpanzés à la présence humaine. Ceci peut avoir un impact sur le comportement des animaux, en augmentant, par exemple, la fréquence des agressions et la taille des groupes (Wrangham, 1974). Des observations de chimpanzés réintroduits ont permis d'apporter*

des informations sur l'écologie de cette espèce et de les comparer avec celle des animaux sauvages (Hladik, 1977), mais là encore, si la réintroduction permet d'acquérir plus rapidement des informations, le biais lié à la captivité et au contact avec l'humain doit être pris en considération.

2- Écologie des chimpanzés

2.1 Habitat et densité de population

Les chimpanzés vivent principalement en forêt, mais ils peuvent aussi être observés dans des environnements mixtes de savane et de forêt ou bien encore en savane sèche, si de petites zones arborées sont susceptibles de fournir l'alimentation saisonnière.

Ils occupent des territoires dont la taille varie considérablement, en fonction du type de milieu et de la taille de la communauté. Dans les zones forestières, la surface est comprise entre 5 et 38 km² (N = 8) alors que, lorsque la densité d'arbres est faible, le territoire occupe au minimum 25 km² et peut atteindre 560 km² (N = 5) dans les zones arides où les communautés migrent de façon saisonnière (Nishida & Hasegawa, 1987).

2.2 Budget d'activité

Les chimpanzés sont diurnes et leurs activités quotidiennes sont composées en grande partie (46 à 60 %) de périodes d'alimentation. Bygott (1974) et Wrangham (1975) montrent que les chimpanzés mâles adultes passent moins de temps à se nourrir lorsqu'ils se trouvent au sein de grands groupes que lorsqu'ils sont solitaires ou accompagnés d'un ou deux congénères. 8 à 20 % du temps est occupé à se déplacer et 25 à 39 % du temps à se reposer et s'épouiller (Wrangham, 1977). Les mâles parcourent souvent des distances quotidiennes plus longues (Nishida, 1979 ; Wrangham & Smuts, 1980). À Gombe, les mâles adultes parcourent en moyenne 4,1 km contre 2,8 km pour les femelles.

2.3 Régime alimentaire

Les chimpanzés ont longtemps été considérés comme uniquement végétariens frugivores. Les premières observations de consommation d'insectes pêchés à l'aide de brindilles et de scènes de chasse ont été faites par Goodall, à Gombe, en Tanzanie. Cependant, même si les chimpanzés sont désormais considérés comme omnivores, les travaux confirment que la part des aliments d'origine animale est relativement faible dans leur régime alimentaire.

2.3.1 Nombre d'espèces et d'items alimentaires

De multiples études sur le régime alimentaire des chimpanzés sauvages ont été menées dans différents types d'habitats.

Les méthodes employées pour inventorier les aliments varient.

- certaines se basent sur l'observation des animaux (Wrangham, 1977),
- d'autres utilisent des indications indirectes comme l'analyse des fèces (Tutin & Fernandez, 1993). En effet, dans les sites où les chimpanzés sauvages n'ont pas été "habitués" à l'Homme, ils restent discrets et les simples observations seraient insuffisantes.

➤ *En forêt tropicale*

À **La Lopé** au Gabon, à **Mahale** en Tanzanie, à **Bossou**, en Guinée ou encore à **Kahuzi-Biega** en République Démocratique du Congo, les chimpanzés vivent en forêt tropicale où la diversité floristique est grande.

Tutin et Fernandez (1993) ont pu dénombrer, au cours de huit années d'études, **161 items d'aliments** végétaux mangés par les chimpanzés au Gabon, appartenant à au moins 134 espèces. Sept ans d'études sur le régime alimentaire des chimpanzés de **Mahale** en Tanzanie ont permis à Nishida (1974) de déterminer **205 aliments**. Neuf ans après, 123 aliments supplémentaires ont été dénombrés (Nishida & Uehara, 1983 ; Nishida *et al.*, 1983). Sugiyama et Koman à **Bossou**, en Guinée, ont réalisé l'identification de **205 items** alimentaires appartenant à 156 espèces végétales (1987). Six années d'études menées dans le Parc National de **Kahuzi-Biega** en République Démocratique du Congo ont permis d'inventorier le régime alimentaire des chimpanzés. 156 items provenant de plantes ont été identifiés appartenant à 114 espèces végétales, parmi lesquelles 66 espèces de fruits (Basabose, 2002).

➤ *En savane*

Au **Mont Assirik**, au Sénégal, les études de Mc Grew *et al.* (1988), portant sur des chimpanzés dont l'habitat est la savane, ont montré une quantité d'items alimentaires bien moins forte, bien que l'étude ait duré près de 4 ans, impliquant jusqu'à cinq personnes à la fois. Seulement 43 espèces, correspondant à **60 aliments**, ont été déterminées comme appartenant au régime alimentaire des chimpanzés. Les auteurs ont remarqué que 41 espèces végétales ont été trouvées pendant les 5/8^{ème} de l'étude et que, pendant les derniers 3/8^{ème}, seulement deux espèces ont été dénombrées. Mc Grew *et al.* (1988) relie ceci à la faible diversité de la flore de savane en comparaison de celle de la forêt.

☛ *Les études de long terme sur des animaux sauvages, où jusqu'à 300 aliments ont été dénombrés, soulignent la grande diversité du régime alimentaire des chimpanzés. Ceci permet d'envisager que les survenues de consommation des différents items varient fortement.*

2.3.2 Composition du régime alimentaire

Le tableau II présente les résultats de quelques études portant sur la composition du régime alimentaire des chimpanzés dans différents sites.

Tableau II. Nombre d'espèces et d'items alimentaires consommés par les chimpanzés de différents sites africains (Didier, 1998).

1 : d'après Sugiyama & Koman (1987) ; 2 : d'après Nishida & Uehara (1983) ; 3 : d'après Mc Grew *et al.* (1988) ; 4 : d'après Tutin & Fernandez (1993).

* F : feuilles ; Bg : bourgeons ; T : tiges ; Fr : fruits ; Gr : graines ; Fl : fleurs ; E : écorce ; S : sève ; Tb : tubercule ; B : bois ; Nx : noix.

Partie consommée*		F	Bg	T	Fr	Gr	Fl	E	S	Tb	B	Total
Nombre d'espèces												
Bossou, Guinée ¹	Total	44	5	25	101	+Nx7	13	2	4	3	1	205
	%	36,1			49,2	3,4	6,3	5,9				
Mahale, Tanzanie ²	Total	117			100	+Nx15	29	67				328
	%	35,7			30,5	4,6	8,8	20,5				
Mont Assirik, Sénégal ³	Total	6		2	34	6	6	6				60
	%	10		3	57	10	10	10				
La Lopé, Gabon ⁴	Total	20		8	111	12	6	3	Autres: 1			161
	%	12		5	69	7	4	2	1			

➤ *Alimentation d'origine végétale*

Dans les différentes communautés, les fruits sont les aliments principaux constituant le régime des chimpanzés, la proportion d'items correspondant à des fruits variant entre 30,5 à Mahale et 69% à La Lopé. Wrangham (1975) observe qu'à Gombe, parmi les 184 items végétaux, 26 ne sont mangés qu'une seule fois et, sur les 158 items restants, 48% sont des fruits. Tutin et Fernandez (1993) notent, par ailleurs, que les restes d'au moins une espèce de fruit figurent dans 98,2% des 1854 fèces analysés. Le nombre d'espèces de fruits dans les fèces est, en moyenne, de 2,7 mais peut atteindre 9. Les études portant sur des chimpanzés réintroduits, par exemple au Gabon (Hladik, 1973) ou en République du Congo (Didier, 1998) permettent, grâce à la facilité du suivi des animaux habitués à l'homme, de répertorier des quantités importantes d'aliments (141 aliments végétaux et 33 animaux au Gabon en un an, 90 aliments et 16 espèces animales en 6 mois en République du Congo). Cependant, certains aliments ne sont peut-être que goûtés par des chimpanzés découvrant leur nouvel environnement et les comparaisons doivent prendre en compte, à la fois la facilité des observations, et la plus ou moins longue captivité des animaux pouvant influencer sur leur alimentation naturelle.

Les parties végétatives des plantes constituent aussi une part importante de l'alimentation variant entre 10% des items végétaux consommés au Mont Assirik (Mc Grew *et al.*, 1988) et 25% à Gombe (Wrangham, 1975). L'identification des feuilles et des tiges est conditionnée par la méthode d'étude. L'analyse des fèces ne permet pas d'identifier l'espèce ; aussi, dans les études où l'observation est difficile, les données sur ce composant du régime alimentaire sont probablement incomplètes (Tutin & Fernandez, 1993).

La **nourriture d'origine animale** est consommée en plus faible proportion.

➤ *Consommation d'insectes*

Dans la majorité des sites, les chimpanzés consomment des insectes en utilisant des outils et chassent des vertébrés. Cependant, **certaines communautés géographiquement proches ont des habitudes différentes** : en Ouganda, les chimpanzés de Kanyawara à Kibale ne consomment pas d'insectes alors que ceux de Sonso, à Budongo, consomment des termites (*Cubitermes speciosus*) (Newton-Fisher, 1999).

La fréquence de consommation des insectes varie, aussi, fortement selon les sites. À la Lopé, des restes d'insectes sont retrouvés dans 31% des échantillons de fèces et les chimpanzés mangent au moins 5 espèces de fourmis et le miel de trois espèces d'abeilles (Tutin & Fernandez, 1992). À Kahuzi-Biega, les restes de 5 espèces d'insectes (*Apis mellifera*, *Meliplebeia tanganykae*, deux espèces du genre *Crematogaster* et une espèce non identifiée) ont été trouvées dans 4% des 7212 selles de chimpanzés récoltées (Basabose, 2002). Il semble qu'en Guinée, la consommation d'insectes soit rare, car sur 300 fèces examinées, aucun fragment animal n'a été trouvé. Seulement 11 observations de chimpanzés mangeant de la nourriture d'origine animale - dont 7 concernent des vertébrés - sont rapportées sur 1200h d'observation (Sugiyama & Koman, 1987).

➤ *Consommation de vertébrés*

Dans la majorité des sites, les proies sont le plus souvent des primates : des prosimiens nocturnes au Mont Assirik (Mc Grew *et al.*, 1988), des colobes à La Lopé où des restes de mammifères sont retrouvés dans 1,7% des fèces (Tutin & Fernandez, 1993), trois espèces de singes à Budongo (*Colobus guereza*, *cercopithecus ascanius* et *C.mitis*) (Newton-Fisher, 1999), deux espèces de cercopithèques (*C.mitis* et *C. l'hoesti*) à Kahuzi-Biega (Basabose, 2002). Mais d'autres vertébrés sont aussi consommés : des écureuils géants (*Protoxerus stangeri*) dans le dernier site et en Guinée, un poisson, une chouette (*Ciccaba woodfodi*) et, à 5 reprises, un pangolin (*Manis tricuspis*) (Sugiyama & Koman, 1987).

2.3.3 Temps consacré à l'alimentation

Le temps passé à consommer les différentes catégories d'aliments varie selon les communautés mais aussi, dans un même site, selon la période d'observation.

À Gombe, les résultats des observations des années 1978 et 1979 montrent que les fruits sont toujours plus consommés que les autres parties de plantes : leur consommation peut occuper près de 80% du temps (février 1979) ou seulement un peu plus de 40% en avril 78 et 79. La consommation de feuilles est souvent relativement forte, atteignant plus de 45% du temps en juillet 1979 (Goodall, 1986). Selon l'étude de Wrangham (1977), les chimpanzés de Kasakela, Gombe, passent 63% du temps d'alimentation à manger des fruits et 19% des feuilles.

Planche photo aliments inhabituels

À Kibale, en Ouganda, le temps passé à consommer des fruits varie selon les études : Isabirye-Basuta (1989) rapporte que les chimpanzés mangent des fruits pendant 61,3% de leur temps d'alimentation, mais plusieurs études montrent que plus de temps est généralement consacré à cette catégorie d'aliment. Wrangham *et al.* (1992) voient les membres de la même communauté manger des fruits pendant 71,7% du temps consacré à l'alimentation. Chapman *et al.* (1994), estiment que les fruits sont mangés pendant 82,1% du temps d'alimentation, alors que la consommation des feuilles est bien plus faible qu'à Gombe, n'atteignant que 8%. La consommation de la végétation herbacée terrestre occupe 11,7% du temps d'alimentation. Dans une étude portant sur les années 1991 à 1993, les chimpanzés de Kanyawara ont mangé des fruits en moyenne pendant 79% de leur temps d'alimentation, des feuilles d'arbres pendant 2,6% et de la végétation terrestre herbacée (VTH) pendant 16,9% du temps (Wrangham *et al.*, 1996).

☛ *Si les habitats influencent la composition du régime alimentaire des chimpanzés, les comportements alimentaires observés diffèrent aussi selon la région d'étude. Certains parasites de chimpanzés ayant comme hôtes intermédiaires des insectes (par exemple, Dicrocoelium et Bertiella, cf. annexe 3 et C-3.2.2), les différences observées dans la consommation des insectes peuvent permettre d'interpréter les variations dans les résultats coprologiques selon les sites. Au travers de l'utilisation des outils, des différences notables de comportement alimentaire ont été remarquées. Non seulement le type d'outils peut changer, mais, pour un même type d'outil, l'utilisation aussi peut différer. La question est alors de savoir si seul l'environnement joue un rôle dans les comportements alimentaires, ou bien si d'autres facteurs, comme les traditions ou les habitudes culturelles, peuvent être mis en cause.*

2.3.4 La culture alimentaire des chimpanzés

Après près de 40 années d'étude de terrain sur les chimpanzés, les notions d'utilisation d'outils et de culture chez les chimpanzés restent des sujets largement débattus. En 1994, Wrangham, Mc Grew, deWaal, et Heltne éditent un ouvrage intitulé « Chimpanzee cultures ». Alors qu'en 1994, Mc Grew relevait que certaines populations n'avaient encore jamais montré d'indices d'utilisation d'outils, Boesh (2001) affirme que toutes les populations ont désormais été vues en train d'utiliser des outils de façon spontanée, tant en savane qu'en milieu forestier. Les types d'outils utilisés, les moyens de les fabriquer et de les utiliser, ainsi que l'objectif de leur utilisation sont cependant très variés selon les communautés. Au sein d'une même population, on observe aussi des différences individuelles. La pression environnementale est un des facteurs pouvant expliquer les différences observées, mais la notion de tradition et de culture est aussi sous-jacente à cette question.

Ce point est particulièrement intéressant, car on note aussi que des espèces de plantes présentes dans deux sites voisins ne sont pas toujours consommées par les deux communautés. L'influence de « culture » a alors été évoquée.

➤ *Ouverture des noix à l'aide d'outils*

Plusieurs populations de chimpanzés cassent des noix au moyen d'outils: au Liberia à Sapo et Kanton, en Sierra Leone à Tiwai, en Cote d'Ivoire en Forêt de Taiï, à Betro, Kopé-Monogaga, N'zo Zoa, en Guinée à Nimba. Mais on n'a jamais vu des chimpanzés casser des noix à Budongo, Gombe et Mahale, ni à La Lopé (Mc Grew *et al.*, 1997). Ce comportement n'a pas été vu chez *Pan troglodytes troglodytes*, ni chez *P. troglodytes schweinfurthii*.

Struhsaker & Hunkeler (1971) ont été les premiers à mettre en cause une différence régionale. Mais l'hypothèse est relancée par Mc Grew (1992). Il teste 10 hypothèses afin de déterminer ce qui peut expliquer de telles différences.

Les résultats montrent que ce n'est pas l'environnement (absence de noix ou de pierres servant de marteaux ou d'enclume), mais une sorte de culture qui est en cause.

➤ *La "pêche" aux insectes*

Ce comportement aussi est limité à certaines communautés qui ne sont pas forcément les mêmes que celles qui cassent les noix.

A Gombe, **la pêche aux termites** *Macrotermes* est une activité courante, au cours de laquelle les chimpanzés utilisent une fine brindille qu'ils introduisent avec précaution dans une des galeries du nid de termites qu'ils ont ouvert auparavant. Ils font vibrer la brindille ce qui amène les termites soldats à venir défendre l'entrée en s'y agrippant. Lorsque les termites montent à environ 30 cm de hauteur sur la baguette, ils la sortent de la termitière, l'entourent de leurs doigts et passent la brindille au travers, récupérant ainsi sur la tranche de leurs mains les termites (Goodall, 1991).

A Taï, les *Macrotermes* n'existent pas, mais les branches sont utilisées pour attraper **les fourmis**, jamais les autres termites.

☉ *Ces études montrent la capacité des chimpanzés à apporter des solutions dans leurs problèmes de recherche de nourriture. Grâce à l'utilisation d'outils, ils consomment des aliments plus variés et, du point de vue nutritif, complémentaires qui leur seraient inaccessibles sans leur ingéniosité, les fourmis étant notamment une source importante d'acides aminés (Hladik & Viroben, 1974). Cependant, différentes techniques dans la fabrication et l'utilisation des outils sont développées selon les sites. Pour les Boesch (1991), cette différence de méthodes pour attraper la même espèce de fourmi ne peut avoir une explication environnementale. Ils pensent qu'il s'agit bien d'une différence culturelle.*

➤ *Autres utilisations d'outils*

39 comportements considérés comme culturels ont été observés. Cette question de culture est l'objet de nombreux débats entre les spécialistes.

☉ *Deux points de vue s'affrontent :*

Pour Deputte (1997), l'utilisation d'enclumes et de marteaux implique une "connaissance approfondie de l'espace" et la fabrication d'outils est conditionnée par leur représentation mentale; mais pour parler réellement de culture, il faudrait montrer que ces comportements sont capables de se propager entre communautés.

*Ces comportements présentent certaines caractéristiques qui permettent de les considérer comme culturels selon Boesch (2001) : ils sont observés régulièrement chez plusieurs membres du groupe et absents d'au moins un autre groupe sans que cette absence puisse être expliquée par des facteurs écologiques. Depuis l'habituation de trois communautés voisines de Taï, Boesch (2003) a remarqué que certains comportements différaient entre les trois groupes ; 7 traits de comportement, ne pouvant être liés à des facteurs écologiques, sont exclusifs du groupe du Sud et 5 du groupe du Nord. Ces observations incluent des différences dans la consommation de plantes (*Haloplegia* sp.). Boesch remarque, par ailleurs, que ces « sous-cultures » persistent dans chaque groupe, malgré l'échange d'individus entre communautés. Les nouveaux arrivés semblent adopter la sous-culture de leur nouveau groupe, perdant celle de leur groupe natal. Cette notion pourrait être appliquée à l'utilisation de plantes ou de parties de plantes non nutritionnelles.*

3- Organisation sociale des chimpanzés

3.1 Composition des communautés et des groupes

Les chimpanzés vivent en communauté de 20 à 100 individus ($N = 10$). La société est multi-mâles, bisexuelle et généralement mâle-philopatrique puisque généralement seuls des transferts de femelles ont été observés. Le sexe-ratio incluant les jeunes, calculé pour 6 communautés, montre toujours un excès numérique de femelles (1/1-3,5). En dépit de cette inégalité dans le sexe-ratio, aucun mâle solitaire ou groupe de mâles n'a jamais été observé. Le ratio mature/immature est 1/0,5-1,2 ($N = 10$).

Des sous-groupes temporaires, dont la composition est variable, se forment, en fonction de la disponibilité en nourriture et de la présence de femelles en oestrus. Généralement ces groupes se composent de moins de 6 individus (82% des observations à Gombe, Goodall, 1968). Ces associations peuvent durer de quelques minutes à plusieurs jours et varient de 2 à 77 individus.

3.2 Les interactions sociales

Les rapports sociaux sont entretenus par l'épouillage ou *grooming*, qui, en plus de sa fonction de nettoyage du pelage, sert à apaiser les tensions sociales et à entretenir des liens affectifs. Le jeu permet d'enseigner les règles de la vie au jeune, les rapports de force, les contacts avec des individus autres que sa mère, mais aussi les déplacements rapides dans les arbres. Les vocalisations interviennent aussi beaucoup dans les rapports sociaux lors de rencontres entre groupes et dans les affrontements de dominance.

Les conflits sont souvent spectaculaires : les cris sont abondants et les manœuvres de charge et d'intimidation impliquant souvent des branchages traînés derrière eux sont pratiqués par des animaux hérissés dont le volume double. Mais les attaques physiques entraînant des blessures sont rares. Après de telles démonstrations d'agressivité, des réconciliations se traduisant par des contacts corporels interviennent le plus souvent et confirment les relations de dominance. Deux fois, en Tanzanie, des conflits entre mâles de communautés voisines se sont soldés par la mort de tous les mâles membres de la communauté attaquée. Après l'extinction des mâles de la communauté, deux mâles juvéniles ont suivi leur mère dans une autre communauté et ont été acceptés.

3.3 Quelques aspects de la reproduction et des relations entre femelles

La seule unité stable chez les chimpanzés est une mère accompagnée de ses enfants. Les développements - physique et social - du jeune dépendent fortement du comportement de la mère, et cela pendant une longue période puisque Goodall (1991) estime que le sevrage véritable (autosuffisance alimentaire) n'est atteint que vers 5 ans. Le jeune commence à se déplacer seul vers 6 ans et l'indépendance ne s'acquiert qu'à l'adolescence. Si un jeune perd sa mère avant 5 ans, il ne survivra que s'il est adopté par un frère ou une sœur aînée.

Le chimpanzé arrive à maturité sexuelle vers l'âge de 12 ans pour les femelles et de 14 ans pour les mâles. Le taux de reproduction est faible car, en général, six ans s'écoulent entre deux naissances. Près de 40 % des jeunes meurent avant 5 ans, en particulier lors de chute d'arbre ou de maladies, respiratoires notamment.

Lorsqu'elles deviennent indépendantes, les femelles quittent généralement leur groupe natal pour une communauté voisine alors qu'elles sont en oestrus, au contraire des mâles qui restent dans leur communauté de naissance. Les femelles mettent bas, en principe, pour la première fois vers 15 ans, mais il est possible que le premier petit naisse alors qu'elles n'ont que 11 ou 12 ans. Chaque femelle donne naissance à 4,4 petits en moyenne durant sa vie qui est d'environ 45 ans (Tutin, 1994). L'intégration d'une jeune femelle est totale lorsqu'elle met bas pour la première fois. Cependant, l'infanticide est connu et des mâles d'une autre communauté peuvent alors tuer le jeune pour intégrer la femelle à leur groupe.

Le comportement sexuel n'est, semble-t-il, pas inné : des observations de chimpanzés vivant isolés lors de leur captivité ont montré que certains individus étaient dénués de tout intérêt sexuel et ne présentaient pas un comportement maternel normal.

Les femelles résidentes ont généralement peu d'interactions avec les nouvelles immigrantes. Les femelles sans parenté ne manifestent entre elles que peu d'interactions sociales. Il a, par contre, été observé que les femelles en lactation se déplacent souvent avec des nullipares qui interagissent avec leurs enfants (Nishida, 1983a). Les femelles âgées sont généralement dominantes par rapport aux plus jeunes et les nouvelles immigrantes ont le rang social le plus bas. Les relations mère-enfant durent de longues années après le sevrage.

Les jeunes mâles continuent à se déplacer avec leur mère jusqu'à l'adolescence, tout en passant de plus en plus de temps avec les mâles. En atteignant leur taille adulte, ils deviennent dominants sur toutes les femelles et s'intègrent dans la hiérarchie des mâles. Néanmoins, il n'est pas rare que les fils rejoignent occasionnellement leur mère, entretiennent des relations sociales particulières, se livrant à de longues périodes d'épouillage. Les associations mère-fille sont plus rares, puisque les adolescentes tendent à émigrer. Cependant, si la jeune femelle reste dans sa communauté de naissance, mère et fille s'associent pendant les périodes d'anœstrus et rejoignent les mâles en période d'oestrus.

En période d'oestrus, la zone ano-génitale enfle et les accouplements se produisent en période de tumescence sexuelle maximale. La fréquence des accouplements dépend du nombre de mâles présents dans la communauté. Dans les grandes communautés, 70 à 90 % des accouplements sont opportunistes, sans compétition apparente entre mâles, en particulier en début de la période d'oestrus. L'ovulation se produit le premier jour de la détumescence (Graham, 1981) et, au fur et à mesure que le moment de l'ovulation approche, le nombre de copulations possessives augmente, surtout avec le mâle dominant. Des associations étroites et exclusives avec un mâle - autre que le mâle dominant - ont été observées. Dans ce cas, la femelle se déplace uniquement avec ce mâle, pendant plusieurs jours ou semaines (Tutin, 1979). Tutin (1980) suggère que le taux de conception est plus élevé dans le cas de telles associations.

Tableau III. Quelques caractéristiques de la reproduction chez les chimpanzés (d'après Nishida & Hiraiwa-Hasegawa, 1987)

Age de la maturité sexuelle des mâles	10-14 ans
Age de la maturité sexuelle des femelles	10-11 ans
Age à la première naissance	10-18 ans
Cycle oestral	31-36 jours
Période de tumescence maximale	10-13 jours
Durée de gestation	228 jours (N = 49, 205-248)
Intervalle entre les naissances	4-8 ans
Durée de l'infertilité post-partum	3-6 ans

3.4 Force des liens sociaux et hiérarchie chez les mâles

Dans la plupart des groupes de singes multi-mâles, les relations de coopération et la tolérance sont rares entre mâles. Chez les macaques rhésus et les macaques japonais, l'épouillage entre mâles est pratiquement inexistant (Nishida & Hiraiwa-Hasegawa, 1987). Ceci s'explique par le fait que dans de nombreuses sociétés multi-mâles, aucun lien de parenté n'unit les mâles. Il n'y a aucun lien génétique et donc aucun avantage à se procurer de l'aide. Chez les gorilles, les groupes sont constitués autour d'un mâle unique. Les orangs-outans sont solitaires.

Chez les chimpanzés, les interactions entre mâles sont plus fréquentes qu'avec les femelles. Généralement, les mâles ne changent pas de groupe. Les mâles chimpanzés passent beaucoup de temps en association. Le *grooming* entre mâles adultes à Mahale est 4 fois plus fréquent que chez les femelles (Nishida, 1979, Goodall, 1986). Les manifestations de type « étreinte » sont 20 fois plus fréquentes chez les mâles (Nishida & Hiraiwa-Hasegawa, 1987). Le partage de la viande se fait aussi beaucoup plus souvent entre mâles (Teleki, 1973). Malgré la tolérance observée entre mâles, par exemple, pour l'accès aux femelles en oestrus, la préoccupation majeure des mâles semble être néanmoins le maintien ou l'amélioration de leur statut social et leurs relations sont donc dominées par une intense compétition.

La relation de dominance entre chimpanzés est évaluable par la direction du grognement haletant émis par le dominé. L'alpha-mâle peut ainsi être reconnu, car il n'émet jamais de grognement haletant lorsqu'il rencontre d'autres mâles, mais tous les mâles le saluent par ce type d'expression. Les mâles adolescents sont dominés par tous les adultes puis atteignent leur rang le plus élevé autour de 25 ans. Leur statut décline ensuite après 30-40 ans. La condition physique, la taille et la force musculaire ainsi que le caractère propice à former des coalitions coopératives avec d'autres mâles, entrent aussi en jeu. Deux sortes de contextes expliquent une forte augmentation des interactions sociales entre des chimpanzés mâles : la coopération lors de compétition intra-groupe pour accéder à la dominance et la coopération lors de conflits entre groupes voisins.

Planche photos mâles

L'alpha-mâle reste dominant entre 3 et 10 ans à Gombe et à Mahale (Goodall, 1975). La position de dominance confère des avantages, tels que la réquisition de la viande lors des chasses ou des meilleurs sites d'alimentation. Des avantages reproductifs se traduisent par un accès prédominant aux femelles en oestrus, en particulier dans la période de l'ovulation. Les mâles des petites communautés ont une hiérarchie linéaire. Par contre, dans les communautés plus larges, on distingue des relations de dominance réelles et formelles. La dominance formelle est celle observée au travers des grognements haletants et des attaques entre deux individus. La dominance réelle est le résultat des conflits entre les différents individus du groupe.

Malgré la tension observée entre les mâles, les chimpanzés restent très sociables même envers leurs rivaux. Wrangham (1979) suggère que chaque mâle tire bénéfice de cette association en permettant la défense du territoire de la communauté envers les attaques des mâles des communautés voisines. Les interactions entre communautés sont probablement un facteur de maintien des liens entre les mâles. Lorsque la compétition entre mâles devient trop forte, il arrive qu'une communauté se scinde : à Gombe, une fission s'est produite alors que la communauté comptait 15 mâles. Une compétition trop forte et un territoire trop grand à défendre, peuvent expliquer le partage de la communauté entre deux alpha-mâles.

➔ *Ces données sur l'organisation sociale des groupes de chimpanzés sont importantes à connaître pour envisager la façon dont l'utilisation éventuelle de plantes à activité biologique peut se transmettre entre individus d'une même communauté et se propager à d'autres communautés. La proximité mère-jeune et la durée de cette relation étroite favorisent l'apprentissage. Parmi les adultes, l'imitation est un moyen d'apprentissage. Les enfants mâles et les mères perpétuent ces comportements au sein d'une communauté donnée, alors que les jeunes femelles qui émigrent apportent à une communauté voisine des pratiques parfois différentes, qui seront reproduites par leur future progéniture.*

C- QUELQUES DONNEES DE MEDECINE VETERINAIRE SUR LES ANTHROPOÏDES SAUVAGES

Les Grands Singes, par leur proximité taxonomique et anatomique avec les humains, développent aussi des maladies relativement semblables. La plupart des données médicales - en dehors des études coprologiques - proviennent d'animaux vivant en parc zoologique et sont donc biaisées par la captivité : la vie sédentaire, le régime alimentaire, les contacts rapprochés avec les congénères, ou au contraire la vie solitaire ainsi que les traitements vétérinaires sont autant de facteurs susceptibles d'influer sur la santé des animaux.

Néanmoins, par un rapide inventaire des maladies que peuvent développer les chimpanzés, il est possible d'envisager quelles pathologies les animaux sauvages sont susceptibles de rencontrer et d'avoir à combattre, éventuellement par des comportements d'automédication. Par ailleurs, le choix des cibles biologiques est guidé par la proximité des affections des humains et des chimpanzés.

1- Affections bactériennes

1.1 Affections digestives d'origine bactérienne

Les bactéries responsables des infections digestives sont essentiellement *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolita*, *E. coli* entérotoxigène, *Pseudomonas* spp. et *Aerobacter* spp.. Les primates en sont fréquemment porteurs intermittents et asymptomatiques (Luciani, 1998). Les troubles majeurs engendrés sont liés à une entérite aiguë accompagnée de diarrhée profuse avec selles aqueuses ou mucoïdes et méléna. Un état de prostration et une déshydratation sont constants.

Les shigelloses, induites par *Shigella flexneri* et *S. dysenteria*, provoquent des diarrhées et des dysenteries caractérisées par des lésions de colite œdémateuse et ulcérée. Les insectes sont des vecteurs potentiels.

Les salmonelloses transmises par les fèces de rongeurs, parfois asymptomatiques, peuvent devenir épizootiques. Les diarrhées hémorragiques peuvent entraîner une septicémie et la mort.

La yersiniose, ou pseudotuberculose, se caractérise par la formation de nodules pseudo-tuberculeux au niveau des viscères mais les signes sont non pathognomoniques : diarrhée, abattement, anorexie.

L'infection par *Escherichia coli* peut aussi entraîner des gastro-entérites hémorragiques ainsi que des infections pulmonaires et urinaires.

Les infections par les leptospires et *Corynebacterium pseudotuberculosis* sont aussi à l'origine de diarrhées (Vandermeersch, 1990). Lorsque *Leptospira icterhemorrhagiae* prolifère, l'affection se caractérise par un ictère, des hémorragies intestinales, des convulsions et des avortements chez les femelles.

1.2 Affections respiratoires d'origine bactérienne

Les germes en cause dans les infections respiratoires sont *Pasteurella*, *Streptococcus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, *Haemophilus influenza*, *Staphylococcus*... Les signes cliniques peuvent varier d'une toux persistante à une dyspnée sévère, accompagnées d'éternuements et d'écoulements nasaux (jetage) muqueux et muco-purulents. Il y a souvent atteinte de l'état général et anorexie (Luciani, 1998).

1.2.1 La tuberculose

La transmission des mycobactéries est rare en milieu naturel, elle se produit par voie orale. *Mycobacterium tuberculosis* et *M. bovis* sont acquises par l'intermédiaire des humains et des ruminants (Baskin, 2002). La maladie peut être multi-symptomatique même si les formes respiratoires et digestives sont les plus fréquentes. Un bilan sanitaire établi par l'Office International des Épizooties fait état d'une recrudescence de la tuberculose dans l'est Africain depuis 1996. Les babouins en sont victimes et une surveillance particulière a été recommandée en Ouganda, Tanzanie et Kenya (Luciani, 1998). En 1997, une forme fulminante se serait déclarée, autodétruisant les bandes infectées.

1.2.2 Autres affections

Outre *Mycobacterium tuberculosis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Diplococcus pneumoniae* ou encore *Haemophilus influenza* sont des bactéries susceptibles d'entraîner du jetage, de la dyspnée, de l'apathie, pouvant se compliquer de paralysie et de péritonite dans le cas de *Diplococcus pneumoniae* et de méningite pour les deux autres (Vandermeersch, 1990).

Des animaux trouvés morts ou ayant des signes de pneumonie, de méningite et d'arthrite peuvent avoir été infectés par *Streptococcus pneumoniae*.

1.3 Infections cutanées d'origine bactérienne

1.3.1 La lèpre

Des infections naturelles à *Mycobacterium leprae* ont été décrites pour les chimpanzés. Les lésions, papules puis ulcères, sont principalement observées sur la peau et au niveau des nerfs périphériques, particulièrement aux extrémités et dans les zones les plus froides (oreilles, scrotum). Elles se compliquent souvent par des déformations et des paralysies des mains et des pieds (Baskin, 2002).

1.3.2 Autres affections

Les bactéries du genre *Treponema* peuvent provoquer des ulcères de la face et des gencives entraînant des déformations faciales ainsi que des dyschromies (Vandermeersch, 1990).

Staphylococcus aureus est porté de façon asymptomatique dans la zone oro-nasale mais peut, à l'occasion de blessures par exemple, infecter la peau et envahir le sang (Baskin, 2002).

2- Infections virales

2.1 Affections digestives d'origine virale

Le picornavirus de l'**hépatite A** et l'hepadenavirus de l'**hépatite B** infectent les chimpanzés. Ils induisent des vomissements, des diarrhées avec des selles argileuses, de la fièvre et un ictère. La mortalité est variable. Les chimpanzés sont aussi susceptibles de contracter l'**hépatite C** (Baskin, 2002). Le virus de l'herpes simien et le virus de l'encéphalomyocardite occasionnent des symptômes digestifs (vomissements), mais aussi respiratoires (dyspnée) et, dans le cas du virus à encéphalomyocardite, de l'ataxie et une paralysie pouvant entraîner la mort. Cytomegalovirus et Adénovirus sont aussi responsables de diarrhées, d'apathie et de symptômes respiratoires.

Les chimpanzés et les gorilles sont sensibles à l'arbovirus de la **fièvre jaune**. L'ictère, les hémorragies et la dégénérescence graisseuse du foie qu'ils subissent sont similaires à ceux des humains.

2.2 Pathologies respiratoires d'origine virale

Le pseudomyxovirus de la rougeole, le paramyxovirus de type 3 ou le virus Cocksackie causent des anthroozoonoses qui peuvent induire des affections respiratoires chez les chimpanzés. Le réovirus de type 2, les adénovirus, les rhinovirus, ou le virus syncytial respiratoire sont à l'origine de jetage et symptômes habituellement bénins de type coryza (Ott-Joslin, 1993).

2.3 Pathologies d'origine nerveuse

Le picornavirus de la polyomyélite et de l'encéphalomyocardite ainsi que le rhabdovirus de la rage peuvent atteindre les chimpanzés et les conduire, après parésie et paralysie, à la mort (Vandermeersh, 1990). En 1966, à Gombe, 10 individus de la communauté suivis par J. Goodall ont souffert d'une atteinte paralytique de polyomyélite (Goodall, 1986). Cette maladie a fait suite à une épidémie de polyomyélite humaine dans le district de Kigoma. Les chimpanzés qui ont survécu ont conservé de graves séquelles et en particulier, plusieurs marchaient en position bipède, ne pouvant faire usage de leurs membres supérieurs.

2.4 Affections cutanées d'origine virale

Des infections naturelles à *herpes virus simplex* de type 2 (HSV-2) ont été décrites, entraînant des ulcères des muqueuses et cutanés, de la conjonctivite (Jansen, 1993 ; Baskin, 2002).

Le poxvirus du *Molluscum contagiosum* induit chez les chimpanzés des papules lisses, hémisphériques et cireuses, disséminées sur l'ensemble du corps et plus particulièrement en zone périorbitaire (Baskin, 2002). Plusieurs anthroozoonoses sont susceptibles d'affecter le chimpanzé, en particulier le pseudomyxovirus de la rougeole et le togavirus de la rubéole. Ils peuvent aussi contracter le poxvirus de la variole du singe qui se traduit par un exanthème vésiculeux, du prurit et un oedème facial accompagné de fièvre, de jetage et de toux (Vandermeersch, 1990).

2.5 Les syndromes d'immunodéficience acquise

Des preuves de l'infection par le **SIV** (*Simian Immunodeficiency Virus*) ont été rapportées pour 26 espèces de primates africains non humains (Hahn *et al.*, 2000). Le SIV atteint spontanément les chimpanzés en milieu naturel (Santiago *et al.*, 2002, Baskin, 2002). Deux sous-espèces de chimpanzés communs, *Pan troglodytes troglodytes* et *Pan troglodytes schweinfurthii*, sont porteuses d'une souche de SIV, appelée SIVcpz. *P. t. troglodytes* est porteur d'une souche proche du VIH-1 de l'homme (Hahn *et al.*, 2000) alors que le SIVcpz détecté chez un chimpanzé sauvage de Gombe est très différent, permettant de conclure que la sous-espèce *P. t. schweinfurthii* n'est probablement pas une source de zoonose pour l'homme (Santiago *et al.*, 2002). En effet, jusqu'alors les souches avaient été isolées d'animaux captifs, mais une étude récente a permis de tester par des méthodes non-invasives (analyses d'urine et de selles) le statut de 58 chimpanzés sauvages (28 *P. t. verus* de Taï, 26 *P. t. schweinfurthii* de Kibale et 6 *P. t. schweinfurthii* de Gombe). Par contre, l'étude de Hahn *et al.* (2000), montre que l'origine du SIDA chez l'homme tient probablement à la transmission de virus de chimpanzés du centre ouest Africain (*P. t. troglodytes*) pour le cas du VIH-1 et de mangabeys dans le cas de VIH-2.

Les hommes ne sont pas les hôtes naturels des VIH-1 et 2. L'ancêtre commun des souches VIH-1 et SIVcpz - et donc l'origine de la transmission à l'homme - se situerait vers 1930. Les pratiques de chasse et de consommation de viande crue de chimpanzés auraient permis la transmission du virus. La propagation chez l'homme aurait été favorisée par l'urbanisation, la prostitution et probablement la vaccination à l'aide d'aiguilles non stériles qui, en induisant un passage rapide, en série, du virus entre les hommes aurait permis l'adaptation rapide du virus (Hahn *et al.*, 2000).

Deux types de rétrovirus D et trois lentivirus différents connus semblent pouvoir produire chez les primates un complexe de maladies à immunodéficience, évoluant vers diverses entités cliniques, telles que la mycobactériose, la cryptosporidiose, la pneumocystose (Demanche *et al.*, 2003), la candidose... Le pronostic est grave chez les animaux atteints cliniquement. La transmission entre primates se fait par contact direct et indirect (Luciani, 1998).

2.6 La fièvre hémorragique Ebola

Le *filovirus Ebola* regroupe plusieurs souches : Zaïre, Soudan, Côte d'Ivoire. Il a provoqué depuis 1976 des épidémies avec de nombreux morts en Afrique.

Au Gabon, plusieurs chimpanzés, 3 gorilles, et 13 humains ayant consommé un chimpanzé malade sont morts de cette maladie. En Forêt de Taï en Côte d'Ivoire, l'effectif d'un groupe de chimpanzés étudié est passé de 80 individus à 32 en 1987. Deux épisodes de mortalité sévère sont rapportés, en novembre 1992 et octobre-novembre 1994. Les chimpanzés trouvés morts en 1994 montraient des signes d'hémorragie et les prélèvements analysés ont permis de diagnostiquer la fièvre hémorragique Ebola. Le facteur ayant pu favoriser une contamination est le comportement de prédation. Les 3 différentes vagues de mortalité qui se sont produites en octobre-novembre 1994 correspondaient à des épisodes de chasse aux colobes bais auxquels tous les animaux disparus avaient participé. Une éthologue de 34 ans ayant pratiqué l'autopsie d'un chimpanzé atteint d'Ebola a contracté la maladie (Le

Guéno *et al.*, 1999). D'autres cas de contamination humaine par les chimpanzés ont été rapportés : en particulier, en 1996, à deux reprises, un chimpanzé trouvé mort dans la forêt a été consommé par des villageois. Dans le premier cas, 19 personnes ayant participé à la découpe de l'animal ont contracté la maladie, 31 personnes au total ont été infectés et 21 d'entre elles sont mortes. Dans le second cas, 60 personnes ont été contaminées et 45 sont mortes.

Les primates ne semblent pas être le réservoir naturel de ces virus, mais des hôtes accidentels.

3- Parasites des anthropoïdes

Les Anthropoïdes sont fortement exposés aux parasites et, en milieu sauvage, les parasitoses intestinales sont les plus aisément identifiables car elles peuvent être étudiées sans avoir recours à des méthodes invasives. De tels travaux permettent un suivi individuel de l'état sanitaire des animaux. La majeure partie de ces affections sont peu ou non pathogènes mais néanmoins, elles peuvent produire des lésions, débilitantes à long terme, ou favoriser l'émergence d'infections secondaires plus sérieuses. Par ailleurs, une prolifération des parasites peut signer une infection sous-jacente qui affaiblit les défenses immunitaires et favorise l'expansion des parasites.

3.1 Parasites sanguins

3.1.1 Les agents du paludisme

Des parasites de la famille des Plasmodiidae du genre *Plasmodium* peuvent infecter les anthropoïdes sauvages. Ils sont différents de ceux qui atteignent les singes et ne peuvent, par contre, que difficilement être distingués morphologiquement des parasites humains. Des infections croisées entre humains et anthropoïdes ont d'ailleurs été rapportées (Toft, 1986).

Les ancêtres des parasites actuels, responsables du paludisme chez les primates, sont probablement des hépatocystes, parasites ubiquistes des singes et des anthropoïdes africains (Cogswell, 2000). Ce sont des parasites bien adaptés, provoquant des maladies bénignes et produisant des gamétocytes seulement dans la circulation.

Chez son hôte naturel, *Plasmodium* n'entraîne pas de symptômes sévères, même s'il peut engendrer une légère anémie. Par contre, chez des hôtes aberrants, les parasites occasionnent une maladie sévère et débilitante conduisant souvent à la mort.

Les signes cliniques qui peuvent néanmoins se manifester en particulier chez des animaux déjà affaiblis, jeunes ou immunodéficients, consistent en une hépatosplénomégalie, de la fièvre et un abattement, de l'anorexie et une perte de poids, une diarrhée parfois. Une thrombocytopénie, une leucopénie, une anémie progressive et une réticulocytose ont été rapportées. La fièvre qui accompagne la rupture des érythrocytes parasités et le relargage de métabolites toxiques dans le sang est souvent moins sévère chez les primates non humains que chez les humains. Elle peut se produire à intervalles de temps réguliers -24, 48 ou 72 h-, caractérisant ainsi l'espèce de *Plasmodium* infectante. En principe, l'hôte naturel de l'espèce de *Plasmodium* est asymptomatique. Il peut exister des dépôts d'hémozoïne (pigment

correspondant à la polymérisation de l'hème de l'hémoglobine par le parasite pour qui l'hème est toxique) dans le foie, la rate et la moelle osseuse. Hémorragie cérébrale, rupture splénique, nécrose des néphrons peuvent aussi se produire. Le paludisme chez la plupart des primates non humains n'est pas fatal mais peut entraîner des séquelles.

Les espèces suivantes de *Plasmodium* peuvent infecter naturellement les chimpanzés sauvages :

➤ *P. rhodaini*

Ce parasite est présent en Afrique Centrale et de l'Ouest où il peut provoquer une fièvre quarte chez ses hôtes naturels (chimpanzés et gorilles).

On n'observe pas de différence morphologique entre *P. rhodaini* des Anthropoïdes et *P. malariae* des humains. L'infection est d'ailleurs facilement transmissible des hommes aux singes et inversement.

➤ *P. reichenowi*

Cette espèce moyennement pathogène est présente en Afrique de l'Ouest, de l'Est et Centrale. Ses hôtes naturels non humains sont les gorilles et les chimpanzés, espèces chez lesquelles elle cause une fièvre quarte. Cette espèce est très similaire à *P. falciparum* des humains, avec des gamétocytes en forme de croissant et, généralement, seules les formes en anneau et les gamétocytes apparaissent dans la circulation périphérique (Cogswell, 2000). Il ne semble pourtant pas que l'homme soit sensible à *P. reichenowi*.

➤ *P. schwetzi*

Ce parasite, moyennement pathogène, touche ses hôtes naturels, chimpanzés et gorilles, en Afrique de l'Ouest. Il provoque une fièvre tierce chez ces espèces. Il est très similaire à *P. vivax* et l'infection a été transmise de chimpanzé à humain *via* les moustiques. La maladie chez l'homme entraîne une période fébrile suivie d'une guérison spontanée. Chez les hôtes naturels, la maladie est souvent sub-clinique. Le parasite a un cycle asexué de 48h chez le chimpanzé (Cogswell, 2000). Aucun signe clinique n'est généralement détecté, même chez les jeunes chimpanzés. L'infection est souvent mixte, associant *P. schwetzi* et *P. reichenowi*.

3.1.2 Autres protozooses

Bien qu'aucune trypanosomose ni leishmaniose spontanées ne soit décrite chez le chimpanzé, celui-ci a été expérimentalement infecté par *Trypanosoma brucei*, *T. rhodesiense* et *T. gambiense* et par *Leishmania*, qui provoquent des lésions cutanées au site de piqûre par la glossine, de l'anémie, de l'abattement, de la fièvre et une péricardite (Swenson, 1993).

Des cas de toxoplasmoses ont été rapportés pour les singes du Nouveau Monde, mais rarement pour les grands singes. On ne sait pas si une infection naturelle à *Toxoplasma gondii* peut exister chez les chimpanzés. Néanmoins, des signes tels qu'une hépatosplénomégalie, une infection pulmonaire associées à des symptômes neurologiques, doivent être considérés (Swenson, 1993).

Par ailleurs, les chimpanzés peuvent être naturellement susceptibles à une infection à *Sarcocystis*, mais aucun signe clinique n'a été rapporté.

3.2 Parasites digestifs

3.2.1 Parasites protozoaires

➤ *Amibes*

Deux formes de trophozoïtes d'*Entamoeba histolytica* sont décrites : une grande forme mesurant de 20 à 30 μm , pathogène, alors que la plus petite forme, mesurant de 12 à 15 μm n'est pas pathogène (Toft, 1986). Seuls les organismes pathogènes ingèrent les érythrocytes. Les kystes mesurent 10 à 20 μm de diamètre et contiennent quatre nuclei.

Une infection à *E. histolytica* produit généralement peu de signes cliniques. Mais, on observe une grande variabilité de virulence suivant les lignées. Par ailleurs, la gravité de l'infection dépend du statut nutritionnel de l'hôte, de l'environnement et de la flore pathogène de son tractus gastro-intestinal. Si l'organisme reste dans la lumière intestinale, il n'est pas pathogène mais il peut entraîner une dysenterie amibienne s'il envahit la muqueuse.

Cliniquement, les animaux infectés présentent une léthargie, de la faiblesse, de la déshydratation, de l'anorexie, des vomissements, des diarrhées hémorragiques ou catarrhales. A l'autopsie, la muqueuse du colon est nécrotique et ulcérée.

Des amibiases fatales avec abcès hépatiques ont été rapportées chez le chimpanzé (Swenson, 1993) : en effet, les trophozoïtes peuvent entrer dans les canaux lymphatiques et les veinules de la vascularisation mésentérique. La plupart sont drainés par les nœuds lymphatiques régionaux. Certains peuvent se propager à distance et produire des abcès amibiens particulièrement dans le foie, les poumons et le système nerveux central.

Les études portant sur les selles de chimpanzés rapportent la présence de *Entamoeba coli*, *E. chattoni*, *E. hartmanni*, *Endolimax* sp. et *Iodamoeba* sp. Les prévalences de *Entamoeba chattoni* et *Iodamoeba* sp. sont relativement fortes dans l'étude d'Ashford *et al.* (2000) – respectivement 40 et 47%.

➤ *Giardia* sp.

Le caractère pathogène de cette infection entérique est discuté chez les Grands Singes, mais *Giardia duodenalis* a pu être trouvée associée à une diarrhée aqueuse chez des chimpanzés, dont aucune autre cause n'avait été mise en évidence (Swenson, 1993).

Dans l'étude menée à Kibale, Ashford *et al.* (2000) ont trouvé des kystes de *Giardia* dans 6 échantillons : ces auteurs supposent que cette infection peut être due à une contamination des chimpanzés par des fèces humaines.

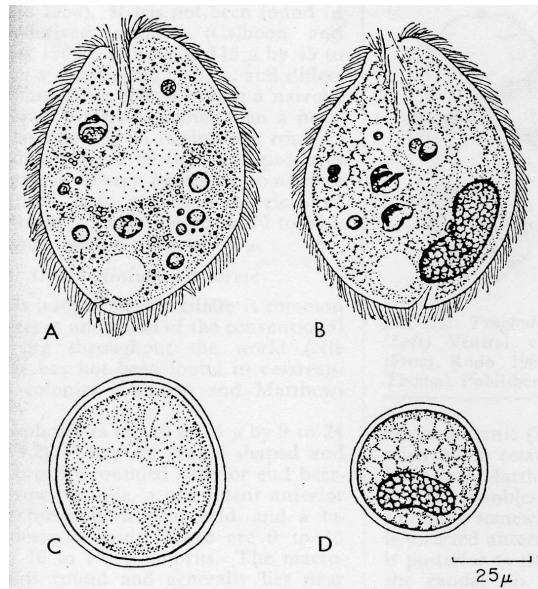
➤ *Balantidia* sp.

Balantidium coli est un protozoaire cilié très souvent identifié chez les Grands Singes en captivité. Il se localise dans le cæcum et le colon des animaux (Flynn, 1973 ; Swenson, 1993). Il n'est habituellement pas pathogène, mais peut occasionner une forte diarrhée aqueuse, voire des dysenteries sévères chez les Anthropoïdes caractérisées par une entérocolite ulcéreuse en cas de lésions bactériennes ou virales pré-existantes. Occasionnellement, il peut être la cause directe des symptômes chez les chimpanzés et les gorilles. Les ulcères peuvent s'étendre à la partie musculaire de la muqueuse et provoquer une infiltration

lymphocytaire et des hémorragies. De nombreux trophozoïtes, ovoïdes avec un cytostome tubulaire à l'extrémité la plus étroite, peuvent être détectés dans les selles liquides. Ils mesurent de 30-150 x 25-120 μm et sont constitués d'un macronucleus en forme de rein et d'un micronucleus, de deux vacuoles contractiles et de nombreuses vacuoles digestives. Les kystes sont sphériques à ovoïdes et mesurent 40-60 μm (Fig. 51). L'infection est due à l'ingestion de kystes ou de trophozoïtes. Les Gorilles sont particulièrement sensibles à ces parasites qui peuvent entraîner la mort après hémorragie.

Ashford *et al.* (2000) notent néanmoins que, bien que *B. coli* soit abondant chez les babouins sympatriques (*Papio* spp.) à Kibale, leur étude portant sur 123 échantillons ne leur a pas permis de l'identifier dans les selles de chimpanzés.

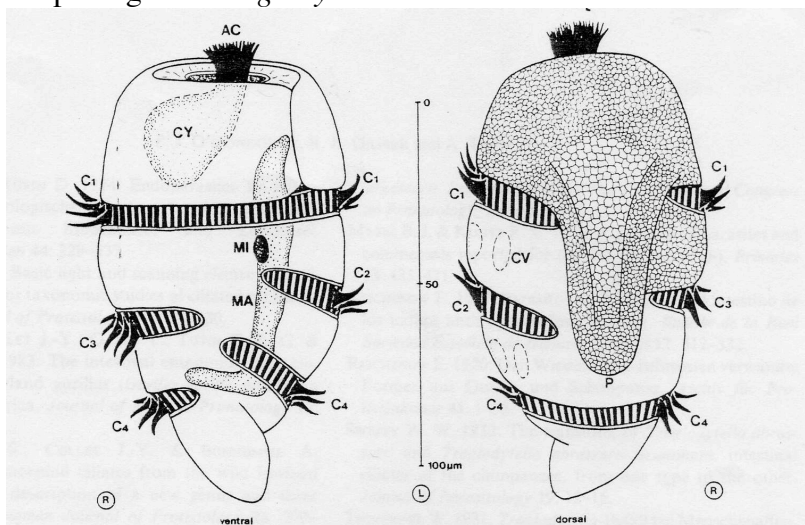
Fig.51 Morphologie de *Balantidium coli*



➤ *Troglodytella abressarti*

Ce Cilié ellipsoïdal est aplati et mesure de 145 à 175 μm de long par 85 à 126 μm de large (Flynn, 1973). Il possède trois régions de membranelles ou cirres (Fig. 52), arrangées en cercles incomplets donnant l'impression d'une spirale incomplète entourant l'organisme et l'ouverture orale s'ouvre apicalement. Le cytostome est enfoui dans un profond vestibule, surmonté d'une bande de cirres rétractiles. On observe des plaques squelettales dans la région antérieure. Le macronucleus est en forme de L et environ 8 vacuoles contractiles sont parallèles aux bandes de cirres.

Il est généralement non pathogène et un rôle commensal est supposé pour ce genre, qui aiderait la digestion de la cellulose (Collet *et al.*, 1984).

Fig. 52 Morphologie de *Troglodytella abressarti*

99% des selles de bonobos étudiées par Hagesawa *et al.* (1983) contenaient des *Troglodytella* sp. Toutes les études portant sur les selles de chimpanzés ne mentionnent pas la présence de ces Ciliés (Kawabata & Nishida, 1991). Dans les autres analyses de fèces, la prévalence est très variable entre 12% (Huffman & Gottoh dans Ashford *et al.*, 2000) et 91% (Ashford *et al.*, 2000).

3.2.2 Helminthes

➤ Trématodes

Les œufs de trématodes sont assez rarement observés dans les selles de grands singes vivant en milieu naturel. Quelques fèces contiennent des *Dicrocoelium* sp.. Cette douve du foie possède deux hôtes intermédiaires : des escargots et des fourmis (cf. annexe 3). Toutes les communautés de chimpanzés ne consomment pas de fourmis, ce qui peut en partie expliquer les différences d'infestation par ces parasites.

Les œufs sont décrits par Hagesawa *et al.* (1983) comme elliptiques, brun foncé, operculés, et mesurent 38-50 x 21-26 µm.

Des œufs du genre *Dicrocoelium* ont une faible occurrence dans les fèces de chimpanzés : 3% des 66 selles de chimpanzés de l'étude de Landsoud-Soukate *et al.* (1995), 1% des 161 échantillons étudiés en 1989-1990 par Huffman et Gottoh (Ashford *et al.*, 2000). Par contre, 45% des fèces de bonobos étudiés par Hagesawa *et al.* (1983) en contenaient alors que les individus de cette communauté de bonobos n'ont pas l'habitude de consommer ces insectes. Les auteurs suggèrent que la contamination de la nourriture par ces insectes pourrait expliquer la présence de ces parasites dans les fèces.

➤ Cestodes

Des œufs, ovoïdes et transparents mesurant 45 µm à 55 µm, à coque claire, épaisse et lisse possèdent 6 crochets groupés en 3 paires, dispersés dans la masse embryonnaire de *Bertiella* sont observés dans les selles de chimpanzés. *Bertiella* possède un embryophore piriforme caractéristique des Anoplocéphalidés (Euzéby, 1981a).

L'infestation des chimpanzés par *Bertiella studeri* est cependant occasionnelle. Des segments ou proglottis de ces vers adultes sont éliminés dans les selles et peuvent être observés macroscopiquement (Wrangham, 1995). Mobiles, mesurant 10-15 mm sur 2-4 mm, ils sont trouvés à la surface des selles des chimpanzés. Durant une étude menée sur les relations entre l'expulsion des segments de *Bertiella studeri* et la consommation de feuilles entières à Kibale, 5,2% des 271 fèces collectées contenaient des proglottis. Ces Cestodes ont été identifiés dans 1,6% des 123 selles de l'étude de Ashford *et al.* (2000) et dans 0,7% de 153 selles des chimpanzés de Mahale en Tanzanie (Kawabata & Nishida, 1991). Il est probable qu'un insecte est l'hôte intermédiaire de ce parasite, ce qui peut aussi expliquer la rareté de cette infection très peu détectée dans les études coprologiques de chimpanzés.

➤ Nématodes

▲ Ordre des Ascaridida

- Famille des Oxyuridés
 - *Enterobius* sp.

Mc Grew *et al.* (1989) rapportent la présence d'œufs d'*Enterobius* sp. dans 13% de leurs prélèvements.

- *Probstmayria* sp.

Le genre *Probstmayria* forme un groupe archaïque et spécialisé : les femelles, vivipares, pondent dans l'intestin de l'hôte des L3 dont la croissance s'effectue chez l'hôte sans passage par l'extérieur. Ces espèces possèdent une poeciandrie : les mâles sont rares ou très rares (Van Waerebeke *et al.*, 1988). Deux espèces ont été décrites chez le chimpanzé : *P. gombensis*, (File, 1976) et *P. inversa* sp. qui se distingue de la première par la petite taille de son pharynx (19 μm).

Probstmayria a une prévalence variable en fonction des études : 7,3% à Kibale (Ashford *et al.*, 2000), et, à Gombe, Tanzanie, elle varie entre 23% (Murray, 1990 dans Ashford *et al.*, 2000) et 59% (File *et al.*, 1976). Hasegawa *et al.* (1983) ne mentionnent pas la présence de *Probstmayria* sp. dans leur étude.

- Famille des Ascarididés

Habituellement, les ascarides (*Ascaris lumbricoides*) (Euzeby, 1981b) sont rarement observés dans les études des parasites intestinaux de grands singes. Seule l'étude de Murray citée dans Ashford *et al.* (2000) a trouvé 41% des selles positives pour ce parasite. À La Lopé, 3% des selles contenaient des ascarides (Landsoud-Soukate *et al.*, 1995).

▲ Ordre des Strongylida

- Famille des Strongylidés : *Oesophagostomum* sp.

Considéré comme le parasite nématode le plus courant des Grands Singes, *Oesophagostomum* sp. ne produit généralement aucun symptôme. *Oesophagostomum bifurcum*, *O. polydentatum* et *O. stephanostomum* ont été identifiés (Toft, 1986). Le cycle est direct. Les œufs mesurent environ 60 x 40 μm (Euzeby, 1981a). On distingue difficilement des œufs d'*Oesophagostomum* des œufs de *Ternidens*.

Les œufs sont pondus au stade 16 à 32 cellules. Dans les selles, ils se développent rapidement en larves rhabditoïdes L1 (en 24 h dans les conditions optimales), puis en L2.

Après 3 ou 4 jours de développement, elles deviennent des L3 infectantes qui peuvent survivre de longues périodes dans des conditions défavorables. Les L3 sont ingérées avec la végétation par les hôtes, puis gagnent le cæcum et envahissent la muqueuse où elles s'enkystent et se transforment en L4, retournant éventuellement dans la lumière intestinale. Les adultes peuvent s'attacher par succion à la muqueuse, mais se détachent pour leur recherche de partenaires et de nourriture. Chez les hôtes qui ont développé une certaine forme d'immunité vis-à-vis du parasite, les larves peuvent rester sous forme enkystée dans la muqueuse et la présence de vers adultes dans la lumière inhibe l'émergence des L4 (Huffman, 2001).

A l'autopsie, les lésions consistent en des nodules de 2 à 4 mm de diamètre le plus souvent au niveau du gros intestin, du cæcum et du mésentère, mais aussi dans des sites ectopiques, tels que le péritoine, les reins, le foie, les poumons ou le diaphragme. Les nodules peuvent être noirs ou bruns, s'ils sont hémorragiques, mais le plus souvent, ils sont caséux et donc blancs (Toft, 1986).

Dans les différentes études, on trouve de 18 (Huffman & Gottoh, dans Ashford, 2000) à 91% (File et al., 1976) de prélèvements positifs pour cette espèce.

Les œufs d'*Oesophagostomum* sp. trouvés dans les selles de bonobos mesurent 75-80 x 31-36 μm et sont trouvés dans 17,9% des fèces (Hasegawa et al., 1983).

- Famille des Ancylostomatidés : *Ancylostoma* sp. et *Necator* sp.

Des œufs (64 x 40 μm) et des L3 d'Ankylostomes ont été identifiés dans les selles de chimpanzés : 41% des 78 selles étudiées par File *et al.* (1976) contenaient des *Necator* sp. Les œufs de Strongles, sans opercules, ont une morula peu dense avec 4 à 8 blastomères, n'emplissant pas la totalité de la coque (Euzeby, 1981a).

- Famille des Trichostrongylidés : *Trichostrongylus* sp.

Possédant une morula avec 16 à 32 blastomères, les œufs de *Trichostrongylus* spp. (80-90 μm x 40-45 μm) ont des pôles inégaux, le plus petit étant plus ou moins aigu.

▲ **Ordre des Rhabditida**

- Famille des Strongyloïdés : *Strongyloides* sp.

Seules les femelles adultes et les larves de *Strongyloides* sp., ou anguillules, sont présentes dans le tractus gastro-intestinal de l'animal hôte.

Les mâles parasites n'ont jamais été décrits et les femelles parasites sont parthénogénétiques. Le cycle de l'anguillulose (cf. annexe 3), complexe, inclut des périodes de vie libre et de parasitisme (Bussiéras & Chermette, 1995; Bourée, 1994). Les œufs pondus par les femelles éclosent dans l'intestin et des larves rhabditoïdes sont émises dans les selles.

En fonction des conditions d'humidité et de température, le cycle externe peut être direct et asexué (les larves deviennent strongyloïdes et infestantes) ou indirect et sexué (les larves rhabditoïdes se transforment en adultes mâles et femelles qui se reproduisent dans le sol). Les œufs donnent des larves rhabditoïdes de deuxième génération qui se transforment en larves strongyloïdes infestantes). Les chimpanzés se contaminent donc facilement par pénétration transcutanée en marchant en terrain boueux. Ce cycle peut subir des variations et conduire à une auto-infestation : en effet, les rhabditoïdes peuvent se transformer en strongyloïdes dans l'intestin et sortir sous forme de larves infestantes dans les selles et par

conséquent pénétrer directement, par voie transcutanée, au niveau de la région ano-périnéale. La transformation peut s'effectuer encore plus précocement, et les larves peuvent franchir directement la paroi intestinale. Quelles que soient les modalités d'infestation, la larve migre ensuite par voie sanguine vers le cœur droit, l'artère pulmonaire, les capillaires pulmonaires puis gagne les alvéoles et remonte des bronches vers le pharynx où elle est déglutie. Elle devient alors adulte et parthénogénétique dans le duodénum. Les cycles d'auto-infestation ont pour conséquence une hyper-infestation et la strongyloïdose peut alors être fatale chez le chimpanzé (strongyloïdose ou anguillulose maligne) (Toft, 1986 ; Bussiéras & Chermette, 1995).

Des œufs de *Strongyloides fulleborni*, petits (50 x 25 μm), à pôles égaux et arrondis, délicats, à embryon plus ou moins développé et parfois des larves sont trouvés dans les selles. Les proportions d'échantillons de selles de chimpanzés positifs pour ce parasite sont très variables selon les sites et les études. L'identification allant jusqu'au niveau de l'espèce n'est pas toujours possible. Des coprocultures sont généralement nécessaires.

C'est pourquoi, selon les études, on trouve parfois des résultats concernant *Strongyloides* sp. compris entre 4,5% à la Lopé, Gabon (Landsoud-Soukate *et al.*, 1995) et 87 % à Gombe, Tanzanie (File *et al.*, 1976) des échantillons étudiés (respectivement N = 66 et N = 78) ou bien *Strongyloides fulleborni* dont la prévalence varie entre 13% à Mahale, Tanzanie (Huffman & Gotoh dans Ashford *et al.*, 2000) et 50% à Gombe Tanzanie (selon une étude de Murray, 1990 dans Ashford *et al.*, 2000). Dans l'étude de Hasegawa *et al.* (1983) portant sur des selles de bonobos, *Strongyloides* sp. est l'espèce de Nématode la plus courante (52,9%).

▲ **Ordre des Trichinillida**

▪ Famille des Trichuridés

Trichuris trichiura, que l'on trouve aussi chez l'homme, vit dans le cæcum et le gros intestin et son cycle de vie est direct (cf. annexe 3). Il n'occasionne généralement pas de problème clinique bien que de fortes infestations puissent entraîner de l'anorexie, une diarrhée marneuse et parfois la mort rapportée chez deux chimpanzés (Toft, 1986).

La prévalence de ce parasite est variable selon les études. Seuls 3% des selles de chimpanzés pygmés étudiées par Hasegawa *et al.* (1983) sont positives pour *Trichuris* sp. et les auteurs notent que les œufs de *Trichuris trichiura* humains sont un peu moins larges (50-54 x 22-24 μm chez l'homme contre 54-57 x 23-26 μm chez les bonobos). Par contre, jusqu'à 36% des selles étudiés (N = 86) provenant des chimpanzés de Mahale peuvent être positives pour ce parasite (Huffman & Gotoh dans Ashford *et al.*, 2000) alors qu'il n'a pas été identifié dans les études menées au Mont Assirik au Sénégal (Landsoud-Soukate *et al.*, 1995) ou à la Lopé au Gabon (Mc Grew *et al.*, 1989).

Des infections croisées entre l'homme et le chimpanzé sont possibles.

4- Principales causes de mortalité

Seules les études de long terme, comme celles menées à Gombe, peuvent fournir des informations sur un nombre significatif de morts dans une communauté de chimpanzés.

Sur 66 morts (ou disparitions probablement dues à la mort), dont 51 certaines, les corps de 22 individus seulement ont pu être trouvés pour les deux communautés étudiées entre 1963 et 1983. Les maladies représentent 55% de la mortalité, les blessures reçues lors de combats ou de chutes comptent pour 19,6%. Les autres cas sont dus à du cannibalisme (trois cas certains, trois supposés), la perte de la mère chez les jeunes (Goodall, 1986).

Dans la communauté de Kanyawara, à Kibale, 20 individus sont morts ou ont disparu de façon inexplicable depuis 1987. Sept individus sont morts de causes identifiées (Wrangham, comm. pers.):

- 2 cas de maladie respiratoire,
- 2 jeunes ont perdu leur mère ; l'un d'eux, fut, de plus, pris dans un piège,
- 2 individus ont été tués par d'autres chimpanzés (un sub-adulte et un jeune de 2 ans)
- 1 chimpanzé a été tué par un fermier

Trois individus d'âge avancé ont aussi disparu.

☞ *La forte proximité entre les pathogènes qui affectent les hommes et les chimpanzés confirme l'intérêt du choix de cette dernière espèce :*

Les chimpanzés ont à faire face à des maladies et problèmes sanitaires proches de ceux des humains et les éventuelles activités des plantes sur leur organisme sont susceptibles d'être similaires à celles produites sur celui des hommes.

Les cibles biologiques humaines sont relativement proches de celles que peuvent atteindre les pathogènes des chimpanzés.

I- SURVEILLANCE SANITAIRE ET OBSERVATIONS COMPORTEMENTALES DE L'ALIMENTATION DES CHIMPANZES

A- MATERIELS ET METHODES

1- Site d'étude

Les études de terrain ont été menées dans l'Ouest de l'Ouganda, dans le Parc National de Kibale, au pied des monts du Ruwenzori (Fig. 53).

Fig. 53 Situation et carte du Parc National de Kibale, Ouganda.



Le Parc National de Kibale s'étend sur 766 km² entre 0°41'N, 30° 0'13'N, 30°22'N. L'altitude oscille entre 1400 et 1700 m. Le terrain est vallonné, et la végétation comprend des éléments de forêt humide tropicale de plaine et de montagne et de la forêt décidue. Des zones de forêt secondaire et des plantations de pins et d'eucalyptus ainsi que des zones marécageuses font aussi partie du site. La canopée avoisine 30 m, mais certains arbres dépassent 50 m. La zone d'étude est particulièrement riche en *Diospyros abyssinica* (12,3% des 2111 arbres énumérés), *Markhamia platycalyx* (11,8%), *Celtis durandii* (10,9%), *Uvariopsis congensis* (9,8%) et *Bosqueia phoberos* (8,7%) (Chapman & Wrangham, 1993).

On distingue deux saisons des pluies – de mars à mai et de septembre à novembre - avec des périodes relativement sèches entre ces deux saisons. La moyenne des précipitations annuelles est proche de 1500 mm. Entre 1984 et 1991, la moyenne des précipitations fut en moyenne de 1671 mm variant entre 1561 et 1859 mm. Les observations correspondant à 52 années de données montrent que les précipitations en saison sèche sont en moyenne de 441 mm et de 1023 en saison des pluies à Fort Portal (Wing & Buss, 1970). Entre 1977 et 1983, les températures minimales et maximales ont été de 16,2°C (écart-type = 0,4) et 23,3°C (écart-type = 0,06) (Chapman & Wrangham, 1993).

La diversité floristique et faunistique est élevée dans le Parc National de Kibale, et on peut y rencontrer notamment 12 espèces de Primates (Tableau IV), des éléphants (*Loxodonta africana*), des hippopotames (*Hippopotamus amphibius*), des buffles (*Syncerus caffer*), des carnivores tels que des léopards (*Panthera pardus*), des hyènes (Ghiglieri, 1984), mais aussi des lions (*Panthera leo*) et des servals (*Felis serval*) (Chapman, comm. pers. sur le site de KNP).

Tableau IV. Espèces de Primates présents dans le Parc National de Kibale.

Site internet de KNP : <http://weber.ucsd.edu/~jmoore/apesites/Kibale/Kibale.html>

Espèce	Famille	Nom commun	Référence
<i>Galago demidovi</i>	Lorisidae	Bushbaby nain Galago de Dimidoff	Waser, 1987
<i>Galago inustus</i>	Lorisidae	<i>Bushbaby inustus</i> Galago du Congo	Waser, 1987
<i>Peridictus potto</i>	Lorisidae	Potto de Bosman	Waser, 1987
<i>Cercopithecus ascanius</i>	Cercopithecidae	<i>Red-tail monkey</i> Hocheur nez-blanc	Ghiglieri, 1984
<i>Cercopithecus aethiops</i>	Cercopithecidae	vervet	Chapman pers. com. sur le site internet de KNP
<i>Cercopithecus mitis</i>	Cercopithecidae	<i>Blue monkey</i> Cercopithèque diadème	Ghiglieri, 1984
<i>Cercopithecus lhoesti</i>	Cercopithecidae	L'hoesty monkey Cercopithèque de l'Hoest	Ghiglieri, 1984
<i>Cercocebus albigena johnstoni</i>	Cercopithecidae	Mangabey à gorge blanche	Ghiglieri, 1984
<i>Colobus badius tephroscelus</i>	Cercopithecidae	<i>Red colobus</i>	Ghiglieri, 1984
<i>Colobus guereza</i>	Cercopithecidae	Black and white colobus Guéreza du Kilimangjaro	Ghiglieri, 1984
<i>Papio anubis</i>	Cercopithecidae	Babouin, Papion anubis	Ghiglieri, 1984
<i>Pan troglodytes schweinfurthii</i>	Pongidae	Chimpanzé	Ghiglieri, 1984

Située à 35 km au sud de Fort Portal, la **station de recherche de l'Université de Makerere** (Makerere University Biological Field Center) se trouve près du village de Kanyawara, au cœur de la forêt. Fondée en 1970, cette station est destinée aux chercheurs de toutes nationalités désirant étudier l'écologie forestière. En effet, l'exploitation forestière s'est implantée dans les années 1960 et des plantations d'espèces d'arbres exotiques sont aussi pratiquées. L'impact de telles exploitations est particulièrement étudié (Skorupa, 1985).

Planche photos MUBFS

Le parc de Kibale est un îlot de forêt entouré de paysage anthropisé notamment par de très vastes plantations de thé. Le site de Kanyawara est aussi bordé de zones d'agriculture de subsistance. Des plantations d'espèces exotiques, comme le pin (*Pinus caribbaea*), sont établies au sommet des collines. Dans les zones marécageuses poussent des papyrus (*Cyperus papyrus*).

2- Sujets d'étude

On estime la population de chimpanzés en Ouganda à 3000 ou 4000 individus, dispersés en 12 blocs forestiers. Selon les zones forestières, les densités de populations varient de 1,3 à 5,3 individus par km² (Rooney, 1998). Des projets d'habitation ont été entrepris pour la recherche et le tourisme dans le Parc National de Kibale (deux projets de recherche à Kanyawara et Ngogo et un projet d'éco-tourisme à Kanianshu), à Kyambura Gorge dans le Parc National de Queen Elizabeth et à Budongo Forest, près du Parc National de Murchison Falls.

Les chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) étudiés appartiennent à la **communauté de Kanyawara**, dont le territoire se trouve au nord-ouest du **Parc National de Kibale**.

2.1 Projet d'habitation

Observés de façon brève et irrégulière lors des premières études en 1979 (Ghiglieri, 1984), Isabirye-Basuta les a, par la suite, suivis pendant 30 mois entre 1983 et 1985. Depuis 1987, les tentatives d'observations ont été continues et l'habitation a grandement progressé (Wrangham *et al.*, 1996). Par exemple, en 1988, les groupes pouvaient être observés au sol et en 1990, ils toléraient que les observateurs suivent leurs déplacements au sol 15 mètres derrière eux. Depuis décembre 1987, 6 jours par semaine ont été consacrés à la recherche des animaux et à leur observation par une ou deux équipes de 2 assistants. Malgré cet effort constant, le nombre d'heures d'observations mensuelles varie considérablement selon les périodes : sur 41 mois entre janvier 1991 et mai 1994, les chimpanzés ont été observés 83,7 heures en moyenne par mois (entre 4,7 et 219,7 heures), avec un écart-type de 53,7. Actuellement, des équipes partent quotidiennement à la recherche des chimpanzés et la plupart des individus tolèrent les observateurs à 5 mètres d'eux.

La population de chimpanzés n'a jamais reçu de supplémentation alimentaire de la part des humains, mais en période de faible disponibilité alimentaire, les chimpanzés vont régulièrement prélever des bananes, par exemple, dans les plantations des villages (Wrangham *et al.*, 1996). Le régime alimentaire des chimpanzés a été étudié par l'équipe de Richard W. Wrangham (Kibale Chimpanzee Project et Harvard University).

2.2 Régime alimentaire des chimpanzés de Kanyawara

Les aliments consommés ont été répertoriés dans le tableau V, en fonction de la fréquence de leur consommation et des quantités ingérées, un indice de consommation leur a été attribué (Wrangham, comm. pers.).

Tableau V. Aliments consommés par les chimpanzés de la communauté de Kanyawara, Kibale Forest, Ouganda, d'après R. Wrangham (communication personnelle).
Indice de consommation de 1 à 3 en fonction de la fréquence de consommation et de la quantité ingérée.

Famille	Espèce	Partie	Type de végétation	Indice de consommation
EUPHORBIACEAE	<i>Acalypha ornata</i>	Feuilles	Arbuste	1
ZINGIBERACEAE	<i>Aframomum angustifolia</i>	Tiges	Plante herbacée	1
ZINGIBERACEAE	<i>Aframomum angustifolia</i>	Pulpe	Plante herbacée	1
ZINGIBERACEAE	<i>Aframomum mala</i>	Tiges	Plante herbacée	1
ZINGIBERACEAE	<i>Aframomum mala</i>	Pulpe	Plante herbacée	1
ZINGIBERACEAE	<i>Aframomum mildbraedii</i>	Pulpe	Plante herbacée	1
ZINGIBERACEAE	<i>Aframomum usambarense</i>	Tiges	Plante herbacée	1
ZINGIBERACEAE	<i>Aframomum usambarense</i>	Pulpe	Plante herbacée	1
ZINGIBERACEAE	<i>Aframomum verrucosum</i>	Tiges	Plante herbacée	1
ZINGIBERACEAE	<i>Aframomum verrucosum</i>	Pulpe	Plante herbacée	1
ZINGIBERACEAE	<i>Aframomum zambesiicum</i>	Tiges	Plante herbacée	1
ZINGIBERACEAE	<i>Aframomum zambesiicum</i>	Pulpe	Plante herbacée	1
MIMOSACEAE	<i>Albizia grandibracteata</i>	Feuilles	Grand arbre	1
SAPOTACEAE	<i>Aningeria altissima</i>	Pulpe	Grand arbre	1
MORACEAE	<i>Antiaris toxicaria</i>	Feuilles	Grand arbre	1
MORACEAE	<i>Antiaris toxicaria</i>	Tiges	Grand arbre	1
SAPINDACEAE	<i>Aphania senegalensis</i>	Pulpe	Grand arbre	1
SAPINDACEAE	<i>Aphania senegalensis</i>	Feuilles	Grand arbre	1
SAPINDACEAE	<i>Blighia unijugata</i>	Pulpe	Petit arbre	1!
MORACEAE	<i>Bosqueia phoberos</i>	Feuilles	Grand arbre	1
RUBIACEAE	<i>Canthium ? rubrocostatum</i>	Feuilles	Arbuste	1
SAPINDACEAE	<i>Cardiospermum grandiflorum</i>	Feuilles	Plante grimpante	1
RHIZOPHORACEAE	<i>Cassipourea ruwensorensis</i>	Feuilles	Petit arbre	1
ULMACEAE	<i>Celtis africana</i>	Pulpe	Grand arbre	1
ULMACEAE	<i>Celtis durandii</i>	Pulpe	Grand arbre	1
ULMACEAE	<i>Celtis durandii</i>	Feuilles	Grand arbre	1
ULMACEAE	<i>Chaetacme aristata</i>	Ecorce	Petit arbre	1
ULMACEAE	<i>Chaetacme aristata</i>	Feuilles	Petit arbre	1
SAPOTACEAE	<i>Chrysophyllum albidum</i>	Pulpe	Grand arbre	1
VERBENACEAE	<i>Clerodendrum buchholzii</i>	Feuilles	Plante grimpante	1
STERCULIACEAE	<i>Cola giganteata</i>	Pulpe	Grand arbre	1
COMMELINACEAE	<i>Commelina (latifolia?)</i>	Feuilles	Plante herbacée	1
CONNARACEAE	<i>Connarus longistipitatus</i>	Feuilles	Petit arbre	1
BORAGINACEAE	<i>Cordia millenii</i>	Fleurs	Grand arbre	1
PAPILIONACEAE	<i>Craibia brownii</i>	Feuilles	Petit arbre	1
COMPOSITAE	<i>Crassocephalum bojeri</i>	Feuilles	Plante grimpante	1
CAESALPINIACEAE	<i>Cynometra alexandri</i>	Graines	Grand arbre	1
CYPERACEAE	<i>Cyperus papyrus</i>	Tiges	Plante herbacée	1
SOLANACEAE	<i>Cyphomandra batataceae</i>	Tiges	Plante herbacée	1
FLACOURTIACEAE	<i>Dasylepis eggelingi</i>	Pulpe	Petit arbre	1

EBENACEAE	<i>Diospyros abyssinica</i>	Ecorce	Petit arbre	1
EBENACEAE	<i>Diospyros abyssinica</i>	Feuilles	Petit arbre	1
STERCULIACEAE	<i>Dombeya mukole</i>	Ecorce	Petit arbre	1
FLACOURTIACEAE	<i>Dovyalis macrocalyx</i>	Pulpe	Arbuste	1
EUPHORBIACEAE	<i>Drypetes battiscombei</i>	Pulpe	Grand arbre	1
MUSACEAE	<i>Ensete ventricosum</i>	Tiges	Plante herbacée	1
MUSACEAE	<i>Ensete ventricosum</i>	Pulpe	Plante herbacée	1
RUTACEAE	<i>Fagaropsis angolensis</i>	Feuilles	Grand arbre	1
MORACEAE	<i>Ficus asperifolia</i>	Feuilles	Arbuste	1
MORACEAE	<i>Ficus asperifolia</i>	Pulpe	Arbuste	1
MORACEAE	<i>Ficus brachypoda</i>	Ecorce	Grand arbre	1
MORACEAE	<i>Ficus brachypoda</i>	Feuilles	Grand arbre	1
MORACEAE	<i>Ficus brachypoda</i>	Pulpe	Grand arbre	1
MORACEAE	<i>Ficus capensis</i>	Pulpe	Grand arbre	1
MORACEAE	<i>Ficus congensis</i>	Pulpe	Grand arbre	1
MORACEAE	<i>Ficus cyathistipula</i>	Pulpe	Petit arbre	1
MORACEAE	<i>Ficus dawei</i>	Ecorce	Grand arbre	1
MORACEAE	<i>Ficus dawei</i>	Pulpe	Grand arbre	1
MORACEAE	<i>Ficus exasperata</i>	Feuilles	Grand arbre	1
MORACEAE	<i>Ficus exasperata</i>	Pulpe	Grand arbre	1
MORACEAE	<i>Ficus kitubalu</i>	Pulpe	Grand arbre	1
MORACEAE	<i>Ficus macrosperma</i>	Ecorce	Grand arbre	1
MORACEAE	<i>Ficus macrosperma</i>	Feuilles	Grand arbre	1
MORACEAE	<i>Ficus mucoso</i>	Feuilles	Grand arbre	1
MORACEAE	<i>Ficus natalensis</i>	Ecorce	Grand arbre	1
MORACEAE	<i>Ficus natalensis</i>	Feuilles	Grand arbre	1
MORACEAE	<i>Ficus ottoniifolia</i>	Pulpe	Petit arbre	1
MORACEAE	<i>Ficus stipulifera</i>	Pulpe	Petit arbre	1
MORACEAE	<i>Ficus thoningii</i>	Pulpe	Arbre	1
SIMAROUBACEAE	<i>Harrisonia occidentalis</i>	Pulpe	Petit arbre	1
CELASTRACEAE	<i>Hippocratea indica</i>	Feuilles	Liane	1
LABIATAE	<i>Hoslundia opposita</i>	Pulpe	Arbuste	1
HERNANDIACEAE	<i>Illigera pentaphylla</i>	Feuilles	Liane	1
CONVOLVULACEAE	<i>Ipomoea spathulata</i>	Feuilles	Plante grimpante	1
OLEACEAE	<i>Jasminum sp.</i>	Feuilles	Plante grimpante	1
ANACARDIACEAE	<i>Lanea welwitschii</i>	Pulpe	Grand arbre	1
URTICACEAE	<i>Laportea (Fleurya) aestuans</i>	Fleurs	Plante herbacée	1
CONVOLVULACEAE	<i>Lepistemon owariense</i>	Feuilles	Plante grimpante	1
MELIACEAE	<i>Lovoa swynnertonii</i>	Feuilles	Grand arbre	1
MARANTACEAE	<i>Marantochloa leucantha</i>	Pulpe	Arbuste	1
BIGNONIACEAE	<i>Markhamia platycalyx</i>	Ecorce	Grand arbre	1
BIGNONIACEAE	<i>Markhamia platycalyx</i>	Feuilles	Grand arbre	1
PAPILIONACEAE	<i>Milletia dura</i>	Feuilles	Petit arbre	1
ACANTHACEAE	<i>Mimulopsis arboreus</i>	Fleurs	Arbuste	1
ACANTHACEAE	<i>Mimulopsis arboreus</i>	Feuilles	Arbuste	1
SAPOTACEAE	<i>Mimusops bagshawei</i>	Feuilles	Grand arbre	1
ANNONACEAE	<i>Monodora myristica</i>	Feuilles	Grand arbre	1
MORACEAE	<i>Morus lactea</i>	Feuilles	Grand arbre	1
MUSACEAE	<i>Musa banana</i>	Tiges	Plante herbacée	1

MUSACEAE	<i>Musa banana</i>	Pulpe	Plante herbacée	1
MUSACEAE	<i>Musa sp.</i>	Tiges	Plante herbacée	1
MUSACEAE	<i>Musa sp.</i>	Pulpe	Plante herbacée	1
MORACEAE	<i>Myrianthus arboreus</i>	Feuilles	Petit arbre	1
MORACEAE	<i>Myrianthus arboreus</i>	Tiges	Petit arbre	1
MORACEAE	<i>Myrianthus arboreus</i>	Pulpe	Petit arbre	1
MIMOSACEAE	<i>Newtonia buchananii</i>	Bois	Grand arbre	1
MIMOSACEAE	<i>Newtonia buchananii</i>	Feuilles	Grand arbre	1
OLEACEAE	<i>Olea welwitschii</i>	Bois	Grand arbre	1
FLACOURTIACEAE	<i>Oncoba routledgei</i>	Pulpe	Petit arbre	1
COMMELINACEAE	<i>Palisota sp.</i>	Feuilles	Plante herbacée	1
SAPINDACEAE	<i>Pancovia turbinata</i>	Pulpe	Petit arbre	1
PASSIFLORACEAE	<i>Passiflora subpeltata</i>	Pulpe	Liane	1
THYMELAEACEAE	<i>Peddiea fischeri</i>	Pulpe	?	1
PALMAE	<i>Phoenix reclinata</i>	Tiges	Grand arbre	1
PIPERACEAE	<i>Piper capense</i>	Tiges	Plante herbacée	1
PIPERACEAE	<i>Piper umbellatum</i>	Tiges	Plante herbacée	1
VERBENACEAE	<i>Premna angolensis</i>	Fleurs	Arbuste	1
ANACARDIACEAE	<i>Pseudospondias microcarpa</i>	Ecorce	Arbre	1
ANACARDIACEAE	<i>Pseudospondias microcarpa</i>	Fleurs	Arbre	1
ANACARDIACEAE	<i>Pseudospondias microcarpa</i>	Feuilles	Arbre	1
ANACARDIACEAE	<i>Pseudospondias microcarpa</i>	Graines	Arbre	1
ADIANTACEAE	<i>Pteris freisii</i>	Feuilles	Plante herbacée	1
STERCULIACEAE	<i>Pterygota mildbraedii</i>	Ecorce	Grand arbre	1
STERCULIACEAE	<i>Pterygota mildbraedii</i>	Feuilles	Grand arbre	1
STERCULIACEAE	<i>Pterygota mildbraedii</i>	Graines	Grand arbre	1
STERCULIACEAE	<i>Pterygota mildbraedii</i>	Fleurs	Grand arbre	1
STERCULIACEAE	<i>Pterygota mildbraedii</i>	Bois	Grand arbre	1
ZINGIBERACEAE	<i>Renalmia congolana</i>	Tiges	Plante herbacée	1
ZINGIBERACEAE	<i>Renalmia congolana</i>	Pulpe	Plante herbacée	1
RUBIACEAE	<i>Rothmannia (Randia) urcelliformis</i>	Pulpe	Petit arbre	1
RUBIACEAE	<i>Rubia cordifolia</i>	Feuilles	Plante herbacée	1
ROSACEAE	<i>Rubus apetalus</i>	Pulpe	Arbuste	1
EUPHORBIACEAE	<i>Securinea virosa</i>	Pulpe	Arbuste	1
SOLANACEAE	<i>Solanum bifurcum</i>	Feuilles	Plante herbacée	1
SOLANACEAE	<i>Solanum mukibii</i>	Pulpe	Plante herbacée	1
SOLANACEAE	<i>Solanum sp.</i>	Feuilles	Plante herbacée	1
LOGANIACEAE	<i>Strychnos mitis</i>	Pulpe	Grand arbre	1
ASCLEPIADACEAE	<i>Telosma africana</i>	Feuilles	Plante herbacée	1
RUTACEAE	<i>Toddalia asiatica</i>	Pulpe	Liane	1
MORACEAE	<i>Treculia africana</i>	Pulpe	Grand arbre	1
MORACEAE	<i>Treculia africana</i>	Graines	Grand arbre	1
MELIACEAE	<i>Trichilia splendida</i>	Fleurs	Arbuste	1
MELIACEAE	<i>Trichilia splendida</i>	Graines	Grand arbre	1
MELIACEAE	<i>Trichilia splendida (dragaena)</i>	Feuilles	Grand arbre	1
TILIACEAE	<i>Triumfetta macrophylla</i>	Feuilles	Plante herbacée	1
TILIACEAE	<i>Triumfetta tomentosa</i>	Feuilles	Plante herbacée	1
MELIACEAE	<i>Turraeanthus africanus</i>	Feuilles	Petit arbre	1
URTICACEAE	<i>Urera hypsiloides</i>	Feuilles	Plante grimpante	1
URTICACEAE	<i>Urera hypsiloides</i>	Pulpe	Plante grimpante	1

ANNONACEAE	<i>Uvariopsis congensis</i>	Feuilles	Petit arbre	1
RUBIACEAE	<i>Vangueria apiculata</i>	Pulpe	Petit arbre	1
COMPOSITAE	<i>Vernonia auricurifera</i>	Tiges	Arbuste	1
COMPOSITAE	<i>Vernonia tufnel</i>	Feuilles	Plante herbacée	1
CANELLACEAE	<i>Warburgia ugandensis</i>	Pulpe	Grand arbre	1
ACANTHACEAE	<i>Acanthus pubescens</i>	Tiges	Arbuste	2
ULMACEAE	<i>Celtis africana</i>	Feuilles	Grand arbre	2
BORAGINACEAE	<i>Cordia africana</i>	Pulpe	Arbre moyen	2
BORAGINACEAE	<i>Cordia millenii</i>	Pulpe	Grand arbre	2
OLEACEAE	<i>Linociera johnsonii</i>	Pulpe	Petit arbre	2
MARANTACEAE	<i>Marantochloa leucantha</i>	Tiges	Plante herbacée	2
GRAMINEAE	<i>Pennisetum purpureum</i>	Tiges	Plante herbacée	2
PHYTOLACCACEAE	<i>Phytolacca dodecandra</i>	Pulpe	Plante herbacée	2
ANACARDIACEAE	<i>Pseudospondias microcarpa</i>	Pulpe	Arbre	2
RUTACEAE	<i>Teclea nobilis</i>	Pulpe	Arbre	2
MORACEAE	<i>Ficus macrosperma</i>	Pulpe	Grand arbre	3
MORACEAE	<i>Ficus mucoso</i>	Pulpe	Grand arbre	3
MORACEAE	<i>Ficus natalensis</i>	Pulpe	Grand arbre	3
SAPOTACEAE	<i>Mimusops bagshawei</i>	Pulpe	Grand arbre	3
ANNONACEAE	<i>Monodora myristica</i>	Pulpe	Grand arbre	3
APOCYNACEAE	<i>Tabernaemontana holstii</i>	Pulpe	Petit arbre	3
APOCYNACEAE	<i>Tabernaemontana odoratissima</i>	Pulpe	Petit arbre	3

2.3 Composition de la communauté

En juin 1999, on comptait 48 individus dans la communauté de Kanyawara : 10 mâles adultes, 2 femelles non-suitées et 14 mères et leurs enfants (10 femelles, 10 mâles et deux jeunes de sexe non-identifiés). Nous avons répertorié les chimpanzés de la communauté présents au cours de nos études de terrain dans le tableau VI.

Tableau VI. Identité, sexe et date de naissances des chimpanzés de la communauté de Kanyawara .

Les noms des chimpanzés sont représentés par un code de deux lettres, la première étant commune à la mère (en caractères gras) et à ses enfants.

Identité	Code Identité	Sexe	Date de naissance
Stout	ST	Mâle	1955?
Tofu	TU	Mâle	1960?
Stocky	SY	Mâle	1964?
Big Brown	BB	Mâle	1966?
Light Brown	LB	Mâle	1968?
Slim	SL	Mâle	1971?
Yogi	YB	Mâle	1973?
Johnny	AJ	Mâle	1974?
Imoso	MS	Mâle	1975?
Makoku	LK	Mâle	1982?
Nyenka	NE	Femelle	1983?
<i>Mères et jeunes du Nord</i>			

Eksigi	EK	Femelle	
Edouard	ED	Mâle	1988
Eslom	ES	Mâle	1994
Elgon	EL		oct-1998
Josta	JO	Femelle	
Kana	JK	Femelle	nov-1992
Mususu	MU	Femelle	
Max	MX	Mâle	jan-1999
Pepsi	PE	Femelle	
Cola	PC	Mâle	1992
Stump	PU	Femelle	
Twig	PG	Mâle	1988
Bud	PB	Mâle	jan-1995
<i>Mères et jeunes du Centre</i>			
Nile	NL	Femelle	1982?
Nile Special	NS	Femelle	fév-2000
Lia	AL	Femelle	
Y2K	AT	Mâle	oct-2000
Auntie Rose	AR	Femelle	
Sanyu	AS	Femelle	oct-1990
Mandela	AM	Mâle	juil-1998
Kabarole	KL	Femelle	
Kakama	KK	Mâle	juil-1985
Kaboyo	KB	Mâle	mai-1998
Lope	LP	Femelle	
Rosa	LR	Femelle	mai-1989
Ipassa	LS	Femelle	nov-1996
Outamba	OU	Femelle	
Kilimi	OK	Femelle	nov-1994
Tenkere	OT	Femelle	fév-1998
Tuber		Mâle	nov-2000
Tongo	TG	Femelle	
Lanjo	TJ	Mâle	aoû-1995
<i>Mères et jeunes du Sud</i>			
Bubbles	BL	Femelle	
Barbara	BR	Femelle	1989
Beatle	BE	Mâle	aoû-1995
Budongo	BU	Femelle	déc-1997
Gombe	GO	Femelle	
Goodall	GA	Femelle	jan-1991
Umbrella	UM	Femelle	
Uganda	UG	Mâle	nov-1996
Uhuru	UH	Mâle	avr-1999

Tous les individus sont identifiés et reconnus grâce à des caractéristiques physiques (Tableau VII).

Tableau VII. Critères de reconnaissance des chimpanzés mâles de la communauté de Kanyawara.

nom	mutilations	taille	face	yeux	Mains et pieds	tête	dos	Commentaires
Imosso MS 1975	Aucune	Moyenne	Claire avec taches de rousseur ridée	Clairs	Bon état		Noir, étroit et brun sur l'arrière-train	Alpha male Gros testicules Beaucoup de charges
Tofu TU 1960	Haut de l'oreille droite coupée	Grande, gros	Longue, noire, ridée, fine barbe grise	sombres	Bon état	Étroite	Noir moucheté de gris	Poils fins charge les observateurs
Big Brown BB 1966	Deux doigts (annulaire et majeur) de la main gauche absents	Le plus gros	Grosse, carrée, brun clair avec de taches foncées, ridée	Brun clair	Piège sur la main droite	Grosse et carrée	Noir, brun sur l'arrière-train, rayures sombres sur l'arrière du cou	
Johnny AJ 1974	Articulations des doigts de la main gauche gonflées	moyenne	Sympathique, peau lisse, peau claire	Sombres	Mauvaise main gauche	Grosse, longue chauve	Large dans le bas, épaules noires, le reste brun	S'approche des observateurs
Slim SL 1971	aucune	Le plus petit des mâles adultes	Large et courte, plate, noire	Sombres	Bon état	Courte, plate, chauve	Noir	Timide, difficile à suivre
Stout ST 1955	Oreille droite entaillée	Moyenne	Longue, marron foncée barbe grise Haut de la bouche qui avance	clairs	Mains OK, orteils pied gauche manquant	chauve	Haut sombre, bas brun, séparation prononcée	
Light Brown LB 1968	Aucune	Le plus grand	Bouche fine, barbe grise, lèvre inférieure tombante	Petits, rapprochés	Bon état	Plate, poils de la tête hérissés	Sombre et plus clair dans le bas	Petits testicules
Badfoot BF 1966	Orteils manquants au pied gauche	Petit et gros	Ronde, grosse, brune, petite barbe grise		Mauvais pied gauche	Ronde, chauve	Noir, brun	Gros testicules
Yogi YB 1973	Oreille droite déchirée, la plupart des doigts des 2 mains manquants	Petit	Fine		Mains mutilées		Cheveux noirs rebiquant sur les épaules	Marche voûté en boitant
Stocky SY 1964	Mauvais poignet droit Main droite atrophiée	Moyenne	Longue, sombre, plate, Longue barbe grise	Œil gauche bleu	Mauvaise main droite	Chauve	Noir, un peu brun en bas du dos	Mâle adulte de plus bas rang
Makoku LK 1982	Dgts 4 et 5 de la main gche manquants	Petit, mince	Sombre et longue Lèvre inférieure pendante Gdes oreilles	sombres	Mauvaise main gauche	chauve	Noir Bas du dos voussé id celui de sa mère	Fils de Lope, Hanche gauche arthrosique, boîte
Kakama KK 1985	Poignet gauche pris dans un piège, suppurant encore	Petit	Sombre, ridée, longs poils sur les joues, grandes oreilles	sombres	Mauvaise main gauche		Noir	Fils de Kabarole
Twig PG 1988	Pas de main droite, coupée bien au dessus du poignet	Petit			Pas de main droite			Fils de Stump Beaucoup de bipédie, s'accroche aux arbustes pour se déplacer

Les transects

Fig. 54 La zone d'étude de Kanyawara et les transects

Trois mâles dominants (alpha-mâles) se sont succédés depuis le début du suivi de la communauté : lorsque les premières observations ont été entreprises, en 1987, SY était dominant. Il est resté alpha-mâle jusqu'en mars 1994. Par la suite, BB est devenu dominant jusqu'à ce que MS prenne ce rang, début 1998.

2.4 Le « territoire » de la communauté

Avant que les individus de la communauté ne soient connus individuellement, les estimations de population étaient réalisées par la méthode de comptage des nids. Le parc de Kibale est divisé virtuellement en plusieurs compartiments (Fig. 54). Le territoire de la communauté de Kanyawara correspond en particulier au compartiment K30. Selon les périodes d'étude, on comptait dans ce compartiment une densité de population comprise entre 2,61 (mars 1981) et 4,18 (décembre 1977), alors que dans les compartiments 12, 13, 14, 15 et 17, on dénombrait seulement 0,20 chimpanzés/ km² (mai 1978) (Ghiglieri, 1984).

Depuis le suivi et l'habituation des chimpanzés, il est désormais connu que la communauté étudiée, dont le territoire s'étend sur environ 20 km², se compose d'environ 50 individus. **La densité de population est donc estimée actuellement à 2,5 individus / km² (Wrangham *et al.*, 1991).**

20% de l'ensemble du territoire des chimpanzés de Kanyawara sont faiblement perturbés par les exploitations forestières. D'autres secteurs totalisant 20 autres pour-cent du territoire sont plus fortement exploités. Les plantations de pins représentent 15% de l'habitat des chimpanzés et les marécages à papyrus 3%. On considère que seuls 30% du territoire de la communauté ne sont pas ou peu perturbés (Wrangham *et al.*, 1996).

3- Périodes d'étude

Au cours du mois de **novembre 1999**, une mission préliminaire de terrain a été entreprise. Elle s'est déroulée en saison des pluies. Destinée à évaluer la possibilité d'étudier les chimpanzés de la communauté de Kanyawara dans le cadre du sujet envisagé, cette mission-pilote d'un mois a permis de mettre au point les protocoles d'étude sanitaire et comportementale.

Les missions de collecte de plantes et de données biologiques sur les chimpanzés se sont déroulées au cours de quatre mois de saison sèche, de **début décembre 2000 à fin février 2001** et d'un mois en saison des pluies, en **octobre 2001**.

4- Méthodes d'observations comportementales

4.1 Évaluation du budget d'activité

Les animaux sont habituellement suivis de l'aube à la tombée de la nuit, moment où ils construisent leurs nids. La localisation des nids est alors identifiée précisément, ce qui permet de s'y rendre le lendemain matin, vers 5h30, avant le réveil des chimpanzés et de les suivre au cours de la journée. Les chimpanzés les mieux habitués peuvent être suivis à vue et par leurs traces, mais il arrive dans de nombreuses circonstances (déplacements rapides, forêt très dense, zone de marécage...) que les observateurs perdent la trace des animaux. Ils peuvent alors être localisés grâce à leurs vocalisations. Il est aussi possible de vérifier leur présence dans les différents arbres où ils sont susceptibles de se nourrir.

- Les observations comportementales sont faites habituellement par la méthode dite de **focal sampling** (Altman, 1974). Pendant une période de 10 minutes (*scan*), les activités d'un individu «cible» sont enregistrées. L'individu cible que l'on choisit change aussi souvent que possible.

Les comportements sont classés en huit **catégories majeures d'activités** :

- repos,
- déplacement (avec de courtes pauses),
- *foraging* (recherche et collecte de nourriture) et alimentation,
- *grooming* ou épouillage social,
- jeu,
- comportements sociaux agonistiques,
- activités de maintenance (*self-grooming* ou auto-épouillage, émission d'urine de selles...),
- diverses activités (copulation...).

Le **budget d'activité** est le temps passé pour chaque catégorie d'activité rapporté au temps total d'observation.

- Des observations ***ad libitum*** sont conduites lorsque des comportements particuliers sont détectés.
On utilise aussi cette méthode pour les individus dont on veut préciser l'état sanitaire.

4.2 Comportement et régime alimentaires

Les aliments consommés sont identifiés chaque fois que possible (espèce botanique, partie de plante) à la fois en utilisant les observations ***ad libitum*** et la méthode systématique de ***focal sampling***.

Plusieurs types d'indicateurs sont utilisés afin de définir l'alimentation des animaux.

- Le comportement alimentaire est déterminé par **le temps passé à s'alimenter** au cours des *scans* de 10 minutes observés.
Si N est le nombre total d'observations dans la journée et N_A , le nombre d'observation où le(s) chimpanzé(s) s'alimente(nt), le temps d'alimentation est N_A/N .
- Les observations de type *focal sampling* et *ad libitum* sont utilisées pour évaluer le **nombre d'items** dans le régime alimentaire.
Différentes catégories d'aliments consommés sont définies :
 - les aliments d'origine végétale représentées par les fruits, les graines et les fleurs
 - les parties végétatives des plantes comprenant feuilles, tiges, écorce, sève
 - les aliments d'origine animale comme les mammifères chassés, le miel, ou les insectes
 - l'alimentation d'origine minérale comme la terre

La **proportion des catégories d'aliments** correspond au temps passé par le ou les individus à les consommer/N.

- Par ailleurs, des observations *ad libitum* permettent d'enregistrer plus précisément des **comportements particuliers** ayant par exemple trait à de potentiels comportements d'automédication.
- **La contribution relative de chaque espèce au régime alimentaire a été déterminée. La diversité alimentaire et ses variations sont évaluées d'une part, par le nombre d'espèces consommées chaque mois, puis par l'index de diversité ou entropie de Shannon (H') et l'index standardisé sur une échelle de 0 à 1 de Shannon-Wiener (J') (Krebs, 1989).**

$$H' = - (p_1 \ln p_1 + p_2 \ln p_2 + \dots + p_n \ln p_n)$$

$$J' = - (p_1 \ln p_1 + p_2 \ln p_2 + \dots + p_n \ln p_n) / \ln n$$

avec p_1, p_2, \dots, p_n les abondances proportionnelles des i items de l'échantillon (Hill, 1973). La diversité alimentaire a été calculée sur des périodes d'un mois.

Malgré les limites importantes pour l'identification des parties végétatives, la méthode d'**analyse coprologique des restes alimentaires** est utilisée car elle permet parfois d'apporter des informations complémentaires aux observations directes. En effet, les chimpanzés avalent souvent les graines en même temps que la pulpe des fruits et elles sont alors retrouvées intactes dans les selles. L'analyse coprologique témoigne de moments qui précèdent les observations. Des restes d'animaux dont les chasses n'ont pas toujours été observées peuvent être trouvés. Le **nombre d'espèces de graines** différentes trouvées dans les selles est évalué.

Les espèces de figes ne peuvent néanmoins pas être identifiées par cette méthode. La **fibrosité** des selles est estimée sur une échelle allant de 0 à 3, dans le but d'évaluer la richesse du régime alimentaire en parties végétatives.

Les **éléments d'origine animale** (dents, os, poils, peau...) sont aussi recherchés.

5- Méthodes de surveillance sanitaire

L'état de santé des animaux est évalué par différentes **méthodes non-invasives**, qualitatives et quantitatives. Un diagnostic clinique est pratiqué sur chaque animal ; des selles et des urines sont collectées chaque fois que possible.

5.1 Observations cliniques

L'état général de chaque individu suivi est évalué chaque jour par des observations cliniques individuelles.

Les fonctions respiratoires, digestives, reproductrices et urinaires, ainsi que la locomotion, sont évaluées. L'attention est portée sur des signes qualitatifs, tels l'appétit et les comportements involontaires comme la toux, les éternuements, etc. Les troubles détectés sont notés sur des fiches cliniques.

Les budgets d'activité, calculés d'après les observations comportementales, permettent de mettre en évidence ou de confirmer le diagnostic portant sur un animal apathique ou anorexique, par comparaison au budget d'activité moyen calculé sur la somme des observations. Les animaux présentant des symptômes sont surveillés et suivis préférentiellement. Des observations *ad libitum* sont pratiquées pour juger de l'évolution de la maladie et connaître le plus précisément possible leur régime alimentaire.

5.2 Coprologie

5.2.1 Au cours de la mission pilote de Novembre 1999

Toutes les fèces de chimpanzés trouvées au cours des observations de la mission-pilote sont collectées et séparées en trois échantillons qui sont placés dans du formol à 10%, de l'Alcool Poly-Vinyle (APV), et du Merthiolate-Iode-Formol (MIF) afin d'évaluer ultérieurement la charge parasitaire.

Pour chaque échantillon, on note la date et l'heure de la collecte, la localisation de l'animal lors de l'émission des selles (sol ou arbre, auquel cas les fèces sont souvent très désagrégées), la quantité récoltée, l'identité de l'animal, la couleur, la consistance, la fibrosité de l'échantillon (+, ++, +++), l'abondance des graines (nombre si très faible quantité, ou + à ++++) et leur identification si possible, la présence d'autres éléments végétaux, de matière animale, de mucus, de sang et de macroparasites.

Trois protocoles d'analyse à partir des **selles conservées dans le formol** ont été pratiqués au sein du service de *Biologie Moléculaire et Immunologie Parasitaires et Fongiques de*

l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (ENVA), Maisons-Alfort, France, dirigé par le Professeur René Chermette, grâce à l'aide du Dr. Jacques Guillot.

Tableau VIII. Protocoles des analyses de selles utilisés à l'E.N.V.A.

Technique de Mac Master

Mettre 5 g de selles dans une éprouvette
Ajouter 75 ml de MgSO₄
Mélanger avec un agitateur
Mettre un tamis sur un bécher et y verser le sulfate de magnésium
Broyer
Prélever le liquide de broyat avec une pipette Pasteur
Remplir les cellules de Mac Master
Lire après 5 minutes

Flottation totale

Dans un tube à essai, verser le liquide de broyat obtenu précédemment jusqu'à former un dôme
Déposer une lamelle
Lire après les cellules de Mac Master

Concentration diphasique

Mettre un peu de selles dans une éprouvette, ajouter 10 ml de formol à 10%
Mélanger
Mettre un tamis sur le bécher et y verser le mélange
Broyer
Verser 7 ml du broyat dans une petite éprouvette
Ajouter 3 ml d'éther
Mélanger
Centrifuger à 2000 tours/min pendant 5 min et examiner le culot

Le protocole de flottation et de lecture par les cellules de Mac Master (technique de Mac Master) a été adapté car la quantité disponible de fèces était insuffisante. 1 ou 2 g de selles ont été généralement analysés et la quantité de MgSO₄ utilisée respectivement de 15 ou 30 ml.

Les lames fixées à l'APV doivent être colorées au trichrome. Leur lecture ainsi qu'un examen direct des échantillons conservés dans le MIF a été réalisé au *Service de Parasitologie de l'Hôpital Saint-Antoine, Paris, France*, avec l'aide du Dr. Anne-Marie Deluol.

5.2.2 Au cours des deux missions 2000-2001

Au cours des observations comportementales des deux missions de terrain de 2000-2001, nous avons collecté **les selles fraîches d'individus clairement identifiés**. Chaque selle est inspectée macroscopiquement, immédiatement après défécation pour vérifier la présence éventuelle de parasites adultes, l'aspect et la consistance sont notées, ainsi que la présence éventuelle de sang en nature (rouge, signant une hémorragie digestive basse, colon ou rectum)

ou digéré (l'hémorragie pouvant provenir alors du tractus digestif haut, estomac ou intestin grêle). Dans le but d'obtenir des informations rapides, la technique de flottation et de lecture par les lames de Mac Master a été pratiquée sur le terrain. Ceci permet d'adapter les observations comportementales et cliniques en suivant plus particulièrement un individu en cas de résultats montrant une infestation importante.

➤ *Technique de Mac Master sur selles fraîches*

Les selles sont placées individuellement dans un sachet neuf et analysées dès le retour à la *station de recherche*, par la technique de flottation au sulfate de magnésium, décrite précédemment. On procède à la lecture microscopique avec une cellule de Mac Master et le nombre d'éléments parasitaires présents est calculé (méthode de Gordon et Whitlock dans Bailanger, 1973).

Les autres prélèvements ont été analysés dans le service de *Biologie et contrôle des organismes parasites de la Faculté de Pharmacie Chatenay-Malabry (France)* grâce à la collaboration des Drs. Christian Bories et Geneviève Madulo.

Un prélèvement de 2 grammes de chaque échantillon, réalisé dès le retour à la station de recherche, est conservé dans 18 ml d'une solution de formol officinal à 10% pour mesurer la charge parasitaire et rechercher les parasites les moins abondants par concentration diphasique.

➤ *Examen direct des selles formolées*

Les échantillons formolés sont l'objet d'une analyse directe avec comptage microscopique des parasites (œufs et larves) après homogénéisation de quatre gouttes de 50 μ l. Dans le dessein de prendre en compte la consistance des fèces, la charge parasitaire ainsi déterminée est multipliée par deux si les selles sont molles ou collantes, par trois si elles sont diarrhéiques ("charge parasitaire corrigée") (Herberg *et al.*, 1986).

➤ *Concentration diphasique formol/éther sur selles formolées*

Une concentration par une méthode diphasique formol/éther a permis la recherche des parasites les moins abondants dans les échantillons formolés.

➤ *Examen direct des échantillons conservés dans le MIF*

Une partie de selles de 0,5 g est fixée dès le retour à la station de recherche dans une solution de Merthiolate-Iode-Formol (MIF). Ces derniers échantillons sont examinés dans les 6 mois. Les échantillons conservés dans le MIF permettent d'identifier les kystes de protozoaires.

5.3 Analyses d'urine

Les urines des chimpanzés émises depuis les arbres sont collectées, soit au moyen d'un sac plastique enfilé sur une fourche d'arbre et formant une cuvette, placé sous l'individu en miction, soit en pipetant l'urine déposée sur les feuilles d'arbre. Seules les urines non souillées par la terre ou les selles sont recueillies et conservées. Les échantillons sont placés dans des microtubes et testés à l'aide de **bandelettes urinaires** (Multistix 10 SG Bayer™) dès le retour à la station de recherche.

L'identité du chimpanzé, la date et l'heure de la miction (les premières urines lorsque le chimpanzé urine depuis son nid sont plus concentrées et donc plus à même de permettre de

détecter une anomalie) sont notées. La localisation et le moyen de collecte (sac plastique ou pipetage sur les feuilles), la quantité récoltée ainsi que l'aspect macroscopique comprenant la couleur, la turbidité, l'éventuelle présence de sang ou de cristaux sont précisés.

La présence et la quantité des paramètres suivants sont estimées par lecture de la bandelette urinaire :

- la bilirubine (produit de dégradation de l'hémoglobine)
- l'urobilinogène (produit de dégradation de la bilirubine)
- le glucose
- l'hémoglobine (pouvant signer une hémolyse)
- les corps cétoniques (sous produit du métabolisme des lipides)
- les nitrites
- les protéines
- le pH
- la densité urinaire
- la présence d'érythrocytes
- la présence de leucocytes

5.4 Analyses statistiques

Les tests statistiques, principalement des tests t uni ou bilatéraux pour évaluer des différences de moyennes et de pourcentages entre deux groupes avec une valeur de significativité p, sont réalisés à l'aide du logiciel Statistica™ (Statsoft™).

Etude mutlidisciplinaire

Collecte d'urine par John

B- RESULTATS DES OBSERVATIONS COMPORTEMENTALES ET SANITAIRES DES CHIMPANZES

1- Budgets d'activité

Au cours de la mission de novembre 1999, nous avons rencontré 25 individus dont 7 mâles adultes, 7 femelles adultes accompagnées de 5 sub-adultes et 6 jeunes enfants, correspondant à 6 familles. Quatre de ces familles étaient originaires de la zone dite du « Centre » de Kanyawara, 2 du « Sud ». Nous n'avons rencontré aucun individu du « Nord ». Les 66,5 heures d'observations comprennent 29,2% de temps d'alimentation, 30,4% de repos, 17,9% de déplacements et 14,3% de *grooming*.

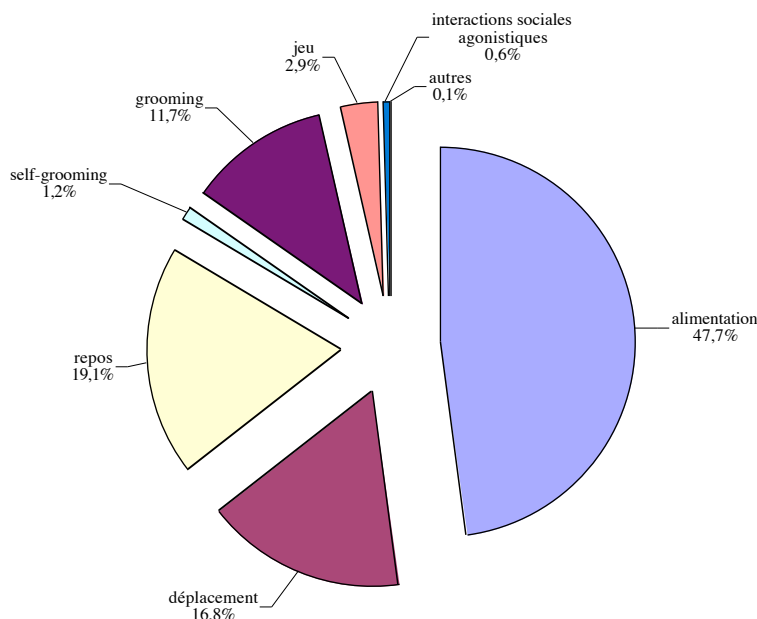
Au cours des missions 2000-2001, nous avons rencontré les 15 mères et l'ensemble de leurs enfants de la communauté de Kanyawara, sauf BR qui semble avoir rejoint une autre communauté. Tous les mâles ont été observés, mais SY n'a pas été revu lors des missions 2000-2001 et LB n'a pas été vu lors de la mission d'octobre 2001. TG a mis bas trois semaines avant le début de la mission de décembre 2000 et NL environ 8 mois avant. MU et son fils MX, qui n'avaient pas été vus depuis plus d'un an, ont pu être observés en février 2001.

Entre décembre 2000 et Février 2001, 2692 *scans* (période de 10 min d'observation) soit 448,7 heures d'observations ont été enregistrés. Au mois d'octobre 2001, 1172 *scans* correspondant à 195,3 heures d'observations ont été effectuées.

Sur l'ensemble des **644 heures d'observation**, 47,7% du temps ont été passés par les chimpanzés à s'alimenter. Leurs déplacements ont représenté 16,7% des observations, alors que le repos correspondait à 19% du temps d'observation. Les activités sociales – *grooming*, jeu et interactions sociales agonistiques- ont occupé 15,2% du temps (Tableau IX).

Tableau IX. Budget d'activité des chimpanzés de Kanyawara

	alime` tatio`	déplaceme` t	repos	self- groomi` g	groomi` g	jeu	i` teractio` s sociales ago` istiques	autres
saiso` sèche	47,12%	17,58%	19,18%	1,27%	11,41%	2,99%	0,34%	0,12%
saiso` des pluies	49,04%	14,97%	18,79%	1,04%	12,39%	2,66%	1,11%	
e` semble de l'étude	47,70%	16,79%	19,06%	1,20%	11,70%	2,89%	0,57%	0,08%



2- Comportement et régime alimentaires

2.1 Composition du régime alimentaire

2.1.1 Nombre d'espèces consommées

Les chimpanzés observés ont consommé, sur l'ensemble des 4 mois d'étude, **46 items alimentaires d'origine végétale** correspondant à 35 espèces végétales. Des consommations de terre (géophagie), de bois mort d'espèce non identifiée, de crottins d'éléphants et de miel ont pu être observées.

Sur l'ensemble des deux missions, **19 espèces de fruits, 16 espèces de feuilles, 7 espèces de tiges et 3 espèces d'écorces** ont été consommées (Tableau X). Parmi celles-ci, 8 espèces de fruits, 5 espèces de feuilles et 3 espèces de tiges étaient communes aux deux missions et donc aux deux saisons.

Des animaux vertébrés ont aussi été consommés. Des épisodes de chasse (au moins deux) se sont produits au cours des périodes d'étude. Le 13 février 2001, les chimpanzés mâles ont encerclé un groupe de colobes bays de Guinée (*red colobus* : *Colobus badius tephrosceles*) et AJ, TU et BB ont, chacun, attrapé un individu (un jeune enfant et deux sub-adultes). Les proies ont été consommées et partagées avec les femelles du groupe. Des feuilles ont été consommées en même temps que la viande des colobes (cf. ci-après § 2.3.4). Des restes animaux ont été trouvés dans les selles d'AJ (#116 : fibres musculaires et poils ; #119 : poils). Des morceaux d'intestins associés à des feuilles entières non mâchées ont été trouvés dans les selles de NL (#183) collectées le 24 février 2001, traduisant la consommation d'un vertébré.

Par ailleurs, on a pu observer des œufs de grenouille dans un échantillon collecté pendant la mission-pilote.

Tableau X. Espèces végétales consommées par les chimpanzés au cours des missions
2000-2001.

espèce	Fruits		Feuilles		Tiges		Ecorces	
	M1	M2	M1	M2	M1	M2	M1	M2
<i>Acanthus pubescens</i>					X	X		
<i>Aframomum sp.</i>		X			X	X		
<i>Albizia grandibracteata</i>								X
<i>Antiaris toxicaria</i>			X					
<i>Celtis durandii</i>	X	X	X					
<i>Celtis africana</i>			X	X				
<i>Chaetacme aristata</i>		X		X				
<i>Cordia africana</i>	X							
<i>Cordia milenii</i>		X						
<i>Eucalyptus sp.</i>							X	
<i>Jasminum sp.</i>			X	X				
<i>F. asperifolia</i>	X	X	X		X			
<i>F. brachylepis</i>	X	X						
<i>Ficus capensis</i>	X							
<i>F. cyathistipula</i>		X		X				
<i>F. dawei</i>	X	X						
<i>F. ...</i>	X	X						

2.1.2 Temps consacré à l'alimentation

Le temps d'alimentation (collecte et ingestion des aliments) représente 47,7% du temps passé à étudier les chimpanzés de Kanyawara (3864 scans).

➤ Consommation de fruits

Sur l'ensemble de l'étude, plus de **81% du temps d'alimentation ont été consacrés à consommer des fruits ou des figues** (Tableau XI). Pour plus de facilité, nous classerons par la suite les figues dans la catégorie des fruits. Au cours des trois mois de saison sèche, la consommation de fruits a atteint 83% du temps d'alimentation. Les fruits dominent donc le régime alimentaire, à la fois en nombre d'espèces consommées (57% des espèces sont consommées pour leurs fruits) et en temps passé à les manger.

➤ Consommation de parties végétatives

Faible en janvier 2001, avec seulement 5,6% du temps d'alimentation, la consommation de feuilles représente habituellement une part importante du régime alimentaire avec généralement plus de 12% du temps d'alimentation et en moyenne près de 15% sur l'ensemble de l'étude. La consommation de tiges végétales est moins courante et occupe de 2% à 6,4% de l'alimentation, soit en moyenne 3,5%. Au cours des mois de décembre 2000 et d'octobre 2001, le temps passé à s'alimenter de parties végétatives dépasse les 21% avec 18,2 et 19% du temps passé à consommer des feuilles.

En moyenne, les parties végétatives de plantes représentent moins de 20% de l'alimentation des chimpanzés de Kanyawara.

Tableau XI. Temps passé à consommer les différentes classes d'aliments

	déc-2000	ja`-2001	fév-2001	saiso` sèche	saiso` des pluies	e`semble de l'étude
fruits	76,15%	87,94%	84,59%	83,05%	77,42%	81,29%
feuilles	18,25%	5,63%	13,01%	12,72%	19,02%	14,68%
tiges	5,37%	6,37%	2,03%	3,97%	2,63%	3,55%
autres	0,23%	0,07%	0,37%	0,26%	0,94%	0,47%
mi` d'observatio`	3501	2985	6210	12696	5748	18444

➤ Les aliments principaux

*Les fruits les plus consommés pendant la présente étude sont les figues de *F. natalensis* et *F. brachylepis* comptant pour 18,4 et 13,1% du temps d'alimentation (Tableau XII).*

L'ingestion des fruits de *Cordia abyssinica* et *Ficus dawei* occupe aussi plus de 10% du temps d'alimentation.

*La consommation de feuilles de *Celtis africana* est courante et compte pour 11,7% de l'alimentation.*

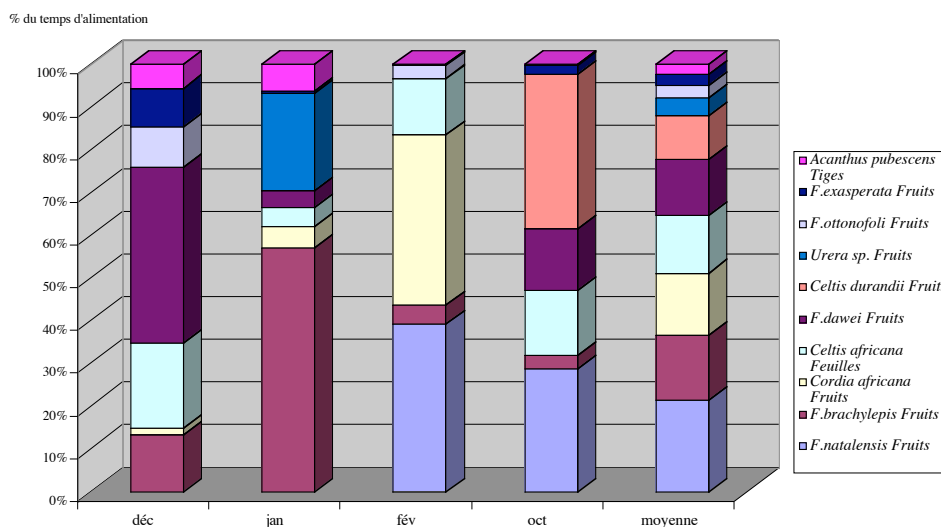
*Les tiges les plus consommées sont celles d'*Acanthus pubescens* et d'*Aframomum sp.**

Tableau XII. Aliments consommés pendant plus de 0,5% du temps d'alimentation

Espèces	Partie	% temps d'alimentation
<i>Ficus natalensis</i>	Fruits	18,41%
<i>Ficus brachylepis</i>	Fruits	13,07%
<i>Cordia abyssinica</i>	Fruits	12,55%
<i>Celtis africana</i>	Feuilles	11,68%
<i>Ficus dawei</i>	Fruits	11,23%
<i>Celtis durandii</i>	Fruits	8,86%
<i>Urera</i> sp.	Fruits	3,55%
<i>Ficus ottonofoli</i>	Fruits	2,47%
<i>Ficus exasperata</i>	Fruits	2,15%
<i>Acanthus pubescens</i>	Tiges	2,05%
<i>Parinari excelsa</i>	Fruits	1,78%
<i>Ficus stipulifera</i>	Fruits	1,67%
<i>Cordia millenii</i>	Fruits	1,54%
<i>Aframomum</i> sp.	Tiges	1,20%
<i>Lepistemon owariense</i>	Feuilles	1,13%
<i>Myrianthus arboreus</i>	Fruits	0,80%
<i>Ficus capensis</i>	Fruits	0,63%
<i>Illigera pentaphylla</i>	Fruits	0,56%
<i>Aframomum</i> sp.	Fruits	0,52%

Le tableau XIII montre qu'au cours de chaque mois d'étude, 65% ou plus de la consommation mensuelle de fruits est due à l'ingestion de seulement deux espèces végétales. En décembre 2000, la consommation de *F. brachylepis* et de *F. dawei* correspond à 65% de la consommation totale de fruits et en janvier 2001, *F. brachylepis* et *Urera* sp. à plus de 85%. En février 2001, les deux espèces qui dominent parmi les fruits consommés sont ceux de *F. natalensis* et de *Cordia abyssinica* avec plus de 80%. En octobre 2001, *F. natalensis* et *Celtis durandii* représentent 65% des fruits consommés.

Fig. 55 Variation de la consommation des aliments les plus fréquents au cours de l'étude



➤ *L'importante place des figues*

Par ailleurs, certaines espèces de fruits, et plus particulièrement des figues, comme *F. brachylepis* et *F. stipulifera* sont consommées au cours des différents mois d'étude.

Tableau XIII. Fruits les plus consommés par les chimpanzés de Kanyawara
Les deux fruits les plus consommés chaque mois sont surlignés

	% de la consommation de fruits					% du temps d'alimentation				
	déc-2000	jan-2001	fév-2001	oct-2001		déc-2000	jan-2001	fév-2001	oct-2001	
min d'observation	2666	2625	5253	4450	14994	3501	2985	6210	5748	18444
temps passé à manger des fruits						76,15%	87,94%	84,59%	77,43%	81,29%
<i>F.natalensis</i>	0,00%	0,00%	40,11%	29,15%	22,70%	0,00%	0,00%	33,93%	22,56%	18,46%
<i>F.brachylepis</i>	15,90%	61,60%	4,49%	3,15%	16,12%	12,11%	54,17%	3,80%	2,44%	13,10%
<i>Cordia abyssinica</i>	1,88%	5,37%	40,55%	0,00%	15,48%	1,43%	4,72%	34,30%	0,00%	12,58%
<i>F.dawei</i>	49,51%	4,23%	0,00%	14,49%	13,85%	37,70%	3,72%	0,00%	11,22%	11,26%
<i>Celtis durandii</i>	0,00%	0,00%	0,00%	36,81%	10,92%	0,00%	0,00%	0,00%	28,50%	8,88%
<i>Urera</i> sp.	0,00%	24,61%	0,19%	0,00%	4,38%	0,00%	21,64%	0,16%	0,00%	3,56%
<i>F.ottonofoli</i>	11,25%	0,00%	2,99%	0,00%	3,05%	8,57%	0,00%	2,53%	0,00%	2,48%
<i>F.exasperata</i>	10,88%	0,61%	0,00%	2,04%	2,65%	8,28%	0,54%	0,00%	1,58%	2,15%
<i>Parnari excelsa</i>	0,00%	0,00%	6,28%	0,00%	2,20%	0,00%	0,00%	5,31%	0,00%	1,79%
<i>F.stipulifera</i>	6,75%	0,30%	0,38%	2,25%	2,05%	5,14%	0,27%	0,32%	1,74%	1,67%
<i>Cordia millenii</i>	0,00%	0,00%	0,00%	6,38%	1,89%	0,00%	0,00%	0,00%	4,94%	1,54%

Parmi les quatre fruits consommés le plus couramment, trois sont des figues.

Le tableau XIV montre l'importance des figuiers dans l'alimentation des chimpanzés de Kanyawara. Fruits, feuilles et tiges de différentes espèces de *Ficus* sont ingérés et, par exemple, *F. urceolaris* est consommé aussi bien pour ses fruits que ses feuilles ou ses tiges. Plus de 51% du temps d'alimentation est utilisé à consommer des aliments issus de *Ficus* sp. 10 espèces de *Ficus* sp. sont consommées. Les figues de trois espèces (*F. natalensis*, *F. brachylepis*, *F. dawei*) à elles seules occupent près de 43% du temps d'alimentation.

Tableau XIV. Part des *Ficus* spp. dans l'alimentation des chimpanzés

Espèces de <i>Ficus</i> consommées	Partie	% du temps d'alimentation
<i>Ficus natalensis</i>	Fruits	18,41%
<i>Ficus brachylepis</i>	Fruits	13,07%
<i>Ficus dawei</i>	Fruits	11,23%
<i>Ficus ottonofoli</i>	Fruits	2,47%
<i>Ficus exasperata</i>	Fruits	2,15%
<i>Ficus stipulifera</i>	Fruits	1,67%
<i>Ficus capensis</i>	Fruits	0,63%
<i>Ficus cyathistipula</i>	Fruits	0,49%
<i>Ficus cyathistipula</i>	Feuilles	0,45%
<i>Ficus urceolaris</i>	Fruits	0,42%
<i>Ficus exasperata</i> (jeunes feuilles)	Feuilles	0,11%
<i>Ficus thonningii</i>	Fruits	0,11%
<i>Ficus urceolaris</i> (jeunes feuilles)	Feuilles	0,11%
<i>Ficus urceolaris</i>	Tiges	0,03%
<i>Ficus urceolaris</i>	Feuilles	0,02%
total		51,37%

Planche photo figures

2.2 Diversité du régime alimentaire

La diversité du régime alimentaire observé a été évaluée par différents indices :

2.2.1 Nombre d'espèces

De 11 à 29 espèces, correspondant à 34 items maximum, **sont consommées chaque mois** (nombre médian d'aliments = 25,5).

2.2.2 L'entropie

L'entropie de Shannon, H', varie entre 1,5 et 2,2 au cours des différents mois.

L'index de Shannon-Wiener standardisé, J', mesure la diversité sur une échelle de 0 à 1. Il dépasse 0,5 pendant les quatre mois de l'étude.

Tableau XV. Mesure des diversités alimentaires par l'entropie de Shannon (H') et l'index standardisé (échelle de 0-1) de Shannon-Wiener (J') et le nombre d'espèces consommées (n).

	H'	J'	n
déc-2000	1,85	0,77	11
jan-2001	1,51	0,52	18
fév-2001	1,8	0,51	34
oct-2001	2,22	0,64	33

2.2.3 Les restes des aliments trouvés dans les selles récoltées

Lors de la mission-pilote, 67 selles ont été récoltées, mais la quantité de trois échantillons était trop faible pour qu'on puisse les inclure dans l'étude de l'abondance des graines. Tous les échantillons contenaient des graines. Les graines appartenant à une seule espèce sont trouvées dans 68% des échantillons alors que 29% renferment les graines de deux espèces et 3% de 3 espèces.

Tous les prélèvements contenaient des graines de *Mimusops bagshawei* (Sapotaceae). D'autres éléments végétaux comme des morceaux de latex longs de 15 cm provenant du fruit de *Chrysophyllum albidium* (Sapotaceae) ou des morceaux de tiges ligneuses ont été trouvés dans deux échantillons.

On a trouvé peu de fibres dans 19 échantillons (+), une quantité moyenne (++) dans 36 selles et une forte fibrosité (+++) pour 10 fèces (dans deux cas, la quantité de selles était trop faible pour que la fibrosité puisse être évaluée).

Lors des missions 2000-2001, 252 selles ont été récoltées et ont permis la quantification des graines et de la fibrosité pour les fèces dont la quantité récoltée était suffisante (Tableau XVI).

Le nombre moyen d'espèces de graines trouvées dans les selles varie entre 0,75 et 1,5. Au cours des 4 mois, plus de 50% des échantillons contenant des fruits contenaient au moins des graines de figes. La quantité de fibres provenant des parties végétatives, estimée sur une échelle de 0 à 3, varie entre 1 et 2 au cours de l'étude.

Par ailleurs, ce type d'étude a permis de trouver des restes animaux dans les selles (cf. supra).

Tableau XVI. Nombre de graines et quantité de fibres trouvées dans les selles de chimpanzés

	déc-2000	jan-2001	fév-2001	oct-2001
Nombre moyen d'espèces de graines (Nombre d'échantillons de selles)	0,75 (24)	1,49 (24)	1,21 (133)	0,68 (35)
Nombre d'espèces de graines	3	4	2	4
Nombre médian d'espèces	1	2	2	1
Proportions d'échantillons contenant des fruits avec des graines de figues	0,94	0,70	0,55	0,77
Nombre min et max de graines dans chaque selle	0-3	0-3	0-2	0-4
Fibrosité moyenne (0-3) (Nombre d'échantillons de selles)	2 (24)	0,96 (24)	1,38 (117)	1,08 (35)

2.3 Comportements alimentaires particuliers

2.3.1 Consommation de *Trichilia rubescens* (Meliaceae)

Le comportement lié à l'ingestion des feuilles de *Trichilia rubescens* a été observé au cours de ces missions et son caractère particulier a justifié sa récolte.

En effet, l'ingestion de cet item est :

- **Occasionnelle** : cinq observations totalisant 27 min sur plus de 700 heures d'observations
- **Courte** : la durée moyenne de chaque consommation est de 4'10''(2-7 min).
- **Lente** : peu de feuilles sont consommées lors de chaque observation avec, en moyenne 5 feuilles consommées par minute.
- **Restreinte** : le chimpanzé quitte l'arbuste avant d'en avoir consommé toutes les feuilles et aucun autre individu du groupe n'essaie d'en consommer, ni avant, ni après.
- **Individuelle** : seul un chimpanzé du groupe consomme cet item, alors que, lors de nos observations, cet individu était toujours inclus dans un groupe de 2 à 6 individus. Pendant que le chimpanzé mangeait les feuilles de *Trichilia rubescens*, les autres membres du groupe se reposaient (dans 17 cas), se déplaçaient (9 cas) ou se nourrissaient d'un autre item (2 cas).

Les individus consommant ces feuilles sont à chaque fois différents.

Cette consommation s'est produite en fin de matinée (2 cas) ou en début d'après-midi (3 cas entre 13:57 et 14:50).

On peut par ailleurs observer que le chimpanzé consommant cet aliment passe beaucoup plus de temps à s'alimenter que le reste du groupe avec lequel il se trouve le jour de cette ingestion (tableau XVII). Il apparaît que pour le consommateur de *Trichilia rubescens*, **son temps d'alimentation est en moyenne 12,8% (7,3-22%) plus élevé** que le temps moyen d'alimentation des autres individus et plus généralement que les moyennes calculées dans le tableau IX.

Tableau XVII. Part de l'alimentation pour le consommateur (en caractères gras) de feuilles de *Trichilia rubescens* et pour les individus de son groupe, le jour de l'ingestion et les autres jours du mois.

Période d'observation	Individus	Part de l'alimentation	Durée (min) d'observation
2/02/01	KK	48,0%	230
2/02/01	LK/LP/LS/BB/BE/BU	40,3%	620
Mois de février excepté le 16/02/01* KK		44,8%	470
21/02/02	LK	55,4%	450
21/02/02	PG/AJ/LB/MS	42,0%	400
Autres jours de février	LK	42,2%	940
05/10/02	OT	73,5%	170
05/10/02	TG/TJ/OU/OK/LP/LS/AL/NL	63,3%	1270
Autres jours d'octobre	OT	42,5%	370
12/10/02	AJ	55,2%	100
12/10/02	TJ/TG/SL/LK/TU/BB/ST/MS/LR/TG	33,2%	710
Autres jours d'octobre	AJ	28,3%	640
18/10/02	TG	69,2%	60
18/10/02	LS/LR/MS/KK/ED/OU/JK/NL/NS	58,0%	230
Autres jours d'octobre	TG	33,3%	140

* Jour où KK souffrait de sévères problèmes respiratoires.

2.3.2 Consommation de feuilles rugueuses

Des feuilles, dont les deux faces sont très rugueuses, sont consommées occasionnellement par les chimpanzés de la communauté de Kanyawara. Les populations locales les utilisent d'ailleurs comme papier de verre. Elles appartiennent principalement à deux espèces de figuiers : *Ficus asperifolia* et *F. exasperata* (Moraceae).

2.3.3 Consommation de plantes urticantes ou piquantes

Les chimpanzés consomment les minuscules fruits d'une liane de la famille des Urticaceae, *Urera* sp.. Il s'agit d'une espèce urticante, les pédoncules des fruits possédant de très petits poils très urticants et les feuilles de la partie terminale des lianes portant des épines noires. La consommation de ces fruits occasionne chez certains individus des démangeaisons violentes. Le prurit est particulièrement persistant chez les individus à peau claire, les jeunes, et dans les zones glabres. Par ailleurs, les chimpanzés consomment l'écorce et les feuilles de *Chaetacme aristata* (Ulmaceae) bien que les branches et les rameaux partant de la base du tronc soient hérissés d'épines acérées. À la base du pétiole se trouve aussi une épine. Les tiges d'*Acanthus pubescens* (Acanthaceae) sont aussi consommées alors que les feuilles, coriaces, sont dentées et épineuses et possèdent aussi des stipules épineuses.

Les plantes urticantes

2.3.4 Consommation de feuilles associées à d'autres aliments

La **consommation de la viande** des colobes bais (*Colobus badius tephroscelus*) chassés le 13 février 2001 a été accompagnée de l'ingestion de feuilles de lianes appartenant à l'espèce *Illigera pentaphylla* (Hernandiaceae). Par ailleurs, les restes d'un vertébré accompagnés de feuilles entières non mâchées ont été trouvés dans les selles de NL (#183) collectées le 24 février 2001.

Le 5 octobre 2001, entre 16:20 et 16:30, OU mange du **miel** prélevé dans le tronc d'un arbre avec des feuilles de *Strombosia scheffleri* (Olacaceae). Elle est rejointe à 16:30 par TG qui, à son tour, pendant 10 min, consomme du miel également avec des feuilles appartenant à la même espèce d'arbre. Par la suite, la fille de OU, OK, essaie aussi de prélever du miel mais l'abondance et l'agressivité des abeilles la poussent à renoncer après 5 min.

2.3.5 Consommation d'écorces

La consommation d'écorce est occasionnelle chez les chimpanzés. La consommation de trois espèces a été enregistrée pendant les missions.

Deux épisodes sont brefs, uniques et n'impliquent qu'un individu du groupe.

Le 14 février 2001, AJ arrache de l'**écorce d'eucalyptus** et tout en se déplaçant la mâche. Il rejette sa chique après 4 minutes.

Le 20 octobre 2001, OK arrache l'écorce et lèche la sève qui exsude du tronc d'*Albizia grandibracteata* (Mimosaceae) pendant 2 minutes (cf 3.1.5).

La consommation d'écorce de tronc d'une troisième espèce semble saisonnière. Elle est pratiquée parfois simultanément par plusieurs membres du groupe et des consommations à date rapprochée ont été observées.

Le 19 octobre 2001 entre 11:00 et 13:20, 4 individus (LR, LS, KK, LK) d'un même groupe ont consommé des **écorces de *Markhamia platycalyx*** (Bignoniaceae). LR a consommé les écorces provenant de deux arbres différents à 2h d'intervalle (11:02, pendant 3 minutes et 13:05 pendant 5 minutes). LK et KK ont arraché les écorces d'un même arbre. LK après avoir retiré l'écorce, s'est frotté le dos à l'endroit où le tronc est mis à nu. Les deux individus lèchent par la suite la sève qui exsude et mâchent l'écorce, simultanément, pendant 5 minutes chacun (entre 12:00 et 12:05). LS monte ensuite dans l'arbre où LR a enlevé et mangé de l'écorce et, à son tour, dilacère l'écorce et la consomme pendant 10 minutes. La quantité d'écorces qu'elle retire est bien plus importante que celle enlevée par les 3 autres individus.

Le 23 et le 24 octobre 2001, trois consommations d'écorce de *M. platycalyx* (durée 3 min) sont enregistrées.

Tableau XVIII. Consommation d'écorces par les chimpanzés de Kanyawara

Espèce	Individu	Date et heure	Durée	Commentaires
<i>Markhamia platycalyx</i>	LR	19/10/01 11:02	3 min	
		19/10/01 13:05	5 min	
	KK	19/10/01 12:00	5 min	
	LK	19/10/01 12:00	5 min	Se frotte le dos au tronc à l'endroit où l'écorce est arrachée
	LS	19/10/01 13:10	10 min	Quantité importante consommée
		24/10/01 8:40	5 min	
	TU	23/10/01 7:00	3 min	Premier aliment de la journée
	PG	23/10/01 10h45	4 min	
<i>Albizia grandibracteata</i>	OK	20/10/01	2min	Consommation d'écorce de cette espèce jamais enregistrée avant dans la communauté
<i>Eucalyptus</i>	AJ	14/02/01	4 min	

2.3.6 Géophagie

Les dates et heures des épisodes de géophagie (consommation de terre) ainsi que les aliments consommés au cours de ces journées sont rapportés dans le tableau XIX.

Lors la mission pilote de novembre 1999, 3 individus consommant de la terre ont été observés au cours de deux journées.

Le 12 novembre 1999, à 17:15, AJ en déplacement sur le transect H à proximité de H14, s'arrête devant un terrier d'un diamètre d'environ 30 cm creusé dans une terre rouge. Il râcle avec sa main la périphérie du trou, décolle ainsi la terre qu'il ramasse avec sa main puis la mange.

Le 18 novembre 1999, à 14 :10, BR et AL consomment de la terre sur le transect K à proximité de Boutandzi Road. BR, en déplacement sur le transect, passe à côté d'un arbre déraciné, s'arrête, prend à trois reprises une poignée de terre rouge dans le trou sous les racines de l'arbre, et la mange.

Au cours des deux missions suivantes, seulement trois épisodes de géophagie ont pu être observés.

À chaque observation, deux chimpanzés ont consommé de la terre.

Le 22 décembre 2000, à 16:06, LP et LR ont consommé pendant 4 min de la terre au cours d'un déplacement au sol. Les deux femelles ont mangé quelques poignées de terre. Ce jour-là, LP montre un fort météorisme avec une distension abdominale très importante. Par ailleurs, elle n'utilise pas sa main gauche pour monter aux arbres. Elle construit son nid très tôt (17:20), alors que les autres individus (LS, BE) sont encore actifs. Le lendemain, LR sort de son nid à 7:00 mais LP ne sort pas avant 7:50.

Le 16 janvier 2001, à 18:05, OU et OK, alors qu'elles marchaient au sol, ont pratiqué de la géophagie pendant 1 minute, à l'intersection entre le transect K et WST. C'est le dernier item qu'elles consommeront avant de construire leur nid à 18:25. Malgré la diversité des aliments consommés en particulier par OK au cours de cette journée, les périodes de repos occupent 26% des activités observées.

Le 5 février 2001, LP et LS en déplacement sur C ext. ont consommé de la terre pendant 1 minute. Au cours de son déplacement, LP s'arrête devant un crottin d'éléphant et à 14:04, elle fouille dedans, en récupère des graines. Elle se dirige ensuite vers un second crottin et en prend plusieurs poignées et reprend sa marche, récupérant avec ses lèvres des graines dans le crottin. Après une halte de 15 min dans un *Ficus brachylepis*, LP et LS consomment de la terre. À 16:00, les chimpanzés montent dans un *Parinari excelsa* où ils mangent jusqu'à 17:50.

Tableau XIX. Épisodes de géophagie et aliments consommés avant et après l'ingestion de sol.

Fr : fruits, VTH :végétation terrestre herbacée

Individu	Date	Heure	Aliments consommés avant la géophagie	Aliments consommés après la géophagie
AJ	12/11/99	17 :15	<i>Mimusops bagshawei</i> (Fr)	VTH
BR	18/11/99	14 :10	VTH	<i>Mimusops bagshawei</i> (Fr)
AL	18/11/99	14 :15	VTH	<i>Mimusops bagshawei</i> (Fr)
LP	22/12/00	16 :06	<i>F. dawei</i> (Fr), VTH, <i>Celtis africana</i> (jeunes feuilles)	<i>Celtis africana</i> (jeunes feuilles)
LR	22/12/00	16 :06	<i>F. dawei</i> (Fr), VTH, <i>Celtis africana</i> (jeunes feuilles), <i>Myrianthus arboreus</i> (Fr immature)	<i>Celtis africana</i> (jeunes feuilles)
OU	16/01/01	18 :05	<i>F. brachylepis</i> (Fr), <i>Urera</i> sp. (Fr), <i>Jasminum</i> sp. (feuilles) <i>F. asperifolia</i> , <i>Cordia abyssinica</i> (Fr immatures)	aucun
OK	16/01/01	18 :05	<i>F. brachylepis</i> (Fr), <i>Myrianthus arboreus</i> (Fr) <i>Urera</i> sp. (Fr), <i>F. asperifolia</i> (Fr), <i>Cordia abyssinica</i> (Fr immatures), <i>Celtis africana</i> (feuilles)	aucun
LP	5/02/01	14 :05	<i>F. natalensis</i> (Fr) <i>Myrianthus arboreus</i> (jeunes feuilles) <i>F. brachylepis</i> (Fr)	<i>Parinari excelsa</i> (Fr)
LR	5/02/01	14 :05	<i>F. natalensis</i> (Fr) <i>F. brachylepis</i> (Fr)	<i>Parinari excelsa</i> (Fr)

2.3.7 Consommation de graines dans les crottins d'éléphants

La consommation de graines dans les crottins d'éléphants a été observée le 5 février 2001 (cf. ci-dessus). Les graines consommées appartenaient à la même espèce, mais n'ayant pu être identifiées, elles ont été plantées mais n'ont pas germé avant la fin de la mission.

2.3.8 Consommation de poussière de bois provenant d'un arbre mort

Le 10 février 2001, LP, LR et LS après avoir mangé des jeunes feuilles de *Celtis africana*, puis des figues de *Ficus brachylepis*, s'approchent pendant leur déplacement d'un gros tronc d'arbre mort, couché et creux. LR pénètre dans la cavité de l'arbre, puis, avec sa mère et sa sœur, elles consomment le bois mort formant une sorte de sciure, pendant 3 minutes.

2.4 Ethnomédecine des plantes consommées par les chimpanzés

À partir des données de long terme collectées à Kanyawara, les aliments d'origine végétale consommés par des chimpanzés ont été inventoriés. Certaines espèces ont été listées parce qu'elles sont présentes à Kanyawara et connues pour être mangées par d'autres communautés de chimpanzés, mais pour l'instant, aucune observation de consommation de ces espèces n'a été observée à Kanyawara.

Nous avons répertorié, dans le tableau XX, les plantes pour lesquelles des informations sur leur utilisation en médecine traditionnelle et éventuellement sur leurs propriétés biologiques existaient.

Les rapports d'ethnomédecine n'indiquent pas toujours les parties de plantes utilisées dans les préparations médicinales. Nous avons donc indiqué les espèces de plantes même si la partie de plante travaillée biologiquement ou chimiquement ou utilisée en médecine traditionnelle ne correspondait pas toujours à celle consommée par les chimpanzés. En effet, d'une part, les métabolites secondaires ne sont pas uniquement présents dans un organe de la plante et d'autre part, pour les études chimiques, on a choisi de collecter plusieurs parties de la plante, même si elles ne sont pas toutes consommées par les chimpanzés. Ceci peut permettre de voir si les chimpanzés ne contre-sélectionnent pas certaines parties de plante, justement à cause d'une trop forte toxicité.

67 espèces consommées par les chimpanzés sont, soit utilisées pour leurs vertus médicinales, soit ont donné lieu à publication pour leur activité biologique ou leur composition chimique.

35 espèces ont été étudiées chimiquement ou biologiquement. Pour 10 d'entre elles, aucune utilisation en médecine traditionnelle n'a été trouvée dans la bibliographie.

On peut noter que la liste ne considérait pas les fruits de *Parinari excelsa* comme des aliments des chimpanzés de Kanyawara alors qu'ils sont mangés à Yalosidi, Bossou, Lomako et au Mont Assirik, or leur consommation a pu être observée lors de la mission en saison sèche.

On peut aussi remarquer parmi ces aliments, 4 espèces qui possèdent de fortes activités biologiques :

- *Antiaris toxicaria*, Moraceae, dont les glucosides cardioactifs étaient utilisés comme poison dans les flèches (Watt & Breyer-Brandwik, 1962 ; Carter *et al.*, 1997),
- *Illigera pentaphylla*, Hernandiaceae, qui contient de nombreux alcaloïdes (Ross & Olatunji, 1985)
- *Phytolacca dodecandra*, Phytolaccaceae, considéré comme un poison pour les humains et le bétail par les populations locales, mais dont le jus des feuilles et des racines est néanmoins utilisé pour leurs propriétés vermifuges et abortives (Katende *et al.*, 1995) (cf 1^{ère} Partie, II). Des saponosides triterpéniques ont été isolées des fruits qui sont consommés par les chimpanzés de Kanyawara.
- *Blighia unijugata*, Sapindaceae, dont les fruits consommés par les chimpanzés de Kanyawara sont ichtyotoxiques.

Tableau XX. Utilisation des espèces de plantes consommées par les chimpanzés de Kanyawara (ou d'autres communautés si précisé) en médecine traditionnelle selon le site « Prélude » et d'autres sources bibliographiques. Produits isolés et activités biologiques connues pour ces espèces, selon Chapman & Hall (2003), et Chemical Abstracts (2002).

Remarque : le plus souvent, la « recette » n'est pas précisée par les tradipraticiens et la partie de plante utilisée n'est pas connue.

Légende :

Texte en italique : utilisations ou activités biologiques des parties de plantes consommées par les chimpanzés.

Texte souligné : utilisations en médecine traditionnelle vétérinaire

F : feuilles, T : tiges, FR : fruits, E : écorces, Fl : fleurs, Gr : graines.

Espèce	partie consommée à Kibale	Prélude (site internet): médecine humaine et vétérinaire	Utilisations en médecine traditionnelle africaine	nombre de produits actifs (a)	activité pharmacologique (a):Chapman et Hall; (b) Chemical Abstracts (références complètes en annexes)
<i>Acalypha ornata</i>	F		<i>F pour douleurs post-partum et R comme laxatif ou pour lèpre (4)</i>		
<i>Acanthus pubescens</i>	T	Burundi : dermatose, stérilité des femmes, asthme, <u><i>pour le bétail, T contre les dermatoses, la stérilité et galatogène</i></u>	R contre l'ictère (4)		
<i>Aframomum angustifolia</i>	T/FR		<i>cinéol dans les Gr (4)</i>		
<i>Albizia grandibracteata</i>	F E	Ouganda : <i>F : fractures et les blessures, E : météorisme, amibiases, helminthes</i>			
<i>Antiaris toxicaria</i>	F/T		Présence de glucosides cardioactifs utilisés comme poison dans les flèches (4)	3	poison pour les flèches, activité anti-tumorale, cardiotonique (a); cardenolides (Carter, ..., Richardson, Tetrahedron, 97), antiarones J e K (Hano, ...Yoshida, J.Nat.Prod. 91); antiarones A et B (Hano, ...Nomura, Heterocycles 90)
<i>Asystasia gangetica</i>	FL?F?	Kenya : <i>F anthelminthique</i> , Burundi : <i>F : entérites</i> , Congo : affections oculaires, névralgie intercostale, vertiges, infections uro-génitales, fièvre, paludisme, palpitations cardiaques. Uganda :	<i>F contre morsure de serpent, antiprurigineux, F et fl astringent intestinal, jus contre œdème, rhumatisme, vermifuge (4)</i>		

		émétique, panaris, hépatite. RDC : abcès (F), dysenterie, fortifiant, stimulant. RCA : dermatoses, céphalées		
<i>Blighia unijugata</i>	FR		FR ichtyotoxiques utilisés pour la pêche, F contre fièvre (2)	présence de saponosides (Delaude, Welter, Bull Soc R Sci Liege, 75), nouvel aa (Fowden, Sheppard, Phytochem, 72)
<i>Cardiospermum grandiflorum</i>	F			cardiosperminsulfate (Huebel, Nahrstedt, Tetrahedron Lett, 79)
<i>Celtis africana</i>	F/FR	Afrique du Sud : maux de dents (E) ; Kenya : <u>bétail</u> : F pour les <u>hygromas</u> , faire manger des F en cas d'indigestion		
<i>Chaetacme aristata</i>	F/E		F antituberculeuse (1) E traitement des hémorroïdes et douleurs dentaires(4)	
<i>Chrysophyllum albidum</i>	FR			polyisoprène (Nwadinigwe, Phytochem, 88)
<i>Clerodendrum buchholzii</i>	F		F en application sur les furoncles, R contre broncho-pneumonie (2)	
<i>Cordia africana</i>	FR	Burundi : constipation, céphalée, antiémétique pendant la grossesse, hémorragie, conjurer le mauvais sort		
<i>Cola giganteata</i>	FR		E contre la toux (1)	
<i>Cordia millenii</i>	FI/FR			benzoquinone terpenoid : cordiachrome (Moir, Thomson, J. Chem. Soc., 73)
<i>Cyperus papyrus</i>	T	Uganda : prolapsus rectal, polype vaginal		1 adrénérergique (a)
<i>Crassocephalum bojeri</i>	F	RDC : <u>bétail</u> F : fièvre, Kenya et Tanzanie : F antipoison, fièvre, grippe, inflammation, Zimbabwe : folie, ensorcellement		parties aériennes testées pour activités antipaludéennes : IC ₅₀ entre 10 et 49 µg/ml (8)
<i>Crassocephalum vitellinum</i>	Mahale: F		F contre les gonorrhées, les abcès (4) F pour déshydratation aiguë et diarrhée, F+T+FI contre le paludisme, F contre la poliomyélite avant paralysie, F+T contre les hépatites ; F contre la brucellose pour les vaches, F, T, FI contre herpès circiné (5)	
<i>Ensete ventricosum</i>	FR/T			phenylphenalenone (Holscher, Schneider, Phytochem, 98)
<i>Erythrina abyssinica</i>	Gombe, Mahale: E/FL/F	Uganda : Œdème, diarrhée, abcès, anti-vomitif, tranquillisant encas d'épilepsie, colique, anti-inflammatoire, Burundi : F <u>bétail theilériose et parasites externes</u> , affection des yeux, diarrhée, anti-vomitif pour les nouveau-nés, céphalée, prévention des fausses couches, stérilité des femmes, toux, infections urogénitales, coliques, métrorragie, otite, émétique, calmant, maladies vénériennes, hémorragies, epistaxis, hépatite, RDC : <u>bétail</u> , F : sur blessures, F et FI amibes, hémorroïdes, diarrhée, otite, maladies vénériennes, Zimbabwe : blessures, entérite et toux, rougeole, bilharziose, fortifiant, lombalgie, amnésie, Kenya : R pour affections oculaires, purgatif, hépatite, filariose, dermatose,	Curarisant (4) FI d'E.sp. pour déshydratation aiguë et diarrhée; <i>E. abyssinica</i> : T + E contre les hépatites (5), Kenya : E contre trachome et éléphantiasis, E contre paludisme et syphilis en Afrique de l'Est (b).	Antibiotique, antifongique (a) activité antimicrobienne et inhibition de l'agrégation plaquettaire (flavanones) (7) (Kamat, ..., Nakanishi, Heterocycles, 81; Moryasu, ...Juma, J.Nat.Prod., 98, Ichamaru, ...Juma, J.Nat.Prod. 96; Joubert, ...Dowdle, Int.J. Bioch., 87)

<i>Erythrina abyssinica</i>		Ethiopie : E : antiseptique en pansement, Rwanda : F et FI hépatite, F douleurs intercostales, pneumonie et toux, Kenya, Ouganda, Tanzanie : affections oculaires (E), parasites internes (E), syphilis (E), Nigeria : F+E : ictère, AB et stomatite.		
<i>Fagaropsis angolensis</i>	F			isolement de 3 alcaloïdes et 3 limonoïdes (Waterman, Khalid, Biochem.Syst.Ecol, 81)
<i>Ficus capensis</i>	FR	CI, Nigeria, Sénégal :FR immature pour fertilité des vaches, Afrique de l'Ouest : FR pour stimuler la lactation CI : FR contre avortement et contre pian, stimulant pour les nouveau-nés, galactogène, diarrhée, purgatif, aménorrhée, toux rebelles, Bénin : œdème, constipation, stérilité de la femme, coliques, hépatite, Mali : galactogène, stimulant, Afrique du Sud : toux, diarrhée, Congo : stérilité femme, stimulant, galactogène, antiseptique, coliques, abcès, lèpre, Zimbabwe : galactogène, œdème, abcès, stérilité femme, stimulant utérin, anti-vomitif, rhinite, azoospermie, amnésie, RDC : infections uro-génitales, amibiases, vermifuge, anti-inflammatoire, pian.	FR coupé en deux pour faire mûrir les abcès et soigner les ulcérations lépreuses (2) R+E contre ulcérations de la langue, F et E pour augmenter lactation des femmes et des vaches, R pour délivrance, E très amère, antiémétique, traitement des conjonctivites, Fr et E contre les maux de gorge, F,T,Fr sont + aux tests des stérols, Fr contient des traces ac. ascorbique(4)	présence de flavonoïdes dans les F (Ilias, Ghana J. Chem, 90)
<i>Ficus congensis</i>	FR		sève p.o. pour les œdèmes généralisés, les hémorragies et l'ascite (2)	
<i>Ficus exasperata</i>	F/FR	Burundi : vache : Fr immature ou F, P.O. : ocytocique, F, P.O. : prolapsus vaginal, Nigeria : F : hypertension, hépatite, Bénin : maux de gorge, CI : affection des yeux, palpitations cardiaques, toux, adénopathie, asthme, Burundi : ocytocique, Congo : œdème, abcès, douleurs intercostales, lumbago, arthrite, lèpre, ocytocique, toux, infection uro-génitale, fièvre, stomatites, Sénégal : diurétique, dermatoses, RDC : bétail : F et T amibiases et parasites, E expulsion du placenta, F herpès, colite, gastrite, F en application sur abcès, ocytocique, lumbago, RCA : infections uro-génitales, brûlures, affections oculaires, fortifiant, dermatoses, teignes, Sierra Leone : F : dermatoses, contraceptif, infections vaginales herpès, syphilis, gonorrhée, Gabon : toux, infections uro-génitales	F contre prurit et sur les ulcérations lépreuses, contre rhumatismes, œdèmes locaux, contre les aphtes et les gingivites(2) F contiennent un fort % de silicate de calcium susceptible d'entraîner des inflammations intestinales, F utilisées dans les problèmes de gorge, comme anthelminthique, comme analgésique oculaire, FI ascaricide et maux de gorge (4) F contre problèmes gastriques en Guinée Française, contre ulcères au Nigeria	Feuilles : extraits protègent les rats contre les ulcères gastriques induits par l'aspirine, ralentissent le transit intestinal, augmentent le pH gastrique et diminuent le volume des sécrétion gastriques (Akah et al. J of ethnopharmacology 1998)
<i>Ficus mucoso</i>	FR/F		E comme analgésique local, latex contre les otites, affections bronchiques ou convulsions (2)	
<i>Ficus natalensis</i>	E/F/FR		E contre les coliques, contre les rhumes et galactogogue avec <i>Spoobolus indicus</i> et R contre les morsures de serpents, plante contre syphilis (4)	
<i>Ficus thonningii</i>	FR	Nigeria : entorse, diarrhée, Bénin : galactogène, migraine, vertige, stomatite, maux de dents, Congo : abcès, maux de dents, blessures, diarrhée, affections oculaires, fortifiant, parasites (F, R) Niger : hépatite, Togo : galactogène, Comores : déviation colonne vertébrale, CI : épilepsie, Zimbabwe : affections oculaires, constipation, prévention fausses couches, anti-hémorragique, omphalite, Kenya : diarrhée, hépatite (E), RDC : hépatite, vermifuge, Sénégal : diarrhée, ocytocique, toux, tuberculose, folie, arthrite, asthme, métrorragie, BF : maux de dents		

<i>Hoslundia opposita</i>	FR	Nigeria : F : constipation, F : dermatoses, F : morsure de serpent, Tanzanie : stérilité féminine, CI : <i>pulpe ou jus pour affections oculaires, œdème, dermatoses, anti-inflammatoire, ictère, hématurie, fièvre, syphilis, coliques, splénomégalie, toux, diarrhée, Bénin : blessures, constipation, colique, hémorragie, hernie, Togo : rougeole, Uganda : R : blessure, œdème, colique, amygdalite, Burundi : blessures, œdèmes des membres inférieurs, dermatoses, migraine, tonique, colique (F), douleurs intercostales, fièvre, otite, anti-vomitif, colique, rhinite, Congo : fracture, Zimbabwe : diarrhée, tranquillisant, coliques, rhume, Rwanda: ocytocique, RCA : douleurs intercostales, fièvre</i>	Contre gonorrhée, blennorrhée et cystite, problèmes de foie, fièvre, problèmes gastriques, blessures, folie, plante contient des sesquiterpènes, F contre les morsures de serpent (4) F contre les souffrances post-partum (5)	1	anti-paludéen (a) surtout E des R (Achenbach, ..., Weenen, Phytochem, 92; Ngadjuyi, Rycroft, Tetrahedron, 91)
<i>Illigera pentaphylla</i>	F		<i>jus des feuilles en cas de dyspnée</i> (2)		14 alcaloïdes isolés : 8 aporphines, 6 oxaporphines (Ross, Olatunji, J.Nat.Prod., 85)
<i>Ipomoea spathulata</i>	F	Kenya : stérilité femme, fortifiant pour les enfants (R)	l. sp. : <i>F contre empoisonnement; Plante contre les panaris; F contre l'herpès circiné</i> (5)		
<i>Lanea welwitschii</i>	FR		E des tiges contre les dermatoses et la gale (1)	2	cytotoxique (a) activité anti-tumorale modeste de Lanneaquinol et de 2'(R)-hydroxylaneaquinol (Groweiss, ..., Boyd, J. Nat. Prod., 97)
<i>Laportea (Fleurya) aestuans</i>	FL		<i>Fl en cas de laryngite</i> (avec des gr de maniguette), plante comme anti-inflammatoire sur les œdèmes et furoncles, comme vermifuge (2) L sp. : contre les hépatites (5)		
<i>Markhamia platycalyx</i>	E/F				quinones isolées (Joshi, ..., Mahesh, J. Nat. Prod., 85)
<i>Millettia dura</i>	F				Roténoides et isoflavones isolées des Gr, R et E des T (Yenesew, ..., Waterman, Phytochem., 96; Yenesew, ..., Waterman, J.Nat.Prod., 97)
<i>Monodora myristica</i>	F/FR		<i>Gr comme anthelminthique et gastrites</i> (1) E pour la gale, en collyre contre les filaires, <i>Gr comme anti-vomitif, reconstituant, sur les plaies, en inhalation contre céphalées et rhino-pharyngites</i> (2)		
<i>Morus lactea</i>	F		contient dihydromorin et morin(4)		
<i>Myrianthus arboreus</i>	F/T/F R		E fraîche avec gelée entourant les œufs de grenouilles contre les <i>myalgies et arthralgies</i> (3): <i>T action hypoglycémiant, F propriétés antitussives</i> (b)		diacide triterpène pentacyclique (Ojinaka, ...Okorie, Phytochem., 80; Kajima, Ogura, Phytochem, 89, Ngounou, ..., Sondengam, Phytochem., 87 et 88)
<i>Olea welwitschii</i>	Bois		<i>E contre la gonorrhée</i> (4)		pas d'activité antimicrobienne de l'écorce
<i>Oncoba spinosa</i>	Gombe, Mt Assirik: Fr		plante sacrée qui guérirait toutes les maladies (2) R contre la dysenterie, F et R contre les problèmes urétraux(4)		

<i>Parinari excelsa</i>	Yalo sidi, Boss ou, Lom ako, Mont Assiri k : FR	RCA : stomatite, gingivite, lithiase biliaire, aphrodisiaque, Sénégal : R+E : diarrhée, migraine, douleurs intercostales, stérilité femme, antiseptique, anti-hémorragique, gingivites, coliques, arthrite, amnésie	E cholagogue, F pour stomatites (1)		activité antipaludéenne de E des T (8)
<i>Peddia fischeri</i>	FR				activité anticancéreuse (extraits R) principalement due à 1 quinone (2,6-diméthoxybenzoquinone) et à deux coumarines (daphnorétine et umbelliférone)(pas de tests <i>in vivo</i>)(Handa,...Norman, J.Nat.Prod., 83).
<i>Pennisetum purpureum</i>	T	Guinée : F et T <i>anthelminthique</i> , Nigeria : rougeole, appendicite, Bénin : œdème, fractures, coliques, hépatite, métrorragie, Congo : stomatite, gingivite, RDC et Cameroun : affections oculaires, RCA : migraine, Rwanda : otite, Gabon : ulcérations mb inférieurs, infections urogénitales, otite, Madagascar : plante entière pour coqueluche, Sierra Leone : toux.			
<i>Phoenix reclinata</i>	T	Uganda : colique, aphrodisiaque, Sénégal : affections oculaires, diarrhée, douleurs abdominales, fortifiant, Ethiopie : anti-inflammatoire, pleurésie			
<i>Phytolacca dodecandra</i>	FR	Ethiopie : <i>bétail et homme</i> : FR contre <i>douve du foie</i> , les autres recettes non précisées le plus souvent : vermifuge, bilharziose, dermatose, gonorrhée, avortement, Uganda : abcès, Congo : douleurs intercostales, morsures de serpent, Burundi : blessures, constipation, dermatose, ascite, stérilité femme, hernie, filariose, Madagascar : fortifiant, empoisonnement, RDC : ocytocique, galactogène, syphilis, blessures, dermatoses, Zimbabwe : contre empoisonnement, Botswana : gonorrhée, avortement, Kenya : adénite, Tanzanie : constipation, vermifuge, empoisonnement, RCA : dermatoses, fortifiant, Rwanda : vermifuge, oedème, constipation	Traitement de l'ascite, des hernies, la stérilité des femmes; toxique, jus des F comme collyre, contre filaires, dermatoses(2) F contre empoisonnement; F contre la folie(5)		<i>Saponosides triterpéniques dans les FR, forte toxicité in vivo sur souris, activité molluscicide, antivirale, antibactérienne, spermicide, anti-fertilisante des saponines des fruits</i> (11 ; 12 ; 13)
<i>Piper capense</i>	T	Rwanda : <i>bétail</i> : T et FR <i>propriétés acaricides confirmées en laboratoire</i> , Afrique du Sud : plaies et particulièrement gorge et cou, stérilité, Burundi : fortifiant, Kenya : galactogène, RDC : abcès	R : stimulant sexuel, en décoction: anthelminthique, FR pour problèmes gastriques, cardiaques ou rénaux, pour flatulences et coliques, comme diurétique (4). F contre l'"Ifumbi"(agalactée et avortement)(5)		présence de sesquiterpènes isolées des R (Chen,..., Wiemer, Tetrahedron lett, 92) 4 cetones neolignanes (Green,..., Wiemer, Phytochem, 91)
<i>Piper umbellatum</i>	T	Congo : salmonellose, douleurs intercostales et thoraciques, bronchite, oxyures, lymphadénite, hémorroïdes, émétique, alcoolisme, blessures et abcès, salmonellose, prévention des fausses couches CI : toux, affections oculaires, pour les femmes : migraines, dystocies, rétention de placenta, règles douloureuses et trop abondantes, troubles pendant la grossesse, fortifiant pour femme enceinte prévention des fausses couches, otites, hémorroïdes, aménorrhée, anti-hémorragique, antalgique, variole, RCA : dermatoses, filariose, toux, asthme, aménorrhée, abcès, migraines, vermifuge, brulure, prévention des fausses couches,	F en prévention de l'avortement, antipyrétique, contre maux de ventre et anthelminthique(1) analgésique et antiseptique génito-urinaire et en application locale sur plaies et abcès, contre les oxyures(2) F avec l'amande d' <i>Irvingia gabonensis</i> contre dysménorrhée (3)		

<i>Piper umbellatum</i>		antiseptique, fièvre, douleurs abdominales, parasitisme intestinal, Guinée Equatoriale : fièvre paludisme, vermifuge, Gabon : règles douloureuses, migraine, amnésie, Burundi : <i>T fortifiant et tonifiant</i> , affection des yeux, galactogène, diarrhée, migraine, dermatoses, prévention des fausses couches, toux, infections uro-génitales, rougeole, fièvre, vermifuge, fortifiant, coliques, filariose, folie, RDC : dermatoses, érythrodermie, hernie, fortifiant, blessures, constipation, salmonellose, hémorroïdes, anti-inflammatoire, maladies vénériennes, abcès, coliques, Congo : coliques Togo : anti-hémorragique, Rép de Guinée : vermifuge, Cameroun : dermatose siège, troubles de la grossesse, Sierra Leone : hémorroïdes			
<i>Piptadeniastrum africanum</i>	non mangée		E en lavements comme ocytocique (3)		
<i>Pseudospondias microcarpa</i>	E/FL/ F/FR /Gr		<i>E des tiges et jeunes feuilles avec des feuilles de Cola sp. contre la toux, anthelminthique (1) E et F contre toux, fièvre et asthénie, diarrhée, intoxications alimentaires, sub-ictères et gonococcies (2) propriétés médico-magiques (3)</i>		
<i>Rauvolfia vomitoria</i>	Yalo sidi : FR		Emétique, purgatif, toxique. E contre la fièvre et les indigestions, R comme tonique et purgatif et contre la blennorragie, F comme émétique et latex pour colique et diarrhée (4), écorces de racine contre œdèmes; maux de ventre, stérilité des femmes blennorragie, jus de feuilles pour plaies, gale et teigne, R contre rhumatisme et fatigue, gingivites(2), F comme fébrifuge (1)	3	anti-arythmique, anti-hypertenseur (a)
<i>Rubia cordifolia</i>	F	Uganda : toux, colique, Zimbabwe : hydrocèle, Tanzanie : coupures, Kenya : stomatite, Ethiopie : paludisme, Rwanda : diarrhée, Burundi : affections oculaires, désordres intestinaux, anti-vomitif, colique, ocytocique, douleurs intercostales, et thoraciques, syncopes, otite, asthme, fortifiant, hépatite, pian	<i>F et R pour pleurésie et problèmes sexuels</i> ; R bacteriostatique contre <i>S. aureus</i> . Plante pourrait contenir de l'acide oxalique (4). R pour Gastro-entérites hémorragiques (5)	nombreux	nombreux produits à activité anti-tumorale (a)
<i>Rubus apetalus</i>	FR	Uganda : dermatoses, Burundi : entorse, diarrhée, fractures, dermatoses, morsure de serpent, ocytocique, vermifuge, actif contre ascaris, fortifiant, rhume, amygdalite, hépatite, blessures	R sp. contre les morsures de serpents (5)		
<i>Securinega virosa</i>	FR	Kenya et Tanzanie : <i>mâcher FR contre les morsures de serpents</i> , Ethiopie : paludisme (R), toux, fièvre, Kenya : douleurs abdominales, Tanzanie : diarrhée, toux, maladies vénériennes, lumbago, Niger : maladies vénériennes, gonorrhée, fortifiant, Nigeria :constipation, émétique, fortifiant, drépanocytose, hépatite, Bénin : blessures, troubles intestinaux, entérite, abcès, ocytocique, stomatite, anite, stérilité femme, toux, vertiges, fièvre, paludisme, coliques, vomissements, régulation des règles, hépatite, amygdalite, convulsions, amnésie, coma, Togo : affections oculaires, constipation, salmonellose, stérilité femme, ocytocique, affection urogénitale,			2 alcaloïdes (virosecurinine et viroallosecurinine) cytotoxiques isolées des F (Tatematsu, ..., Lee, J.Pharm.Sci, 91)

<i>Securinega virosa</i>		vermifuge, oxyures, douleurs abdominales, convulsions, hernies , Comores : douleurs abdominales, antalgique, antispasmodique, Mali : diurétique, infection uro-génitale, hépatite, Ouganda : fièvre, difficultés respiratoires, tonique, lumbago, Burundi : diarrhée, ocytocique, foetus immobile, fièvre, fortifiant, hépatite, Burkina-Faso : problème de prostate, Zimbabwe : œdème des mb inférieurs, diarrhée, abcès, morsure de serpent, prévention des fausses couches, stérilité femme, lumbago, toux, paludisme, infections uro-génitales et maladies vénériennes, fièvre, bilharziose, anti-inflammatoire, douleurs abdominales, dysurie, aphrodisiaque, Mauritanie : hépatite, CI : affections oculaires, purgatif, migraine, douleurs intercostales, fièvre, vermifuge, lithiase urinaire, Sénégal : stérilité			
<i>Spathodea campanulata</i>	FL? Gr?	Nigeria : dermatose, dysménorrhée, hypertension, diarrhée, abcès, dermatose, Bénin : blessures, stérilité femme, infection uro-génitale, rectocèle, stomatite, dyspepsie, Congo : diarrhée, fièvre, maladies vénériennes, RDC : coliques, dysménorrhée, toux, antiseptique, oedème des testicules, constipation, coliques, Cameroun : obésité, RCA : traumatismes, hernie, Togo : galactogène, blessures, ocytocique, règles douloureuses, stérilité femme, lumbago, CI : déviation colonne vertébrale, douleurs abdominales, blennorragie, toux, hématurie, lithiase urinaire, Uganda : migraine, otite, hépatite, Burundi : blessure, constipation, migraine, vermifuge, entérite, douleurs intercostales, Gabon : abcès	E contre fièvre et hernies scrotales (2) contre œdèmes, dysenterie, ulcère, antidote de poison (b)		propriétés hypoglycémiantes, anti-complément, anti-HIV de E des T(isolement de 4 triterpénoïdes). <i>Présence d'anthocyanes dans les FL</i> (Ngouela, ..., Biebam, Planta med., 88) et de flavonoides dans F (Subramanian, ..., Sulochana, Phytochem, 72))
<i>Symphonia globifera</i>	Ipassa, Wamba: FI /FR			4	<i>anti-VIH</i> (a), (Gustafsto, ..., Boyd, Tetrahedron, 92)
<i>Tabernaemontana holstii</i>	FR			4	activité anti-néoplasique, cytotoxique (R) et contre gram - et gram + (a), indole, et alcaloïde bisindole (Kingston, ..., Ionescu, J.Pharm.Sci., 77)
<i>Teclea nobilis</i>	FR	Kenya : dermatose (R), douleurs articulaires (R), coliques (F, R), expectorant (F,R), Rwanda : ascaridose (F)	Utilisé en association avec <i>Crossopteryx</i> fébrifuge comme anti-syphilitique (4), E contre la gonorrhée en Afrique du Sud, F contre fièvre en Tanzanie, E et F comme analgésique(b).		plante très riche en alcaloïdes de type quinoline (nobiline, isoplatydesmine, ribalinine, eduline, monrifoline, skimmianine, maculine (Yenesew, Dagne, Phytochem, 88)
<i>Toddalia asiatica</i>	FR		<i>Fr pour la toux</i> , R contre indigestion et rhume, F pour poumons et maux de dents, R et E contre paludisme, choléra, diarrhée, rhumatisme, syphilis (4)		activité antimicrobienne des fruits (11), activité antipaludique des T et E des R (8)
<i>Treculia africana</i>	FR/G r		E pour dysménorrhée ou comme vermifuge, <i>Fr pour affections broncho-pulmonaires</i> (2) E avec celle de <i>Musanga cecropioides</i> contre les douleurs abdominales(3)		Enveloppes externes des fruits matures contiennent des polyphénols (Lawal, Food Chem, 92)

<i>Trema orientalis</i>	Ma hale: F	Guinée : F contre filariose, Nigeria : troubles du sommeil, diarrhée, toux, vermifuge, Bénin : stérilité femme, Congo : Diarrhée (F), hernie, Togo : hépatite, RCA : fortifiant pour les enfants, retard de développement moteur, affections oculaires, Burundi : <u>bétail</u> : F : <u>prolapsus vaginal</u> , F anthelminthique, constipation, diarrhée, céphalée, fortifiant, rougeole, fièvre, antiémétique pendant la grossesse, Madagascar : troubles digestifs, abcès, toux sanglante, vermifuge, météorisme, rhume, astringent, fortifiant pour les enfants, CI : purgatif, diurétique, toux, fièvre, hépatite, anti-inflammatoire, Cameroun : toux, Tanzanie : F considérée comme antipoison, toux, vermifuge, RDC : <u>bétail</u> F : <u>gastro-entérite</u> , <u>fracture</u> , douleur intercostale et abdominale, infection urogénitale, stomatite, antiseptiques en cas de traumatismes, toux vermifuge, lumbago, douleurs abdominales, infarctus	anthelminthique et émétique (6)		activité antimicrobienne des feuilles (11)
<i>Trichilia splendida</i> (dragaena)	FL/G r/F		F et E contre lumbago, ulcérations rectales, dysenterie, F comme soporifique, R purgative et antipyrétique, anthelminthique (4)		
<i>Triumfetta tomentosa</i>	F		F de <i>T. cordifolia</i> pour dysenterie (5)		
<i>Turraeanthus africanus</i>	F		céphalées, toux, accès de fièvre (2)		
<i>Vangueria apiculata</i>	FR		R comme anthelminthique (4)		
<i>Vernonia auriculifera</i>	T	Kenya : diarrhée	F et T pour déshydratation et diarrhée; F contre vers intestinaux des enfants; F contre la blennorragie; plante contre les abcès des doigts; F+T contre l'arthrose (5)		
<i>Vitex doniana</i>	Ipasa, Kasakati, Gombe: FR		E cicatrisante (1) E contre nausées, coliques ou épilepsie (2)		
<i>Warburgia ugandensis</i>	FR		E comme purgatif et expectorant, contre paludisme (4)	3	molluscide, régulateur de croissance pour plantes, facteur anti-nutritionnel (a), activité antimicrobienne des F et E (11), présence de sesquiterpénoides (Brooks, Draffan, Tetrahedron, 69, Kubo, ..., Nakanishi, Tetrahedron Lett., 77).

(1) Ake Assi, L., Abeye, J., Guinko, S., Giguët, R., Bangavou, Y. (1981). *Contribution à l'identification et au recensement des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle et la pharmacopée en République Centrafricaine*. Rapport de l'A.C.C.T..

(2) Bouquet, A. (1969) *Féticheurs et médecines traditionnelles du Congo (Brazzaville)*. Mémoire O.R.S.T.O.M.

(3) A.C.C.T. (1984). *Médecine traditionnelle et pharmacopée- Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Gabon*. Rapport de l'A.C.C.T.

(4) Watt, J.M., Breyer-Brandwijk, M.G. (1962). *Medicinal and poisonous plants of Southern and Eastern Africa*. E & S Livingstone LTD, 2nd édition.

(5) Van Puyvelde, L., Ngaboyisonga, M., Rwangabo, P.C., Mukarugambwa, S., Kayonga, A., Runyinya-Barabwiriza. (non daté). *Enquêtes ethnobotaniques sur la médecine traditionnelle Rwandaise. Tome 1* : préfecture de Kibuye.

- (7) Taniguchi, M., Kubo, I. (1993). Ethnobotanical drug discovery based on medicine men's trials in the African savanna : screening of East African plants for antimicrobial activity II. *Journal of Natural Products*, **56**, 9, 1539-1546.
- (8) Weenen, H., Nkunya, M.H.H., Bray, D.H., Mwasumbi, L.B., Kinabo, S., Kilimali, V.A.E.B. (1990). Antimalarial activity of Tanzanian medicinal plants., *Planta Medica*, **56**, 368-370.
- (9) Achenbach, H., Waibel, R., Nkunya, M.H.H. , Weenen, H. (1992). Antimalarial compounds from *Hoslundia opposita*. *Phytochemistry*, **31**, 11, 3781-3784.
- (10) Handa, S.S., Kinghorn, A.D., Cordell, G.A., Farnsworth, N.R. (1983). Plant anticancer agents. XXVI. Constituents of *Peddia fischeri*. *Journal of Natural Products*, **46**, 2, 248-250.
- (11) Taniguchi, M., Chapy, A., Kubo, I., Nakanishi, K. (1978). Screening of East African plants for antimicrobial activity. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **26**, 9, 2910-2913
- (12) Kloos, H., McCullough, F.S. (1987). Plants with recognized molluscicidal activity. In Mott, K.E. (Ed.), *Plant molluscicides*. New York.
- (13) Katende, A.B., Birnie, A., Tengnäs, B.O. (1995). *Useful trees and shrubs for Uganda*, Identification, propagation and management for agricultural and pastoral communities. Regional Soil Conservation Unit.

3- Évaluation de l'état sanitaire

La mission-pilote, menée en novembre 1999, a permis de mettre au point les protocoles d'étude de terrain et de déterminer la faisabilité d'une étude conjointe de l'écologie, de la santé et du régime alimentaire portant sur les individus de la communauté de Kanyawara. Les protocoles d'analyse parasitaire ont aussi été évalués. La collecte d'échantillons déterminés conditionnant fortement la validité de cette étude, le suivi rapproché des individus était donc nécessaire.

La réalisation de numérations des parasites contenus dans les selles a été décidée afin d'évaluer la sévérité de l'infestation parasitaire. Les résultats de tels comptages de parasites dans les selles de chimpanzés sauvages n'ont jamais été publiés auparavant.

Alors que l'étude des fèces des chimpanzés ne permet objectivement que de mettre en évidence des infestations parasitaires ou éventuellement des pathologies du tractus digestif (même si elle peut permettre de souligner des déficits immunitaires, elle ne peut en trouver la cause), les analyses d'urine peuvent permettre, par contre, de diagnostiquer des dysfonctionnements autres que simplement urinaires. Le mauvais fonctionnement d'un organe, comme le foie par exemple, un problème métabolique ou encore des conditions anormales de nutrition peuvent se traduire par une modification des paramètres urinaires. Lors de l'étude préliminaire menée en novembre 1999, aucune analyse urinaire n'a été pratiquée. En effet, la collecte d'échantillons urinaires semblait difficile. Aucune étude de ce type n'est rapportée chez les chimpanzés en liberté. Pourtant, la bonne habitude des animaux aux observateurs ainsi que la mise au point par les assistants d'une méthode de collecte évitant d'obtenir des urines souillées (technique du sac en plastique) a permis d'envisager de telles analyses. L'objectif de l'étude était de déterminer la faisabilité de collecter ces échantillons sans effrayer les animaux par le bruit de l'urine sur le sac ainsi que de connaître les normes et de détecter les écarts vis-à-vis de celles-ci. De tels prélèvements sont effectués depuis 1997 par les assistants de Kibale Chimpanzee Project et nous pourrons, dans le cadre de la discussion, comparer nos résultats avec des données non publiées mais qui ont été communiquées par Richard Wrangham.

Les observations cliniques ainsi que les résultats des analyses parasitaires et des examens urinaires sont rapportés ci-après.

3.1 Observations cliniques

Les observations menées sont de plusieurs types. On a pu relever des mutilations, pré-existant à l'étude présente, mais qui influent encore probablement sur l'état général des animaux les portant. Leur description est rapportée ci-après.

Des épisodes de maladies ou des blessures ont aussi été observés et sont décrits.

3.1.1 Mutilations dues aux pièges des braconniers

Des anomalies des membres ont été observées chez plusieurs individus de la communauté de Kanyawara. La pose de pièges pour attraper des antilopes et du petit gibier forestier par les populations locales, mais surtout par les employés des exploitations forestières, en sont responsables.

Les lésions sont caractéristiques et selon la gravité, on distingue deux formes principales de mutilation.

➤ *Main et poignet en forme de crochet*

L'avant-bras est déformé par une extrême flexion, permanente, du poignet et des doigts. La main est plus ou moins atrophiée et se caractérise par une chute des poils sur le poignet et la face postérieure de la main. Les dommages imputés aux tendons peuvent expliquer la rigidité des doigts et de l'articulation et le manque ou l'absence de mouvement avec cette main. Le fait que la partie distale du membre ne soit pas tombée indique qu'une partie des tissus, vaisseaux, nerfs et tendons, et particulièrement ceux de la partie supérieure de l'avant-bras, est encore fonctionnelle. Les os du métacarpe peuvent aussi subir des dommages.

Ce type de déformation est causé par des pièges à collet. Le chimpanzé ayant la main prise dans un tel piège tire sur la main prisonnière jusqu'à ce que la corde ou le fil métallique se rompe. Étranglant le poignet, le fil est alors enfoncé dans les chairs, le chimpanzé ne parvient pas à l'ôter et le garde parfois très longtemps. Les assistants rapportent que certains individus ont gardé de tels fils autour de leur poignet plusieurs mois.

➤ *Doigts et mains amputés*

On peut supposer que si le fil ou la corde reste une longue période autour du poignet, la nécrose gagne alors les tissus qui se gangrènent, et un segment du membre (doigt ou main voire avant-bras) tombe.

Au moins 11 chimpanzés souffrent de malformations des membres dues à des pièges. Dans 7 cas, les malformations observées chez les chimpanzés s'accompagnent de la perte de doigts et de phalanges. Dans trois cas (PG, KL, PU) la main entière et une partie de l'avant-bras sont amputées. Un individu (YB) a eu les deux mains piégées et a perdu la plupart de ses doigts aux deux mains.

Un mâle nommé d'ailleurs Bad Foot (BF) était amputé d'un pied. Il a disparu en 1998. Parmi les 10 mâles adultes, un sur deux souffre de mutilations aux membres. Les trois mâles adolescents (KK, PG et ED) ont aussi des graves lésions dues aux pièges.

Dans le cas de KK, la plaie au poignet était encore suintante lors de la mission préliminaire de novembre 1999. En janvier 2001, le poignet, la main et les doigts - en dehors du pouce - sont encore très œdématiés et inertes. Par contre, il possède encore une certaine mobilité du poignet. La face dorsale de sa main présente des cicatrices et des plaies, la peau desquamée et des mouches sont souvent posées sur sa main. En octobre 2001, les plaies sont sèches, mais le poignet semble complètement arthrosique.

Planche mutilations

➤ *Séquelles*

Les séquelles et conséquences induites par de telles mutilations peuvent être lourdes. Elles sont de trois types :

- difficultés locomotrices
- problèmes lors du *foraging* et de l'alimentation
- impact sur la hiérarchie sociale

Par exemple, les mutilations aux deux mains de YB ont un impact sur son aspect général et sa locomotion très important. Son dos est extrêmement déformé, avec une lordose et une scoliose très importantes. Les mutilations aux membres de LK sont aussi probablement responsables de sa forte voussure dorsale.

YB et PG utilisent beaucoup plus souvent que les autres individus une locomotion bipède. La locomotion arboricole - surtout les phases d'ascension et de descente - est aussi difficile pour ces deux individus.

Pour les femelles portant un jeune enfant, ces mutilations sont aussi très invalidantes.

L'accès à la nourriture est plus difficile pour ces individus et la cueillette des fruits est pénible pour ceux ayant des amputations aux doigts. De plus, leur handicap physique ayant un impact sur la hiérarchie, ils sont plus souvent chassés que d'autres, lors de conflits liés à la compétition alimentaire intra-spécifique.

Des assistants de l'Université de Makerere effectuent régulièrement des patrouilles dans la forêt pour détruire les pièges trouvés. Au cours du suivi des chimpanzés, il arrive aussi que les observateurs en trouvent.

Il est étonnant de noter que les animaux ne succombent pas à de telles mutilations. Les plaies sont rarement infectées et, même si la guérison complète peut être longue, l'infection est contrée.

3.1.2 Blessure de LB

Le 15 février 2001, une agression de YB sur LB est observée. YB mord violemment le pied de LB et l'orteil 5 du pied droit de LB est profondément entaillé par la morsure.

L'orteil, désarticulé, pend, retenu par un lambeau de chair et les tendons ; l'os métatarsien est visible au niveau de la plaie.

Le 16 février, LB inspecte très souvent sa plaie qui est humide et suintante et la lèche souvent.

Le 19 février, la locomotion semble douloureuse et LB se tient à l'écart du groupe, ne suit pas les deux mâles TU et MS, lorsqu'ils s'éloignent du groupe initial. Le lendemain, le doigt est noir, la plaie sèche et l'orteil ne tient que par un très fin lambeau de peau. La locomotion arboricole est difficile. Au sol, le chimpanzé boite.

Le 21 février, la plaie sur l'extérieur du pied atteint 4 x 3 cm pour une profondeur de 1cm. LB n'utilise que très rarement sa jambe droite pour descendre des arbres et passe beaucoup de temps à inspecter sa plaie et à enlever soigneusement le pus avec ses doigts et sa bouche.

Le 24 février, l'orteil est tombé, la plaie est propre mais très œdématiée.

Tableau XXI. Utilisations ethnomédicinales des aliments consommés par LB suite à sa morsure.

Espèce et partie consommée	Date de l'ingestion observée	Utilisation en médecine traditionnelle humaine et vétérinaire (références : site internet Prélude)
<i>Acanthus pubescens</i> (tiges)	21/02/2001	<u>Burundi et Rwanda</u> : dermatose , infections cutanées des hommes et des bovins (3, 9) <u>RDC</u> : anti-inflammatoire (6)
<i>Cordia africana</i> (fruits)	19, 20, 21, 24/02/2001	<u>Burundi</u> : anti-hémorragique pour humains (2) <u>Afrique de l'Est</u> : utilisation de l'écorce pour les fractures (13) et antiseptique pour les blessures des animaux (12)
<i>Ficus capensis</i> (figes)	19/02/2001	<u>Bénin</u> : œdème chez l'homme (1) <u>Zimbabwe</u> : abcès et œdème chez l'homme (7) <u>Afrique de l'Est</u> : analgésique en dentisterie (13) <u>RDC</u> : oedème, ulcère lépreux (5), Tanzanie : analgésie (11)
<i>Ficus natalensis</i> (figes)	16/02/2001	<u>Afrique de l'Est et du Sud</u> : morsure de serpent (13)
<i>Ficus exasperata</i> (figes)	20/02/2001	<u>RDC</u> : abcès, oedème, anti-inflammatoire pour douleurs articulaires (1) analgésique ophtalmologique, ulcère lépreux (5, 8) <u>RCA et Sierra Leone</u> : dermatose (4) <u>Sénégal</u> : dermatose (10)

- (1) Adjanohoun, E.V. et al. (1989). *Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République populaire du Bénin*. Agence de coopération culturelle et technique, (A.C.C.T.), Paris, 895 p.
- (2) Baerts, M., Lehmann, J. (1989). *Guérisseurs et plantes médicinales de la région des crêtes Zaïre-Nil au Burundi*. Musée royal de l'Afrique centrale, Tervuren, Belgique. Ann. Sc. Eco., Vol. 18. 214 p.
- (3) Baerts, M., Lehmann, J. (1991). *Plantes médicinales vétérinaires de la région des crêtes Zaïre-Nil au Burundi*. Musée royal de l'Afrique centrale, Tervuren. Ann. Sc. Eco., Vol. 21. 133 p.
- (4) Barnish, G., Samai, S.K. (1992). *Some medicinal plant recipes of the Mende, Sierra Leone*. Medical Research Council Laboratory SLADEA Publication Kew 96 p.
- (5) Bouquet, A. (1969). *Féticheurs et médecines traditionnelles du Congo (Brazzaville)*. Mémoire O.R.S.T.O.M. 282 p.
- (6) Defour, G.(1994). *Plantes médicinales traditionnelles au Kivu (République du Zaïre)*. Documentation du Sous-Réseau PRÉLUDE.
- (7) Gelfand, M., Mavi, S., Drummond, R.B., Ndemera, B. (1985). *The traditional medicinal practitioner in Zimbabwe*. Mambo Press, Gweru (Zimbabwe). 411 p.
- (8) Gillet, J., Paque, E. (1910.) *Plantes principales de la région de Kisantu*. Ann. Mus. Congo belge, sér. 5, 4, 1, 120 p.
- (9) Kayonga, A ., Habiyaemye, F.X.(1987). *Médecine traditionnelle et plantes médicinales rwandaises. Contribution aux études ethnobotaniques de la flore rwandaise*. Préfecture de Gisenyi. Univ. Nat. Rwanda, Centre universitaire de recherche sur la pharmacopée et la médecine traditionnelle, CURPHAMETRA, inédit. 121p.
- (10) Kerharo, J., Adam, J.G. (1974). *La pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques*. Editions Vigot Frères. Paris, 1011 p.
- (11) Kokwaro, J.O. (1976). *Medicinal plants of East Africa*. East african literature bureau, Kampala, Nairobi, Dar Es Salaam, 368 p.
- (12) Mkangare Minja, M.M.J. (1989). *Collection of Tanzanian medicinal plants for biological activity studies*. Proceedings of the 7th Tanzania veterinary association scientific conference. Tanzania Veterinary Association, Vol. 7, 67- 78.
- (13) Watt, J.M., Breyer-Brandwijk, M.G.(1962). *Medicinal and poisonous plants of Southern and Eastern Africa*. 2nd edition. E&S Livingstone LTD. 1457 p.

3.1.3 Syndrome grippal de KK

Le 15 février 2001, KK, mâle de 17 ans tousse fréquemment.

Les résultats de son examen clinique du 16 février 2001 sont présentés sur la figure 57. Les symptômes associent une **pathologie de l'appareil respiratoire supérieur et profond, une coprologie riche en parasites intestinaux** (1750 *Probstmayria gombensis*/g de selles comptées par examen direct, *Oesophagostomum stephanostomum* et *Strongyloides fulleborni* détectés par flottation de Mac Master) et un prélèvement urinaire avec un pH de 6,5.

Le budget d'activité de KK entre 11:35 et 18:50 montre qu'il passe **moins de 16% du temps d'observation à s'alimenter** et plus des trois-quart du temps d'observation à se reposer, le plus souvent en décubitus au sol. Même lorsqu'il se trouve dans *Ficus natalensis*, il est inactif, ne se nourrissant pas.

Pendant 14 min, il a consommé des figes immatures de *Ficus capensis* qui n'ont été consommées par aucun des 13 autres individus du groupe ce jour-là. La figure 56 présente son budget d'activité et celui des 13 autres individus du groupe durant la même période d'observation.

Fig. 56 Budget d'activité de KK (215 min) et des 13 autres individus (680 min) du même groupe entre 11:35 et 18:50 le 16/02/01.

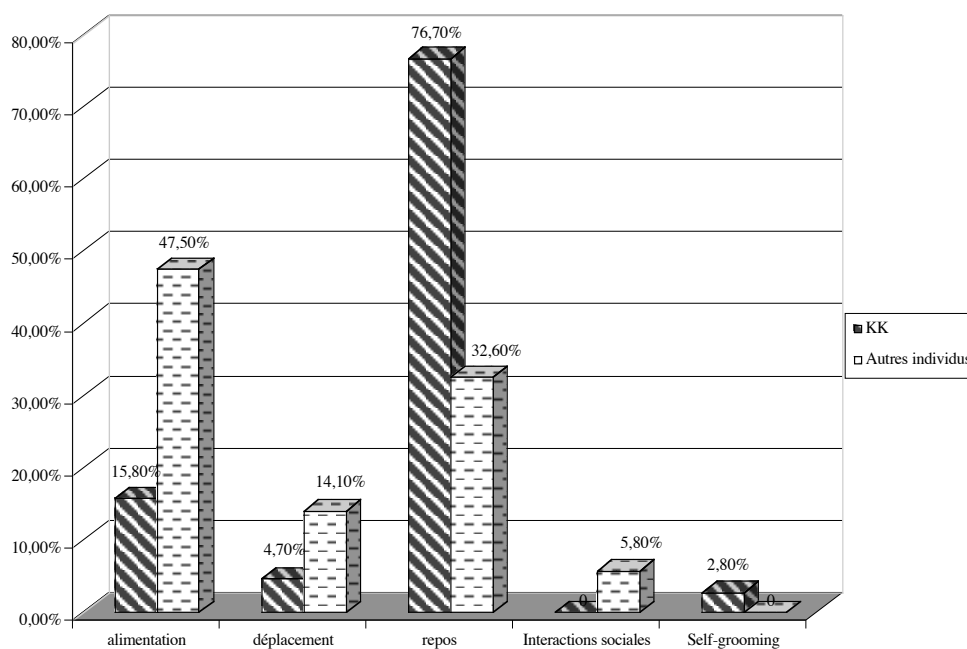


Fig. 57 Examen clinique de KK le 16/02/01

FICHE D'EXAMEN CLINIQUE				
	Identité	Kakama	Date 16/2/01	
	Age 16 ans			Sexe M
<u>Etat général</u>	BON	<u>MOYEN</u>		MAUVAIS
<u>Etat d'embonpoint</u>	<u>BON</u>	MOYEN		FAIBLE
<u>Aspect du pelage</u>	<u>BON</u>	MOYEN		MAUVAIS
APPAREIL LOCOMOTEUR <u>NORMAL</u>				
<u>Locomotion</u>	AISEE	MOYENNE		DIFFICILE
<u>Mutilations aux membres</u>	OUI NON	Localisation : poignet gauche		Etiologie : piège
<u>Musculature</u>	<u>EXCELLENTE</u>	MOYENNE		AMYOTROPHIE
<u>Articulations</u>	NORMALES	<u>OEDEMATEUSE</u>		<u>ARTHROSIQUE</u>
		localisation : poignet gauche		localisation : poignet G
Commentaires :				
APPAREIL DIGESTIF NORMAL				
<u>Appétit</u>	BON	MOYEN		<u>ANOREXIE</u>
<u>Soif</u>	NORMALE			AUGMENTEE
<u>Vomissements</u>	<u>NON</u> OUI			
SELLES				
<u>Consistance</u>	DIARRHEE	MOU	<u>MOULE</u>	FERME
	Type IG ou GI			CONSTIPATION
<u>Présence de mucus</u>	<u>NON</u> OUI			
<u>Présence de sang</u>	<u>NON</u> OUI	EN NATURE		DIGERE
<u>Météorisme</u>	<u>NON</u> OUI			
<u>Présence de macroparasites</u>	<u>NON</u> OUI			
Coproscopie riche en <u>Probstamyrta sp. (1750 parasites/g), Oesophagostomum stephanostomum, Strongyloides fülleborni.</u>				
Commentaires :				
APPAREIL RESPIRATOIRE				
<u>fréquence respiratoire</u>	NORMAL	<u>AUGMENTEE 40</u>		DIMINUEE
<u>Voies respiratoires hautes</u>				
<u>Eternuements</u>	NON <u>OUI</u>			
<u>Jetage</u>	ABSENT	LEGER	<u>ABONDANT</u>	
	CLAIR		<u>EPAIS</u>	
<u>Voies respiratoires profondes</u>				
<u>Toux</u>	NON <u>OUI</u>	SECHE		<u>GRASSE</u>
	RARE			<u>FREQUENTE</u>
<u>Expectorations</u>	ABSENTES	FAIBLES		ABONDANTES
<u>Dyspnée</u>	NON <u>OUI</u>	FAIBLE	<u>FORTE</u>	
Commentaires : pas vu depuis le 6/2/01, KK tousse beaucoup depuis le 15/2/01. Le 16/2/01, il présente une toux grasse avec <u>râles respiratoires</u> qui augmentent lorsqu'il est en décubitus, des sifflements s'entendent même au repos. Jetage abondant, muqueux, respiration orale. Appétit diminué et temps de repos très longs. Le 19/2/01, les râles respiratoires sont importants même lorsqu'il est assis. Il est seul, très éloigné de l'autre groupe localisé.				
APPAREIL URINAIRE NORMAL <u>Valeur de pH anormale</u>				
<u>Couleur de l'urine</u>	<u>CLAIRE</u>	JAUNE	FONCEE	
<u>Miction</u>	<u>AISEE</u>	POLYURIE		OLIGURIE
<u>Présence de sang macroscopique</u>		<u>NON</u> OUI		
<u>Présence de cristaux (-)</u>				
Résultat bandelette Normal sauf pH <u>PH 6.5</u>				
APPAREIL REPRODUCTEUR <u>NORMAL</u>				
OPHTALMOLOGIE <u>NORMAL</u>				
DERMATOLOGIE <u>NORMAL</u>				

Photos KK et LB malades

OK mange l'écorce

3.1.4 Syndrome grippal d'AR

Depuis le 7 février 2001, AR, vieille femelle dont l'âge est estimé à plus de 50 ans, souffre de **rhinite associée à de la toux**. Elle est **maigre** et, les 7 et 8 février, elle se repose souvent dans des nids de jour.

Le 9 février 2001, AR ne quitte pas son nid avant 8:10 alors que sa fille AS est réveillée et hors du nid depuis 6:47. À trois reprises, des étternuements provenant du nid d'AR sont entendus ainsi qu'une toux grasse. Les quantités d'urine et de matières fécales qu'elle émet sont réduites. Des **nitrites et du sang ont été mis en évidence dans deux prélèvements urinaires** des 7 et 9 février (#31 et #38) et les fèces des mêmes dates (3 échantillons) contiennent des parasites **nématodes** (*Probstmayria* sp., *Strongyloides fulleborni* ainsi que des larves de type Ankylostome).

Les selles du 7 février sont molles et l'échantillon #108 émis depuis son nid le 9 février contient des proglottis de *Bertiella studeri* ; des œufs de la même espèce de Cestodes sont observés microscopiquement.

3.1.5 Problèmes digestifs d'OK

Depuis le 16 octobre 2001, une jeune femelle de 6 ans, OK, souffre de troubles digestifs. **Ses selles sont alternativement dures et sèches, puis molles ou diarrhéiques, et contiennent des parasites** (Tableau XXII).

Tableau XXII. Caractéristiques des selles de OK

Date du prélèvement	Consistance/couleur	Charge parasitaire corrigée		Nombre d'espèces
		Flottation de Mac Master (/lame)	Examen direct (ml)	
16/10/01	moulée	4	300	4
17/10/01	sèche, jaune	1	200	2
19/10/01	diarrhée	21	nd	3
22/10/01	moulée	4	0	2
Moyenne oct-01 femelles		10,2	175	

Par ailleurs, elle a éternué à plusieurs reprises le 17 octobre.

Le 20 octobre 2001, à 9:42, OK a été observée en train de consommer l'écorce et la sève d'*Albizia grandibracteata* (**Mimosaceae**). La consommation de cette espèce est rare chez les chimpanzés de Kanyawara et seule la consommation de feuilles a été rapportée (Wrangham, comm. pers.). Elle est le seul individu du groupe à consommer l'écorce de cette plante. Elle s'est arrêtée au cours d'un déplacement pour détacher avec difficulté l'écorce de l'arbre alors que sa mère et ses deux autres enfants l'attendaient. Cette plante est utilisée en médecine traditionnelle africaine : en Ouganda, son écorce est prescrite contre le météorisme pour les humains et en RDC, les éleveurs traitent les petits ruminants souffrant de parasitisme intestinal et d'amibiases à l'aide de l'écorce de cette plante (Tableau XXIII).

Tableau XXIII. Utilisation de l'*Albizia grandibracteata* (Mimosaceae) en médecine traditionnelle africaine

Partie de plante	Indication	Espèce cible du traitement	Préparation	Région	Références (Prélude)
Écorce	Anthelminthique	Petits ruminants	Macération dans l'eau, voie orale	RDC	Balagizi Karmayoga & Ntumba Kayembe (1998)
		Homme	Décoction, lavement	RDC	Defour (1994)
	Météorisme, ballonnement	Homme	Écorce en poudre par voie rectale	Ouganda	Heine & König (1988)
	Lumbago	Homme	Décoction, lavement	RDC	Nyakabwa & Gapusi (1990)
Bourgeon terminal	Blessure, fracture	Homme	Décoction, voie orale et massage	RDC	Nyakabwa & Gapusi (1990)
Racine	Amygdalite	Homme	Infusion, voie orale	Ouganda	Kokwaro (1976)

3.1.6 Abscess dentaire à la canine de TU

Le 14 février 2001, TU présente un oedème sur le côté gauche de l'aile du nez probablement dû à un abcès à la canine. Aucun autre symptôme n'est alors noté. Parmi les aliments qu'il consomme, plusieurs sont utilisés en médecine traditionnelle africaine : *Piper capense* est utilisé pour les plaies à la gorge, au cou et les abcès, le *Ficus capensis* pour faire « mûrir » les abcès et *Celtis africana* sert dans le cas de douleurs dentaires en Afrique du Sud (site internet « prélude »).

3.1.7 Animaux souffrant de rhinite et de toux

Autour du 15 février, d'autres individus du groupe souffrent de troubles broncho-pulmonaires et de rhinite, même si les symptômes sont moins sévères que dans le cas KK (le 15 février pour OU néanmoins avec dyspnée, et le 19 février pour ES et PG) (cf tableau XXXIV).

3.1.8 Animaux souffrant de diarrhée

Parmi les 252 échantillons de selles collectés, moins de 7% des échantillons (17 échantillons) ont une consistance diarrhéique. Trois individus ont plusieurs prélèvements diarrhéiques : LK, le 13 décembre 2000 et le 25 février 2001, BB, les 14 et 25 février 2001 ainsi que le 20 octobre 2001 et YB pour trois échantillons proches collectés dans un intervalle de temps de moins de 2 heures (dans ce cas, on peut supposer une cause différente du stress, qui occasionne souvent l'émission de selles liquides lors de conflits sociaux).

Tableau XXIV. Échantillons de consistance diarrhéique parmi les 252 échantillons prélevés (en italique, les individus dont plusieurs prélèvements étaient diarrhéiques).

Échantillon	Date	Heure	Individu
<i>8</i>	<i>13/12/00</i>	<i>8h30</i>	<i>LK</i>
<i>28</i>	<i>05/01/01</i>	<i>12h00</i>	<i>TJ</i>
<i>115</i>	<i>14/02/01</i>	<i>10h00</i>	<i>BB</i>
<i>124</i>	<i>15/02/01</i>	<i>18h10</i>	<i>ST</i>
<i>145</i>	<i>16/02/01</i>	<i>8h30</i>	<i>PG</i>
<i>147</i>	<i>16/02/01</i>	<i>7h50</i>	<i>MS</i>
<i>157</i>	<i>20/02/01</i>	<i>17h16</i>	<i>YB</i>
<i>158</i>	<i>20/02/01</i>	<i>18h50</i>	<i>YB</i>
<i>159</i>	<i>20/02/01</i>	<i>17h50</i>	<i>YB</i>
<i>161</i>	<i>20/02/01</i>	<i>16h45</i>	<i>YB</i>
<i>186</i>	<i>25/02/01</i>	<i>13h40</i>	<i>LK</i>
<i>187</i>	<i>25/02/01</i>	<i>13h35</i>	<i>BB</i>
<i>218</i>	<i>12/10/01</i>	<i>10h55</i>	<i>TG</i>
<i>222</i>	<i>13/10/01</i>	<i>10h05</i>	<i>KK</i>
<i>228</i>	<i>17/10/01</i>	<i>8h20</i>	<i>SL</i>
<i>236</i>	<i>19/10/01</i>	<i>10h55</i>	<i>OK</i>
<i>243</i>	<i>20/10/01</i>	<i>13h</i>	<i>BB</i>

3.2 Étude des parasites intestinaux par coprologie

3.2.1 Résultats de la mission pilote de novembre 1999

Soixante-sept échantillons ont été prélevés et conservés dans le formol puis analysés au Service de Parasitologie de l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort selon les trois méthodes présentées précédemment.

➤ Identification des parasites

▲ Les helminthes

Vingt-cinq échantillons (soit 37%) contenaient des helminthes.

Quatre principaux types de parasites ont été observés : des strongles ont été trouvés dans 22 fèces, des trichures dans 3 fèces, des ascaris dans trois fèces également et des cestodes appartenant à l'espèce *Bertiella studeri* dans une fèces. Seules deux fèces contenaient deux types de parasites : dans l'échantillon 56, des strongles et des œufs de *Bertiella studeri* étaient présents et dans l'échantillon 4, des strongles et des ascaris ont pu être détectés. Sept fèces contenaient des macroparasites (proglottis de *Bertiella studeri* notamment).

▲ Les protozoaires

Les lames portant les échantillons conservés dans l'APV ont séché, quelques jours après leur réalisation, et n'ont pas pu être analysées.

Vingt quatre échantillons tirés au hasard parmi ceux conservés dans le MIF ont été analysés dans le service de parasitologie de l'Hôpital Saint-Antoine à Paris. Neuf étaient positifs et plusieurs protozoaires ont pu être mis en évidence : *Entamoeba histolytica*, *Endolimax nana*, *Endolimax sp.*, *Pseudolimax sp.* et des coccidies. Sept échantillons contenaient des *Endolimax nana*, 3 des coccidies et 3 des *E. histolytica*. Dans 4 prélèvements, on a pu trouver plus d'une espèce de protozoaires. Parmi les 24 échantillons sur lesquels la recherche de protozoaires a été effectuée, 4 d'entre eux contenaient à la fois des protozoaires et des helminthes et 7 ont été positifs à la recherche d'helminthes.

➤ Consistance des selles

Une grande majorité (plus de 60%) des selles était moulée, 16% était pâteuse. Quelques échantillons étaient diarrhéiques ou durs. Le nombre d'échantillons positifs se répartit de la façon présentée dans le tableau XXV.

Tableau XXV. Présence de parasites et consistance des selles lors de la mission pilote.

Consistance des selles	Nombre d'échantillons collectés	Nombre d'échantillons positifs
Liquide	7	2
Molle	4	3
Pâteuse	11	3
Moulée	41	15
Dure et sèche	2	1

➤ *Etude des prélèvements par individu*

On a pu identifier, au cours de la récolte, l'animal qui avait émis les selles dans 32 cas sur les 67. Parmi ces 32 échantillons qui appartenaient à 14 individus différents (LP, LB, LK, LS, KK, BL, KL, AR, MS, SY, PG, NL) 8 échantillons appartenant à 7 individus (LP, LB, LK, LR, LS, KK, BL) étaient positifs. 25% des échantillons identifiés et 1 individu sur deux étaient donc positifs.

Dans les cas où des prélèvements multi-quotidiens ont été effectués, les résultats étaient les suivants :

- LB, le 14/11/99 :
 - 13h15 : échantillon 31 : selles **pâteuses**, recherche d'helminthes **négative**
 - 13h34 : échantillon 37 : selles **diarrhéiques**, recherche d'helminthes **positive** et présence de macroparasites
- LP, le 8/11/99 :
 - 11h46 : échantillon 6 : selles **diarrhéiques**, recherche d'helminthes **positive**
 - 12h15 : échantillon 5 : selles **pâteuses**, recherche d'helminthes **négative**

Dans le cas d'individus appartenant au même groupe familial, on peut choisir l'exemple de la famille de LP, mère de LS (née en 1996), de LR (née en 1989) et de LK (né en 1987). LS et LR ne quittent pas LP, LK est vu très souvent avec sa mère et ses sœurs. LB mâle de 32 ans serait probablement un autre fils de LP.

La recherche d'endoparasites est positive pour tous ces individus.

22 échantillons ont été récoltés et identifiés comme appartenant à ces individus. On a pu noter la présence de Strongles chez LP, LK, LS et de Trichures chez LR. La proportion de prélèvements positifs est la suivante:

- ✓ LP : 1/7 le 8/11/99 (1 Ankylostome)
- ✓ LK : 1/7 le 16/11/99 (1 Ankylostome)
- ✓ LR : 1/3 le 14/11/99 (20 Trichures)
- ✓ LS : 1/1 le 16/11/99 (2 Ankylostomes)
- ✓ LB probablement fils de LP : 2/4
 - le 7/11/99 : 17 Strongles dans 1 seule selle
 - le 14/11/99 : 3 Ascarides

➤ *Comparaison des méthodes*

Les 3 méthodes pour la recherche d'helminthes procurent des résultats parfois très différents.

On peut s'intéresser à 4 paramètres afin d'évaluer les méthodes :

- le nombre de fèces où la recherche de parasites est positive,
- le nombre de parasites détectés par chaque méthode,
- cas où la méthode détecte des parasites alors que les deux autres n'en détectent pas : cas A
- cas où la méthode permet de détecter des parasites différents des deux autres (une des deux autres méthodes a mis en évidence des parasites) : cas B

Tableau XXVI. Comparaison des méthodes d'analyse coprologique testées lors de la mission pilote

	Flottation de Mac Master	Flottation totale	Concentration diphasique
Nombre de fèces positives	23	11	12
Nombre de parasites détectés	59	31	31
Cas A	9	1	2
Cas B	0	0	2

En conclusion, ces premiers résultats ont permis de **définir un protocole de collecte** pour l'étude parasitologique des deux missions suivantes :

- Le cas de prélèvements multi-quotidiens donnant des résultats différents, bien que les deux collectes ne soient réalisées qu'à une heure d'intervalle. Consistance des selles et présence de parasites peuvent varier.
Une récolte systématique doit être effectuée.
- **La consistance des selles ne doit pas être considérée comme un indice de collecte** car des selles diarrhéiques sont souvent émises lors des confits sociaux ou lors de période de stress. D'autre part, la recherche de parasites dans les selles dures peut être positive. Il serait, par ailleurs, nécessaire de prélever une plus grande quantité de matières fécales pour chaque échantillon.
- La méthode d'analyse la plus efficace semble être la flottation au MgSO₄ avec lecture sur les lames de Mac Master en lui alliant éventuellement la concentration diphasique (nécessité de centrifugation). La conservation des selles dans du formol et du MIF pour la recherche des protozoaires paraît adaptée aux analyses ultérieures.

3.2.2 Résultats des missions 2000-2001

252 échantillons ont été collectés : 187 pendant la première mission, 65 durant la seconde. 127 selles provenaient de 18 femelles et 125 de 20 mâles (tableau XXVII).

Tableau XXVII. Distribution des classes d'âge et de sexe des individus échantillonnés pour les coprologies par flottation de Mac Master.

	décembre 2000-février 2001			oct-01		
	mâles	femelles	total	mâles	femelles	total
total	95	91	186	25	28	53
<i>nombre d'individus</i>	18	20	38	12	10	22
adultes	62	55	117	18	14	32
	9	14	23	9	5	14
adolescents	20	29	49	3	6	9
	3	3	6	1	2	3
juvéniles et enfants	6	3	9	2	3	5

Mâle adulte : plus de 16 ans, femelle adulte plus de 15 ans

Mâle adolescent : de 8 à 16 ans, femelle adolescente : de 8 à 15 ans

Pendant la première mission, en saison sèche, 4,8 échantillons ont été examinés par individu (SD = 5,1).

Au cours de la seconde mission, en saison des pluies, 2,9 et 2,4 échantillons par individu (SD = 2,1 et 1,7) ont été analysés respectivement par la flottation de Mac Master et par examen direct.

Sur l'ensemble des deux missions, pour chaque animal, une moyenne de 6,3 (SD = 6,3) fèces ont été examinées.

➤ *Proportion d'échantillons parasités par des helminthes en fonction des méthodes utilisées et de la saison d'étude*

La proportion d'échantillons dans lesquels ni nématode ni cestode n'a été détecté par aucune des deux méthodes (échantillon négatif par flottation de Mac Master et par examen direct) est faible (6,5 % pour la première mission, 4,6% pour la seconde, différence non significative).

En saison sèche, la proportion d'échantillons avec des helminthes (échantillons positifs) est plus forte par la méthode d'examen direct que par celle de flottation pour les échantillons récoltés ($p < 0,001$).

En saison des pluies, cette tendance s'inverse ($p = 0,02$).

Cette différence peut s'expliquer par l'efficacité de chacune des méthodes à détecter un stade parasitaire : en saison sèche, les prélèvements sont plus riches en larves qu'en œufs d'helminthes; on observe le contraire en saison des pluies. Or, comme les larves sont détectées plus efficacement par la méthode d'examen direct, la proportion d'échantillons positifs est plus forte en saison sèche par cette méthode.

▲ **En fonction du sexe**

En saison sèche, les échantillons des femelles testées sont positifs à 87,5% par examen direct et seulement 63,7% par flottation ($p < 0,0001$). Les échantillons des mâles sont aussi plus souvent positifs par examen direct (80,6% contre 73,7%) mais la différence n'est pas significative. Les différences entre sexes ne sont pas significatives.

En saison des pluies, les échantillons provenant des mâles et femelles sont plus souvent positifs par la méthode de Mac Master que par examen direct ($p < 0,01$ pour les femelles et $p < 0,02$ pour les mâles). Aucune différence significative entre sexe n'est notée.

▲ **En fonction de l'âge**

Pendant la saison sèche, chez les jeunes chimpanzés de moins de 10 ans, 84,2% des échantillons ($n = 19$ échantillons de 9 individus) sont positifs à l'examen direct contre 81,8% ($n = 22$ échantillons de 9 individus) par la flottation de Mac Master et 89,5% des selles sont positives soit par l'une soit par l'autre méthode.

En saison des pluies, 75% des échantillons ($n = 12$ échantillons de 6 individus) sont positifs avec les deux méthodes. Les différences entre saisons et méthodes ne sont pas significatives. Tous les individus examinés au cours de deux saisons sont parasités par des métazoaires.

➤ *Proportion d'individus positifs*

Le nombre d'individus positifs (dont au moins un échantillon est positif pendant la mission) est élevé durant les deux saisons quelle que soit la méthode utilisée (différence non significative). Tous les individus examinés pendant la saison des pluies étaient porteurs de parasites nématodes ou cestodes, 96% des individus étaient positifs en saison des pluies.

Le tableau XXVIII rend compte des échantillons et individus positifs selon la méthode.

Tableau XXVIII. Détection des échantillons et chimpanzés positifs avec deux techniques de coprologie parasitaire en fonction des saisons de récolte des échantillons

	saison sèche			saison des pluies		
	Mac Master	examen direct	Mac Master ou examen direct	Mac Master	examen direct	Mac Master ou examen direct
échantillons positifs	69%	84%	93%	89%	63%	95%
individus positifs	100%	95%	100%	91%	77%	96%

➤ *Evaluation des charges parasitaires (CP)*▲ **par examen direct : CP corrigée moyenne**

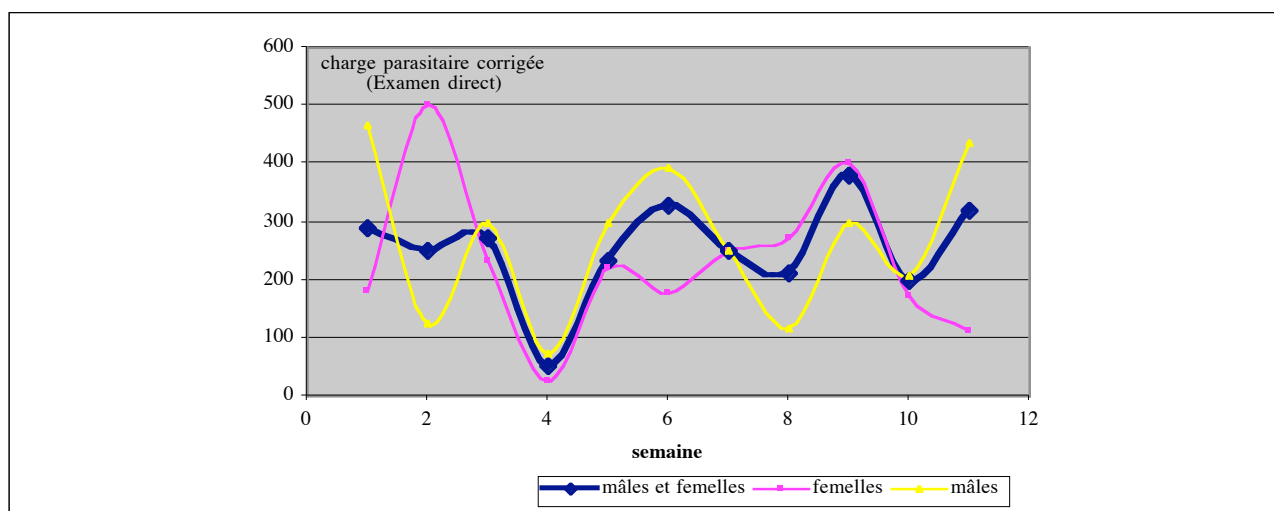
Durant les deux missions, les charges parasitaires corrigées moyennes calculées par la méthode d'examen direct sont faibles, comparées aux standards humains (Hercberg *et al.*, 1986) : respectivement 301 et 197 (différence non significative). La très grande majorité des échantillons a une charge parasitaire faible, <1000 / ml (respectivement 95,7 et 97% des échantillons pour les deux missions). Seuls 10 échantillons provenant de 10 chimpanzés différents, dont seulement 2 femelles, ont une charge parasitaire supérieure à 1000 helminthes / ml (1000-5150 / ml).

▲ **CP corrigée en fonction du sexe**

Les charges parasitaires corrigées moyennes des mâles sont plus fortes que celles des femelles (saison sèche : m = 356, N = 94 SD = 1085 pour les mâles contre m = 242, N = 88, SD = 368 pour les femelles, saison des pluies : m = 231, N = 26, SD = 91 pour les mâles contre m = 175, N = 39, SD = 301 pour les femelles), mais les différences ne sont pas significatives.

La charge parasitaire moyenne corrigée **hebdomadaire** (Fig. 58) des individus mâles et femelles présente un minimum lors de la quatrième semaine de l'étude de saison sèche (première semaine de janvier 2001) et un maximum pour l'ensemble des individus pendant la 9^{ème} semaine d'étude (2^{ème} semaine de février 2001), alors que si l'on suit l'évolution par sexe, la charge moyenne maximale des mâles se situe pendant la première semaine d'étude, celle des femelles pendant la deuxième semaine d'étude.

Fig. 58 Évolution de la moyenne hebdomadaire en saison sèche de la charge parasitaire corrigée déterminée par examen direct



▲ CP corrigée et diarrhée

Le pourcentage de selles diarrhétiques est inférieur à 9% durant les deux missions.

Les charges parasitaires corrigées des fèces diarrhétiques et normales ne sont pas significativement différentes (Selles diarrhétiques : $m = 168$, $N = 16$, $SD = 188$; selles de consistance normale : $m = 226$, $N = 183$, $SD = 355$). Les observations nous conduisent à penser que les selles liquides sont le plus souvent induites par le stress dû à une agression. Néanmoins, la charge parasitaire peut avoir un effet plus faible sur la consistance des selles. En effet, les selles molles ont une charge parasitaire significativement plus forte ($p < 0,03$) que les selles normales (Selles molles : $m = 497$, $N = 46$, $SD = 1501$; selles de consistance normale : $m = 226$, $N = 183$, $SD = 355$).

▲ Nombre corrigé d'helminthes par flottation de Mac Master

Le nombre corrigé d'œufs et de larves d'helminthes par cellule de Mac Master est par contre plus élevé durant la deuxième mission (5,8 et 12,4, $p = 0,02$).

➤ *Les espèces parasites et leur prévalence*

Le nombre d'échantillons positifs pour les différentes espèces identifiées par les deux méthodes est présenté dans le tableau XXIX.

Tableau XXIX. Proportion d'échantillons positifs pour différentes espèces de parasites intestinaux en fonction des saisons de récolte des échantillons

	Saison sèche				Saison des pluies			
	Flottation de Mac Master		Examen direct		Flottation de Mac Master		Examen direct	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Échantillons positifs pour								
Nématodes								
<i>Oesophagostomum stephanostomum</i>	91	48,7	59	32,4	41	78,8	17	26,2
<i>Strongyloides fulleborni</i>	25	8,6	17	9,3	12	23,1	5	7,7
<i>Trichuris trichiura</i>	4	2,1	1	0,5	0	0	0	0
<i>Probstmayria</i> spp.	0	0	20	11	2	3,8	6	9,2
Œufs non identifiés	14	7,5	1	0,5	20	38,5	6	9,2
Larves de strongles non identifiées	60	32,1	125	68,7	3	5,8	33	50,8
Cestodes								
<i>Bertiella studeri</i>	7	3,7	7	3,8	0	0	0	0
Protozoaires								
<i>Troglodytella abressarti</i>	0	0	111	61	0	0	50	77
Petits entodiniomorphes	0	0	49	27	0	0	8	12,3
<i>Pseudolimax</i> sp.	0	0	37	20,4	0	0	1	1,5
<i>Endolimax nana</i>	0	0	4	2,2	0	0	9	13,8
<i>Entamoeba coli</i>	0	0	2	1,1	0	0	3	4,6
Coccidies	0	0	11	6	0	0	0	0

▲ **Les helminthes : identification et effet de la saison**

Au moins six espèces de parasites métazoaires sont observées dans les échantillons de selles collectées : *Oesophagostomum stephanostomum*, *Strongyloides fulleborni*, *Trichuris trichiura*, *Probstmayria* spp., *Bertiella studeri*, et des larves et œufs de Strongles non identifiés.

• **Par la méthode de Mac Master**

Si l'on compare les résultats de la détection de chaque espèce de nématodes par flottation de Mac Master, les résultats diffèrent entre les deux missions pour toutes les catégories, les œufs de *Trichuris trichiura* exceptés. Les différences sont hautement significatives (tests ϵ , $P < 0,01$). **Les œufs d'*Oesophagostomum stephanostomum*, de *Strongyloides fulleborni* et les larves de *Probstmayria* sp. sont présentes dans un plus grand nombre d'échantillons en saison des pluies, alors que les larves de strongles non identifiées sont plus souvent présentes dans les échantillons collectés en saison sèche.**

- **Par examen direct**

On retrouve cette dernière tendance pour les larves de strongles **par examen direct** ($p = 0,01$). Une différence hautement significative pour les œufs non identifiés que l'on trouve plus souvent dans les échantillons de saison des pluies est aussi notable sur les résultats d'examen direct.

- ▲ **Étude de l'effet saison sur la prévalence des protozoaires**

Parmi les protozoaires, des ciliés *Troglodytella abressarti* et de petits entodiniomorphes sont détectés fréquemment dans les échantillons. On trouve aussi, dans les selles examinées, des amibes *Pseudolimax* sp., *Endolimax nana*, *Entamoeba coli* et des coccidies.

Les protozoaires sont détectés uniquement par examen direct et les échantillons conservés dans le MIF permettent une identification plus précise des kystes. Les Entodiniomorphes sont présents dans de nombreux échantillons. Le plus courant est *Troglodytella abressarti* qui est significativement ($p = 0,02$) plus fréquent en saison des pluies (77% des échantillons) qu'en saison sèche (61%). Les petits Entodiniomorphes sont vraisemblablement les mêmes que ceux décrits précédemment dans les études de selles des chimpanzés de Kibale (Ashford *et al.*, 2000), de Gombe (File *et al.*, 1976) et du Mont Assirik (Mc Grew *et al.*, 1989) et de la Lopé (Landsoud-Soukate *et al.*, 1995) mais encore non identifiés. Ils sont moins fréquents que *T. abressarti*, mais à l'inverse de cette espèce, ils sont plus fréquents en saison sèche qu'en saison des pluies. Alors que *Pseudolimax* sp. est plus souvent détecté en saison sèche, l'inverse se produit pour *Endolimax nana* ($p < 0,001$).

- ▲ **Prévalences mensuelles des principales espèces d'helminthes parasites identifiées**

Si on détaille les résultats mensuels de la première mission **pour les quatre espèces d'helminthes identifiées et courantes** (tableau XXX), la méthode d'examen direct ne permet pas de mettre en évidence des différences significatives entre les prévalences mensuelles. Par contre, la flottation montre une différence significative pour le nombre d'échantillons avec des *Oesophagostomum stephanostomum* entre décembre 2000 et janvier 2001 ($p = 0,0001$), décembre 2000 et février 2001 ($p = 0,0001$), février et octobre 2001 ($p < 0,0001$). Au cours du mois de janvier, la prévalence des *O. Stephanostomum* est donc plus faible. Pour *S. fulleborni*, la prévalence d'octobre 2001 est significativement plus élevée que celle de décembre 2000 ($p = 0,01$).

Tableau XXX. Prévalences mensuelles des espèces observées le plus fréquemment dans les selles au cours des missions 2000-2001

	Examen direct				Flottation de Mac Master			
	déc-00	jan-01	fév-2001	oct-2001	déc-00	jan-01	fév-2001	oct-2001
n	24	18	141	65	26	19	142	52
<i>Oesophagostomum stephanostomum</i>	25,0%	5,5%	29,1%	26,2%	88,5%	26,3%	44,4%	78,8%
<i>Strongyloides fulleborni</i>	20,8%	0,0%	9,2%	7,7%	0,0%	5,0%	10,8%	23,1%
<i>Probstmayria</i> sp.	4,2%	11,1%	12,8%	9,2%	0,0%	0,0%	0,0%	3,8%
<i>Bertiella studeri</i>	8,3%	0,0%	3,5%	3,8%	0,0%	0,0%	4,9%	0,0%

Planche parasites

▲ Prévalence mensuelle de *Troglodytella abressarti*

Les échantillons sont à 40% positifs pour la détection de *T. abressarti* en décembre 2000 ce qui est significativement différent des 62% d'échantillons positifs en février 2001 ($p < 0,05$) et des 77% en octobre 2001 ($p = 0,023$). Le nombre moyen de ciliés détecté dans chaque échantillon est aussi significativement plus élevé en janvier ($m = 5552$) qu'en décembre ($m = 680$) (test t unilatéral, $p = 0,04$). En février et octobre 2001, le nombre moyen de parasites est moins fort qu'en janvier et sensiblement équivalent (en février, $m = 2890$ et en octobre, $m = 2509$) (Tableau XXXI).

Tableau XXXI. Prévalence et numération mensuelles de *Troglodytella abressarti* au cours des missions 2000-2001

	déc-00	jan-01	fév-01	moyenne mission 1	oct-01
n	25	21	136	182	65
Proportion d'échantillons positifs	40%	65%	62%	61%	77%
Nombre moyen de <i>T.abressarti</i> /g d'échantillon (écart-type)	680 (1824)	5552 (13027)	2885 (7496)	2890 (7912)	2509 (5651)

▲ Étude de l'effet méthode sur la détection des parasites en fonction des espèces

Il apparaît que les deux méthodes principales utilisées (Examen direct et flottation au $MgSO_4$) apportent des résultats différents.

L'examen direct des selles formolées ne permet pas une aussi bonne détection des œufs d'*Oesophagostomum stephanostomum* et de ceux non identifiés que la flottation (en saison sèche comme en saison des pluies, différences significatives).

Par contre, l'examen direct est une méthode de choix pour détecter les larves d'helminthes (différence significative pour *Probstmayria* sp. en saison sèche et pour les larves de strongles en saison sèche et en saison des pluies) et les protozoaires qui ne sont pas identifiables par flottation.

Par la méthode d'examen direct, aucune différence significative n'apparaît entre les prévalences mensuelles des espèces d'helminthes les plus courantes, alors que la flottation met en évidence des différences significatives pour *O. stephanostomum* et *S. fulleborni*.

Les prévalences d'*O. stephanostomum* sont significativement différentes selon la méthode employée en décembre ($p < 0,0001$) et février ($p = 0,0093$). Celles de *S. fulleborni* ne sont significativement différentes qu'en décembre 2000 ($p = 0,02$).

3.3 Analyse des échantillons urinaires

Soixante-seize échantillons provenant de 32 chimpanzés ont été analysés dont 45 (21 provenant de mâles et 24 de femelles) ont été collectés en saison sèche et 31 (13 provenant de mâles et 18 de femelles) en saison des pluies (Tableau XXXII) .

Tableau XXXII. Distribution des classes d'âge et de sexe des individus échantillonnés pour les analyses d'urine

	dec 00-fév 01			oct-01		
	mâle	femelle	total	mâle	femelle	total
total	21	24	45	13	18	31
(nombre d'individus)	14	15	29	8	9	17
adulte	15	18	33	10	8	18
	8	10	18	6	5	11
adolescent	2	4	6	0	5	5
	2	3	5	0	1	1
juvenile et enfant	4	2	6	3	5	8
	4	2	6	2	3	5
Mâle adulte : plus de 16 ans, Femelle adulte : plus de 15 ans, Mâle adolescent : 8-16 ans, Femelle adolescente : 8-15ans						

Un trouble métabolique, des mauvaises conditions d'alimentation ou le dysfonctionnement d'un organe peuvent se traduire par une modification de la valeur des paramètres urinaires.

Certains paramètres sont plus à même de révéler une pathologie et lorsque plusieurs paramètres sont associés, la probabilité de détecter un problème augmente. En fonction du sexe et de la nature des anomalies détectées, il est alors possible de déterminer si un individu est malade. Les bandelettes utilisées permettent une évaluation semi-quantitative rapide et facile de certains paramètres.

3.3.1 Aspect macroscopique des prélèvements

Lors de la première mission, 25 échantillons ont une couleur jaune, 19 sont orange ; tous sont clairs et limpides, sauf deux qui sont foncés sans être troubles.

Lors de la seconde mission, un échantillon est rouge et trouble, contenant du sang visible macroscopiquement, les autres sont tous jaune clair, sauf un prélèvement qui est foncé.

3.3.2 Proportion d'échantillons positifs

La proportion d'échantillons anormaux est significativement plus faible lors de la seconde mission ($p = 0,015$).

Lors de la première mission, 53% des échantillons sont négatifs pour l'ensemble des paramètres ou présentent seulement des traces de sang ou de leucocytes.

Lors de la seconde mission, cette proportion atteint 81%.

➤ *Le sang et les leucocytes*

Si on inclut les traces de sang et de leucocytes dans les paramètres anormaux, 52 échantillons ont au moins un paramètre anormal, 30 proviennent de femelles et 22 de mâles. Mais chez les femelles cyclées, les pertes sanguines peuvent entraîner la présence de sang et de leucocytes dans les urines.

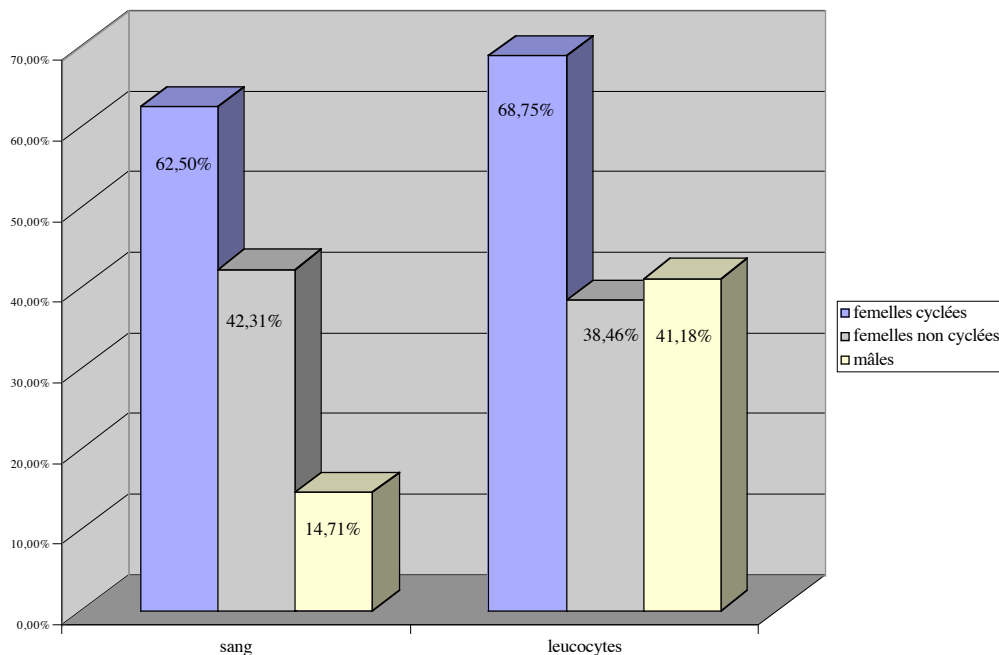
Ces paramètres sont d'ailleurs fréquemment détectés dans les urines collectées : 34 et 26 échantillons/76 sont positifs. Dans 15 prélèvements, ils sont simultanément anormaux. Parmi les femelles prélevées, et dont les échantillons étaient positifs pour ces paramètres, 5 femelles (AS, BL, LP, LR, UM) étaient susceptibles d'être cyclées. Si on exclut les prélèvements douteux pour ces deux paramètres provenant de ces femelles mais en conservant ceux où seulement des traces de sang et de leucocytes sont observées, 41 échantillons (22 échantillons issus de mâles et 19 de femelles), soit 53% des prélèvements, peuvent traduire un problème physiologique. Néanmoins, les traces de leucocytes seules, chez les mâles comme chez les femelles, ne traduisent pas une pathologie et sont fréquents dans les urines normales.

Les proportions d'échantillons positifs sont significativement différentes entre mâles et femelles pour le sang.

Un échantillon sur 2 provenant de femelle est positif pour le sang, contre seulement 14,7% chez les mâles ($p = 0,002$).

Seize échantillons sont issus des cinq femelles cyclées. Si on dissocie les résultats entre femelles cyclées et non cyclées, les échantillons des femelles non cyclées sont encore significativement plus fréquemment positifs que ceux des mâles ($p = 0,02$).

Fig. 59 Proportion d'échantillons positifs pour les paramètres *sang* et *leucocytes* en fonction du sexe et du cycle sexuel des femelles (les différences sont significatives entre les mâles et les femelles cyclées et non cyclées).

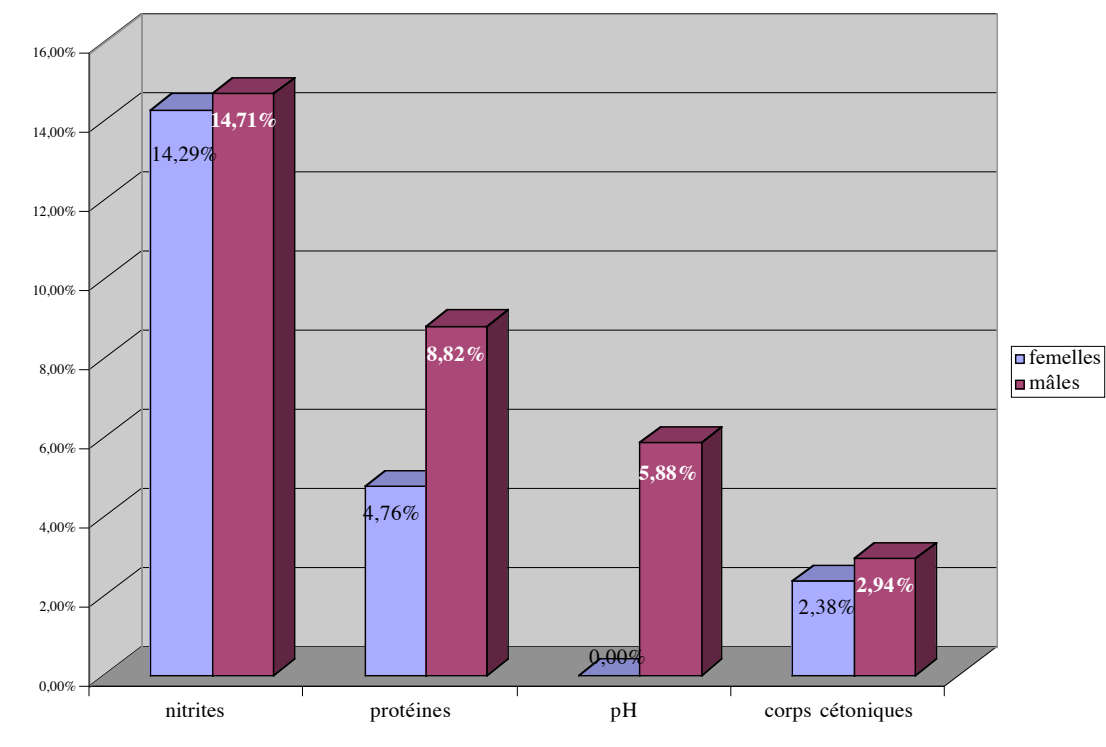


➤ *Les autres paramètres*

Les proportions d'échantillons positifs pour les différents paramètres autres que le sang ne sont pas significativement différentes entre mâles et femelles.

Tous les échantillons ont un pH alcalin (> 7) sauf deux échantillons (KK et LB) dont les pH sont de 6 et 6,5.

Fig. 60 Proportion des échantillons mâles et femelles ayant des paramètres anormaux (les différences ne sont pas significatives).



➤ *Association de paramètres positifs*

Pour avoir une meilleure estimation de la santé des individus testés, le nombre de paramètres anormaux par prélèvement est pris en compte dans le tableau ci-après.

Tableau XXXIII. Paramètres urinaires anormaux dans les prélèvements effectués au cours des missions 2000-2001.

Nombre de valeurs anormales	Valeurs anormales	Nombre d'échantillons	Échantillons provenant de femelles	Échantillons provenant de mâles	Identité des femelles	Identité des femelles
1	Sang	6	5	1	NL;LP;TG; AS;AS	PB
	Leucocytes	14	5	9	BU;LP;JK;LR;OK	ED;BE;LK;AJ;AJ;LK;YB;LK;AJ
	Nitrites	2	1	1	NL	KK
	pH	2	0	2		KK;LB
	Protéines	1	0	1		PB
	Corps cétoniques	1	1	0	EK	
		26	12	14		
2	Sang & Leucocytes	14	12	2		TU;TJ
	Sang & Nitrites	3	2	1	AR;OU	ST
	Leucocytes & Nitrites	2	1	1	UM	BB
	Leucocytes & Protéines	2	1	1	LP	LK
	Nitrites & corps cétoniques	1	0	1		SL
	Urobilinogène & Sang	1	0	1		LK
		23	16	7		
3	Sang & Leucocytes & nitrites	1	1	0	AR	
	Urobilinogène & Sang & Nitrites	1	0	1		LK
		2	1	1		
4	Leucocytes & Nitrites & Protéines & Glucose	1	1	0	OT	
		1	1	0		

▲ Quatre paramètres anormaux

Un maximum de 4 paramètres anormaux est observé parmi les échantillons collectés.

Seul un échantillon possède 4 valeurs anormales : dans l'échantillon #17 (16/01/01, 12:00) provenant d'une jeune femelle de 3 ans, leucocytes, nitrites et protéines ainsi qu'une glucosurie supérieure à la normale à été détectée.

▲ **Trois paramètres anormaux**

Les nitrites associés au sang et aux leucocytes dans l'échantillon #28 (7/02/01, 8:30) confirment une infection urinaire chez la vieille femelle AR. De plus, l'analyse suivante datée du 9 février 2001 montre aussi la présence de nitrites et de trace de sang.

Un autre échantillon présente aussi trois paramètres anormaux : #42 (25/02/01, 13:40) provenant de LK laisse supposer d'une part une infection urinaire et il est d'autre part anormal pour l'urobilinogène. Les prélèvements précédents et suivants (#41 du 21/02/01 et #45 du 25/02/01) possèdent aussi des traces de sang et des leucocytes. Par ailleurs, le prélèvement du 11 décembre 2000 (#01) est aussi positif pour l'urobilinogène. LK est le seul individu testé positif pour l'urobilinogène.

▲ **Deux paramètres anormaux**

Les associations leucocytes/protéines et leucocytes/nitrites sont observées dans le cas de 4 échantillons (2 femelles et deux mâles). La présence de corps cétoniques est rare (2 échantillons), une fois associée à celle de nitrites. Des protéines et des leucocytes co-existent dans l'urine de LP collectée le 3/02/01.

➤ *Évaluation semi-quantitative des produits anormaux dans les urines*

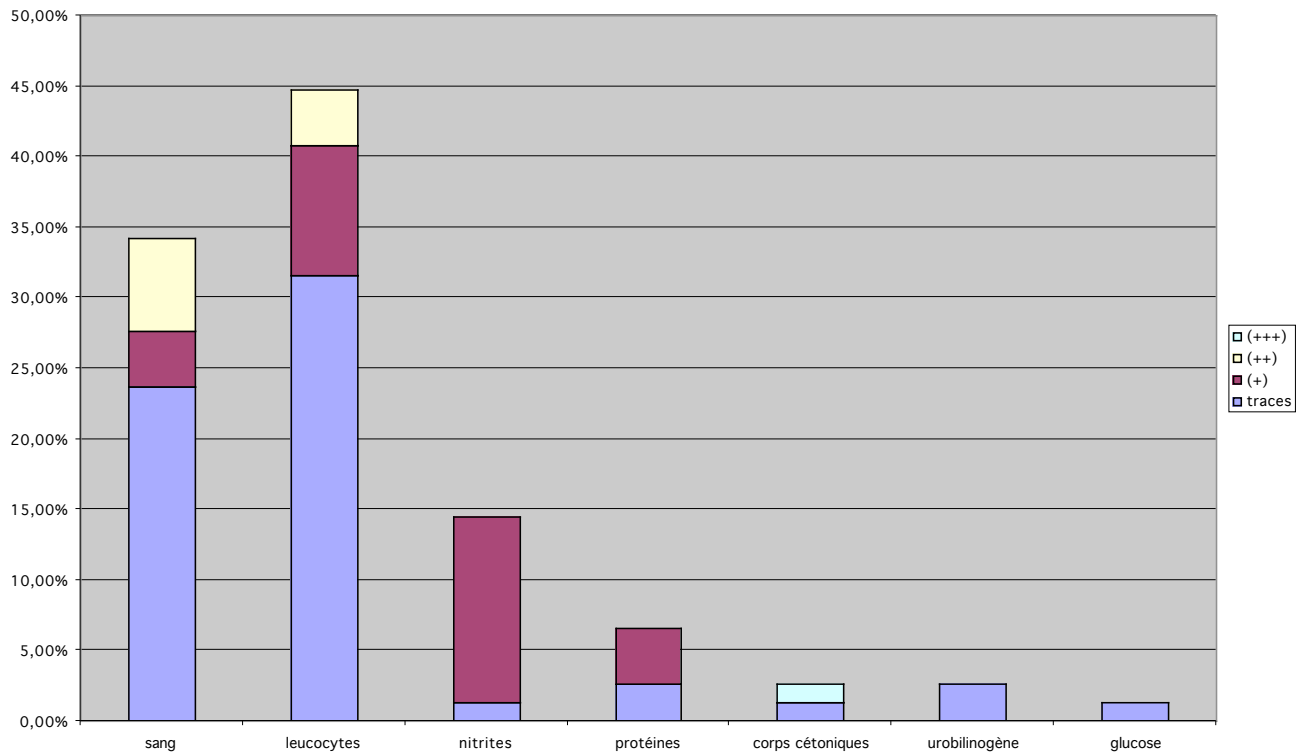
Les bandelettes urinaires permettent une analyse semi-quantitative des résultats : si le paramètre est anormal, il est quantifié sur une échelle allant de « traces » à (+++). La sévérité de l'affection peut donc être envisagée.

Les leucocytes et le sang, lorsqu'ils sont présents dans les échantillons, sont en majorité sous forme de traces. Seules des traces d'urobilinogène et de glucose sont aussi trouvées dans les échantillons.

Les échantillons où figurent des quantités notables (par opposition aux traces) de produits anormaux, sont peu nombreux et toujours inférieurs à 15% :

Sang : 10,5% ; leucocytes : 13,1% ; nitrites : 13,1% ; protéines : 4% ; corps cétoniques : 1,3%

Fig. 61 Proportion et quantification des paramètres anormaux dans les urines des chimpanzés pendant les deux missions 2000-2001.



4- Mise en relation des résultats sanitaires et comportementaux

Le tableau XXXIV met en relation les principales observations ayant trait à la santé des individus.

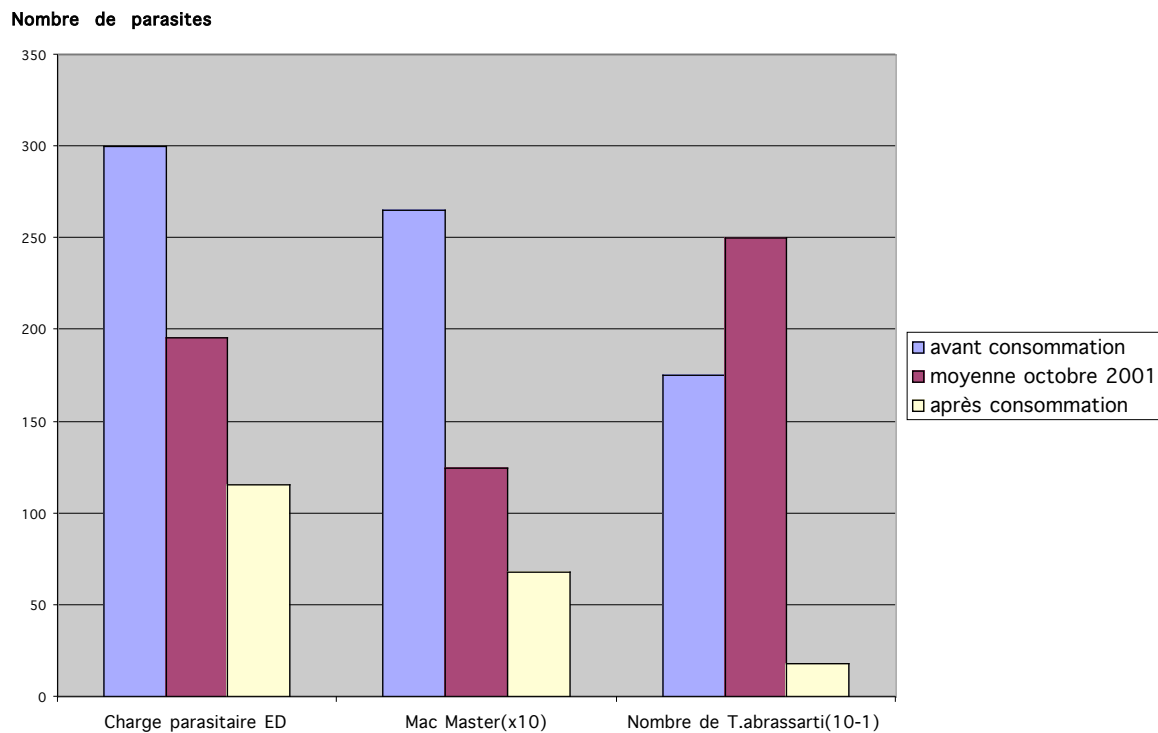
Tableau XXXIV. Résumé des observations concernant les animaux malades pendant les missions 2000-2001

Symptômes	Individu	Age	Observations vétérinaires	Analyses d'urine	Analyses coprologiques	Observations comportementales
syndrome grippal	KK	17 ans	15/02/01 : toux fréquente, 16/02/01 : faible, apathique, rythme respiratoire augmenté, dyspnée, éternuement, jetage muqueux	15/02/01 : pH acide	16/02/01 : fèces riches en <i>Probstmayria</i> sp., œufs et larves de strongles, œufs de <i>Trichuris</i> sp.	16/02/01 : repos=77% des 7:15 d' observations (contre 33% en moyenne pour les 13 autres individus du groupe)
	AR	>50 ans	9/02/01 : toux profonde, éternuements, faible et très maigre, transit digestif ralenti	7/02/01 : Nitrites, sang, leucocytes 9/02/01 : nitrites et sang	7/02/01 et 9/02/01 : infestation parasitaire multispécifique (<i>Strongyloides fulleborni</i> , Ankylostomes et larves de <i>Probstmayria</i> sp.), consistance molle F#108 : infestation macroscopique et microscopique à <i>Bertiella studeri</i> .	7/02/01 : longues périodes de repos dans des nids de jour 9/02/01 : Quitte son nid 1:20 après sa fille
	OU	~25 ans	15/02/01 : toux fréquente et grasse, éternuements, dyspnée	pas d'échantillon collecté	15/02/01 : deux échantillons avec infestation multispécifique (<i>Strongyloides fulleborni</i> , Ankylostomes et larves de <i>Probstmayria</i> sp.); charge parasitaire=700/ml	
	ES	7 ans	19/02/2001 : éternuements et jetage clair, bon état général	pas d'échantillon collecté	pas d'échantillon collecté	Comportement non affecté
	PG	13 ans	19/02/2001 : éternuements et jetage clair, bon état général	pas d'échantillon collecté	pas d'échantillon collecté	Comportement non affecté
Troubles digestifs	LP	~50 ans	Inconfort gastrique?	3/02/2001 : leucocytes, protéines	2/02/01 : coccidiose et infestation multispécifique	5/02/01 : géophagie et consomme les graines de crotins d'éléphants, 10/02/01 : consommation de particules de bois d'un vieil arbre mort
	OK	6 ans	16-20/10/01 : selles alternativement molles, sèches et diarrhéiques	pas d'échantillon collecté	forte numération parasitaire par examen direct (300/ml-moyenne femelles oct 01=175/ml) et flotation de Mac Master (21-moyenne femelles oct 01=10), infestation multispécifique dont <i>Probstmayria</i> sp.	20/02/01 : Consommation d'écorce d' <i>Albizia grandibracteata</i> jamais enregistrée avant
Lésion infectieuse	LB	~35ans	Orteil blessé après agression 16/02/01 : plaie suintante, 20/02/01 : locomotion douloureuse, orteil noir et sec 24/02/01 : l'orteil tombe	16/02/01 : pH acide		Ne se joint pas autres mâles
	TU	~40 ans	Abcès canine supérieure gauche? 14/02/01 : déformation à gauche de l'aile du nez	pas d'échantillon collecté	16/02/01 : Ankylostomes et <i>Strongyloides fulleborni</i> dans les deux échantillons	
Affections multiples	LP	~50 ans	22/12/00 : distension abdominale importante et douleur membre supérieur gauche, locomotion arboricole pénible, n'utilise pas sa main gauche	23/12/00 : sang (++) et leucocytes (+)	pas d'échantillon collecté	22/12/00 : géophagie, passe une très longue nuit: construit son nid à 17:20, en sort à 7:50 le lendemain

Un pic de consommation d'écorce de *Markhamia platycalyx* a été observé entre le 19 et le 24 octobre 2001. Les différents paramètres des selles des consommateurs (n = 5) dans les 6 jours précédant (n = 6 échantillons) l'ingestion et au cours des trois jours suivant l'ingestion (n = 6 échantillons) ont été examinés.

Les CP par examen direct et Mc Master et les numérations des ciliés *Troglodytella abrassartii* sont plus faibles à l'issue de cette période qu'au début (Fig.62). Les différences sont significatives pour les helminthes comptés par flottation de Mc Master ($m_1 = 26,5$, $SD_1 = 18$; $m_2 = 6,8$, $SD_2 = 5,2$, $p = 0,03$) et pour les ciliés ($m_1 = 1750$, $SD_1 = 1150$; $m_2 = 183$, $SD_2 = 285$, $p = 0,01$),

Fig.62 Analyses des selles des individus ayant consommé des écorces de *Markhamia platycalyx* avant et après l'ingestion.



II- ETUDES BIOLOGIQUE ET CHIMIQUE DES PLANTES RECOLTEES

Les protozoaires parasites sont parmi les pathogènes les plus courants dans le monde. Ils sont considérés comme les agents des maladies tropicales les plus graves à la fois chez les humains et les animaux. Le paludisme, la leishmaniose, la trypanosomiase ainsi que les amibiases et la toxoplasmose affectent près de 25% de la population mondiale. Les traitements actuels disponibles sont encore peu nombreux et, de plus, des résistances se développent.

La nécessité et l'urgence de trouver des molécules nouvelles dans les domaines de la parasitologie, de la recherche contre le SIDA nous ont mené à choisir ces cibles pour le criblage des extraits végétaux d'Ouganda.

Malgré la proximité de l'espèce humaine et des chimpanzés, et par conséquent des pathogènes qui les touchent, il est troublant de noter que les manifestations cliniques des maladies semblent beaucoup moins sévères chez les chimpanzés. Les hypothèses permettant d'expliquer cette constatation sont encore à explorer. Une première suggestion serait que les primates, plus exposés aux pathogènes auraient développé des défenses immunitaires plus puissantes. On peut aussi proposer que les interactions avec les métabolites secondaires présents dans les plantes puissent jouer une part dans les explications.

Les résultats de cette étude portant sur l'état sanitaire des animaux ont montré la forte prévalence des infections digestives parasitaires chez les chimpanzés de Kanyawara. Néanmoins, l'infection semble contrôlée puisque les charges de parasites restent faibles.

Les essais biologiques sont pratiqués dans la perspective d'apporter :

- *des voies de recherche pour la découverte de nouveaux traitements contre des maladies d'importance majeure pour la santé publique*
- *des données permettant d'avancer dans l'étude de l'impact des aliments sur la santé des chimpanzés et d'expliquer leurs stratégies face aux pathogènes*

Dans un premier chapitre, les activités biologiques des plantes récoltées sont présentées, avec une distinction particulière pour les parties consommées par les chimpanzés. Ainsi, l'hypothèse d'une sélection de certaines plantes en fonction de leur activité pourra être discutée. Un deuxième chapitre présente les résultats du travail phytochimique de quelques plantes possédant des activités significatives. Une troisième partie détaille les protocoles utilisés au cours de ces études biologiques et chimiques des plantes.

A- ÉTUDE GÉNÉRALE DES ACTIVITÉS BIOLOGIQUES DES PLANTES RÉCOLTÉES

1- Les plantes récoltées

La sélection des espèces de plantes récoltées a été effectuée grâce à différentes données :

- les données bibliographiques (plantes peu travaillées chimiquement, utilisées en ethnomédecine)
- la disponibilité dans le milieu
- les observations comportementales et sanitaires effectuées sur le terrain

Les plantes sont récoltées et séchées à l'air, à l'abri du soleil sur le terrain. Un herbier en triple exemplaire est réalisé. L'identification des plantes est réalisée sur le terrain, en Ouganda, avec l'aide des assistants du Kibale Chimpanzee Project. Les herbiers sont ensuite comparés avec les spécimens de l'Herbier du Muséum d'Histoire Naturelle de Paris avec l'aide des botanistes Lucile Allorge et Annette Hladik.

Les plantes sont rapportées à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles, à Gif/Yvette, où le travail phytochimique est effectué au sein de l'équipe dirigée par Thierry Sévenet, Françoise Guéritte et Daniel Guénard.

Les plantes sont de nouveau séchées dans des étuves ventilées. Les parties de plantes sèches sont finement broyées. 40 à 50 g de chacune des parties de plantes sont extraites à 40°C, successivement par l'acétate d'éthyle et le méthanol. Les solutions obtenues sont évaporées à sec sous vide.

Les rendements d'extraction sont variables selon les espèces et les parties extraites, allant de 0,1% pour l'extraction par l'acétate d'éthyle de l'écorce de Celtis africana à près de 15% pour l'extraction à l'acétate d'éthyle des fruits d'Urera sp.

24 espèces de plantes ont été récoltées, 16 au cours de la première mission, 8 lors de la seconde. Elles appartiennent à 14 familles botaniques différentes.

42 parties de plantes (27 provenant de la première mission, et 15 de la seconde) ont été étudiées.

5 espèces de la famille des Moraceae, 3 Ulmaceae, 2 Annonaceae, 2 Olacaceae, 2 Sapotaceae et 2 Sterculiaceae ont été collectées. Pour les autres familles, un seul représentant a été récolté (Tableau XXXV).

Tableau XXXV. Liste des espèces et des parties de plantes récoltées pendant les missions 2000-2001

Espèce	Famille	Feuilles	Écorces	Autres
Mission 1				
<i>Acanthus pubescens</i>	Acanthaceae	x		fleurs
<i>Monodora myristica</i>	Annonaceae	x	x	
<i>Uvariopsis congensis</i>	Annonaceae	x	x	
<i>Diospyros abyssinica</i>	Ebenaceae		x	
<i>Ficus dawei</i>	Moraceae	x	x	
<i>Ficus exasperata</i>	Moraceae	x	x	
<i>Ficus asperifolia</i>	Moraceae	x		
<i>Ficus natalensis</i>	Moraceae		x	
<i>Olea welwitschii</i>	Oleaceae		x	
<i>Piper umbellatum</i>	Piperaceae	x		fleurs
<i>Mimusops bagshawei</i>	Sapotaceae	x	x	
<i>Chrysophyllum albidum</i>	Sapotaceae	x	x	
<i>Chaetacme aristata</i>	Ulmaceae		x	
<i>Celtis durandii</i>	Ulmaceae	x	x	
<i>Celtis africana</i>	Ulmaceae	x	x	
<i>Urera hypsiloides</i>	Urticaceae	x		fruits
Mission 2				
<i>Trichilia rubescens</i>	Meliaceae	x		
<i>Albizia grandibracteata</i>	Mimosaceae	x	x	
<i>Bosqueia phoberos</i>	Moraceae	x	x	
<i>Strombosia scheffleri</i>	Olacaceae	x	x	
<i>Linociera johnsonii</i>	Oleaceae	x	x	
<i>Pancovia turbinata</i>	Sapindaceae	x	x	
<i>Dombeya mukole</i>	Sterculiaceae	x	x	
<i>Pterygota mildbraedii</i>	Sterculiaceae	x	x	

Parmi les parties de plantes collectées, seules certaines sont consommées par les chimpanzés (Tableau XXXVI). L'importance de la consommation des aliments a été évaluée sur une échelle allant de 0 à 3 par R. Wrangham (comm. pers.), en fonction de la fréquence de consommation et de la quantité d'aliments ingérés. Deux parties de plantes ne figurent pas dans l'inventaire des parties de plantes consommées : les feuilles de *Strombosia scheffleri* et l'écorce de *Ficus dawei*. *Strombosia scheffleri* est aussi présent à Yalosidi où il n'est pas connu non plus comme aliment. Ces deux items ont été consommés pendant les périodes d'étude. Tous les aliments récoltés consommés par les chimpanzés sont affectés de l'indice 1 correspondant à une consommation occasionnelle, excepté les feuilles de *Celtis africana* qui sont mangées plus souvent et correspondent à un indice 2.

Par contre, les feuilles de *Piper umbellatum* ne sont pas connues comme aliment à Kibale, mais sont consommées occasionnellement à Bossou.

Tableau XXXVI. Liste des parties de plantes collectées et consommées ou non par les chimpanzés de Kanyawara

Partie de plante collectée et			
consommée		non consommée	
<i>Albizia grandibracteata</i>	Écorce	<i>Linociera johnsonii</i>	Écorce
<i>Dombeya mukole</i>	Écorce	<i>Strombosia scheffleri</i>	Écorce
<i>Pterygota mildbraedii</i>	Écorce	<i>Bosqueia phoberos</i>	Écorce
<i>Olea welwitschii</i>	Écorce	<i>Pancovia turbinata</i>	Écorce
<i>Ficus dawei</i>	Écorce	<i>Monodora myristica</i>	Écorce
<i>Diospyros abyssinica</i>	Écorce	<i>Mimusops bagshawei</i>	Écorce
<i>Chaetacme aristata</i>	Écorce	<i>Uvariopsis congensis</i>	Écorce
<i>Ficus exasperata</i>	Écorce	<i>Chrysophyllum albidum</i>	Écorce
<i>Ficus natalensis</i>	Écorce	<i>Celtis africana</i>	Écorce
<i>Urera hypsiloides</i>	Feuilles	<i>Celtis durandii</i>	Écorce
<i>Ficus asperifolia</i>	Feuilles	<i>Chrysophyllum albidum</i>	Feuilles
<i>Ficus exasperata</i>	Feuilles	<i>Acanthus pubescens</i>	Feuilles
<i>Monodora myristica</i>	Feuilles	<i>Piper umbellatum</i>	Feuilles
<i>Mimusops bagshawei</i>	Feuilles	<i>Ficus dawei</i>	Feuilles
<i>Celtis durandii</i>	Feuilles	<i>Pancovia turbinata</i>	Feuilles
<i>Uvariopsis congensis</i>	Feuilles	<i>Dombeya mukole</i>	Feuilles
<i>Celtis africana</i>	Feuilles	<i>Linociera johnsonii</i>	Feuilles
<i>Albizia grandibracteata</i>	Feuilles	<i>Piper umbellatum</i>	Fleurs
<i>Bosqueia phoberos</i>	Feuilles	<i>Acanthus pubescens</i>	Fleurs
<i>Strombosia scheffleri</i>	Feuilles		
<i>Trichilia rubescens</i>	Feuilles		
<i>Pterygota mildbraedii</i>	Feuilles		
<i>Urera hypsiloides</i>	Fruits		

65% des feuilles et 47% des écorces récoltées sont consommées par les chimpanzés. Les fleurs collectées ne sont pas consommées. Les seuls fruits récoltés sont ceux d'*Urera* sp., ils sont consommés par les chimpanzés (tableaux XXXVI et XXXVII).

Tableau XXXVII. Nombre d'extraits obtenus provenant de parties de plantes consommées et non consommées par les chimpanzés de Kanyawara.

Partie de plante	Nombre d'extraits de parties		Total
	consommées	non consommées	
Feuilles	26	14	40
Écorces	18	20	38
Fleurs	0	4	4
Fruits	2	0	2
Total	46	38	84

2- Essais biologiques pratiqués sur l'ensemble des extraits

Les extraits secs ont été soumis à différents essais biologiques *in vitro*.

Les cibles sont

- des parasites protozoaires
 - *Leishmania donovani*,
 - *Trypanosoma brucei brucei*
 - *Plasmodium falciparum*
- un nématode à vie libre, *Rhabditis pseudoelongata*, qui a la même sensibilité à l'Ivermectine qu'un nématode parasite.
- Des bactéries, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*
- Des champignons, *Candida tropicalis*, *Penicillium crustosum*
- Un virus, le *Virus de l'Immunodéficience Humaine*
- des cellules tumorales appartenant à la lignée *KB*
- des cellules intervenant dans l'immunomodulation
- des cibles développées par les Laboratoires Servier

Tous les essais sont réalisés en double ou en triple.

2.1 Essais trypanocides *in vitro* (*Trypanosoma brucei brucei*)

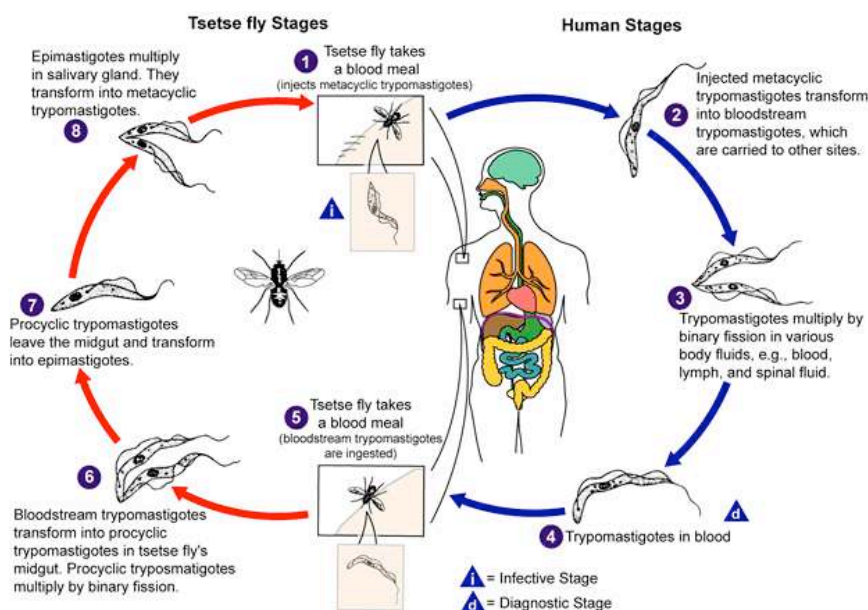
2.1.1 La trypanosomose à *Trypanosoma brucei* chez l'homme et son impact en Afrique

La trypanosomose africaine est aussi connue sous le nom de maladie du sommeil. Cette maladie touche 36 pays sub-sahariens. Des estimations indiquent que près de 60 millions de personnes se trouvent dans des zones à risques et 300 000 nouveaux cas apparaîtraient chaque année (site internet OMS, données de 1998). Pourtant, moins de 4 millions de personnes sont sous surveillance et 40 000 cas sont diagnostiqués et traités. Le taux de mortalité pour les personnes non traitées atteint 100%. La maladie causée par *T. brucei gambiense* est chronique et touche principalement l'Afrique de l'Ouest et Centrale alors que *T. brucei rhodesiense* produit une forme aiguë dans les pays de l'Est et du Sud de l'Afrique. Le vecteur de transmission est une mouche du genre *Glossina* sp. (appelée communément mouche tsé-tsé). Sept espèces peuvent transmettre *T. brucei brucei*. Les

trypanosomes peuvent être détectés dans le sang périphérique entre 5 et 21 jours après la piqûre infectante. Les parasites possèdent un système d'évasion antigénique et peuvent exprimer des milliers de variants. Les symptômes sont au début non spécifiques (maux de tête, fièvre, faiblesse, douleurs articulaires et prurit). Après l'invasion de la lymphe et du sang puis du système nerveux central, la maladie se manifeste par des symptômes graves de type méningo-encéphalomyélite chronique (torpeur, léthargie, agressivité, insomnie nocturne et inconscience durant la journée) pouvant conduire au coma puis à la mort si elle n'est pas traitée.

Le seul traitement actuellement disponible est le méarsoprol, un dérivé de l'arsenic, qui possède des effets secondaires importants (encéphalopathie pouvant être fatale).

Fig. 62 Cycle de *Trypanosoma brucei* (d'après *Laboratory Identification of parasites of Public Health Concern* ; site internet DPDx)



☞ *La trypanosomose humaine a une très grande importance sanitaire et économique et la découverte de nouvelles méthodes de traitement est indispensable.*

2.1.2 La trypanosomose chez le chimpanzé

Bien que le chimpanzé infecté expérimentalement par *T. brucei* manifeste des symptômes sévères, aucune infestation naturelle n'a été observée.

2.1.3 Résultats des essais trypanocides

Ces essais ont été pratiqués dans le *Service de Biologie et contrôle des organismes parasites de la Faculté de Chatenay-Malabry (France)* d'après la méthode décrite dans Loiseau *et al.* (2000) et grâce à l'aide et la collaboration de Philippe Loiseau. La souche *Trypanosoma brucei brucei* GVR 35/Cl.2 est utilisée pour le criblage des extraits *in vitro*.

La Concentration Minimum Effective (CME) est déterminée après 1 heure et 24 heures d'incubation.

☞ *Aucun extrait ne présente d'activité notable (i.e à une concentration inférieure à 10 µg/ml) sur T. brucei brucei.*

2.2 Essais sur les formes promastigotes de *Leishmania donovani*

2.2.1 Les leishmanioses et leur impact mondial

Les leishmanioses affectent près de 12 millions de personnes dans le monde. Les risques d'infection existent dans 80 pays et touchent près de 350 millions de personnes. On dénombre environ 3 millions de nouveaux cas chaque année.

Les leishmanioses sont le plus souvent des zoonoses et les principaux réservoirs de *Leishmania* sont aussi bien des animaux domestiques que sauvages. Les vecteurs sont les femelles du genre *Phlebotomus* pour les leishmanioses dites de l'Ancien Monde et *Lutzomyia* pour celles du Nouveau Monde. Les *Leishmania* sont des protozoaires flagellés de la famille des *Trypanosomatidae* et la plupart des espèces sont pathogènes à la fois pour les animaux et les humains.

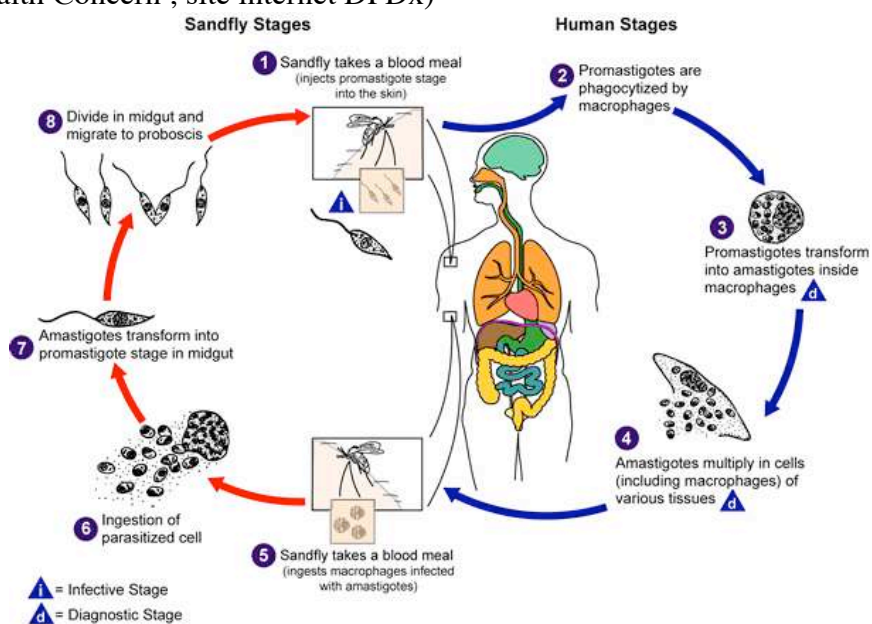
On distingue des leishmanioses de type :

- viscéral (*Leishmania donovani*, *L. infantum*...), qui peuvent être fatales si elles ne sont pas traitées, avec des effets sur le foie, la rate et la moëlle osseuse,
- cutané (*Leishmania tropica*...), entraînant la formation de nodules et de plaques sur le corps.

➤ Cycle de *Leishmania donovani*

Au cours de son cycle, le parasite existe sous deux formes : une forme flagellée extracellulaire, promastigote, et une forme intracellulaire, amastigote. La forme promastigote infecte le vertébré, à l'occasion de la piqûre de l'insecte. Les promastigotes sont rapidement phagocytés par les macrophages et deviennent amastigotes. Les symptômes de la maladie sont la conséquence de la multiplication des amastigotes dans les macrophages.

Fig. 63 Cycle de vie de *Leishmania donovani* (d'après Laboratory Identification of parasites of Public Health Concern ; site internet DPDx)



➤ *Traitements des leishmanioses*

Historiquement, le traitement des leishmanioses était basé sur l'emploi de métaux lourds et en particulier des dérivés de l'antimoine (antimoniates de méglumine), auxquels étaient parfois substitués des traitements à l'amphotéricine B ou à la pentamidine.

Les antimoniates se lient et inhibent des enzymes du parasite impliqués par exemple dans la glycolyse et l'oxydation des acides gras. Mais des effets secondaires importants (cardiotoxicité, troubles gastro-intestinaux, insuffisance rénale et hépatique) sont observés.

La pentamidine, dérivé aromatique de la diamidine, est toxique pour de nombreux protozoaires et peut être utilisée en cas d'échec au traitement par l'antimoniates mais elle provoque aussi de nombreux effets secondaires (hypotension, tachycardie, dysfonction rénale et hépatique). L'autre traitement possible utilise l'amphotéricine B, qui est un polyène antifongique efficace, mais qui induit aussi de graves altérations de la fonction rénale (Chan-Bacab & Pena-Rodriguez, 2001).

☞ *La toxicité, la longueur des traitements et leur coût élevé rendent urgente la découverte de nouveaux traitements.*

2.2.2 *La leishmaniose chez le chimpanzé*

Cette protozoose ne semble pas produire de symptômes caractéristiques chez le chimpanzé et n'a pas été rapportée comme infection naturelle chez cette espèce.

2.2.3 *Résultats des essais leishmanicides*

La méthode décrite par Mbongo *et al.* (1997) a été utilisée pour réaliser ces essais au sein du *Service de Biologie et contrôle des organismes parasites de la Faculté de Chatenay-Malabry (France)*, grâce à la collaboration de Philippe Loiseau. Les essais biologiques *in vitro* ont été réalisés sur des promastigotes de *Leishmania donovani* (MHOM/IN/80/DD8)

La concentration inhibant la croissance de 50% des parasites (CI_{50}) après une période d'incubation de 3 jours est déterminée.

☞ *Le seul extrait actif contre *Leishmania donovani* à moins de 10 µg/ml est celui des écorces de *Diospyros abyssinica* (acétate d'éthyle). Sa CI_{50} est de 1,5 µg/ml (CI_{50} du produit de référence (pentamidine = 7µM).*

Les écorces de cette plante sont consommées par les chimpanzés de Kanyawara.

2.3 Essais anti-paludiques2.3.1 *Plasmodium falciparum, fléau mondial, agent du paludisme*

Le paludisme touche actuellement plus de 90 pays et 40% de la population mondiale vit dans une zone à risque. On estime le nombre de morts de 1,5 à 2 millions de cas chaque année. 90% sont des enfants (un enfant meurt du paludisme toutes les 30 secondes en Afrique et ceux qui survivent peuvent présenter de graves séquelles cérébrales). On dénombre 300 à 500 millions de cas cliniques par an. Le paludisme a été éradiqué des pays tempérés au milieu du 20^{ème} siècle. Les risques d'infection diminuent pour les populations vivant au dessus de 1500 m et en zones arides où les précipitations sont inférieurs à 1000 mm/an.

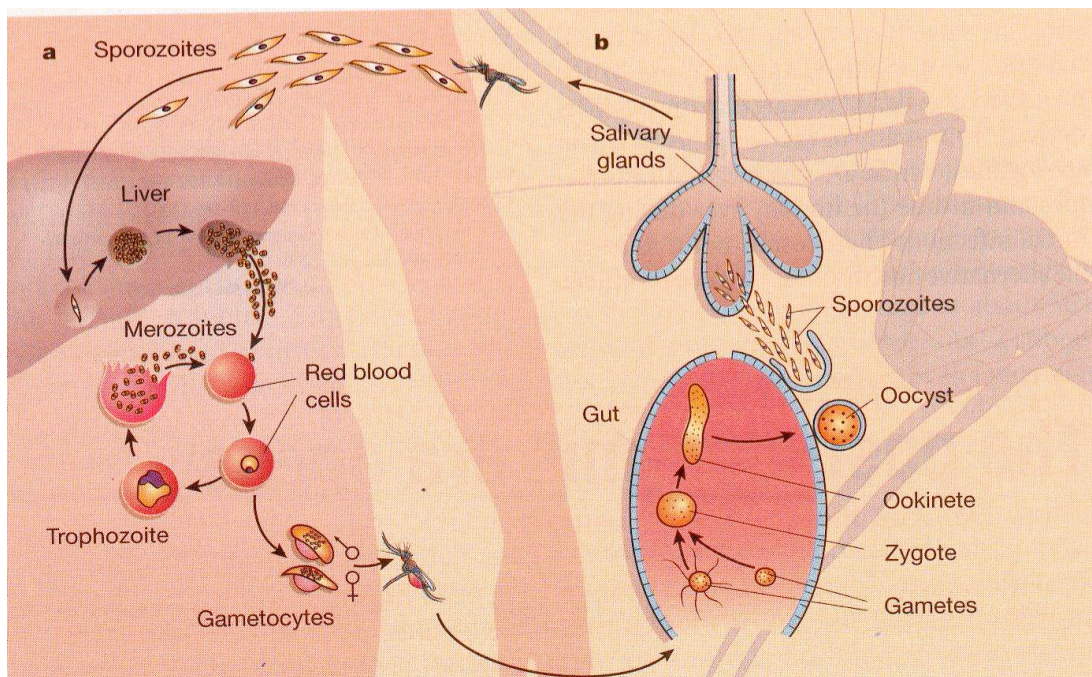
L'impact économique est lourd, tant par le coût direct engendré par les traitements et les préventions que par la baisse de productivité. En 1995, le coût économique du paludisme en Afrique a été évalué à 12 milliards de dollars (Roll Back Malaria, site internet OMS, 2002).

Quatre espèces sont à l'origine de paludisme chez l'homme : *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* et *P. malariae* qui engendrent des fièvres dont la survenue est caractéristique du parasite (fièvre tierce, quarte...). *P. falciparum*, le plus courant en Afrique sub-tropicale est responsable de 95% de la mortalité imputée au paludisme (Hoffman *et al.*, 2002). *P. vivax* et *ovale* possèdent des formes de latence hépatique.

➤ Cycle de *Plasmodium falciparum*

Le moustique femelle injecte dans le tissu sous-cutané, et plus rarement dans la circulation sanguine des sporozoïtes. De là, les sporozoïtes gagnent le foie. Dans les hépatocytes où ils restent 9 à 16 jours, chaque sporozoïte se multiplie en dizaines de milliers de mérozoïtes qui font éclater l'hépatocyte, rejoignent le sang et peuvent alors envahir les érythrocytes. Jusqu'à 10% des globules rouges peuvent être infectés. En 48h, chaque mérozoïte produit de nouveau 20 mérozoïtes pouvant infecter d'autres globules rouges après avoir détruit le premier érythrocyte infecté. Une petite proportion de parasites asexués devient gamétocytes lesquels sont essentiels pour infecter un autre moustique femelle mais ne produisent aucun effet pathogène. Les gamétocytes se développent en cellules reproductrices mâles et femelles et se rencontrent dans l'intestin du moustique où se forme le zygote. Devenant mobile, le zygote traverse la paroi intestinale, devient un ookyste rempli de sporozoïtes. Quand l'ookyste éclate, les sporozoïtes gagnent les glandes salivaires et le cycle continue...(Wirth, 2002).

Fig. 64 Cycle de *Plasmodium falciparum* (d'après Wirth, 2002)



Les symptômes, non spécifiques (fièvre, maux de tête, courbature, troubles digestifs), apparaissent seulement lors de la phase érythrocytaire, soit 9 à 14 jours après la piqûre du moustique. Des accès périodiques se répétant à intervalles réguliers ainsi que des accès sévères se traduisant par un coma menant à la mort (paludisme cérébral) et des avortements chez les femmes enceintes compliquent souvent le tableau clinique.

➤ *Thérapeutiques actuelles disponibles (d'après Bloland, 2001)*

- Quinines et dérivés

Chloroquine (4-aminoquinoline)

Amodiaquine

Primaquine

Méfloquine

- Antifolates

- Inhibiteurs de la dihydrofolate-réductase

Proguanil, chlorproguanil, pyriméthamine, triméthoprim

- Sulfamides

Dapsone, sulfalene, sulfaméthoxazole, sulfadoxine

Utilisés en monothérapie, les antifolates entraînent des résistances.

Les associations Sulfadoxine/pyriméthamine (FansidarTM) ou chlorproguanil/dapsone (LAP-DAP) sont à privilégier.

- Les antibiotiques

Les tétracyclines (Doxycycline) sont utilisées en traitement préventif et curatif.

- L'artémisinine et ses dérivés

Isolée de *Artemisia annua*, l'artémisinine **31** et ses dérivés d'hémisynthèse, artésunate **34**, artéméter **32** et artéether **33**, possèdent une bonne activité antipaludique.

- Les autres traitements

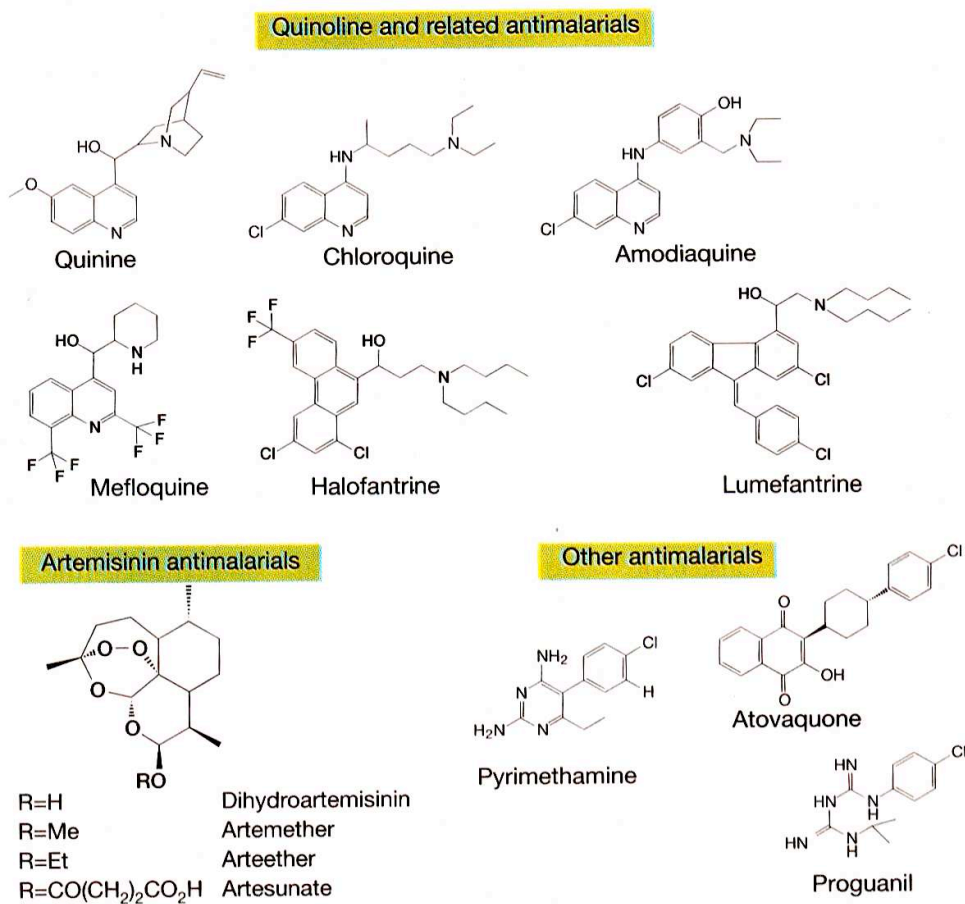
L'Halofantrine (phénantrène-méthanol) est utilisée dans les zones de multirésistance, mais peut produire de graves effets secondaires cardiaques.

L'Atovaquone (hydroxynaphtoquinone) est surtout utilisée chez les patients immunodéprimés. Des résistances se développent très rapidement. Elle est donc souvent associée au proguanil (MalaroneTM).

Pyronaridine

Luméfántrine (associé à l'artéméter).

Fig. 65 Principales molécules utilisées dans le traitement du paludisme (d'après Ridley, 2002)



➤ Phénomènes de résistance

La résistance est la possibilité pour une lignée de parasites de survivre ou/et de se multiplier malgré l'administration et l'absorption d'une drogue donnée en dose égale ou supérieure à celle recommandée habituellement.

Des phénomènes de résistance ont été décrits pour *P. falciparum* et *P. vivax*.

En général, la résistance apparaît après une mutation spontanée qui diminue la sensibilité à une molécule ou à une classe de molécules. Les parasites susceptibles meurent alors que les résistants survivent et sont donc sélectionnés. Un point important qui différencie *Plasmodium falciparum* des autres parasites est la façon dont il modifie la surface des globules rouges qu'il infecte, leur permettant ainsi d'adhérer aux endothéliums et donc d'échapper à leur destruction par la rate.

Des résistances aux principaux traitements (chloroquine, antifolates et atovaquone) du paludisme existent. Les premières résistances à la chloroquine sont apparues en 1959-1960 en Asie du Sud Est et en Amérique du Sud (Bloland, 2001). En Afrique, le point clé est l'approvisionnement rapide et efficace en médicaments. Les problèmes sont un accès limité au secteur de la santé publique, un personnel mal formé et non supervisé.

Afin de prévenir la résistance, l'amélioration du diagnostic doit permettre de diminuer l'usage des antipaludiques. Il est aussi nécessaire d'assurer un meilleur suivi et il faut

favoriser les combinaisons de traitements car une résistance chimique à une molécule induit souvent une résistance aux molécules de la même classe.

☛ Seuls 3 des 1223 nouveaux médicaments développés entre 1975 et 1996 étaient des antipaludiques (Trouiller & Olliaro, 1998). Les séquençages des génomes du parasite *P. falciparum*, du moustique *Anopheles gambiae* finalisés en octobre 2002 apportent de nouveaux espoirs. Par exemple l'importance de l'apicoplaste (Ridley, 2002), l'existence de 60% de gènes de fonctions inconnues chez le parasite qui pourront être à l'origine de nouvelles cibles (Butler, 2002) ont été soulignées. Le séquençage du génome du moustique a comme intérêt potentiel de comprendre la biologie, la biochimie, la physiologie et le comportement du vecteur lors de la recherche de l'hôte, du repas sanguin et de la reproduction et d'essayer d'interagir avec ceux-ci pour contrôler l'épidémie (Morel et al., 2002). Mais, ceci ne doit pas détourner de la recherche de nouvelles molécules, nécessaires pour lutter contre le paludisme dans l'avenir car les probabilités de résistance sont toujours fortes.

De plus, le développement de nouvelles molécules demande de 12 à 17 ans, ce qui est plus long que la mise en place des résistances.

2.3.2 Le paludisme chez les chimpanzés

Plasmodium reichenowi qui affecte naturellement les chimpanzés d'Afrique de l'Est est très similaire à *Plasmodium falciparum* (cf Première Partie, III, C). Néanmoins, les symptômes que l'on pourrait attribuer au paludisme chez les chimpanzés sont rarement observés.

Les raisons permettant d'expliquer de telles différences cliniques dans l'expression de cette maladie chez l'homme et le chimpanzés ne sont pas claires.

2.3.3 Activités antipaludique des extraits de plantes

Les essais antipaludiques ont été effectués dans le *Laboratoire de Biologie fonctionnelle des protozoaires* du Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris, dirigé par le Professeur Joseph Schrevel, grâce à la collaboration du Professeur Philippe Grellier et à l'aide de Mehdi Labaied.

L'activité antipaludique est évaluée sur la souche FcB1 de *Plasmodium falciparum*, résistante à la chloroquine, selon la méthode décrite par Desjardin *et al.* (1979). Pour chaque extrait, on détermine la CI_{50} à partir d'une courbe de fonction :

$$\% \text{ d'inhibition} = \log (\text{concentration de l'extrait}).$$

La CI_{50} du produit de référence, la chloroquine, est de l'ordre de 0,1 μM .

Parmi les 84 extraits testés, 6 extraits ont une CI_{50} inférieure à 10 $\mu\text{g/ml}$ et 6 ont une CI_{50} comprise entre 10 et 20 $\mu\text{g/ml}$. Ces 12 extraits proviennent de 8 espèces de plantes. Les extraits à l'acétate d'éthyle et au méthanol des feuilles et des écorces d'*Uvariopsis congensis* présentent une activité significative. Les deux types d'extraits de feuilles de *Trichilia rubescens* ont une activité nette. 7 extraits proviennent des écorces, 5 des feuilles des plantes collectées. 4 extraits sont obtenus par macération méthanolique.

➤ *Extraits de parties de plantes consommées par les chimpanzés*

7 extraits parmi les 12 ayant une IC₅₀ inférieure à 20 µg/ml proviennent de parties de plantes qui sont consommées par les chimpanzés (Tableau XXXVIII). 3 sont des extraits de feuilles, 4 d'écorce. 3 extraits de parties de plantes consommées ont une CI₅₀ inférieure à 6 µg/ml.

➤ *Extraits de parties non consommées de plante*

Uvariopsis congensis dont les feuilles sont consommées par les chimpanzés possède aussi des écorces à propriétés antipaludiques qui, elles, ne sont pas ingérées par les chimpanzés.

Tableau XXXVIII. Extraits de plantes ayant une CI₅₀ inférieure à 20 µg/ml sur *Plasmodium falciparum*, en caractère gras, les activités les plus significatives.

	Espèce	Partie	Solvant d'extraction	CI ₅₀ <i>Plasmodium falciparum</i> (µg/ml) CI ₅₀ Chloroquine 0,1µM
Partie consommée par les chimpanzés	<i>Trichilia rubescens</i>	Feuilles	acétate d'éthyle	<3,12
	<i>Trichilia rubescens</i>	Feuilles	méthanol	<3,12
	<i>Diospyros abyssinica</i>	Écorce	acétate d'éthyle	5,58
	<i>Uvariopsis congensis</i>	Feuilles	acétate d'éthyle	14,68
	<i>Uvariopsis congensis</i>	Feuilles	méthanol	15,06
	<i>Dombeya mukole</i>	Écorce	acétate d'éthyle	16,6
	<i>Ficus exasperata</i>	Écorce	méthanol	17,57
Partie non consommée par les chimpanzés	<i>Uvariopsis congensis</i>	Écorce	méthanol	2,77
	<i>Uvariopsis congensis</i>	Écorce	acétate d'éthyle	4,1
	<i>Piper umbellatum</i>	Feuilles	acétate d'éthyle	9
	<i>Pancovia turbinata</i>	Écorce	acétate d'éthyle	12,1
	<i>Mimusops bagshawei</i>	Écorce	acétate d'éthyle	18,75

2.4 Tests de cytotoxicité sur cellules cancéreuses

2.4.1 Les cancers

Chaque année, les cancers sont responsables de 240 000 nouveaux cas et environ 150 000 décès en France. En 1999, 87 000 hommes et 56 000 femmes sont morts en France d'un cancer, 282 000 hommes et 260 000 femmes aux USA (base de données de l'OMS, site internet WHO).

2.4.2 Activité cytotoxique sur cellules KB des extraits de plantes

Les tests ont été réalisés par Christiane Gaspard à l'ICSN sur la lignée de cellules humaines KB provenant d'un carcinome épidermoïde de la langue et du plancher de la cavité orale (Eagle, 1955; Shoemaker *et al.*, 1983). Le pourcentage d'inhibition de croissance des cellules tumorales est mesuré pour différentes concentrations des extraits (10 et 1 µg/ml, généralement).

9 extraits sur 84 ont une cytotoxicité supérieure à 50% à 10 µg/ml. Pour trois d'entre eux, la cytotoxicité est encore supérieure à 50% à 1 µg/ml.

Ces extraits appartiennent à cinq espèces de plantes. Les extraits de trois espèces sont particulièrement actifs. Les deux extraits d'écorce et l'extrait méthanolique des feuilles d'*Uvariopsis congensis*, les deux extraits d'écorce de *Diospyros abyssinica* et les extraits méthanoliques des feuilles et écorces d'*Albizia grandibracteata* présentent une activité notable.

Les deux extraits méthanoliques d'*Albizia grandibracteata* et l'extrait à l'acétate d'éthyle de *Diospyros abyssinica* sont les plus actifs à 1 µg/ml.

Trois extraits sur 9 sont issus d'une extraction par l'acétate d'éthyle. Parmi les 9 extraits, 7 proviennent d'écorce et deux de feuilles.

➤ *Extraits de parties de plantes consommées par les chimpanzés*

5 des neuf extraits les plus actifs sont consommés par les chimpanzés. 3 espèces en sont à l'origine. 4 extraits sur 5 sont réalisés par une extraction au méthanol. 3 extraits proviennent d'écorces, 2 de feuilles.

Les trois extraits les plus actifs (*Diospyros abyssinica*, *Albizia grandibracteata*, écorces et feuilles) font aussi partie des parties de plantes ingérées par les primates étudiés.

➤ *Extraits de parties non consommées de plantes*

Les 4 extraits proviennent d'écorces. On retrouve une espèce, *Uvariopsis congensis* dont les feuilles sont cytotoxiques et consommées par les chimpanzés.

Tableau XXXIX. Extraits de plantes ayant une cytotoxicité sur cellules KB supérieure à 50% à 10 µg/ml, en caractère gras, les activités les plus significatives.

	Espèce	Partie	Solvant d'extraction	cytotoxicité à 10 µg/ml (%) Cl ₅₀ Adriblastine=0,1 µM	cytotoxicité à 1 µg/ml (%)
Partie consommée	<i>Diospyros abyssinica</i>	Écorce	acétate d'éthyle	93	89
	<i>Diospyros abyssinica</i>	Écorce	méthanol	87	23
	<i>Uvariopsis congensis</i>	Feuilles	méthanol	53	49
	<i>Albizia grandibracteata</i>	Écorce	méthanol	98	90
	<i>Albizia grandibracteata</i>	Feuilles	méthanol	95	59
Partie non consommée	<i>Monodora myristica</i>	Écorce	méthanol	92	37
	<i>Uvariopsis congensis</i>	Écorce	acétate d'éthyle	90	39
	<i>Uvariopsis congensis</i>	Écorce	méthanol	65	49
	<i>Celtis durandii</i>	Écorce	acétate d'éthyle	53	21

2.5 Évaluation *in vitro* de l'activité anthelmintique

Ces essais ont été pratiqués sur *Rhabditis pseudoelongata* dans le *Service de Biologie et contrôle des organismes parasites de la Faculté de Chatenay-Malabry (France)*, avec l'aide de Christian Bories.

Les résultats sont exprimés en DL₅₀ (dose létale 50%), dose qui tue 50% de la population de vers.

9 extraits parmi les 84 ont une DL₅₀ inférieure à 100 µg/ml. Pour 4 d'entre eux, la DL₅₀ est inférieure à 50 µg/ml.

Ces 9 extraits sont issus de 6 espèces de plantes. Les deux types d'extraits de feuilles de *Linociera johnsonii* et d'écorce de *Monodora myristica* présentent une activité. Les extraits méthanoliques de feuilles et d'écorce d'*Albizia grandibracteata* ont une DL inférieure à 50 µg/ml.

Parmi les 9 extraits, 4 proviennent d'écorce, 3 de feuilles et 2 de fleurs.

Pour 5 d'entre eux, le solvant d'extraction est le méthanol.

➤ Extraits de parties de plantes consommées par les chimpanzés

3 des 9 extraits ayant une DL₅₀ inférieure à 100 µg/ml sont consommés par les chimpanzés. Parmi les 4 extraits ayant les plus fortes activités anthelminthiques (inférieures à 50 µg/ml), 3 -dont le plus actif- sont consommés par les chimpanzés de Kanyawara. Deux extraits méthanoliques sont actifs.

➤ Extraits de parties non consommées de plantes

Les 6 extraits proviennent de 4 espèces de plantes.

Tableau XL. Extraits de plantes ayant une DL₅₀ inférieure à 100 µg/ml sur *Rhabditis pseudoelongata*

	Espèce	Partie	Solvant d'extraction	DL ₅₀ <i>R. pseudoelongata</i> (µg/ml) Cl ₅₀ Ivermectine=0,38 µg/ml
Partie consommée	<i>Albizia grandibracteata</i>	Feuilles	méthanol	25
	<i>Diospyros abyssinica</i>	Écorce	acétate d'éthyle	25<<50
	<i>Albizia grandibracteata</i>	Écorce	méthanol	25<<50
Partie non consommée	<i>Acanthus pubescens</i>	Fleurs	méthanol	25<<50
	<i>Monodora myristica</i>	Écorce	acétate d'éthyle	50<<100
	<i>Monodora myristica</i>	Écorce	méthanol	50<<100
	<i>Piper umbellatum</i>	Fleurs	acétate d'éthyle	50<<100
	<i>Linociera johnsonii</i>	Feuilles	acétate d'éthyle	50<<100
	<i>Linociera johnsonii</i>	Feuilles	méthanol	50<<100

2.6 Propriétés antibiotiques et antifongiques

Ces tests ont été réalisés grâce à l'aide de Valérie Bultel-Poncé au sein du *Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles du Muséum National d'Histoire Naturelle* dirigé par le Professeur B. Bodo.

Des souches bactériennes (*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*) et fongiques (*Candida tropicalis* et *Penicillium crustosum*) ont été utilisées pour les essais.

Deux types d'essais sont pratiqués :

- Des disques de 5 mm de diamètre imprégnés des extraits sont déposés sur des boîtes de pétri où croissent les souches microbiennes. Le diamètre des zones d'inhibition est mesuré. Si aucune colonie n'est observée dans la zone d'inhibition l'extrait est considéré comme bactéricide ; si, par contre, quelques colonies sont présentes (en densité faible), l'extrait est défini comme bactériostatique.
- Certains extraits inhibant la croissance des souches de *S. aureus* de façon significative en milieu gélosé, les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) ont été déterminées par des essais en milieu liquide.

2.6.1 Essais sur *Staphylococcus aureus*

32 extraits ont présenté des diamètres d'inhibition supérieurs à 10 mm. Ils appartiennent à 18 espèces de plantes. 11 extraits sont issus de feuilles, 20 d'écorces et 1 de fleurs. 11 extraits ont été réalisés avec du méthanol.

Parmi ces 32 extraits, 12 proviennent de parties de plantes mangées par les chimpanzés et 14 ne sont pas consommés.

➤ *Extraits de parties de plantes consommées*

- 12 ont un diamètre d'inhibition supérieur à 12 mm,
- 3 ont une CMI inférieure ou égale à 50 µg/ml. Ces trois extraits les plus actifs proviennent des écorces extraites à l'acétate d'éthyle de *Diospyros abyssinica*, de *Pterygota mildbraedi* et de *Albizia grandibracteata*. Ils sont tous les trois bactéricides,
- 8 sont bactéricides.

➤ *Extraits des parties de plantes non consommées*

- 9 extraits dont le diamètre est supérieur à 12 mm
- 6 dont la CMI est inférieure ou égale à 50 µg/ml
- 8 d'entre eux sont bactéricides.

Tableau XLI. Extraits de plantes ayant un diamètre d'inhibition supérieur à 10 mm pour *S. aureus*, en caractère gras, les activités les plus significatives.

	Espèce	Famille	Partie	Solvant d'extraction	Diamètre d'inhibition Streptomycine 10UI=14-22	Bactériostatique ou bactéricide	CMI en µg/ml
Partie consommée	<i>Diospyros abyssinica</i>	Ebenaceae	Écorce	acétate d'éthyle	12	BC	12
	<i>Pterygota mildbraedii</i>	Sterculiaceae	Écorce	acétate d'éthyle	15	BC	25
	<i>Albizia grandibracteata</i>	Mimosaceae	Écorce	acétate d'éthyle	10	BC	50
	<i>Ficus natalensis</i>	Moraceae	Écorce	méthanol	11	BC	99
	<i>Ficus exasperata</i>	Moraceae	Écorce	acétate d'éthyle	12	BS	198
	<i>Ficus dawei</i>	Moraceae	Écorce	méthanol	11	BC	202
	<i>Chaetacme aristata</i>	Ulmaceae	Écorce	acétate d'éthyle	10	BS	225
	<i>Ficus dawei</i>	Moraceae	Écorce	acétate d'éthyle	11	BS	369
	<i>Ficus exasperata</i>	Moraceae	Écorce	méthanol	12	BS	488
	<i>Diospyros abyssinica</i>	Ebenaceae	Écorce	méthanol	11	BC	1085
	<i>Dombeya mukole</i>	Sterculiaceae	Écorce	acétate d'éthyle	10	BC	>100
	<i>Pterygota mildbraedii</i>	Sterculiaceae	Écorce	méthanol	10	BS	>100
	<i>Albizia grandibracteata</i>	Mimosaceae	Feuilles	acétate d'éthyle	10	BS	>100
	<i>Bosqueia phoberos</i>	Moraceae	Feuilles	acétate d'éthyle	12	BS	>100
	<i>Strombosia scheffleri</i>	Olacaceae	Feuilles	acétate d'éthyle	14	BC	>100
	<i>Trichilia rubescens</i>	Meliaceae	Feuilles	acétate d'éthyle	12	BC	>100
	<i>Trichilia rubescens</i>	Meliaceae	Feuilles	méthanol	11	BC	>100
	<i>Pterygota mildbraedii</i>	Sterculiaceae	Feuilles	acétate d'éthyle	12	BC	>100
Partie non consommée	<i>Chrysophyllum albidum</i>	Sapotaceae	Feuilles	méthanol	10	BC	11
	<i>Acanthus pubescens</i>	Acanthaceae	Fleurs	acétate d'éthyle	16	BS et BC sur 11	25
	<i>Piper umbellatum</i>	Piperaceae	Feuilles	acétate d'éthyle	14	BS	46
	<i>Linociera johnsonii</i>	Oleaceae	Feuilles	acétate d'éthyle	10	BS	50
	<i>Strombosia scheffleri</i>	Olacaceae	Écorce	acétate d'éthyle	12	BC	50
	<i>Celtis africana</i>	Ulmaceae	Écorce	acétate d'éthyle	20	BS et BC sur 12	50
	<i>Piper umbellatum</i>	Piperaceae	Feuilles	méthanol	10	BS	84
	<i>Mimusops bagshawei</i>	Sapotaceae	Écorce	méthanol	12	BC	112
	<i>Celtis durandii</i>	Ulmaceae	Écorce	acétate d'éthyle	13	BS	116
	<i>Mimusops bagshawei</i>	Sapotaceae	Écorce	acétate d'éthyle	10	BS	167
	<i>Celtis africana</i>	Ulmaceae	Écorce	méthanol	12	BS	391
	<i>Chrysophyllum albidum</i>	Sapotaceae	Écorce	méthanol	12	BC	396
	<i>Dombeya mukole</i>	Sterculiaceae	Feuilles	acétate d'éthyle	17	BC	>100
	<i>Linociera johnsonii</i>	Oleaceae	Écorce	acétate d'éthyle	10	BC	>101

2.6.2 *Essais sur Escherichia coli*

6 extraits de 6 espèces de plantes différentes ont un diamètre d'inhibition supérieur ou égal à 8 mm sur *E. coli*. Les extraits proviennent tous d'une macération méthanolique. 5 sont issus des écorces des plantes. Trois sont de la famille des Moraceae, deux de celle des Sapotaceae et une provient de la famille des Sapindaceae.

➤ *Extraits de parties de plantes consommées*

Trois des 6 extraits viennent de parties de plantes consommées par les chimpanzés. Ce sont trois extraits méthanoliques de *Ficus* (deux d'écorce, un de feuilles).

➤ *Extraits de parties non consommées de plante*

L'extrait méthanolique d'écorce de *Mimusops bagshawei* est le seul qui soit bactéricide et qui possède un diamètre d'inhibition supérieur à 10 µg/ml.

Tableau XLII. Extraits de plantes ayant un diamètre d'inhibition supérieur à 8 mm pour *E. coli*.

	Espèce	Partie	Solvant d'extraction	Diamètre	Bactériostatique
				d'inhibition Streptomycine 10UI=12-20	
partie consom mée	<i>Ficus dawei</i>	Écorce	méthanol	8	BS
	<i>Ficus exasperata</i>	Écorce	méthanol	8	BS
	<i>Ficus asperifolia</i>	Feuilles	méthanol	8	BS
Partie non consom mée	<i>Mimusops bagshawei</i>	Écorce	méthanol	11	BC
	<i>Chrysophyllum albidum</i>	Écorce	méthanol	9	BS
	<i>Pancovia turbinata</i>	Écorce	méthanol	9	BS

2.6.3 *Essais sur Candida tropicalis*

3 extraits présentent une faible activité antifongique : ils viennent d'écorces consommées par les chimpanzés. La substance de référence fongicide et fongistatique active sur *Candida* sp. est l'Amphotéricine B dont la CMI est comprise entre 0,03 et 1 µg/ml.

Tableau XLIII. Extraits de plantes ayant un diamètre d'inhibition pour *Candida tropicalis* supérieur à 7 mm

	Espèce	Partie	Solvant d'extraction	Diamètre d'inhibition
Partie consommée	<i>Diospyros abyssinica</i>	Écorce	acétate d'éthyle	8
	<i>Diospyros abyssinica</i>	Écorce	méthanol	7
	<i>Chaetacme aristata</i>	Écorce	acétate d'éthyle	7

2.7 Bilan des activités antimicrobiennes et cytotoxiques

En moyenne, sur l'ensemble des essais biologiques, 3,5 extraits (7,6%) de parties de plantes consommées par les chimpanzés sont actifs pour chaque essai. Parmi les parties de plantes non consommées par les chimpanzés, 2,25 extraits (5,9%) seulement sont actifs en moyenne pour chaque test, mais la différence n'est pas significative.

Pour tous les tests, excepté les essais antibiotiques, la proportion d'extraits actifs est plus forte parmi les parties de plantes consommées par les chimpanzés de Kanyawara, mais la différence n'est significative que pour les tests de cytotoxicité sur cellules KB et les essais antifongiques sur *C. tropicalis*. La proportion d'extraits à activité antibiotique est plus forte parmi les extraits de plantes non consommées par les chimpanzés, mais la différence n'est pas significative. L'évaluation de l'activité antibiotique montre quelques résultats significatifs mais l'activité reste faible comparée aux antibiotiques issus de souches fongiques. La proportion de plantes à activité cytotoxique observée dans cette étude des parties de plantes consommées par les chimpanzés est significativement plus forte ($p < 0,05$) que celle observée sur un échantillon de 650 extraits collectés au hasard où seulement 1% des plantes ont plus de 50% de cytotoxicité à 1 $\mu\text{g/ml}$ (Gaspard, comm. pers.).

Tableau XLIV. Bilan des activités antimicrobiennes et cytotoxiques des extraits de plantes en fonction de leur consommation par les chimpanzés

Essais biologiques	<i>Extraits actifs parmi les parties consommées</i> (n = 46)		<i>Extraits actifs parmi les parties non consommées</i> (n = 38)		p	Proportion d'extraits actifs si échantillonnage au hasard
	Nombre	%	Nombre	%		
<i>T. brucei</i>	0	0,00%	0	0,00%	NS	
<i>P. falciparum</i> $\text{CI}_{50} < 20 \mu\text{g/ml}$	7	15,22%	5	13,16%	NS	
<i>L. donovani</i> $\text{CI}_{50} < 10 \mu\text{g/ml}$	1	2,17%	0	0,00%	NS	
<i>R. pseudoelongata</i> $\text{CI}_{50} < 50 \mu\text{g/ml}$	3	6,52%	1	2,63%	NS	
cytotoxicité >50% à 1 $\mu\text{g/ml}$	3	6,52%	0	0,00%	0,05	1%, n = 650 (Gaspard, pers.comm)
$\varnothing > 11 \text{mm}$ <i>S. aureus</i>	8	17,39%	9	23,68%	NS	$\text{CMI} \leq 500 \mu\text{g/ml}$ 1%, n = 104 (Bultel, comm. pers.)
$\varnothing > 8 \text{mm}$ <i>E. coli</i>	3	6,52%	3	7,89%	NS	
$\varnothing > 7 \text{mm}$ <i>C. tropicalis</i>	3	6,52%	0	0,00%	0,05	$\text{CMI} \leq 500 \mu\text{g/ml}$ 2%, n = 104 (Bultel, comm. pers.)
moyenne	3,5	7,61%	2,25	5,92%	NS	

Parmi les échantillons collectés, 45% proviennent d'écorces et 63% des extraits actifs sur l'ensemble des essais de type anti-bactériens, antifongiques, anthelminthiques et cytotoxiques sont des extraits d'écorces (différence significative : $p < 0,02$, test unilatéral).

Parmi les extraits de parties de plantes consommées par les chimpanzés, 39% des extraits ont été réalisés à partir d'écorces et 56,7% des extraits actifs sont issus des écorces ($p < 0,07$, test unilatéral). De même, parmi les extraits de plantes non consommées par les chimpanzés, la proportion d'extraits d'écorces actifs est supérieure à la proportion d'échantillons collectés (respectivement 70,4% vs 52% $p = 0,07$, test unilatéral).

Tableau XLV. Proportion d'extraits issus d'écorces présentant une activité biologique

Essais biologiques	<u>Extraits actifs parmi les parties consommées</u> (<i>n</i> = 46)		<u>Extraits actifs parmi les parties non consommées</u> (<i>n</i> = 38)		<u>Ensemble des extraits</u> (<i>n</i> = 84)
	extraits provenant d'écorce	toute partie	extraits provenant d'écorce	toute partie	
Proportion d'extraits provenant d'écorces parmi l'ensemble des extraits	39%		52%		45%
<i>T. brucei</i>	0	0	0	0	
<i>P. falciparum</i> CI ₅₀ < 20 µg/ml	3	7	4	5	
<i>L. donovani</i> CI ₅₀ < 10 µg/ml	1	1	0	0	
<i>R. pseudoelongata</i> CI ₅₀ < 100mg/ml	2	3	2	6	
cytotoxicité >50% à 10 µg/ml	3	5	4	4	
Ø > 11 mm <i>S. aureus</i>	3	8	6	9	
Ø > 8 mm <i>E. coli</i>	2	3	3	3	
Ø > 7 mm <i>C. tropicalis</i>	3	3	0	0	
somme	17	30	19	27	
% d'extraits d'écorces actifs	56,67%		70,37%		63%

2.8 Tests d'immunomodulation

Les essais portant sur la prolifération lymphocytaire des splénocytes ont été réalisés dans le *Service d'Immunologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort à Maisons-Alfort*, grâce à la collaboration du Professeur Quintin-Colonna et l'aide technique de Françoise Gavard.

Aucune activité significative immunostimulante n'a été observée pour les extraits bruts. La non reproductibilité des résultats fait supposer la nécessité de réaliser les essais sur des extraits déjà partiellement purifiés.

2.9 Tests anti-VIH

2.9.1 L'impact du VIH chez l'homme

Le SIDA (Syndrome d'Immunodéficience Acquise) a provoqué la mort d'au moins 16 millions de personnes dans le monde. Le VIH 1, souche du virus la plus courante, a infecté plus de 50 millions d'individus et au moins 6 millions de nouveaux cas apparaissent chaque année.

Le coût et la toxicité des traitements antiviraux, mais aussi les caractéristiques propres au virus (recombinaison, latence, échappement à la pression du système immunitaire et des médicaments) ont pour conséquence que le SIDA reste aujourd'hui encore une maladie mortelle.

☛ *La nécessité de trouver de nouvelles molécules dans ce domaine de la santé est une priorité.*

2.9.2 Le SIV chez le chimpanzé

Les hommes ne sont pas les hôtes naturels du VIH-1 et 2. Le virus a gagné notre espèce à la faveur d'une transmission zoonotique, très certainement par l'intermédiaire de chimpanzés pour le VIH-1 et de Mangabeys pour le VIH-2 (Hahn, 2000).

Les chimpanzés, et particulièrement la sous-espèce *P. t. schweinfurthii* étudiée au cours de ce travail, sont porteurs de la souche SIVcpz. Néanmoins, la prévalence de l'infection est faible et le statut de 28 chimpanzés de Kibale a été examiné et jugé négatif. Pourtant, à Gombe qui se trouve à une distance relativement proche, l'infection existe chez les chimpanzés de la même sous-espèce (Santiago, 2002).

Les causes permettant d'expliquer pourquoi les chimpanzés ne souffrent pas d'infection par le SIV restent inexpliquées.

2.9.3 Évaluation de l'activité anti-VIH-1

L'effet des extraits bruts des plantes a été évalué, par A.-M. Aubertin, sur la réplication du VIH dans trois types de cellules (MT-4, CEM-SS, PBMC) (Moog *et al.*, 1994) à l'Institut de Virologie de la faculté de Médecine de Strasbourg.

La viabilité des cellules infectées par le VIH-1 ainsi que l'effet toxique des extraits sur les cellules saines sont mesurés par réaction colorimétrique (MTT). La toxicité sur les cellules infectées par le virus a été évaluée conjointement. Pour qu'un produit soit intéressant, une différence significative doit exister entre les deux concentrations - toxique et active - de ce produit (CC et CI).

➤ *Essais sur cellules MT-4*

Aucun des 84 extraits ne possède d'activité notable sur les cellules MT-4 infectées par le virus VIH-1. Les CI_{50} sont supérieures à 5 $\mu\text{g/ml}$.

Certains extraits ont par contre une toxicité vis-à-vis des cellules non infectées.

➤ *Essais sur VIH-1 Bal/PBMC*

Sont rapportés dans le tableau XLVI, les extraits ayant une CI_{50} inférieure à 10 $\mu\text{g/ml}$. 14 extraits appartenant à 11 espèces de plantes et majoritairement des extraits méthanolique d'écorce (12 extraits sont des écorces, 10 extraits sont des extraits méthanoliques parmi les 14) sont actifs.

▲ **Extraits de parties de plantes consommées**

4 extraits issus de 4 parties d'espèces de plantes consommées par les chimpanzés sont actifs. Il est notable que les extraits testés ont des CC_{50} fortes et sont donc peu toxiques par rapport à leur activité. Trois sont des extraits méthanoliques, et 3 sont extraits d'écorce.

Les feuilles d'Albizia grandibracteata extraites au méthanol ont une activité particulièrement intéressante avec une toxicité réduite.

▲ **Extraits de parties de plantes non consommées**

10 extraits sont actifs et non consommés.

Il faut remarquer que les deux extraits de plantes les plus actifs (extraits AcOEt et MeOH d'écorce d'Uvariopsis congensis) parmi les items non consommés par les chimpanzés sont aussi les plus toxiques sur les cellules PBMC.

Tableau XLVI. Activité anti-VIH-1 Bal sur cellules PBMC des extraits de plantes

	Espèce	Partie de plante	Solvant	VIH-1 Bal/PBMC ($\mu\text{g/ml}$)	
				CI_{50}	CC_{50}
Partie consommée	<i>Albizia grandibracteata</i>	feuilles	MeOH	0,23	7,5
	<i>Dombeya mukole</i>	écorce	MeOH	2,4	> 20
	<i>Chaetacme aristata</i>	écorce	MeOH	8,3	> 100
	<i>Diospyros abyssinica</i>	écorce	AcOEt	8,5	> 10
Partie non consommée	<i>Uvariopsis congensis</i>	écorce	AcOEt	0,26	1,6
	<i>Uvariopsis congensis</i>	écorce	MeOH	0,67	0,44
	<i>Linociera johnsoni</i>	feuilles	MeOH	1,1	15
	<i>Mimusops bagshawei</i>	écorce	MeOH	1,2	> 10
	<i>Strombosia scheffleri</i>	écorce	MeOH	2,1	10
	<i>Celtis africana</i>	écorce	MeOH	3,2	> 5
	<i>Mimusops bagshawei</i>	écorce	AcOEt	3,8	> 10
	<i>Pancovia turbinata</i>	écorce	MeOH	5,9	27
	<i>Celtis durandii</i>	écorce	MeOH	7,1	55
	<i>Celtis durandii</i>	écorce	AcOEt	9,3	> 10

➤ *Essais sur VIH-1 IIIB/PBMC*

Seuls les extraits de la première mission (54 extraits) ont été testés.

On a considéré dans le tableau XLVII les extraits ayant une CI_{50} inférieure à $5 \mu\text{g/ml}$.

20 extraits appartenant à 12 espèces de plantes sont actifs sur les cellules infectées par le virus VIH 1 IIIB. La majorité sont des écorces (13/20) et les extraits à l'acétate d'éthyle sont plus fréquents.

▲ Extraits de parties de plantes consommées

12 extraits proviennent de parties de plantes mangées par les chimpanzés. Ils correspondent à 11 espèces, la moitié étant composée d'extraits d'écorces. L'extrait méthanolique de feuilles d'*Uvariopsis congensis* présente une bonne activité relativement à une toxicité faible (d'ailleurs, on note, comme dans l'essai décrit précédemment, que les écorces de cette plante qui ne sont pas consommées, ont une forte toxicité sur les cellules PBMC).

▲ Extraits de parties de plantes non consommées

Dans cette catégorie, les deux extraits les plus actifs sont aussi les plus toxiques.

Tableau XLVII. Activité anti-VIH-1 IIIB sur cellules PBMC des extraits de plantes

	Espèce	Partie de plante	Solvant	VIH-1 IIIB/PBMC ($\mu\text{g/ml}$)	
				CI_{50} AZT = $1,4 \cdot 10^{-6} \mu\text{M}$	CC_{50}
Partie consommée	<i>Uvariopsis congensis</i>	Feuilles	Méthanol	$9,5 \cdot 10^{-2}$	4,6
	<i>Chaetacme aristata</i>	Écorce	Acétate d'éthyle	0,2	0,34
	<i>Ficus natalensis</i>	Écorce	Acétate d'éthyle	0,56	1,2
	<i>Urera hypsiloides</i>	Fruit	Méthanol	0,82	1,9
	<i>Uvariopsis congensis</i>	Feuilles	Acétate d'éthyle	1,1	$9,2 \cdot 10^{-2}$
	<i>Diospyros abyssinica</i>	Écorce	Acétate d'éthyle	1,3	2,8
	<i>Ficus dawei</i>	Écorce	Acétate d'éthyle	1,9	5,1
	<i>Celtis durandii</i>	Feuilles	Méthanol	3,1	2,7
	<i>Chaetacme aristata</i>	Écorce	Méthanol	3,2	1,8
	<i>Celtis durandii</i>	Feuilles	Acétate d'éthyle	3,2	2,6
	<i>Ficus asperifolia</i>	Feuilles	Acétate d'éthyle	4,8	8
	<i>Olea welwitschii</i>	Écorce	Acétate d'éthyle	5	9,1
Partie non consommée	<i>Uvariopsis congensis</i>	Écorce	Acétate d'éthyle	$9,2 \cdot 10^{-4}$	$6,1 \cdot 10^{-3}$
	<i>Uvariopsis congensis</i>	Écorce	Méthanol	$1,3 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-2}$
	<i>Chrysophyllum albidum</i>	Écorce	Méthanol	0,51	>1
	<i>Chrysophyllum albidum</i>	Écorce	Acétate d'éthyle	1,2	4
	<i>Celtis durandii</i>	Écorce	Acétate d'éthyle	1,8	5
	<i>Celtis africana</i>	Écorce	Acétate d'éthyle	2	4,6
	<i>Mimusops bagshawei</i>	Écorce	Acétate d'éthyle	2,1	5,6
	<i>Ficus dawei</i>	Feuilles	Acétate d'éthyle	3	9,4

➤ Essais sur VIH-1 LAI/CEMSS

L'extrait méthanolique d'écorce de *Chrysophyllum albidum* a été testé sur VIH-1 LAI/CEM SS mais aucune activité antivirale n'a été dénotée.

➤ *Remarques relatives à la toxicité des extraits sur les cellules saines*

Ces essais ont permis de remarquer que certains items, consommés en faible quantité par les chimpanzés ont une toxicité sur les cellules PBMC et MT-4.

Parmi ces aliments, on retrouve en certains pour lesquels un comportement alimentaire particulier avait été noté. Les écorces d'*Albizia grandibracteata* consommées par OK pendant sa période de troubles digestifs, les feuilles de *Strombosia scheffleri* qui ne sont pas rapportées comme aliments dans les données de long terme de Kanyawara mais dont nous avons pu observer la consommation avec du miel et enfin les feuilles de *Trichilia rubescens* dont le comportement d'ingestion a été détaillé dans les résultats de la partie II portant sur le comportement alimentaire.

Tableau XLVIII. Toxicité sur cellules PBMC et MT-4 des extraits de plantes

	Espèce	Partie de plante	Solvant	CC ₅₀ (µg/ml)	
				PBMC	MT-4
Partie consommée	<i>Uvariopsis congensis</i>	feuilles	AcOEt	0,65	0,37
	<i>Uvariopsis congensis</i>	feuilles	MeOH	1,4	0,34
	<i>Albizia grandibracteata</i>	écorce	AcOEt	0,67	2,2
	<i>Albizia grandibracteata</i>	écorce	MeOH	0,89	1,7
	<i>Strombosia scheffleri</i>	feuilles	MeOH	7,8	7,5
	<i>Trichilia rubescens (1)</i>	feuilles	AcOEt	4,9	7,6
	<i>Urera sp.</i>	fruits	MeOH	>10	8,1
	<i>Albizia grandibracteata</i>	feuilles	MeOH	>11	4,3
	<i>Diospyros abyssinica</i>	écorce	AcOEt	>12	5,5
Partie non consommée	<i>Uvariopsis congensis</i>	écorce	AcOEt	>13	0,14
	<i>Uvariopsis congensis</i>	écorce	MeOH	>14	0,23
	<i>Pancovia turbinata</i>	écorce	AcOEt	8,2	>10

Néanmoins, l'activité rapportée à la toxicité n'est jamais assez forte pour que les extraits soient sujets à une recherche plus approfondie.

3- Essais biologiques sur les extraits bruts et leurs fractions effectués dans le cadre de la collaboration avec les laboratoires SERVIER

Tous les extraits de plantes préparés pour les tests décrits précédemment sont utilisés pour effectuer des essais portant sur la régulation de l'appétit dans le cadre d'une collaboration avec l'Institut de Recherche SERVIER. Afin de cibler plus rapidement les fractions actives mais aussi, parce que les cibles portant sur les récepteurs nécessitent des extraits pré-purifiés pour éviter des faux-positifs, un fractionnement automatique est réalisé.

Les extraits préparés sont donc fractionnés de façon automatisée par CLHP, suivant un protocole unique pour chaque type d'extrait (méthanolique ou acétate d'éthyle) et distribués automatiquement dans des plaques multi-puits. Ce travail a été réalisé par Barbara Morléo et Vanessa Alexandre, au sein du Pôle Substances Naturelles de l'ICSN de Gif-sur-Yvette dirigé par Marc Litaudon.

Les plaques-filles issues du fractionnement automatique sont ensuite confiées à l'Institut de Recherche SERVIER, où les essais biologiques sont pratiqués.

3.1 Cibles biologiques utilisées

3.1.1 Les récepteurs H3

L'histamine intervient dans de nombreuses fonctions biologiques :

- Neurotransmission
- Inflammation
- Contraction des muscles lisses
- Dilatation des capillaires
- Sécrétions d'acide gastrique

Ces effets sont médiés grâce à 3 sous-types de récepteurs (H1, H2, H3) couplés à une protéine G. Le récepteur H3 a été identifié dans le système nerveux central (SNC) et le système nerveux périphérique comme un récepteur présynaptique contrôlant la libération d'histamine, et d'autres neurotransmetteurs.

☞ **Les antagonistes de H3** ont des effets sur le SNC qui en font des candidats potentiels dans le traitement de

- l'obésité
- L'épilepsie
- Les déficits de mémoire liés à l'âge (Alzheimer)
- Les problèmes d'hyperactivité et de déficit d'attention

☞ **Les agonistes de H3** sur les organes périphériques ont des effets anti-inflammatoires. Ils ont de potentielles applications dans le traitement de :

- l'asthme
- les migraines
- les problèmes cardiaques

3.1.2 Les récepteurs PPAR γ (Peroxisome Proliferator Activated Receptor)

Les récepteurs activés par les inducteurs de la prolifération des peroxysomes, les PPAR, sont des récepteurs nucléaires des hormones thyroïdiennes, de la vitamine D et de l'acide rétinoïque. Ce sont des facteurs de transcription qui sont activés par la liaison de certains acides gras et/ou de métabolites lipidiques. Il semble qu'ils pourraient signaler, au niveau de l'expression génique, un changement de l'apport nutritionnel et en particulier de sa composition lipidique.

Trois PPAR (α, β, γ) sont connus. Le gène PPAR γ code pour deux protéines, $\gamma 1$ et $\gamma 2$. PPAR γ est exprimé dans le tissu adipeux et le tractus gastro-intestinal, et faiblement dans le foie et dans les muscles squelettiques. PPAR $\gamma 1$ est la forme exclusive dans les tissus autres que les tissus adipeux. Il est aussi la forme majoritaire dans le tissu adipeux même s'il n'y est pas spécifique. PPAR γ est identifié comme la cible de thiazolidinediones (TZD) utilisées dans le traitement des diabètes non insulino-dépendants.

Les ligands naturels et de synthèse qui activent PPAR γ semblent induire une différenciation des adipocytes, expliquant l'augmentation de masse du tissu graisseux et la diminution des lipides circulants des patients traités par TZD. Les ligands naturels les plus décrits de PPAR γ sont les eicosanoïdes (Ferry *et al.* 2001 ; Nosjean & Boutin, 2002).

PPAR γ joue donc un rôle dans le **diabète** au travers de :

- La différenciation des adipocytes
- L'augmentation de la sensibilité à l'insuline dans le foie et le muscle chez les animaux diabétiques

Les agonistes de PPAR γ ont probablement aussi des fonctions dans **l'inflammation et l'oncologie** (Murphy & Holder, 2000) puisqu'ils **inhibent** :

- l'activation des macrophages et des monocytes et la production inflammatoire de cytokines,
- la croissance des cellules tumorales,
- l'angiogenèse (rôle dans la dissémination tumorale : métastase).

➡ *Des inhibiteurs de la fixation des ligands pourraient réduire la masse graisseuse, alors que des agonistes pourraient diminuer les processus inflammatoires et freiner les processus de cancérisation.*

3.1.3 Les récepteurs MCH (Melanine Concentrating Hormon)

La MCH est un neuropeptide cyclique de 19 acides aminés chez les mammifères, impliqué dans la régulation du comportement alimentaire. Deux sous-types de récepteurs MCH 1R et MCH 2R ont été identifiés.

Chez les rats, MCH est exprimé dans l'hypothalamus latéral (aire jouant un rôle dans le contrôle de l'homéostasie, le comportement alimentaire et le poids corporel). Une injection intracérébrale de MCH entraîne une augmentation de la prise alimentaire chez le rat et la souris. Les souris transgéniques qui surexpriment le gène MCH sont obèses et

hyperphagiques, alors que les souris dont le gène MCH est endommagé, deviennent anorexiques (Boutin *et al.*, 2002 ; Audinot *et al.*, 2001a; Audinot *et al.*, 2001b).

☞ *Des antagonistes pourraient jouer un rôle majeur dans le contrôle de l'obésité.*

3.1.4 Le récepteur NPY (Neuropeptide Y)

Le Neuropeptide Y est une hormone impliquée dans le contrôle de l'appétit, surtout présente dans le cerveau. Il stimule la prise alimentaire (orexigène) et sa production est élevée chez les animaux sous-alimentés (Dyer *et al.*, 1998, Borowiec *et al.*, 2002).

C'est aussi un neurotransmetteur et un vasoconstricteur qui peut agir comme un facteur de croissance pour différents types de cellules, tels les neurones, les cellules endothéliales vasculaires. Les agonistes NPY-2 /-5 stimuleraient angiogenèse et formation de vaisseaux collatéraux.

Par conséquent, les antagonistes NPY-2 /-5 agiraient en inhibant la vascularisation du tissu adipeux. Un rôle dans l'oncologie pourrait donc être aussi attribué à NPY.

☞ *Des antagonistes de ce récepteur seraient donc susceptibles de réduire la prise alimentaire.*

3.2 Activités sur les récepteurs de la prise alimentaire

3.2.1 Activités des extraits bruts

➤ Récepteur H3

Trois extraits provenant de la même espèce, *Uvariopsis congensis*, et de la même partie du végétal (l'écorce) sont actifs. L'extrait brut obtenu par macération à l'acétate d'éthyle (SK 11A) est plus actif que celui obtenu par percolation en Soxhlet. Cette partie de plante n'est pas consommée par les chimpanzés.

Tableau XLIX. Propriétés antagonistes des extraits de plantes sur le récepteur H3

	Référence de l'extrait	Espèce, partie de plante	Solvant d'extraction	% d'inhibition sur H ₃ (10 µg/ml)
Partie non consommée	SK 11A Brut filtré	<i>Uvariopsis congensis</i> , écorces	AcOEt	97,3
	SK 11B Brut filtré	<i>Uvariopsis congensis</i> , écorces	AcOEt	70,7
	SK 11C Brut filtré	<i>Uvariopsis congensis</i> , écorces	MeOH	85

De façon plus surprenante, les écorces de *Diospyros abyssinica* et de *Mimusops bagshawei* présentent un fort effet activateur de la liaison du ligand avec hH3

Tableau L. Propriétés agonistes des extraits de plantes sur le récepteur H3

	Référence de l'extrait	Espèce, partie de plante	Solvant d'extraction	% d'activation sur H3 (10 µg/ml)
Partie consommée	SK 19 Brut filtré	<i>Diospyros abyssinica</i> , écorces	AcOEt	332
	SK 20 Brut filtré	<i>Diospyros abyssinica</i> , écorces	MeOH	188
Partie non consommée	SK 7 Brut filtré	<i>Mimusops bagshawei</i> , écorces	AcOEt	152

➤ *Récepteur PPAR γ 2*

28 extraits bruts appartenant à 18 espèces de plantes inhibent PPAR γ 2 à plus de 50%.

11 sont des extraits d'écorces, 15 de feuilles et 2 de fleurs.

21 sont extraits par l'acétate d'éthyle.

▲ **Extraits de parties de plantes consommées**

13 extraits bruts provenant de parties de 9 espèces de plantes consommées par les chimpanzés sont actives.

5 dont les deux plus actifs sont des extraits d'écorces.

La majorité (9) provient d'extraction par l'acétate d'éthyle.

▲ **Extraits de parties de plantes non consommées**

Les extraits de 11 espèces de plantes sont actifs.

Tableau LI. Activités des extraits de plantes sur PPAR γ 2

	Référence de l'extrait	Espèce, partie de plante	Solvant d'extraction	% d'inhibition sur PPAR γ 2(10 μ g/ml)
partie consommée	SK 59 Brut filtré	<i>Pterygota mildbraedii</i> , écorces	AcOEt	94
	SK 19 Brut filtré	<i>Diospyros abyssinica</i> , , écorces	AcOEt	87,5
	SK 73 Brut filtré	<i>Trichilia rubescens</i> (1), feuilles	AcOEt	83
	SK 45 Brut filtré	<i>Mimusops bagshawei</i> , feuilles	AcOEt	66,5
	SK 61 Brut filtré	<i>Albizia grandibracteata</i> , feuilles	AcOEt	62,5
	SK 75 Brut filtré	<i>Pterygota mildbraedii</i> , feuilles	AcOEt	62
	SK 22 Brut filtré	<i>Chaetacme aristata</i> , , écorces	MeOH	58
	SK 63 Brut filtré	<i>Bosqueia phoberos</i> , feuilles	AcOEt	57,5
	SK 33 Brut filtré	<i>Ficus asperifolia</i> , feuilles	AcOEt	57,5
	SK 55 Brut filtré	<i>Albizia grandibracteata</i> , écorces	AcOEt	54
	SK 37 Brut filtré	<i>Ficus exasperata</i> , feuilles	AcOEt	52
	SK 60 Brut filtré	<i>Pterygota mildbraedii</i> , écorces	MeOH	51,5
	SK 38 Brut filtré	<i>Ficus exasperata</i> , feuilles	MeOH	51
	partie non consommée	SK 10 Brut filtré	<i>Piper umbellatum</i> , fleurs	MeOH
SK 39 Brut filtré		<i>Piper umbellatum</i> , feuilles	AcOEt	83
SK 31 Brut filtré		<i>Chrysophyllum albidum</i> , feuilles	AcOEt	82
SK 9 Brut filtré		<i>Piper umbellatum</i> , fleurs	AcOEt	80,5
SK 35 Brut filtré		<i>Acanthus pubescens</i> , feuilles	AcOEt	72,5
SK 79 Brut filtré		<i>Strombosia scheffleri</i> , écorces	AcOEt	72,5
SK 7 Brut filtré		<i>Mimusops bagshawei</i> , écorces	AcOEt	71
SK 23 Brut filtré		<i>Ficus exasperata</i> , écorces	AcOEt	68
SK 25 Brut filtré		<i>Celtis durandii</i> , écorces	AcOEt	64
SK 40 Brut filtré		<i>Piper umbellatum</i> , feuilles	MeOH	63
SK 24 Brut filtré		<i>Ficus exasperata</i> , écorces	MeOH	62,5
SK 47 Brut filtré		<i>Ficus dawei</i> , feuilles	AcOEt	59
SK 16 Brut filtré		<i>Celtis africana</i> , écorces	MeOH	57
SK 69 Brut filtré		<i>Linociera johnsonii</i> , feuilles	AcOEt	55,5
SK 67 Brut filtré		<i>Dombeya mukole</i> , feuilles	AcOEt	53,5

➤ Récepteurs MCH

24 extraits sont actifs sur ce récepteur. Ils correspondent à 17 espèces de plantes. Les extraits à l'acétate d'éthyle de feuilles sont les plus fréquemment actifs (16 et 17 respectivement/24).

▲ Extraits de parties de plantes consommées

Les chimpanzés consomment les parties de 12 espèces de plantes, fournissant 16 extraits, actifs sur le récepteur MCH. 11 sont des extraits de feuilles et le même nombre provient d'une extraction à l'acétate d'éthyle.

▲ **Extraits de parties de plantes consommées**

8 extraits, dont deux de fleurs, sont actifs.

Tableau LII. Activités des extraits de plantes sur le récepteur MCH

	Référence de l'extrait	Espèce, partie de plante	Solvant d'extraction	% d'inhibition sur MCH1(10 µg/ml)
Partie consommée	SK 33 Brut filtré	<i>Ficus asperifolia</i> , feuilles	AcOEt	107,0
	SK 6 Brut filtré	<i>Olea welwitschii</i> , écorces	MeOH	94,5
	SK 72 Brut filtré	<i>Strombosia scheffleri</i> , feuilles	MeOH	93,0
	SK 19 Brut filtré	<i>Diospyros abyssinica</i> , écorces	AcOEt	91,5
	SK 37 Brut filtré	<i>Ficus exasperata</i> , feuilles	AcOEt	76,5
	SK 62 Brut filtré	<i>Albizia grandibracteata</i> , feuilles	MeOH	66,3
	SK 45 Brut filtré	<i>Mimusops bagshawei</i> , feuilles	AcOEt	63,0
	SK 38 Brut filtré	<i>Ficus exasperata</i> , feuilles	MeOH	61,0
	SK 49 Brut filtré	<i>Celtis durandii</i> , feuilles	AcOEt	60,5
	SK 54 Brut filtré	<i>Celtis africana</i> , feuilles	MeOH	58,0
	SK 27 Brut filtré	<i>Ficus natalensis</i> , écorces	AcOEt	54,0
	SK 51 Brut filtré	<i>Uvariopsis congensis</i> , feuilles	AcOEt	54,0
	SK 5 Brut filtré	<i>Olea welwitschii</i> , écorces	AcOEt	52,5
	SK 61 Brut filtré	<i>Albizia grandibracteata</i> , feuilles	AcOEt	51,3
	SK 17 Brut filtré	<i>Ficus dawei</i> , écorces	AcOEt	51,0
	SK 75 Brut filtré	<i>Pterygota mildbraedii</i> , feuilles	AcOEt	50,0
Partie non consommée	SK 10 Brut filtré	<i>Piper umbellatum</i> , fleurs	MeOH	109,5
	SK 9 Brut filtré	<i>Piper umbellatum</i> , fleurs	AcOEt	90,5
	SK 39 Brut filtré	<i>Piper umbellatum</i> , feuilles	AcOEt	82,0
	SK 31 Brut filtré	<i>Chrysophyllum albidum</i> , feuilles	AcOEt	73,0
	SK 68 Brut filtré	<i>Dombeya mukole</i> , feuilles	MeOH	69,3
	SK 47 Brut filtré	<i>Ficus dawei</i> , feuilles	AcOEt	67,5
	SK 35 Brut filtré	<i>Acanthus pubescens</i> , feuilles	AcOEt	67,0
	SK 40 Brut filtré	<i>Piper umbellatum</i> , feuilles	MeOH	56,0

➤ **Récepteur NPY1**

Seuls deux extraits, issus de parties de plantes non consommées par les chimpanzés, sont actifs.

Tableau LIII. Activités sur le récepteur NPY1 des extraits de plantes

	Référence de l'extrait	Espèce, partie de plante	Solvant d'extraction	% d'inhibition sur NPY1(10 µg/ml)
Partie non consommée	SK 11A Brut filtré	<i>Uvariopsis congensis</i> , écorces	AcOEt	57,0
	SK 36 Brut filtré	<i>Acanthus pubescens</i> , feuilles	MeOH	53,5

➤ *Bilan des activités des extraits bruts sur les cibles intervenant dans la régulation de l'appétit*

▲ **Propriétés antagonistes des extraits bruts**

Tableau LIV. Proportions d'extraits bruts à activité antagoniste sur les récepteurs impliqués dans la régulation de l'appétit parmi les parties de plantes consommées ou non par les chimpanzés

	<i>Parmi les parties consommées (n = 46)</i>		<i>Parmi les parties non consommées (n = 38)</i>		p
	nombre d'extraits actifs	%d'extraits actifs	nombre d'extraits actifs	% d'extraits actifs	
H3	0	0,00%	3	7,89%	NS
PPAR	13	28,26%	15	39,47%	NS
MCH	16	34,78%	8	21,05%	NS
NPY1	0	0,00%	2	5,26%	NS
moyenne	7,25	15,76%	7	18,42%	NS

▲ **Propriétés agonistes des extraits bruts**

Seuls les extraits d'écorces de deux espèces (*D. abyssinica* et *M. bagshawei*) présentent une activité agoniste des récepteurs H3.

3.2.2 Activités simultanées des extraits bruts et des fractions

Les essais sur récepteurs basés uniquement sur la recherche d'activité des extraits bruts révèlent souvent l'existence de nombreux faux positifs. Grâce au fractionnement automatisé, les extraits bruts et les fractions, obtenues à partir de ces extraits, ont été soumis aux différents essais.

SK 11 présente des fractions (fr. 5, 6, 7) possédant une *activité inhibitrice* faible sur H3.

Les fractions 5, 6 et 8 de SK 19 (*Diospyros abyssinica*, écorce) favorisent la liaison de H3 et de son ligand.

Deux extraits bruts (de parties non consommées) et leurs fractions sont actifs sur NPY1 :

SK 11A (*Uvariopsis congensis*, écorce) + fr. 8 (non consommé)

SK 36 (*Acanthus pubescens*, feuilles) + fr. 13 (non consommé)

7 extraits actifs sur MCHI (dont 5 sont de parties consommées) conduisent à des fractions qui inhibent aussi cette cible.

SK17 (*Ficus dawei*, écorce) + fr. 7 et 8 (consommé)

SK 19 (*Diospyros abyssinica*, écorce) + fr. 5 et 12 (consommé)

SK 33 (*Ficus asperifolia*, feuilles) + fr. 7 et 8 (consommé)

SK 45 (*Mimusops bagshawei*, feuilles) + fr. 8 (consommé)
 SK54 (*Celtis africana*, feuilles) + fr. 12 (consommé)
 SK 31 (*Chrysophyllum albidum*, feuilles) + fr. 1 et 12 (non consommé)
 SK 40 (*Piper umbellatum*, feuilles) + fr. 13 (non consommé)

5 extraits (dont 3 sont issus de parties consommées) et leurs fractions, ont une activité sur PPAR γ 2.

SK 23 (*F. exasperata*, écorce) + fr. 6 (consommé)
 SK 59 (*Pterygota mildbraedi*, écorce) + fr. 4 et 7 (consommé)
 SK 73 (*Trichilia rubescens*, feuilles) + fr. 5, 6 et 8 (consommé)
 SK 25 (*Celtis durandii*, écorce) + fr. 6 (non consommé)
 SK 39 (*Piper umbellatum*, feuilles) + fr. 6 et 7 (non consommé)

Les différences, pour chaque cible, entre la proportion d'extraits actifs provenant de parties de plantes consommées ou non par les chimpanzés, ne sont pas significatives.

3.2.3 Bilan des activités sur les récepteurs impliqués dans la régulation de la prise alimentaire

Les résultats des récoltes effectuées à Kibale sont comparables à ceux observés pour les récoltes de Nouvelle-Calédonie et de Malaisie entreprises dans le cadre de l'ICSN (M. Litaudon, comm. pers.) pour l'ensemble des cibles sauf pour MCH1 où le nombre d'extraits bruts actifs provenant d'Ouganda est significativement plus élevé que ceux provenant de Malaisie. Cinq extraits de parties de plantes consommées par les chimpanzés possèdent des fractions actives sur MCH1.

Les activités sont équivalentes pour les extraits issus de parties de plantes consommées ou non, sauf pour la cible H3, où les résultats tendraient à montrer que les parties de plantes possédant des activités inhibitrices sur H3 seraient contre-sélectionnées.

Tableau LV. Comparaison des activités des extraits bruts collectés en Malaisie, en Nouvelle-Calédonie (Litaudon, comm.pers.) et en Ouganda sur les cibles impliquées dans la régulation de la prise alimentaire

*différence significative, p = 0,05

différence significative entre la proportion d'extraits de Malaisie actifs et celle des extraits consommés, non consommés et tout extrait confondu d'Ouganda (p \leq 0,002)

provenance	Nouvelle-Calédonie	Malaisie	Cette étude : Ouganda		
	(Litaudon, comm. pers.)	(Litaudon, comm. pers.)	parties consommées	parties non consommées	toutes parties confondues
taille de l'échantillon	n = 492	n = 603	n = 46	n = 38	n = 84
inhibition > 75%PPAR γ	9%	13%	6,5%	10,5%	8,3%
inhibition > 75%MCH1		1%#	11%#	7%#	9,5%#
inhibition > 50% NPY1	5%		0%	5%	2,4%
inhibition > 75% H3	4%	3%	0%*	7,8%*	3,2%
activation > 200% H3		1%	2%	0%	1,2%

Tableau LVI. Bilan des activités biologiques (cf. également annexe 5)

Soulevez la page SVP

B- ÉTUDE PARTICULIERE DE QUELQUES PLANTES RECOLTEES

NB : Les spectres de RMN des produits isolés sont présentés en annexes

1- *Diospyros abyssinica* (Ebenaceae)- lot Ug. 7**1.1 Récolte et identification des échantillons**

Les écorces de tronc de *Diospyros abyssinica* ont été récoltées le 12 février 2001, dans le parc national de Kibale (localisation géographique P11), en Ouganda, constituant le lot Ug.7.



D. abyssinica est un grand arbre au tronc cylindrique assez fin et haut, avec une petite couronne. Il atteint 40 m. Son écorce est marron foncé à noire avec de nombreuses striures horizontales oranges lui donnant un aspect écailleux et fibreux. Les feuilles sont alternes avec un limbe de 12 x 3 cm, brillantes avec un aspect ciré sur la face supérieure. Elles sont glabres.

Les arbres se trouvent en forêt primaire et sont abondants.

L'écorce de tronc a été prélevée, fragmentée puis séchée à l'abri du soleil et de la pluie dans une pièce ventilée. L'écorce a ensuite été de nouveau séchée à son arrivée en France dans une étuve ventilée. 1,5 kg de matériel sec a été récolté.

L'écorce pulvérisée a été épuisée par l'acétate d'éthyle, puis l'extrait évaporé à siccité.

1.2 Bilan des activités biologiques de l'extrait brut**1.2.1 Essais anti-microbiens et cytotoxicité sur cultures cellulaires**

L'extrait AcOEt d'écorce de *D. abyssinica* possède une gamme d'activités très large. Pour rappel, les résultats des activités de l'extrait méthanolique sont aussi présentés dans le tableau LVII.

Tableau LVII. Activités antimicrobiennes et cytotoxiques des extraits à l'acétate d'éthyle et méthanolique d'écorce de *Diospyros abyssinica*

DI : diamètre d'inhibition, BC : bactéricidie, NA : non actif

μg/ml				Cytotoxicité sur cellules KB (%)		<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Candida tropicalis</i>	CI ₅₀ VIH-1 μg/ml	
	CI ₅₀ <i>Plasmodium falciparum</i>	CI ₅₀ <i>Leishmania donovani</i>	LD ₅₀ <i>R. pseudoelongata</i>	10 μg/ml	1 μg/ml	DI (mm)	BC	CMI	DI(mm)	VIH-1 BAL/PBM C	VIH-1 IIIB/PBM C
AcOEt	5,58	1,5	25<<50	93	89	12	oui	12	8	8,5	1,3
MeoH	68,1	>10	>100	87	23	11	oui	1085	7	NA	NA
Produit de référence	Chloroquine: 0,1 μM	Pentamidine: 7 μM	Ivermectine : 0,38 μg/ml	Adriblastine : 0,1 μM		DI Streptomycine 10ui : 14-22 mm				AZT : 2,1 10 ⁻⁵ μM	AZT : 1,4 10 ⁻⁶ μM

1.2.2 Essais sur récepteurs impliqués dans la régulation de la prise alimentaire

Des activités ont été détectées pour l'extrait brut et certaines fractions sur les récepteurs H3 et PPAR γ .

Tableau LVIII. Activités de l'extrait à l'acétate d'éthyle sur des récepteurs impliqués dans la régulation de la prise alimentaire

Récepteur	activité		fractions actives
H3	agoniste	332%	5,6,8
PPAR	antagoniste	87,5%	
MCH1	antagoniste	91,5%	5,12

1.3 Fractionnement de l'extrait brut

350 mg d'extrait brut à l'acétate d'éthyle (SK 19) ont été fractionnés sur colonne de chromatographie avec comme système d'élution un gradient Heptane/AcOEt puis AcOEt/MeOH.

Les tests biologiques sur *Leishmania donovani*, *Plasmodium falciparum*, *S. aureus* et cellules KB ont montré que deux fractions étaient actives (SK 19-C et D). L'étude analytique des fractions obtenues a permis de constater que chacune des fractions actives contenait un produit majoritaire.

Les essais réalisés par l'Institut de Recherche SERVIER, et en particulier, ceux portant sur le récepteur H3, ont conduit à purifier l'extrait par CLHP par comparaison avec le profil obtenu au PSN, afin de retrouver les fractions 5, 6 et 8 actives.

L'extrait brut, après filtration sur polyamide a donc été injecté sur une colonne préparative (colonne Thermohypersil) de phase inverse avec un gradient H₂O/CH₃CN.

Les fractions obtenues ont été contrôlées par CLHP analytique et trois produits SK 77-2, SK 77-4 (correspondant aux produits majoritaires de SK 19-C et D) et SK 77-6 ont été identifiés.

1.4 Détermination structurale

PRODUIT SK 77-2

5,1 mg de SK 77-2 ont été isolés par CLHP avec un rendement de 6,5% à partir de l'extrait brut acétate d'éthyle.

Le spectre infra-rouge révèle la présence de bandes d'absorption à 1670 et 1645 cm^{-1} , caractéristiques de groupements carbonyles. Les bandes d'absorption, en spectrométrie UV, à 430, 254 et 217 nm sont caractéristiques d'un composé très conjugué.

Le spectre de masse (ESI, mode négatif) montre un ion $[\text{M}-\text{H}]^-$ (m/z 373,1) correspondant à la formule brute $\text{C}_{22}\text{H}_{14}\text{O}_6$.

Le spectre RMN du proton, réalisé dans le chloroforme deutérié (CDCl_3), montre la présence de deux groupements hydroxyles, chélatés à δ 12,06 et δ 12,40 ppm et deux groupements méthyles portés par un cycle benzénique à δ 2,04 et δ 2,01 ppm. 6 signaux correspondant à des protons aromatiques sont visibles entre δ 6,71 et δ 7,68 ppm répartis en 7,58 (1H, s), 7,30 (1H, s), 6,95 (2H, s), 6,93, 6,73 (2H, ABq, 10Hz).

L'ensemble des données physico-chimiques et spectrales, comparé à celles de la littérature (Fallas & Thomson, 1968 ; Zhong *et al.*, 1984) permet d'identifier le produit SK 77-2 à l'isodiospyrine. Ce produit a d'ailleurs déjà été mis en évidence dans les écorces de *D. abyssinica* (Zhong *et al.*, 1984).

Fig. 66 L'isodiospyrine **95** isolée des écorces de *Diospyros abyssinica*

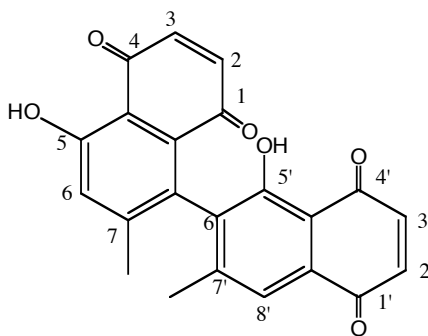


Tableau LIX. Déplacements chimiques en RMN du proton de l'isodiospyrine d'après Zhong *et al.* (1984) et du produit SK 77-2

Atome	δ ¹ H litt.	δ ¹ H observés
2 et 3	6,77, 6,89 (2H, ABq)	6,73, 6,93 (2H, ABq)
2' et 3'	6,90 (2H, s)	6,95 (2H, s)
5	12,45 (1H, s)	12,40 (1H, s)
5'	12,00 (1H, s)	12,06 (1H, s)
6	7,30 (1H, s)	7,30 (1H, s)
7	2,02 (3H, s)	2,04 (3H, s)
7'	2,00 (3H, s)	2,01 (3H, s)
8'	7,60 (1H, s)	7,58 (1H, s)

Pour expliquer le quartet AB, Fallas & Thomson (1968) suggèrent d'abord la formation d'une structure hémi-acétal, puis supposent finalement que le fait que les deux moitiés du composé peuvent se trouver à angle droit, la formation du quartet AB s'expliquant alors par la dissymétrie de la structure. Ceci n'explique pourtant pas pourquoi l'autre paire de protons ne présente pas le même type de signaux.

Ce produit a aussi été isolé de 24 autres espèces du genre *Diospyros* (Mallavadhani *et al.*, 1998).

PRODUIT SK 77-4

La CLHP préparative de l'extrait brut à l'acétate d'éthyle a fourni 2 mg de SK 77-4, isolés avec un rendement de 2,5%.

Le spectre de masse (ESI, mode négatif) montre un ion $[M-H]^-$ (m/z 373,2), comme pour le produit précédent.

Le spectre infra-rouge révèle également la présence de bandes d'absorption à 1672 et 1644 cm^{-1} . En UV, on peut voir la présence des mêmes chromophores à 432, 253, et 218 nm.

Le spectre de RMN du proton réalisé dans le chloroforme deutéré (CDCl_3) montre un nombre similaire de protons, mais leurs déplacements sont légèrement modifiés : deux groupements OH chélatés à 12,15 et 11,90 ppm, deux groupements méthyles à 2,47 et 2,32 ppm et des protons aromatiques se présentant sous forme de singulets dont deux ont un déplacement chimique équivalent (H-2' et H-3').

Sur la base de la structure précédente, des données spectrales et de RMN et d'une étude bibliographique (Sidhu & Pardhasaradhi, 1967 ; Fallas & Thomson, 1968 ; Zhong *et al.*, 1984), ce produit a été identifié à la diospyrine.

Fig.67 La diospyrine **96** isolée des écorces de *Diospyros abyssinica*

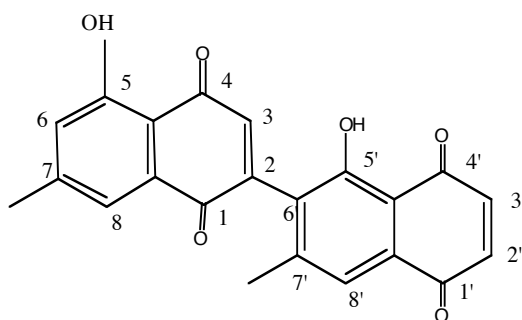


Tableau LX. Déplacements chimiques en RMN du proton de la diospyrine (d'après Zhong *et al.*, 1984) et du produit SK 77-4.

Atome	δ ¹ H litt.	δ ¹ H observés
2'et 3'	6,95 (2H, s)	6,98 (2H, s)
3	6,90 (1H, s)	6,92 (1H, s)
5	11,85 (1H, s)	11,90 (1H, s)
5'	12,15 (1H, s)	12,15 (1H, s)
6	7,12 (1H, s)	7,15 (1H, s)
7	2,45 (3H, s)	2,47 (3H, s)
7'	2,30 (3H, s)	2,32 (3H, s)
8	7,50 (1H, s)	7,53 (1H, s)
8'	7,55 (1H, s)	7,58 (1H, s)

La diospyrine a été isolée des écorces *D. abyssinica* (Zhong *et al.*, 1984) et de 12 autres espèces du même genre. Ces deux produits ont déjà été isolés ensemble des espèces *D. abyssinica*, *D. chloroxylon*, *D. kaki* et *D. montana*.

PRODUIT SK 77-6

Le produit SK 77-6 a été isolé avec un rendement de 18,5%.

En électrospray positif, un pic moléculaire correspondant à $[M+Na]^+$ est observé à m/z 479,5. On en déduit que la masse (m/z 456,5) correspond à un produit de formule brute $C_{30}H_{48}O_3$.

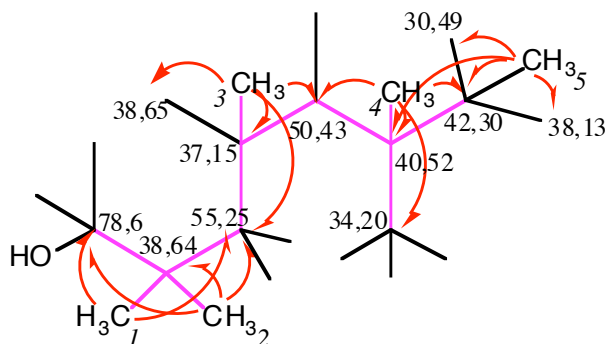
Les spectres de RMN du ¹H, du ¹³C, COSY, HMQC, HMBC ont permis l'élucidation de la structure de ce produit.

À cause de la mauvaise solubilité du produit dans les différents solvants, les spectres ont été réalisés dans un mélange $CDCl_3 + CD_3OD$. Le spectre COSY montre la présence de 6 méthyles. La détermination du squelette se fait en partie par les corrélations des protons des méthyles avec les carbones en α et en β de ceux-ci.

Sur le spectre HMBC, les corrélations suivantes sont observées :

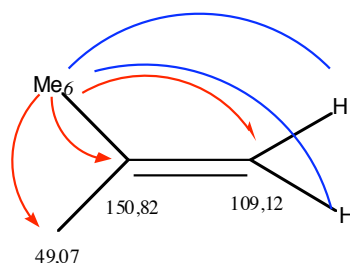
Méthyles	δ ¹ H (ppm)	δ ¹³ C corrélant en HMBC avec les Me (ppm)			
Me 1	0,75	78,6	38,64	55,25	26,76
Me 2	0,93	78,6	38,64	55,25	15,14
Me 3	0,82	38,65	37,15	55,25	50,43
Me 4	0,96	34,20	42,30	40,52	50,43
Me 5	0,97	38,13	42,30	40,52	30,49

Les corrélations communes de ces différents méthyles conduisent à l'enchaînement suivant :

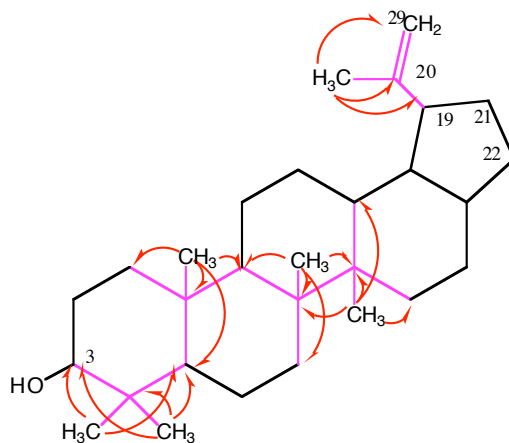


Le spectre HMQC montre que le carbone présentant un déplacement chimique de δ 109,12 corrèle avec des signaux des protons dont les déplacements chimiques laissent supposer qu'ils sont portés par un carbone sp^2 . Le déplacement chimique à δ 150,82 correspond à l'autre carbone. Le spectre HMBC confirme les corrélations entre les protons d'un sixième méthyle à δ 1,69 et les carbones à δ 150,82, δ 109,12 et δ 49,07.

Le motif suivant est déduit :



Cette structure, les informations précédentes et l'origine du produit - des triterpènes de type lupane, déjà isolés de *Diospyros abyssinica* (Zhong *et al.*, 1984) - suggèrent un squelette de type lupane :



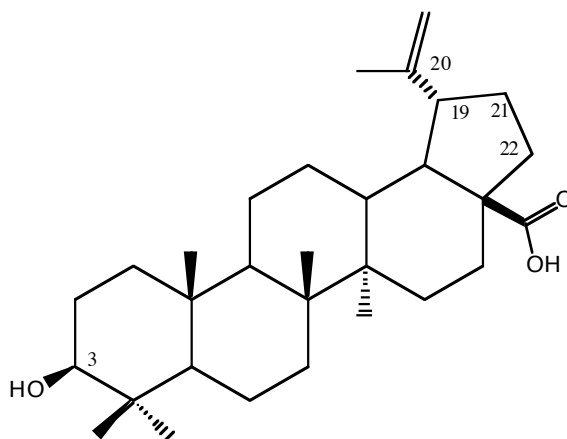
La masse moléculaire M est compatible avec celle de l'acide bétulinique, dont les déplacements chimiques rapportés dans la bibliographie peuvent être comparés avec ceux que nous avons observés. Vingt d'entre eux ont été attribués rigoureusement grâce aux spectres HMQC et HMBC.

Tableau LXI. Déplacements chimiques observés en ¹³C RMN pour le produit SK 77-6 et pour l'acide bétulinique (Mahato & Kundu, 1994).

Atome	$\delta^{13}\text{C}$ observés	$\delta^{13}\text{C}$ litt.
1	38,65	38,7
2	27,65	27,4
3	78,60	78,9
4	38,64	38,8
5	55,25	55,3
6	18,14	18,3
7	34,20	34,3
8	40,52	40,7
9	50,43	50,5
10	37,15	37,2
11	20,78	20,8
12	25,43	25,5
13	38,13	38,4
14	42,30	42,4
15	30,49	30,5
16	32,33	32,1
17	56,31	56,3
18	46,91	46,8
19	49,07	49,2
20	150,82	150,3
21	29,54	29,7
22	36,99	37
23	26,76	27,9
24	15,14	15,3
25	15,88	16
26	15,78	16,1
27	14,42	14,7
28	?	180,5
29	109,12	109,6
	19,02	19,4

L'ensemble de ces données est favorable à l'identification de SK 77-6 à l'acide bétulinique.

Fig. 68 L'acide bétulinique **97**, composé isolé des écorces de *Diospyros abyssinica*.



1.5 Activités biologiques des produits isolés

1.5.1 Activités antimicrobiennes et cytotoxiques sur cultures cellulaires

Les deux binaphthoquinones possèdent des activités significatives sur *L. donovani* et *P. falciparum* ainsi qu'une cytotoxicité importante. Ils ont aussi été testés pour leur activité anticholinestérasique, recherchée pour améliorer les processus de mémorisation dans la maladie d'Alzheimer, notamment. L'isodiospyrine possède une activité notable d'inhibition de cette enzyme.

Tableau LXII. Bilan des activités biologiques des produits isolés de *D. abyssinica* par fractionnement bioguidé

Activité en $\mu\text{g/ml}$	CI ₅₀ <i>Plasmodium falciparum</i>	CI ₅₀ <i>Leishmania donovani</i>	LD ₅₀ <i>Rhabditis pseudoelongata</i>	Cytotoxicité à 1 $\mu\text{g/ml}$ (%)	Cytotoxicité à 0,1 $\mu\text{g/ml}$ (%)	<i>S.aureus</i> Diamètre d'inhibition (mm)	<i>S.aureus</i> Bactéricide	CI ₅₀ anti-Acétylcholinestérase
Diospyrine	0,8	0,25	25<<50	100	50	10	oui	NS
Isodiospyrine	0,5	0,18	25<<50	100	73	12	oui	5

Les activités d'inhibition des protozoaires parasites par la diospyrine et ses dérivés ont déjà été étudiées (Pal, 1994 ; Yardley *et al.* 1996). Le mécanisme d'action semble impliquer l'inhibition de la topoisomérase I (Kuke *et al.*, 1998). Des dérivés ont été synthétisés, afin de réduire la toxicité initiale de la diospyrine et d'améliorer l'activité du produit naturel (Yardley *et al.*, 1996 ; Pal *et al.*, 1996). Néanmoins, des travaux menés *in vivo* montrent que la diospyrine et ses dérivés ont des activités inhibitrices significatives sur deux types de tumeurs murines (Sarcome 180 et EAC –Ehrlich Ascites Carcinoma-) et n'ont pas d'effets notables sur les fonctions physiologiques affectant le pronostic vital de souris, ce qui suggère que la diospyrine pourrait être utilisée comme agent thérapeutique (Pal *et al.*, 1996). Une inhibition de l'agrégation plaquettaire a aussi été observée pour l'isodiospyrine et la diospyrine (CI₅₀ de 2,1 et 4,5 $\mu\text{g/ml}$ respectivement), ce qui leur confère des propriétés anti-inflammatoires (Norhamon *et al.*, 1997).

1.5.2 Activité sur les cibles impliquées dans la régulation de la prise alimentaire

L'effet d'activation des produits isolés sur les récepteurs H3 a été observé seulement aux plus fortes concentrations testées, sans relation effet-dose. L'effet d'activation se produit, semble-t-il, non pas au niveau du récepteur mais de la fixation du ligand sur le récepteur, ce qui est étonnant (O. Nosjean, comm. pers.) et relèverait d'un effet allostérique. Puisqu'aucun effet-dose n'a été détecté et que la reproductibilité n'est pas bonne, l'activité pharmacologique n'est pas prouvée. De plus, la recherche se porte plutôt sur des inhibiteurs du récepteur.

2- *Uvariopsis congensis* (Annonaceae)- lot Ug. 12

2.1 Récolte et identification des échantillons

Les écorces de tronc d'*Uvariopsis congensis* ont été récoltées le 12 février 2001, dans le Parc National de Kibale, au croisement G6 et Butandzi Rd.



Cet arbre fin mesurant de 12 à 15 m possède une écorce grise, lisse avec des lenticelles. Elle est fine ; la face interne, jaune beige, s'oxyde. Les feuilles (15 x 4 cm) alternes sont oblongues et brillantes sur la face supérieure et la marge du limbe est ondulée. Les fleurs sont petites (0,4 cm). Les arbres sont abondants en forêt primaire au nord de Karambi Rd.

L'écorce de tronc (poids sec : 1,2 kg) et les feuilles de cette espèce, séchées et broyées, ont ensuite été soumises à un travail chimique.

2.2 Bilan des activités biologiques

Des activités significatives sur différentes cibles ont été observées (Tableau LXIII).

Tableau LXIII. Activités biologiques des extraits de feuilles et d'écorces d'*Uvariopsis congensis*

Cibles	Feuilles AcOEt	Feuilles MeOH	Écorce AcOEt	Écorce MeOH
<i>P.falciparum</i> (CI ₅₀ µg/ml)	14,7	15		
Cytotoxicité à 10 µg/ml (%)		53	90	65
Cytotoxicité à 1 µg/ml (%)		49	39	49
VIH Bal/PBMC (CI ₅₀ µg/ml)			0,26	0,67
VIH IIIB/PBMC (CI ₅₀ µg/ml)	1,1	9,5 10 ⁻²	9,2 10 ⁻⁴	1,3 10 ⁻³
H3 (% d'inhibition)			97,3	85
MCH1(% d'inhibition)	54%			
NPY1(% d'inhibition)			57% (+fr,8)	

2.3 Fractionnement des extraits bruts

➤ *Extrait brut d'écorce*

L'extrait brut à l'acétate d'éthyle (21 g) a été fractionné sur colonne de chromatographie (heptane/acétone/méthanol) ; deux fractions ont ensuite été étudiées (SK 147-J et K).

La fraction la plus active sur cellules KB (SK 147-J) a été soumise à une chromatographie sur silice de phase normale avec un gradient CH₂Cl₂/isopropanol. Une CLHP sur silice en phase inverse a ensuite été réalisée sur la fraction présentant le profil

CLHP le plus simple et l'activité la plus intéressante. 30,6 mg du produit SK 157-4 ont été obtenus.

Deux CLHP successives sur 16 mg de la fraction SK 157-6 ont permis d'isoler les produits SK 161-A et SK 161-B.

La fraction SK 147-K, purifiée par CLHP, a permis l'isolement des produits SK 165-A1 à SK 165-A4.

➤ *Extrait brut de feuilles*

150 mg d'extrait brut à l'acétate d'éthyle de feuilles ont été fractionnés par CLHP et ont conduit à l'isolement de 4 mg du produit majoritaire SK 163-2.

2.4 Détermination structurale

PRODUIT SK 157-4

L'ensemble des données de spectrométrie de masse concorde avec un poids moléculaire m/z 596. Les pertes de molécules d'eau observées, à la fois, en CL-SM et SMIE (4 x 18 unités de masse correspondant à molécules perdues) laissent supposer que la molécule possède au moins 4 groupements hydroxyles et correspond à la formule $C_{35}H_{65}O_7$. Les données de spectrométrie de masse associées aux expériences de RMN ($CDCl_3$, 300 Mhz) ont permis de déterminer le squelette de la molécule.

La présence d'une γ -méthyl γ -lactone insaturée, suggérée par la réaction de Kedde positive, a été mise en évidence par les spectres de RMN du proton et du carbone.

Sur le spectre de RMN du proton, l'existence de deux doublets de doublets à δ 2,40 et δ 2,50, qui peuvent être attribués aux deux protons H-3, est caractéristique d'un groupement hydroxyle en position 4. Un multiplet à δ 3,77 traduit la présence du proton géminé de OH, H-4 et la présence d'un signal à δ 7,17 correspond à H-33. Ces données ajoutées à la présence de signaux sur le spectre de RMN du carbone à δ 69,82, δ 131,1 et δ 174,68 confirment la nature de la lactone.

Les signaux de deux atomes de carbones portant des hydroxyles apparaissent à δ 73,99 et 74,10.

Deux autres signaux (δ 82,71 et δ 82,62) correspondent à des carbones liés à l'oxygène d'un cycle tétrahydrofurane. Le signal à δ 3,77 correspond aux protons liés au pont oxygène. L'intégration des multiplets permet de confirmer la présence d'un THF.

La présence concomitante d'une γ -lactone insaturée possédant un hydroxyle en C-4 et d'un noyau THF entouré de deux groupements hydroxyles permet d'identifier la molécule comme étant une acétogénine de type A (mono-THF) et de sous-type 1b (γ -méthyl γ -lactone avec un OH en C-4).

L'existence d'une lactone de sous-type 1 est confirmée en electrospray par la perte d'un fragment m/z 112 en mode positif et par la perte de m/z 44 en mode négatif, correspondant respectivement à la perte de la lactone et de CO₂ (Cavé *et al.*, 1994).

Par ailleurs, le spectre COSY montre des corrélations entre les protons H-33, H-3 et H-34 et entre H-34 et H-35 et l'HMBC entre H-33 et C-34, C-2 et C-1 (carbonyle).

Le spectre COSY révèle la présence de corrélation dans le noyau THF entre H-16, H-19 et H-17, H-18.

Les fragmentations observées en impact électronique permettent de déterminer la position du groupement THF, ainsi que celle du groupement hydroxyle sur la chaîne carbonée. Ainsi, les fragments ont permis de déterminer la présence d'un OH sur le C-10 et la position du système THF a été déterminée en fonction des coupures au niveau des liaisons C-15/C-16 (m/z 397, 379, 361, 343) et C-19/C-20 (m/z 309, 291, 273).

La comparaison avec la littérature (Rieser *et al.*, 1996) des données obtenues en IE et RMN permet d'identifier le produit SK 157-4 à l'annonacine (cf. partie expérimentale).

Fig. 69 Fragmentations en SMIE de SK 157-4

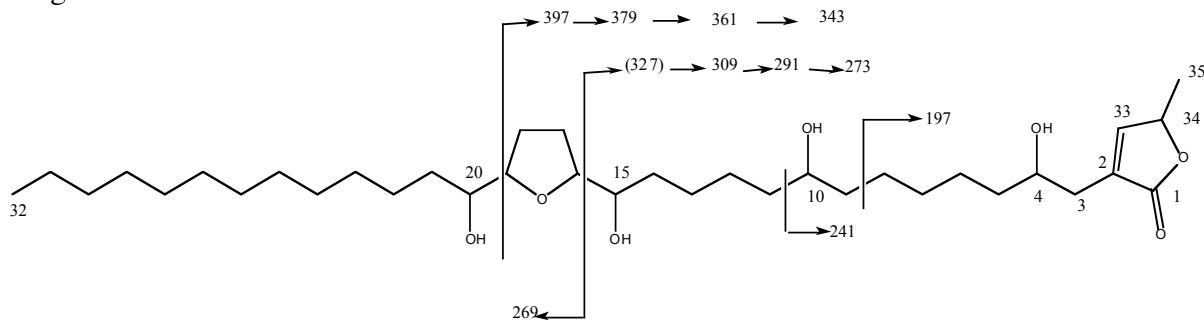
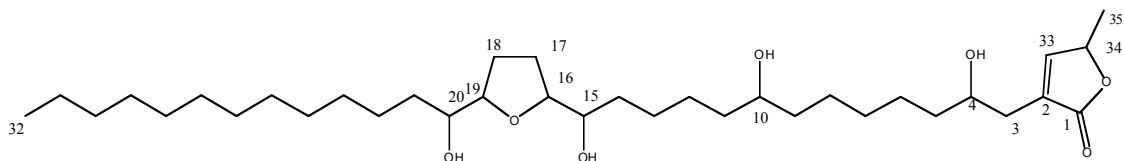


Tableau LXIV. Déplacements chimiques en RMN du ¹H et du ¹³C du produit SK 157-4 identifié à l'annonacine

Atome	δ ¹ H	δ ¹³ C
1	-	174,68
2	-	131,11
3a, 3b	2,40, 2,50 (1H, dd, dd)	33,38
4	3,77 (1H) (m)	69,82
5-8	1,10-1,60 (m)	25,5-37,3
9	1,10-1,60 (m)	37,24
10	3,55 (m)	71,63
11	1,10-1,60 (m)	
12-14	1,10-1,60 (m)	
15	3,38 (1H, m)	73,99
16	3,77 (1H, m)	82,62
17	1,76(1H, m)	28,10
	1,94 (1H, m)	
18	1,76 (1H, m)	28,79
	1,94 (1H, m)	
19	3,77 (1H, m)	82,71
20	3,38 (1H, m)	74,10
21-31	1,10-1,60 (m)	22-37,5
32	0,75 (3H, t)	14,10
33	7 ,17 (1H, d)	151,90
34	5,03 (1H, dq)	78,01
35	1,45 (3H, d)	19,07

Fig. 70 L'annonacine **98**, isolée des feuilles et des écorces d'*Uvariopsis congensis*

La similitude entre les signaux des carbones formant le pont oxygène (δ 82,62 et δ 82,71), ainsi que celle entre les carbones adjacents au THF portant les hydroxyles (δ 73,99 et δ 74,10) par comparaison avec le modèle de Fujimoto (1994), font suggérer que les configurations relatives des hydroxyles sont de type *thréo*. Par contre, pour déterminer la stéréochimie du noyau, les valeurs proposées par le modèle (δ 28,8 ou δ 28,1 simultanément pour C-17 et C-18) ne permettent pas de conclure car, dans le cas de la molécule isolée, un signal à δ 28,1 et un autre à δ 28,8 sont présents.

☛ L'ensemble des données spectrales permet d'identifier le produit SK 157-4 isolé de l'écorce d'*Uvariopsis congensis* comme étant l'annonacine, isolée pour la première fois des tiges d'*Annona densicoma* (McCloud et al., 1987) et mise en évidence dans de nombreuses espèces d'*Annonaceae* (Cavé et al., 1996), mais jamais dans le genre *Uvariopsis*.

PRODUIT SK 163-2

La masse moléculaire M du produit est à m/z 596. Les spectres de RMN du proton (CDCl_3 , 300 Mhz) et du carbone des produits SK 163-2 et SK 157-4 sont superposables. Les fragmentations en impact électronique sont aussi équivalentes.

L'ensemble des données se rapportant à ce produit isolé des feuilles d'*Uvariopsis congensis* est similaire à celles de SK 157-4 isolé de l'écorce de la même espèce. La comparaison entre SK 157-4 et SK 163-2 en CLHP le confirme.

☛ Nous concluons donc que le produit SK 163-2, isolé des feuilles d'*Uvariopsis congensis*, est aussi l'annonacine. Cette identité aurait pu être confirmée par comparaison des spectres infra-rouge (empreintes digitales), mais nous ne disposons pas de témoin.

PRODUIT SK 161-A

L'étude en SMIE du produit montre un pic moléculaire M à m/z 596 permettant de proposer la formule brute $\text{C}_{35}\text{H}_{64}\text{O}_7$. La perte de 4 molécules d'eau (m/z 578, 560, 542, 524) permet de supposer la présence de 4 groupements hydroxyles.

Les spectres de masse et de RMN du proton et du carbone permettent de supposer que ce produit est une acétogénine. Les déplacements chimiques des protons et des carbones en RMN sont présentés en partie expérimentale.

En RMN du proton (CDCl_3 , 300 Mhz), des signaux à δ 1,42 (doublet), à δ 7,16 et à δ 5,03 (quadruplet dédoublé) montrent la présence d'une γ -méthyl γ -lactone insaturée de sous-type 1b.

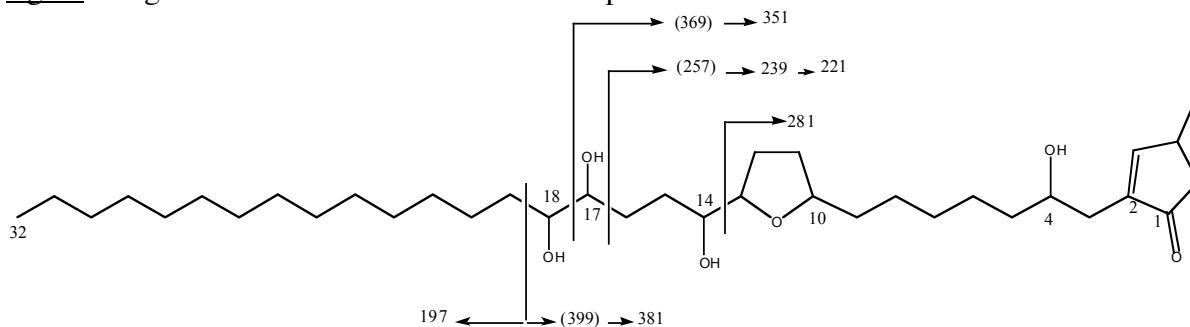
Le proton géminé avec le OH (H-4) résonne à δ 3,81 sous forme de multiplet et les deux protons H-3 produisent des doublets dédoublés à δ 2,39 et δ 2,50.

La RMN du ^{13}C met en évidence les signaux d'un carbonyle de γ -lactone à δ 174,57 et de 2 carbones sp^2 , l'un quaternaire (δ 131,07), l'autre tertiaire (δ 151,90). On peut attribuer au méthyle de la lactone le déplacement chimique δ 19,05 et au carbone qui la porte δ 77,96.

Deux massifs de signaux caractéristiques de fonctions oxygénées sont observés à δ 3,40 et δ 3,81, intégrant chacun pour trois protons. Sur le spectre COSY, le proton à δ 3,81 corrèle avec le proton à δ 1,98, ce qui permet d'attribuer ce déplacement chimique (en plus du H-4) aux protons du pont oxygéné du THF. Trois autres protons portés par un carbone hydroxylé résonnent à δ 3,40. Le spectre de RMN du ^{13}C montre deux signaux à δ 81,68 et δ 79,24 qui peuvent être attribués au carbone formant le pont oxygène du THF, l'un étant substitué en α par un hydroxyle (δ 81,68), l'autre non. Les trois autres carbones portant les OH produisent les signaux suivants : δ 74,56, δ 74,35, δ 74,20.

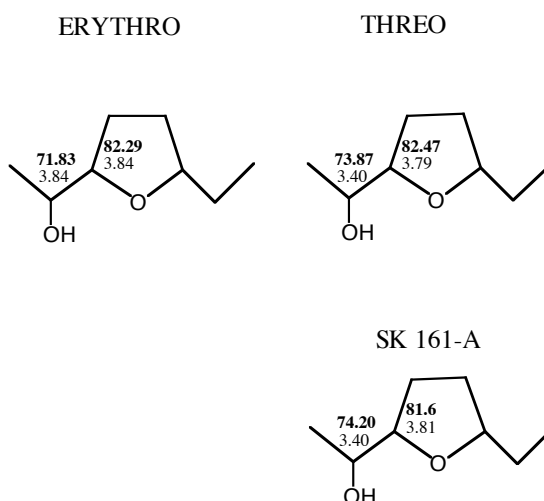
Le spectre de masse en impact électronique permet de confirmer la présence d'un seul THF mono-substitué en C-13 et d'une γ -lactone de sous-type 1b et de situer les deux hydroxyles sur la chaîne carbonée en position C-17 et C-18. La présence d'un diol est confirmée par la résonance des deux OH à δ 3,40.

Fig.71 Fragmentations observées en SMIE du produit SK 161-A

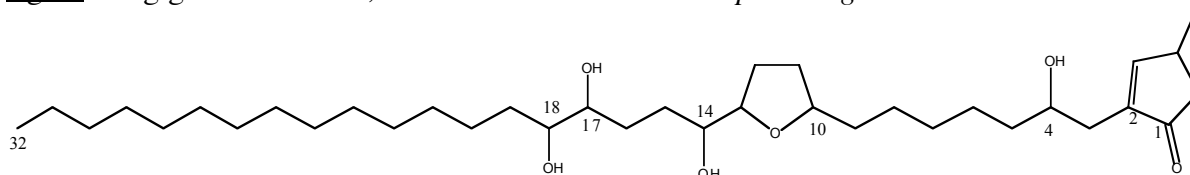


La stéréochimie de cette molécule peut être partiellement déterminée en comparant les déplacements chimiques en RMN du proton ou en RMN du carbone aux différents modèles publiés (Cavé *et al.* 1996).

La comparaison avec les modèles synthétisés par Born *et al.* (1990) montre que dans le cas de notre molécule la conformation est de type *thréo*. Les modèles proposés par Fujimoto (1994) précisent qu'elle est de configuration *thréo-trans*.



L'acétogénine correspondant au produit SK161-A a donc été identifiée à la gigantétrocine (Fang *et al.*, 1991).

Fig. 72 La gigantétrocine **99**, isolée des écorces d'*Uvariopsis congensis*.

Cette acétogénine, en fonction de la configuration des OH en C-17 et C-18, est appelée gigantétrocine-A (ou densicomacine-2 ou howiicine-F) ou B. La gigantétrocine-A a déjà été isolée de différentes espèces d'*Annona* (*A. cherimolia*, *A. densicoma*, *A. muricata*, *A. senegalensis*), mais aussi des feuilles et des tiges d'*Asimina longifolia*, de l'écorce des tiges de *Goniothalamus giganteus*, des graines de *G. howii* et de l'écorce de *Xylopia aromatica* (Cavé *et al.*, 1996).

PRODUIT SK 161-B

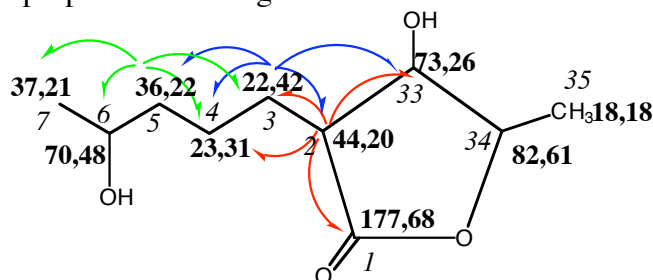
Les spectres de RMN du proton et du carbone et le spectre COSY de ce produit sont parfaitement superposables à ceux du produit SK 161-A. La seule différence observée est le temps de rétention en CLHP qui montre clairement la présence de deux pics. On peut donc supposer qu'il s'agit d'un stéréo-isomère du précédent. L'ensemble des deux produits SK 161-A et B correspond probablement aux deux gigantétrocines, A et B.

PRODUIT SK 165-A3

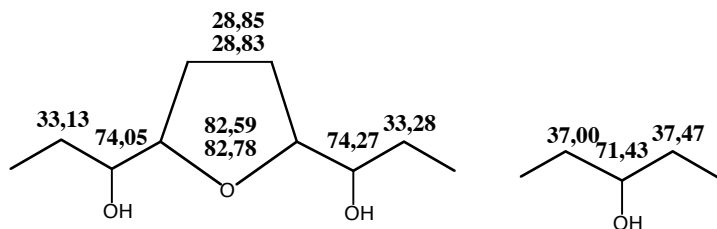
Le spectre de masse en CL-SM de ce produit montre un pic moléculaire en APCI (mode négatif) à m/z 595,4, correspondant à la formule brute $C_{35}H_{64}O_7$. Les fragmentations observées en IE sont non significatives.

Sur le spectre du proton de ce produit, on peut remarquer l'absence de signal à δ 7,16 et la présence de deux massifs à δ 4,20 et δ 4,54 (au lieu d'un pour les produits précédents) et une modification de l'allure du spectre entre δ 1,5 et δ 2,6. Le spectre du ^{13}C montre un signal à δ 177,68, correspondant au carbonyle, mais pas de signal traduisant l'insaturation. Cette valeur correspond au déplacement chimique observé pour le C-1 des lactones de type 3. On peut donc supposer que la lactone est saturée (de type 3). De plus, les massifs correspondant à la région des protons géminés avec des fonctions oxygénées intègrent pour 8 protons laissant supposer la présence d'un groupement hydroxyle sur la lactone. Le signal à δ 4,51 correspond au carbone portant le méthyle de la lactone (H-34) et celui à δ 4,17 correspond au proton porté par le carbone hydroxylé (H-33).

Les attributions des carbones et des protons de la lactone, ainsi que les corrélations observées en HMBC, sont proposées sur la figure suivante.



L'intégration pour huit protons suggère soit la présence de 4 groupements hydroxyles sur la chaîne aliphatique et d'un THF, soit la présence de 2 THF adjacents α -hydroxylés. Le spectre HMBC permet d'attribuer les déplacements chimiques aux motifs suivants :



Peu d'acétogénines de sous-type 3 sont connues. Deux d'entre elles sont de type B (deux THF adjacents) ce qui n'est pas le cas ici: l'itrabine (m/z 596) et la laherradurine (m/z 624), isolées toutes deux des graines d'*Annona cherimolia* (d'après Cortes *et al.*, 1991). L'otivarine (m/z 640) possède 2 THF et la jétéine (m/z 596) est de type mono-THF. L'identification plus précise du composé SK 161-A3 est en cours.

2.5 Activités biologiques des produits isolés

Des activités antipaludiques avaient été notées sur les extraits bruts. D'après Cavé *et al.* (1996), l'annonacine est même connue pour être l'acétogénine de type mono-THF la plus active sur les différents protozoaires parasites. Néanmoins, les essais conduits à plusieurs reprises avec les fractions sur *Plasmodium falciparum* ont montré une mauvaise reproductibilité qui a été parfois aussi observée, mais de façon moins marquée, lors des essais de cytotoxicité. Le mécanisme d'action supposé peut être responsable de ces variations. Le fractionnement a donc été guidé par les activités cytotoxiques.

Tableau LXV. Activités des produits isolés d'*Uvariopsis congensis* sur cellules KB et quelques activités rapportées dans la bibliographie.

Produits Activité	Cytotoxicité KB (CI ₅₀ en μ M) cette étude	Cytotoxicité carcinome du sein MCF-7 (IC ₅₀ en μ g/ml) (litt.)	Cytotoxicité carcinomes du poumon A-549 (IC ₅₀ en μ g/ml) (litt.)
SK 157-4 (Annonacine isolée des feuilles)	$1,8 \cdot 10^{-6}$	Annonacine (Cavé <i>et al.</i> , 1996) 4	
SK 163-2 (Annonacine isolée des écorces)	$2,4 \cdot 10^{-7}$		
SK 161-A (Gigantétrocine isolée des feuilles)	$2,2 \cdot 10^{-6}$	Gigantétrocine (Fang <i>et al.</i> , 1991) $6,49 \cdot 10^{-3}$	Gigantétrocine (Fang <i>et al.</i> , 1991) $3,48 \cdot 10^{-3}$
SK 161-B (Gigantétrocine isolée des feuilles)	$2,2 \cdot 10^{-6}$		
Référence Adriamycine	10^{-7}	$1,77 \cdot 10^{-3}$	$6,84 \cdot 10^{-3}$

3- *Trichilia rubescens* (Meliaceae)-Lots Ug.22 et Ug. 25

3.1 Récolte et identification des échantillons

3.1.1 Récolte des feuilles de jeunes arbres

– lot Ug. 22



Les feuilles de cette espèce ont été récoltées une première fois le 19 octobre 2001 dans la parcelle K14. Elles provenaient d'arbustes immatures et stériles, identifiés par les assistants ougandais comme appartenant à l'espèce *Trichilia dregeana*. Elles correspondaient aux items consommés par les chimpanzés alors que ceux-ci n'avaient jamais été observés consommant les feuilles d'arbres adultes.

3.1.2 Récolte des feuilles de l'arbre adulte– lot Ug. 25

Une seconde récolte a eu lieu en juillet 2002, motivée par une forte activité antipaludique des extraits de feuilles des jeunes arbres en quantité insuffisante pour l'élucidation structurale des produits actifs. Elle a été réalisée par l'assistant Moses Musana. La collecte requérant une quantité importante de feuilles (plus d'un kg), il n'était pas envisageable de couper de nombreux jeunes arbres, déjà peu abondants. Il a donc été décidé de choisir un arbre adulte.

Cet arbre haut de 40 m possède un tronc droit avec de grosses branches et une couronne ronde. L'écorce est fine et lisse avec des lenticelles proéminentes brunes. Les lambeaux d'écorce exsudent lentement des gouttes de latex blanc. Les feuilles sont imparipennées avec 5 à 13 folioles. Les fruits sont des capsules pubescentes. L'herbier confectionné lors de cette deuxième collecte étant fertile (fruits), il a permis d'identifier l'espèce comme étant *Trichilia rubescens* par comparaison au spécimen de l'herbier du Museum National d'Histoire Naturelle de Paris.

Un doute existait donc :

- soit les spécimens collectés la première fois appartenaient effectivement à l'espèce *T. dregeana* et la récolte suivante provenait d'une autre espèce,
- soit une erreur d'identification était commise par les assistants ougandais.

Les feuilles et les écorces ont été séchées sur le terrain puis placées, à leur arrivée à l'ICSN, dans une étuve ventilée, et broyées.

3.2 Bilan des activités biologiques

Les activités biologiques ont été recherchées sur le lot Ug. 22.

Tableau LXVI. Activités biologiques des extraits de feuilles de *Trichilia rubescens* (lot Ug. 22)

Cibles	Feuilles AcOEt	Feuilles MeOH	Produit de référence
<i>P. falciparum</i> (CI ₅₀ µg/ml)	< 3,12	< 3,12	Chloroquine : 0,1µM
<i>S. aureus</i> (Ø inhibition, bactéricidie)	12 ; Bactéricide	11 ; Bactéricide	Streptomycine 10 ui : 14-22
PPAR γ (% d'inhibition)	83% (+fr.5, 6, 8)		

3.3 Fractionnement de l'extrait brut

3.3.1 Fractionnement de l'extrait de feuilles des jeunes arbres – lot Ug. 22

L'extrait brut à l'acétate d'éthyle a été purifié par deux colonnes de chromatographie ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ puis Heptane/AcOEt), cette purification étant guidée par les activités des fractions sur *Plasmodium falciparum*. Un fractionnement par CLHP a ensuite été pratiqué. Une très forte activité antipaludique a été observée pour une fraction purifiée ($\text{CI}_{50} = 4 \text{ ng/ml}$), mais la quantité de cette fraction était insuffisante pour obtenir des produits purs.

3.3.2 Fractionnement de l'extrait des feuilles de l'arbre adulte – lot Ug. 25

Malgré une activité moins élevée de l'extrait brut de feuilles de l'arbre adulte ($\text{CI}_{50} = 12 \text{ } \mu\text{g/ml}$ vs $\text{CI}_{50} < 3,1 \text{ } \mu\text{g/ml}$), cet extrait a été soumis à un fractionnement lorsque la comparaison des profils CLHP analytiques et des UV des produits majoritaires ont confirmé que les deux collectes correspondaient très certainement à la même espèce, *Trichilia rubescens*.

51 g d'extrait méthanolique des feuilles de l'arbre adulte ont d'abord été soumis à un fractionnement sur colonne de silice (heptane/AcOEt) puis une deuxième colonne sur la fraction la plus active a permis l'obtention de 13 fractions, dont l'une correspond à un produit pur SK 167-10. Une autre (SK 167-7), a été purifiée par deux CLHP successives. Un produit pur a été obtenu, en quantité suffisante pour être identifié (SK 167-2-4).

3.4 Détermination structurale

PRODUIT SK 167-10

Les spectres de masse réalisés en ESI-SM (infusion, mode négatif et positif) et en impact électronique donnent un pic moléculaire M, correspondant à une m/z 452,2, compatible avec une formule brute $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_7$.

Un premier spectre de RMN du produit a été effectué dans CDCl_3 mais des dédoublements de raies étant observés, les expériences de RMN ont été conduites dans différents solvants (CD_2Cl_2 , CD_3OD , DMSO, benzène, acétone, pyridine) et dans différentes conditions (variation de température et de pH).

Les meilleurs résultats sont obtenus dans CD_2Cl_2 , bien que l'on observe encore des dédoublements des signaux.

L'étude conjointe des protons et des carbones de la molécule par RMN et de leurs corrélations (HSQC) a permis de mettre en évidence 19 signaux de protons, indexés de A à S et de déterminer quels carbones portaient les protons. L'examen du spectre de RMN du proton montre que chaque massif de A à O correspond à un proton. De P à S, les massifs intègrent pour trois protons. Le spectre HSQC a permis de mettre en évidence l'existence de trois couples de protons géminés : H_F et H_G , H_L et H_N , H_M et H_O .

Le spectre du ^{13}C a permis de déterminer les déplacements chimiques des carbones portant les protons repérés par les lettres.

Tableau LXVII. Déplacements chimiques des protons et des carbones du produit SK 167-10

Massif de protons	$\delta^{13}\text{C}$ des carbones correspondants	Déplacement chimique apparent du proton	Nombre de protons
A	150,82 150,86	7,07	1
B	146,70 146,84	6,79	1
C	96,90 97,17	6,17 ; 6,16	1
D	132,21 133,33	5,84	1
E	100,24 100,27	4,68	1
F	81,56 81,59	4,04	1
G	81,56 81,59	4,90	1
H	59,26	3,52	1
I	54,87	3,36	1
J	53,82	3,28	1
K	41,29	2,45 ; 2,42	1
L	35,30 35,32	2,11	1
M	30,52 30,60	2,10	1
N	35,30 35,32	1,99 ; 1,97	1
O	30,52 30,60	1,91 ; 1,89	1
P	19,10	1,42	3
Q	21,48 21,51	1,35	3
R	24,05	1,10	3
S	19,43	0,75	3

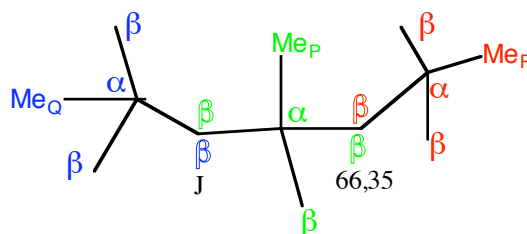
L'enchaînement de protons a pu être déterminé par le spectre COSY, les protons géminaux ont été mis en évidence grâce à l'HSQC.

Proton	Proton	$\delta^{13}\text{C}$ des carbones correspondants
A	D	$\text{CH}_A(150,82 ; 150,86)$ - $\text{CH}_D(132,21 ; 132,33)$
B	C K	$\text{CH}_B(146,70 ; 146,84)$ - $\text{CH}_C(96,90 ; 97,17)$ - $\text{CH}_K(41,29)$
C	K B	$\text{CH}_C(96,90 ; 97,17)$ - $\text{CH}_K(41,29)$ - $\text{CH}_B(146,70 ; 146,84)$
E	J	$\text{CH}_E(100,24 ; 100,27)$ - $\text{CH}_J(53,87)$
F	G	$\text{CH}_{2\text{FG}}(81,56 ; 81,59)$ (protons géminés)
H	L et N	$\text{CH}_H(59,26)$ - $\text{CH}_{2\text{LN}}(35,30 ; 35,32)$ (protons géminés)
I	M et O	$\text{CH}_I(54,87)$ - $\text{CH}_{2\text{MO}}(30,52 ; 30,60)$ (protons géminés)
K	M et O	$\text{CH}_K(41,29)$ - $\text{CH}_{2\text{MO}}(30,52 ; 30,60)$ (protons géminés)
L	N	$\text{CH}_{2\text{LN}}(35,30 ; 35,32)$ (protons géminés)
N	S	$\text{CH}_{2\text{LN}}(35,30 ; 35,32)$ (protons géminés) – $\text{CH}_S(19,43)$

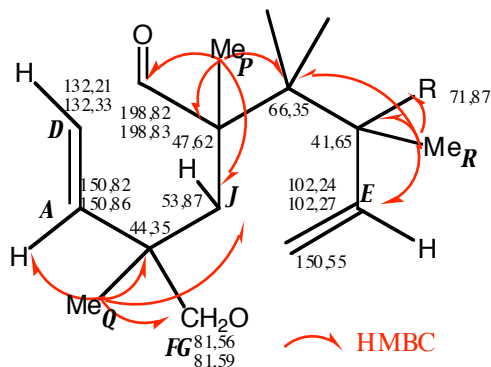
Les protons des méthyles P, Q et R corrént en HMBC avec les carbones en α et β suivants :

- Les protons du méthyle P corrént avec le carbone C_J (δ 53,87) et les carbones quaternaires (C_q) correspondant aux signaux à δ 198,84-198,82, δ 47,62 et δ 66,35.
- Les protons du méthyle Q corrént avec les carbones C_A (δ 150,86 ; 150,82), C_{FG} (81,59 ; 81,56), C_J (δ 53,87) et le C_q à δ 44,35.
- Les protons du méthyle R corrént avec le carbone C_E et les C_q à δ 41,65, δ 66,35 et δ 71,87

Par conséquent, les protons des méthyles P et Q corrént tous deux avec un même carbone, le carbone C_J ; les protons des méthyles P et R corrént tous deux avec un même carbone C_q à δ 66,35.



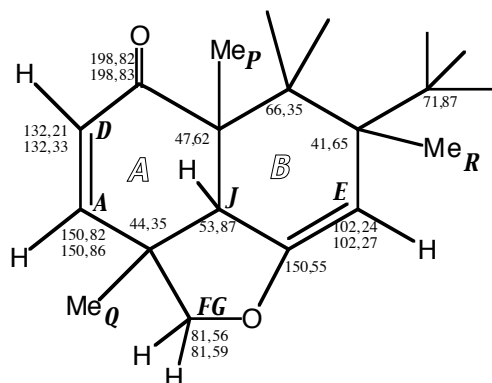
Par ailleurs, les déplacements chimiques des carbones C_A (δ 150,86 ; δ 150,82) et C_D (δ 132,21 ; δ 133,33) font supposer qu'ils sont de type sp². Le déplacement chimique de C_A est dû à sa position en β d'un carbonyle. Les corrélations entre H_A et H_D observées par COSY confirment qu'ils sont vicinaux.



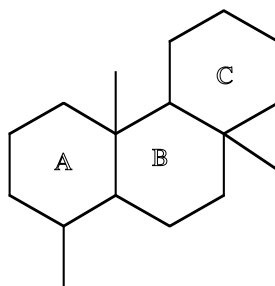
Les protons H_A , H_D et H_J corrént avec le Cq à δ 198,84, formant un cycle, noté A.

Les protons H_FH_G , H_I et H_E corrént avec le Cq à δ 150,55. Le spectre COSY montre une corrélation entre H_J et H_E . Le déplacement chimique du carbone C_{FG} (δ 81,59 ; 81,56) permet de penser que ce carbone porte aussi un oxygène.

Ces informations permettent de fermer deux autres cycles et de postuler la structure intermédiaire suivante :

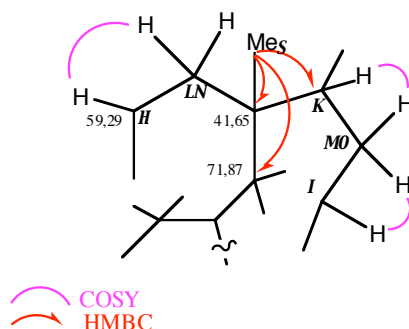


La présence des trois groupements méthyles et ce squelette carboné conduisent à suggérer que la molécule est de type terpénique.



Les protons du groupement méthyle S corrént avec les Cq à δ 71,87 et δ 41,65 et les carbones de C_{LN} (δ 35,30 ; 35,32) et C_K (δ 41,29).

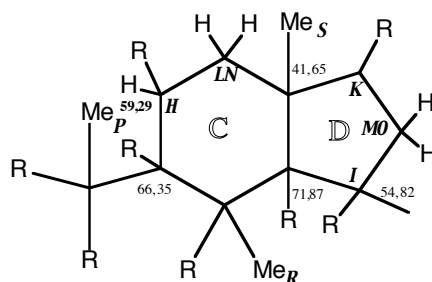
Le spectre COSY montre que les protons géminés H_IH_N corrént avec le proton H_H . D'autre part, le proton H_I présente des corrélations avec les protons géminés H_MH_O qui eux-mêmes corrént avec H_K .



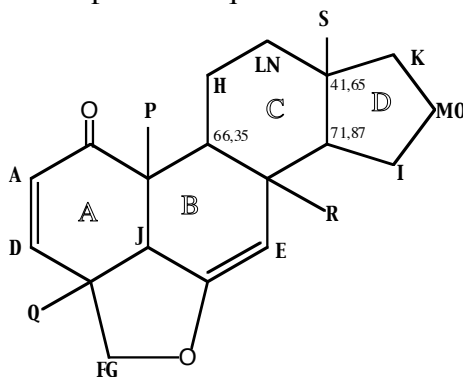
La corrélation en HMBC entre les protons H_M, H_O et le Cq à δ 71,87 permet de supposer que les carbones C_K, C_{MO}, C_I , et les carbones quaternaires à δ 71,87 et δ 41,65 forment un cycle D à 5 carbones.

En HMBC, les protons H_L, H_N et les protons des méthyles R et P corrént avec le Cq à δ 66,35. Les protons du méthyle R corrént aussi avec le Cq à δ 71,87. Ceci permet de fermer les cycles C et D.

Le motif suivant peut être construit :

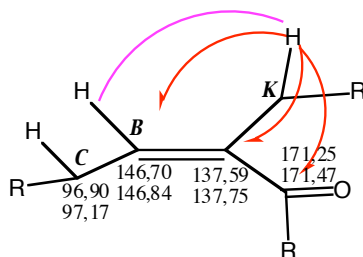


Les carbones communs aux cycles B et C (le Cq à δ 66,35 et les carbones portant les méthyles P et R) permettent de composer un squelette carboné à 5 cycles.



Les déplacements chimiques du Cq à δ 137,59 ; 137,75 et de C_B (δ 146,70 ; 146,84) montrent qu'il s'agit de carbones sp^2 .

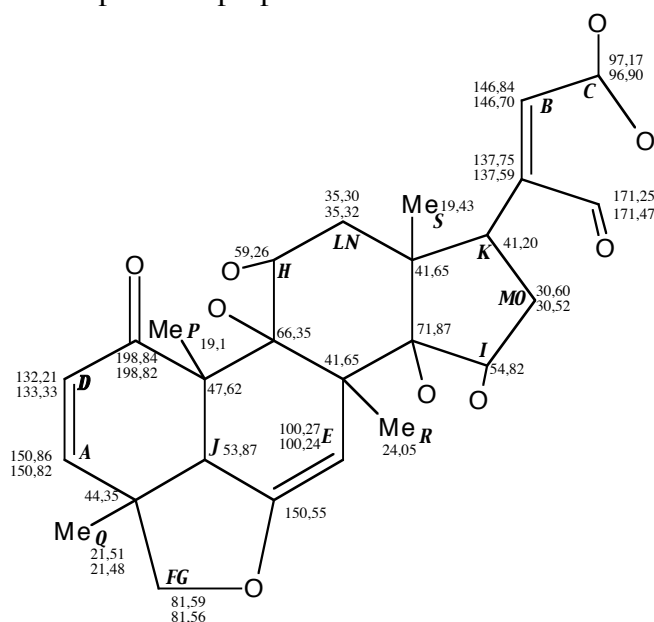
Sur le spectre HMBC, le proton H_K corréle avec le carbone C_B (δ 146,70 ; 146,84) et les Cq à δ 137,59 ; 137,75, et à δ 171,25 ; 171,47 ce dernier correspondant au déplacement chimique induit par une fonction carbonyle. Le spectre COSY montre que H_B corréle avec H_C .



Le déplacement chimique du carbone C_C (δ 96,90 ; 97,17) correspond à celui d'un carbone portant deux oxygènes.

Les déplacements chimiques des C_q à δ 66,35 et δ 71,87 et ceux de leur carbone en α , C_H (δ 59,26) et C_I (δ 54,82), suggèrent aussi qu'ils portent des oxygènes.

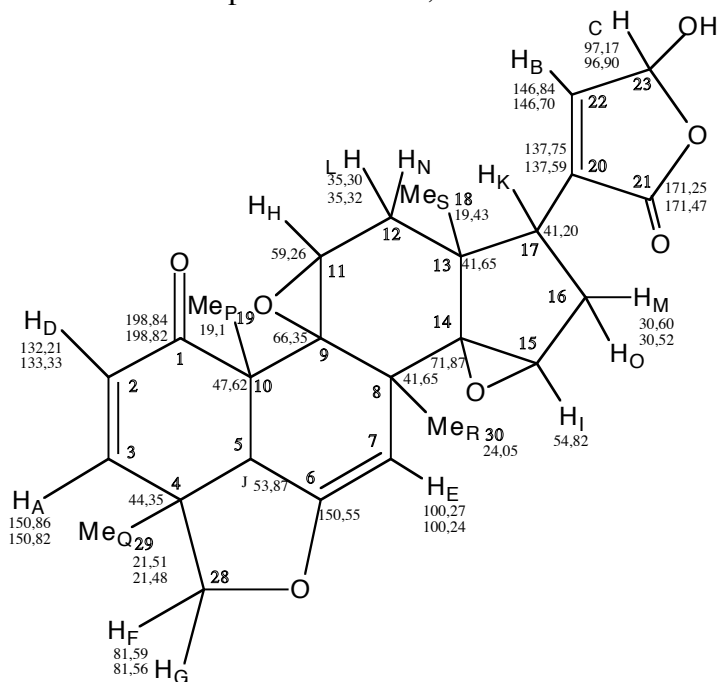
La structure suivante peut être proposée :



La masse du produit et sa formule brute $C_{26}H_{28}O_7$ montrent que cette structure comporte deux oxygènes de trop. Les valeurs des déplacements chimiques des carbones conduisent à l'hypothèse de la présence de deux groupements époxydes. Ceci est confirmé par les valeurs des couplages entre les protons H_H et H_I et de leurs carbones, lus sur le spectre HMBC :

$$\begin{aligned} \text{pour } CH_H, J_{CH} &= 177,2 \text{ Hz} \\ \text{pour } CH_I, J_{CH} &= 184,1 \text{ Hz} \end{aligned}$$

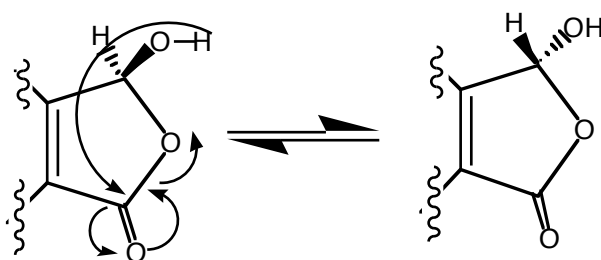
La liaison entre les différentes parties élucidées permet de proposer la formule plane suivante :

Fig. 73 Structure du composé SK167-10, isolé des feuilles de *Trichilia rubescens* (lot Ug. 25).

Ce produit n'a jamais été identifié auparavant.

Trois limonoïdes de structure assez proche ont, par contre, déjà été isolés de *Trichilia rubescens* (deCarvalho *et al.*, 2002). Néanmoins, un cycle furane insaturé est, dans les trois molécules, observé à la place de la lactone.

On peut suggérer que le dédoublement des pics observé en RMN est dû à une épimérisation du C-23 par translactonisation à température ambiante. Cette hypothèse est renforcée par le fait que les composés avec un furane ne donne pas lieu à des dédoublements.

Fig. 74 Hypothèse de mécanisme d'épimérisation pouvant expliquer le dédoublement des signaux en RMN.

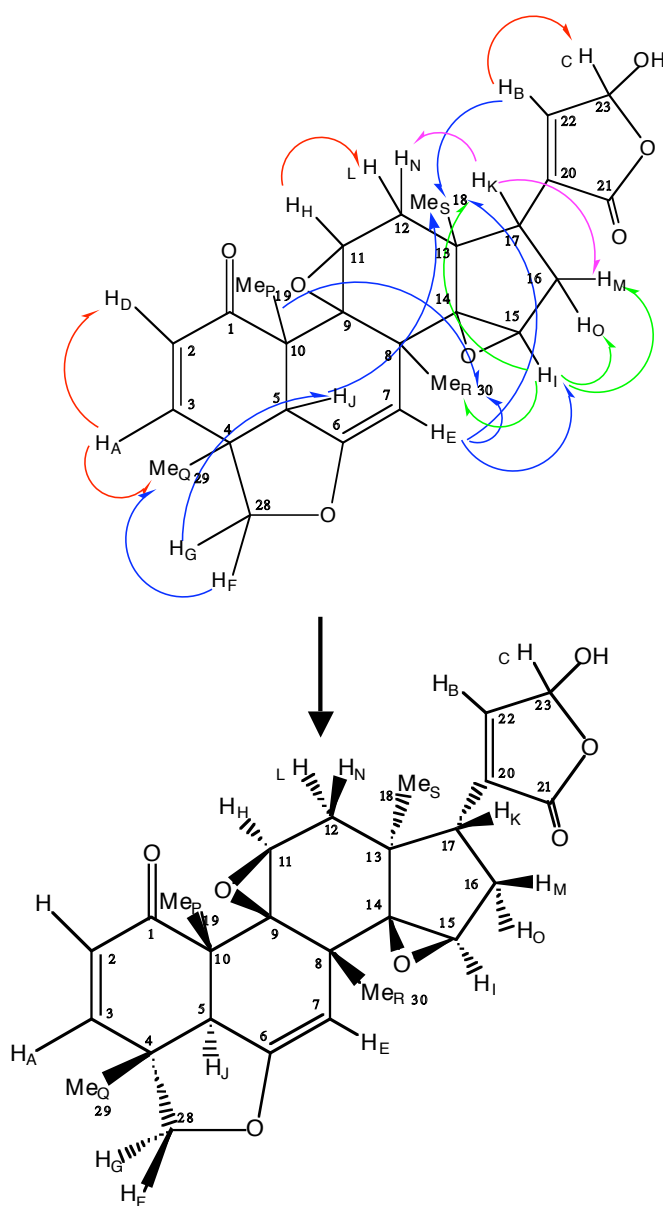
Les corrélations en NOE apportent des informations déterminantes pour la stéréochimie.

On choisit, par convention, de placer le méthyle 19 en position β . La corrélation entre les méthyles 19 et 30 permet de placer ce dernier en β . Le méthyle 19 et le proton 5 se trouvent en jonction de cycle, l'absence de NOE entre eux permet de supposer qu'ils sont en position *trans* et par conséquent, H-5 est placé en position α . La corrélation entre H-5 et CH₂-28 permet de placer C-28 en α et donc le méthyle 29 en β . La proximité des déplacements chimiques de H-19 et H-29 ne permet pas d'observer d'effet NOE entre eux. On déduit de la corrélation entre H-5 et le méthyle 18 que le méthyle 18 est en position α . Les corrélations

entre H-22 et le méthyle 18 d'une part, et entre H_N et H_K d'autre part, positionnent le cycle lactonique en α . H-15 corrèle à la fois avec le méthyle 18 (α) et le méthyle 30 (β) mais la corrélation entre H-15 et le méthyle 30 peut s'expliquer par leur proximité, alors que celle de H-15 et du méthyle 18 suggère qu'ils sont tous deux d'un même côté du plan (en α). Le deuxième époxyde se trouve aussi en β car les corrélations entre H-11 et le méthyle 18 conduisent à situer H-11 en α .

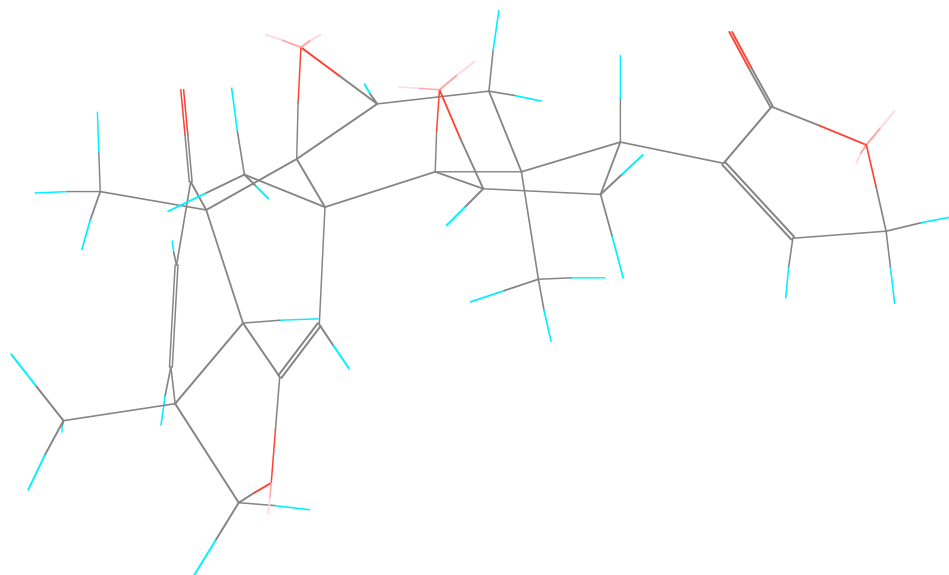
On peut ensuite positionner dans l'espace les protons géminés : H-17 se trouve en position β et corrèle avec H_N. Le second proton H_L est donc en α et corrèle avec H-11 qui se trouve par conséquent en α . Le proton H_G corrèle avec H-5 et peut donc être placé en position α . H_M corrèle avec H-17 et se trouve donc en position β .

Fig. 75 Corrélations observées sur le spectre NOESY et stéréochimie pour le composé SK 167-10



L'ensemble des données précédemment exposées permet de proposer pour le composé SK 167-10 le nom de Trichirubine A **100**, avec la configuration indiquée.

Fig. 76 Vue en trois dimensions de la trichirubine A **100**



PRODUIT SK 167-24

2 mg de produit pur ont été isolés à partir des 51 g d'extrait brut méthanolique de départ (rendement = $4 \cdot 10^{-3}\%$).

Les spectres de masse en électrospray négatif et en impact électronique sont compatibles avec une masse M, m/z 558,04, correspondant à une formule brute $C_{33}H_{34}O_8$.

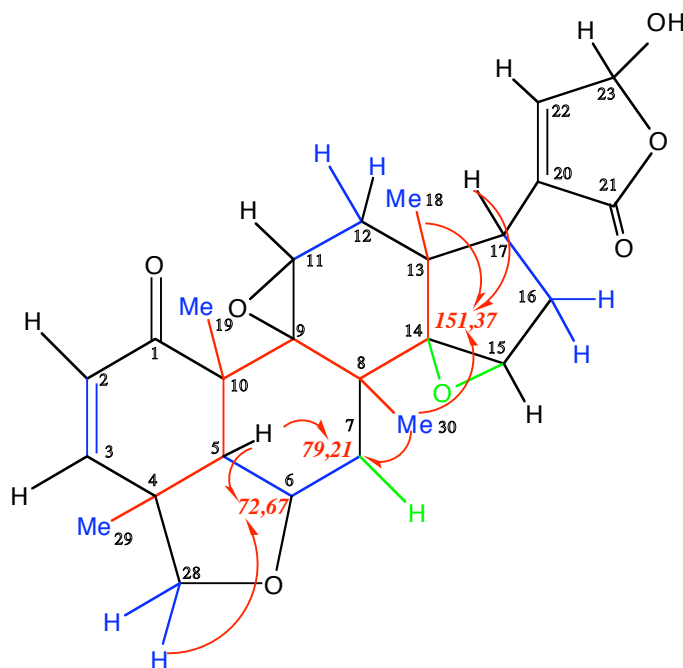
Du fait de la faible quantité de produit et de la complexité de la structure, plusieurs solvants et des variations de température et de pH ont été employés, afin d'optimiser la détermination de structure. Les spectres réalisés dans la pyridine ont permis de caractériser un squelette de type terpénique et le substituant en C-7 alors que ceux réalisés dans le CD_2Cl_2 avec TFA étaient favorables à la détermination de la lactone.

Les spectres obtenus pour ce produit sont semblables à ceux de la trichirubine A pour certains points :

Comme précédemment, le spectre 1H montre la présence de quatre groupements méthyles. Le spectre HSQC permet de déterminer la présence de trois couples de protons géminés. Le spectre COSY montre des corrélations entre des protons qui permettent de reconnaître certaines sous-structures de la molécule. Les corrélations entre les méthyles, lues sur le spectre HMBC, permettent de confirmer la présence du squelette de base de type terpène.

Néanmoins, des différences notables sont rencontrées : les méthyles 30, 18 et H-17 montrent des corrélations avec un carbone à δ 151,37, laissant supposer que C-14 ne porte plus un oxygène mais qu'il est de type sp^2 . Le méthyle 30 et H-5 corrélerent avec un carbone à

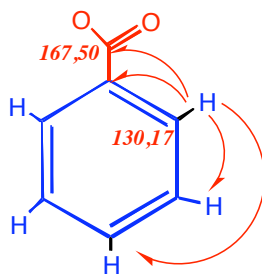
δ 79,21. H-5 et H-28 corèlent tous deux avec un carbone à δ 72,67. Ces déplacements chimiques suggèrent que C-7 porte un oxygène et que la double liaison a été réduite.



— Informations apportées par les spectres ^1H , COSY et HSQC

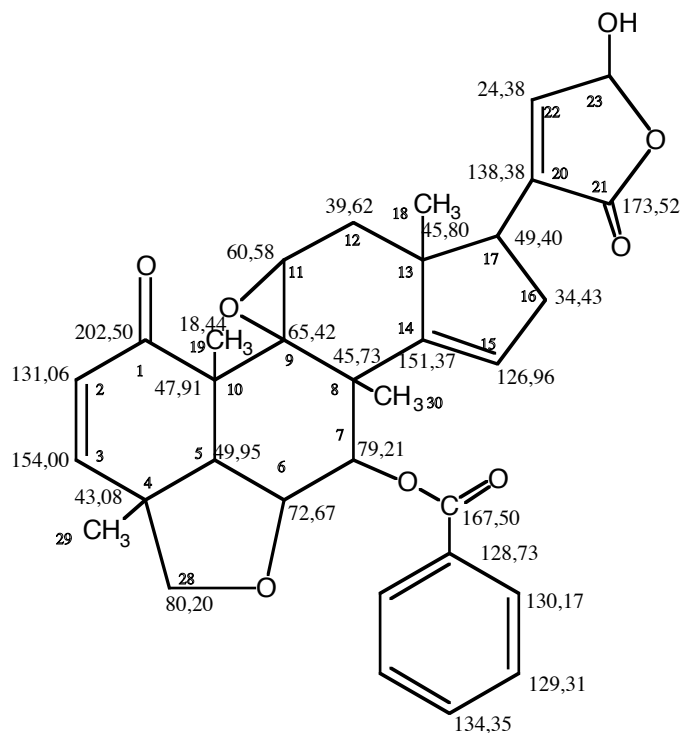
— Informations apportées par le spectre HMBC

Par ailleurs, des signaux caractéristiques par leur déplacement chimique en RMN du ^1H montrent la présence d'un groupement phényle. Un proton de ce groupement corèle avec un carbone à δ 167,50. Ce déplacement chimique est caractéristique d'un carbonyle.



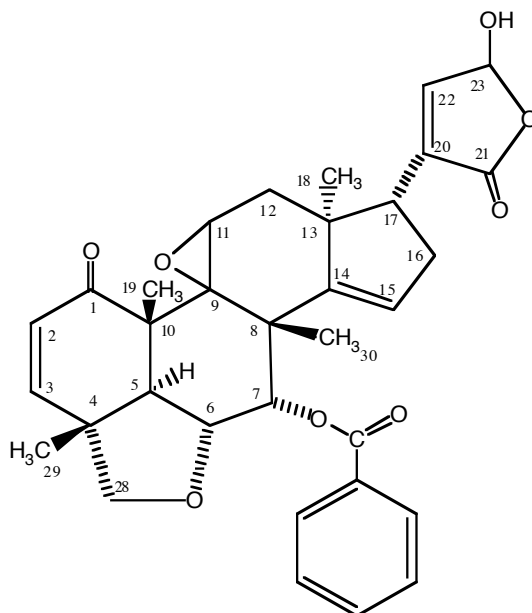
Le spectre HMQC dans la pyridine montre des corrélations entre H-7 et le Cq à δ 167,50.

On peut donc proposer, pour le composé SK 169-24, la structure plane suivante



La stéréochimie est déduite, le couplage J 12,7Hz permettant de placer l'ester en α . Le produit SK 169-24 est appelé Trichirubine B **101**.

Fig.77 Structure de la trichirubine B **101** (SK167-24), isolé des feuilles de *Trichilia rubescens* (lot Ug. 25).



PRODUIT SK 169-14

Un troisième limonoïde SK 169-14 a été isolé. Sa masse, M , en impact électronique et en électrospray, correspond à m/z 474. Son élucidation structurale est en cours.

3.5 Activités biologiques des produits isolés

La trichirubine A (SK 167-10) possède une activité intéressante sur cultures cellulaires de *P. falciparum* ($CI_{50} = 0,3 \mu\text{g/ml}$). Le second produit est issu de la fraction SK 167-7 dont la CI_{50} sur *P. falciparum* est de $0,2 \mu\text{g/ml}$ mais la faible quantité de produit isolé n'a pas permis la détermination de l'activité du produit pur en même temps que son identification.

Les trois limonoïdes récemment isolés des feuilles de *Trichilia rubescens* (deCarvalho, 2002) sont de structure proche des produits isolés dans cette étude ; l'un d'eux a montré une activité sur un modèle *in vivo* servant à la recherche de nouvelles thérapies pour la fibrose kystique, une maladie génétique létale.

4- *Albizia grandibracteata* (Mimosaceae) (Lot Ug. 17)

L'ingestion de l'écorce de cette plante, peu fréquente et pratiquée par un chimpanzé (OK) souffrant de troubles digestifs, a conduit à une étude préliminaire de cette plante. Ses activités biologiques cytotoxiques et anthelminthiques ont confirmé l'intérêt d'une étude phytochimique. L'isolement de produits en mélange a été effectué, la cytotoxicité très significative montre qu'il serait intéressant de poursuivre l'étude de cette partie de plante pour en isoler les produits.

4.1 Récolte et identification des échantillons

La récolte a été effectuée dans le compartiment K14 de Kibale, le 20 octobre 2001.

Cet arbre, haut d'un trentaine de mètres, possède des fleurs roses et des feuilles décidues. Son tronc cylindrique est couvert d'une écorce fine, lisse et brune avec des colonnes de lenticelles verticales. Ses feuilles sont bipennées, avec 1 à 4 pennes de chaque côté, chaque penne ayant 2 à 6 paires de folioles. Les folioles sont de taille différentes de chaque côté, la terminale étant la plus large (3-7 x 1,5-3 cm sur les vieux arbres, beaucoup plus large sur les jeunes plantes). Les stipules sont ronds. Cet arbre est commun en forêt secondaire et en bordure de forêt dans le Parc National de Kibale.

4.2 Activités biologiques

L'activité cytotoxique de l'extrait brut méthanolique des écorces de cette plante est significative (90% à $1 \mu\text{g/ml}$). Cet extrait présente aussi une activité anthelminthique parmi les plus fortes des plantes de cette étude sur *R. pseudoelongata* ($DL_{50} = 25 \mu\text{g/ml}$).

4.3 Fractionnement de l'extrait brut

Après une partition eau-butanol de l'extrait brut méthanolique des écorces et un lavage par l'éther de la fraction butanolique, une colonne sur gel de Sephadex LH-20 a permis l'obtention de 4 fractions. La purification par CLHP de la fraction la plus active n'a pas permis d'obtenir des produits purs. Plusieurs caractéristiques des produits en mélange font suggérer qu'il s'agit de saponosides : le spectre de ^1H RMN, des masses élevées en CL-SM (1090-1600) et la mousse produite après agitation, caractéristique de la propriété tensio-active de ce type de molécules. Le genre *Albizia* est connu pour sa composition riche en

saponosides, comme *A. anthelminthica*, par exemple, qui possède une activité molluscicide (Carpani *et al.*, 1989). Recherchés pour leurs propriétés ichtyotoxiques et hémolytiques, les saponosides ont également suscité l'intérêt par leur cytotoxicité (Lierre, Saponaire).

4.4 Bilan des activités biologiques

Tableau LXVIII. Bilan des activités biologiques d'*Albizia grandibracteata*

	Cytotoxicité à 10 $\mu\text{g/ml}$ (%) sur cellules KB	Cytotoxicité à 1 $\mu\text{g/ml}$ (%) sur cellules KB	Activité anthelminthique sur <i>R. pseudoelongata</i> (DL ₅₀ en $\mu\text{g/ml}$)
Extrait brut MeOH d'écorce	95%	90%	25-50
Fraction purifiée d'écorce	100%	98%	
Extrait brut MeOH de feuilles	90%	60%	25

Les activités des feuilles d'*Albizia grandibracteata* sont aussi significatives et seraient intéressantes à étudier plus avant.

C- PARTIE EXPERIMENTALE DES ETUDES BIOLOGIQUES ET CHIMIQUES DES PLANTES RECOLTEES

1- Récolte des plantes

Les plantes sont récoltées dans le Parc National de Kibale, Ouganda, dans la zone forestière dépendant de la station de recherche de l'Université de Makerere (Makerere University Biological Field Station). Des lots de récolte sont constitués.

Tableau LXIX. Lots de plantes collectées à Kanyawara, Kibale National Park, Ouganda

lot	Espèce	Famille	Feuilles	Ecorces	Autres
Ug 1	<i>Acanthus pubescens</i>	Acanthaceae	x		Fleurs
Ug 2	<i>Ficus dawei</i>	Moraceae	x	x	
Ug 3	<i>Ficus exasperata</i>	Moraceae	x	x	
Ug 4	<i>Urera hypsiloides</i>	Urticaceae	x		Fruits
Ug 5	<i>Piper umbellatum</i>	Piperaceae	x		Fleurs
Ug 6	<i>Monodora myristica</i>	Annonaceae	x	x	
Ug 7	<i>Diospyros abyssinica</i>	Ebenaceae		x	
Ug 8	<i>Olea welwitschii</i>	Oleaceae		x	
Ug 9	<i>Chaetacme aristata</i>	Ulmaceae		x	
Ug 10	<i>Mimusops bagshawei</i>	Sapotaceae	x	x	
Ug 11	<i>Celtis durandii</i>	Ulmaceae	x	x	
Ug 12	<i>Uvariopsis congensis</i>	Annonaceae	x	x	
Ug 13	<i>Chrysophyllum albidum</i>	Sapotaceae	x	x	
Ug 14	<i>Celtis africana</i>	Ulmaceae	x	x	
Ug 15	<i>Ficus asperifolia</i>	Moraceae	x		
Ug 16	<i>Ficus natalensis</i>	Moraceae		x	
Ug 17	<i>Albizia grandibracteata</i>	Mimosaceae	x	x	
Ug 18	<i>Dombeya mukole</i>	Sterculiaceae	x	x	
Ug 19	<i>Linociera johnsonii</i>	Oleaceae	x	x	
Ug 20	<i>Strombosia scheffleri</i>	Olacaceae	x	x	
Ug 21	<i>Bosqueia phoberos</i>	Moraceae	x	x	
Ug 22	<i>Trichilia rubescens (1)</i>	Meliaceae	x		
Ug 23	<i>Pancovia turbinata</i>	Sapindaceae	x	x	
Ug 24	<i>Pterygota mildbraedii</i>	Sterculiaceae	x	x	
Ug 25	<i>Trichilia rubescens (2)</i>	Meliaceae	x	x	

Les plantes ont été collectées et identifiées avec l'aide des assistants ougandais du Kibale Chimpanzee Project. Elles ont ensuite séché à l'air, dans une pièce ventilée, à l'abri du soleil, à la station de recherche de Kibale.

Trois exemplaires d'herbier de chaque espèce collectée sont confectionnés, l'un d'eux est adressé au Museum National d'Histoire Naturelle de Paris. La comparaison aux spécimens de l'Herbier de Phanérogamie du Museum National d'Histoire Naturelle de Paris, permet de confirmer l'identification.

2- Préparation des extraits bruts de plantes

Les plantes sont rapportées à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles, à Gif/Yvette. Après avoir de nouveau été séchées dans des étuves ventilées, les différentes parties de plantes sont finement broyées. 40 à 50 g de chacune des parties de plantes sont placés dans un erlen-meyer et recouverts d'acétate d'éthyle. L'erlenmeyer est placé dans un bain-marie à 40°C et le mélange est soumis à une agitation magnétique. Après une heure de macération, la solution extraite est filtrée et le marc de nouveau extrait par du solvant propre. Après trois extractions successives par l'acétate d'éthyle, l'ensemble de la solution extraite est évaporé sous vide jusqu'à obtention d'un extrait sec. Le marc de plante est repris et immédiatement extrait à trois reprises suivant le même protocole par le méthanol. La solution méthanolique est aussi amenée à sec par évaporation sous vide. Les extraits secs obtenus sont conservés dans des tubes de verre à une température inférieure à 4°C.

3- Étude chimique des plantes récoltées

3.1 Méthodes générales

3.1.1 Chromatographies sur couche mince

Les chromatographies sur couches minces (CCM) ont été effectuées sur des plaques portant 0,25 mm de gel de silice 60F₂₅₄ Art. 5719 Merck™. Les produits sont observés par extinction de fluorescence sous lumière ultra-violette à 254 nm et fluorescence sous lumière UV à 366 nm. Elles sont par la suite révélées par pulvérisation au molybdate d'ammonium, en milieu sulfurique suivie de chauffage.

3.1.2 Chromatographies sur colonne de silice

Les chromatographies sur colonne de silice (CC) ont été effectuées sous moyenne pression (0,5 bar). Deux granulométries différentes de gel de silice sont employées pour réaliser la séparation :

- moyenne : 40-63 μm (Merk™ H60, réf. 9385)
- fine : 5-40 μm (Merk™ H60, réf. 7736)

La masse de silice correspond à approximativement 30 fois plus de poids de l'extrait à séparer. Une silice de forte granulométrie est employée pour réaliser la pâte servant au dépôt de l'extrait à fractionner. La quantité à utiliser représente 10% de la masse de silice utilisée pour la séparation.

3.1.3 Chromatographie d'exclusion

Le gel de Sephadex LH-20 lipophile 25-100 μm est utilisé en colonne ouverte.

3.1.4 Chromatographie Liquide Haute Performance

➤ Dans le Service CLHP de l'ICSN (Responsable Marie-Thérèse Adeline)

Chaîne Alliance Waters™ 2695

Détecteur à barrette de diode : Waters™ 996PDA

Détecteur à diffusion de lumière : Eurosep™ DDL31

Logiciel : Millennium Waters™

Colonnes :

Chromatographies analytiques

C18 analytique Waters™ Symmetry 250 x 4,6 mm 5 μ

C18 analytique Thermohypersil™ Kromasil 250 x 4,6 mm 5 μ

RP 18XTERRA 100 x 3 mm 3,5 μ

Chromatographies semi-préparatives et préparatives

Pompe et injecteur : Waters™ 600

Détecteur à barrette de diode : Waters™ 2487

Le tracé est réalisé par un traceur à encre ABB™ SE 120

Colonnes : semi-préparative C18 Thermohypersil™ Kromasil 250 x 10 mm 5 μ

préparative C18 Thermohypersil™ Kromasil 250 x 21,2 mm 5 μ

Au Pôle Substances Naturelles de l'ICSN (Responsable Marc Litaudon)

Chromatographies analytiques, semi-préparatives et préparatives

Deux chaînes sont utilisées :

Chaîne (1)

Chaîne Alliance Waters™ 2695

Détecteur UV : Waters™ 2996

Détecteur DEDL : Polymer Laboratories™ PLELS 1000

Logiciel : Masslynx™

Chaîne (2)

Pompe : Dionex™ P580

Injecteur : Gilson™ 819

Détecteur UV : MSV6

Détecteur DEDL : Polymer Laboratories™ PLELS 1000

Logiciel : Chromeleon

Colonnes :

Analytique : C18 Thermohypersil™ Kromasil 250 x 4,6 mm 5 μ

semi-préparative : C18 Thermohypersil™ Kromasil 250 x 10 mm 5 μ

préparative : C18 Thermohypersil™ Kromasil 250 x 21,2 mm 5 μ

3.1.5 CL-SM

Les analyses de CL-SM sont effectuées sur un appareil Thermoquest™ LCQ Deca ion-trap (ThermoFinnigan™, San Jose, USA) équipé d'une source electrospray ou d'une source APCI.

Les paramètres standard d'acquisition des spectres de masse (50-2000 uma) en mode positif et négatif utilisés sont :

- pour l'ESI :

La tension de vaporisation est fixée à +/-5 kV

La température du capillaire chauffé est de 350°C

La tension du capillaire est de +/-15 V

Les débits d'azote et gaz auxiliaires sont fixés respectivement à 80 et 20 (valeur arbitraire).

- pour L'APCI :

La température du capillaire chauffé est de 250°C

La tension du capillaire est de +/-15V

La température de vaporisation est portée à 450°C.

Les débits d'azote et gaz auxiliaires sont fixés respectivement à 80 et 0 (valeur arbitraire).

L'appareil est couplé à une chaîne CLHP constituée d'une pompe, d'un injecteur automatique, d'un détecteur à barrettes de diodes, (200-600nm), (chaîne Surveyor, Thermofinnigan™).

Pour l'analyse standard des fractions, on utilise une colonne de phase inverse Hypurity-C18, 150 x 4,6 mm, 5 μ , avec un gradient eau (80%)-acétonitrile (20%) + 0,01% acide formique à 100% acétonitrile + 0,01% acide formique, en 40 mn avec un débit de 1ml/mn.

3.1.6 Spectre de Masse en impact électronique

Les spectres sont réalisés sur un appareil de type Kratos MS 50® et la masse exacte est obtenue sur un ZAB-SEQ.

3.1.7 Résonance Magnétique Nucléaire

Les spectres de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) du proton (¹H), du carbone (¹³C) et les expériences de type COSY (Correlation Spectroscopy mettant en évidence les couplages scalaires homonucléaires ¹H-¹H), HMBC (¹H MultiBond Correlation), HMQC (¹H Multiple Quantum Coherence) ont été enregistrés sur un appareil Bruker™ 600 Mhz par Marie-Thérèse Martin, ou 300Mhz équipé d'un passeur automatique de tubes. Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en ppm par rapport au tétraméthylsilane (TMS) pris comme référence interne. On utilise les abréviations suivantes : s pour singulet, d pour doublet, t pour triplet, q pour quadruplet et m pour multiplet.

Les spectres obtenus pour les produits isolés sont placés en annexes.

3.2 Fractionnement automatique des extraits bruts pour la réalisation d'essais biologiques (Collaboration avec les Laboratoires SERVIER)

Tous les extraits bruts de plantes ont été fractionnés automatiquement par CLHP puis placés en plaques multipuits au sein du Pôle Substances Naturelles de l'ICSN de Gif-sur-Yvette dirigé par M. Litaudon. Les extraits bruts fractionnés ainsi que les fractions sont soumis à des essais portant sur la régulation de l'appétit dans le cadre d'une collaboration avec les Laboratoires SERVIER.

3.2.1 Préparation des échantillons

50 mg de l'extrait sont solubilisés dans 10 ml de méthanol. La solution est filtrée sur cartouche de polyamide puis 10 ml de méthanol servent à rincer le filtre. Les filtrats sont évaporés dans l'évaporateur centrifuge (Genevac™).

3.2.2 CLHP des extraits

Une pompe Dionex P580™ munie d'un injecteur Gilson 819™ est utilisée pour le fractionnement automatique des extraits. La chaîne CLHP est munie d'un détecteur UV MSV6 et d'un détecteur à diffusion de lumière Polymer Laboratories PLELS 1000™. Les échantillons filtrés et secs sont dissous dans 1,5 ml de DMSO. Ils sont injectés sur une colonne C18 en phase inverse de type semi-préparatif (Thermohypersil Keystone Kromasil™ C18, 250 x 10 mm, 5 μ).

Deux types de gradients sont utilisés en fonction du solvant d'extraction des plantes.

	<i>Temps</i>	<i>H₂O</i>	<i>Acétonitrile</i>
Acétate d'éthyle	0	50%	50%
	12 min	50%	50%
	45 min	0%	100%
Méthanol	0	80%	20%
	14 min	80%	20%
	32 min	20%	80%
	60 min	0	100%

Les spectres obtenus sont traités par le logiciel Chromeleon™.

3.2.3 Mise en plaques

Les tubes de collecte sont amenés à sec puis repris dans la quantité de DMSO nécessaire pour obtenir la concentration finale voulue. 1ml de chaque fraction est déposé dans une plaque-mère (Masterblock™), ainsi que l'extrait brut et l'extrait brut filtré. 10 plaques-filles sont préparées à partir de la plaque-mère permettant d'effectuer 10 essais sur récepteurs.

3.3 Étude chimique de *Diospyros abyssinica* (Ebenaceae)- lot Ug. 7

Le rendement de l'extraction par l'acétate d'éthyle des écorces de *D. abyssinica* est de l'ordre de 1%.

3.3.1 Fractionnement de l'extrait brut

- *Chromatographie sur gel de silice de 350 mg d'extrait à l'acétate d'éthyle (AcOEt) d'écorce SK 19*

L'extrait brut est fractionné en 7 fractions avec comme système d'élution :

- un gradient Heptane/ AcOEt 8 :2 -->Heptane/AcOEt 2 :8
- AcOEt
- AcOEt/MeOH 9 :1

<i>Fractions</i>	<i>Masse</i>
SK 19-A	15,7 mg
SK 19-B	17,0 mg
SK 19-C	23,2 mg
SK 19-D	24,0 mg
SK 19-E	29,9 mg
SK 19-F	111,8 mg
SK 19-G	73,2 mg
Rendement	84%

Les fractions SK19-C et SK 19-D sont les plus actives sur *Leishmania*, *Plasmodium*, *S. aureus* et cellules KB.

- *Étude analytique des fractions actives par CLHP*

Les fractions SK 19-C et SK 19-D sont injectées en CLHP analytique. Chacune contient un produit majoritaire. Par comparaison avec le tracé CLHP analytique de l'extrait brut, les produits majoritaires correspondant aux deux fractions sont repérés.

- *Isolement des produits actifs par CLHP préparative*

79 mg d'extrait brut AcOEt d'écorce dissous 10 ml de CH₃CN forment un flocculat qui est filtré sur polyamide. 4 ml de MeOH et 1 ml d'eau sont ajoutés. L'extrait solubilisé est injecté en 6 fois sur une colonne préparative C18 HS Thermohypersil 250 x 21,2 mm en utilisant le système d'élution suivant :

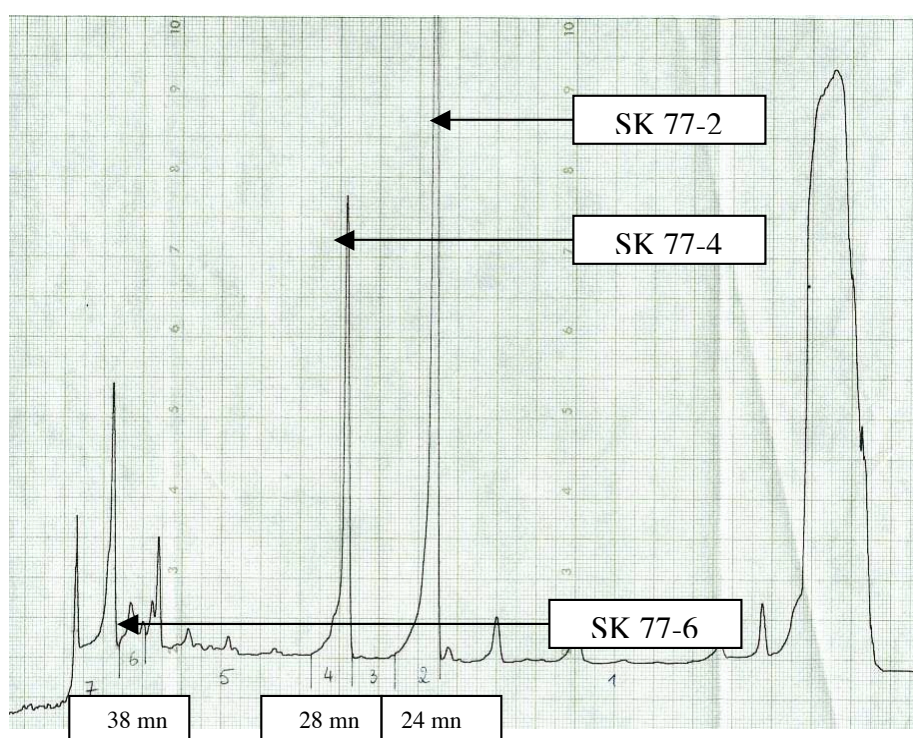
<i>Temps</i>	<i>H₂O+0,05%TFA</i>	<i>CH₃CN+0,05%TFA</i>
0	50%	50%
13 min	50%	50%
45 min	0 %	100%

La détection est réalisée à 220 nm.

On obtient 7 fractions :

<i>Fractions</i>	<i>Masse</i>
SK 77-1	26,3 mg
SK 77-2	5,1 mg
SK 77-3	1,6 mg
SK 77-4	2,0 mg
SK 77-5	6,9 mg
SK 77-6	14,7 mg
SK 77-7	12,9 mg
Rendement	88%

Fig.77 Profil CLHP et fractionnement de l'extrait à l'acétate d'éthyle (AcOEt) d'écorce (SK 19) (C18 HS Thermohypersil, 250 x 21,2mm, gradient eau/acétonitrile, 220nm)



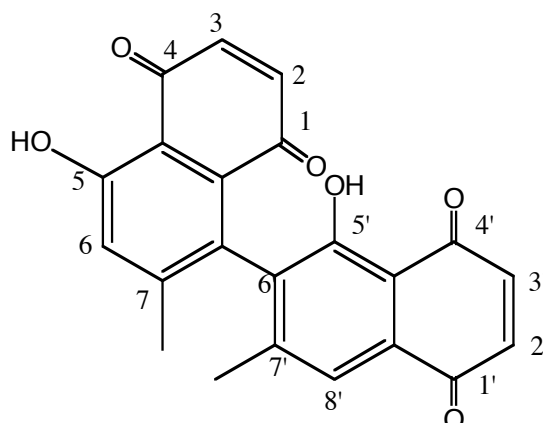
➤ *Contrôle CLHP analytique des fractions obtenues*

Les fractions SK77-2, SK 77-4 et SK 77-6 sont injectées analytiquement pour vérifier leur pureté.

3.3.2 Caractérisation des produits obtenus

L'ESI négatif donne les meilleurs résultats pour les trois produits :

- SK77-2 : m/z 373,1
- SK 77-4 : m/z 373,2
- SK 77-6 : m/z 523,4

SK 77-2 Isodiospyrine 95

$C_{22}H_{14}O_6$

374 g.mol⁻¹

Cristaux orange

IR (CHCl₃) ν_{max} 3693, 3022, 2360, 1670, 1645, 1604, 1341, 1281, 1221, 1110, 909 cm⁻¹

Pouvoir rotatoire non mesurable à cause de l'intense coloration

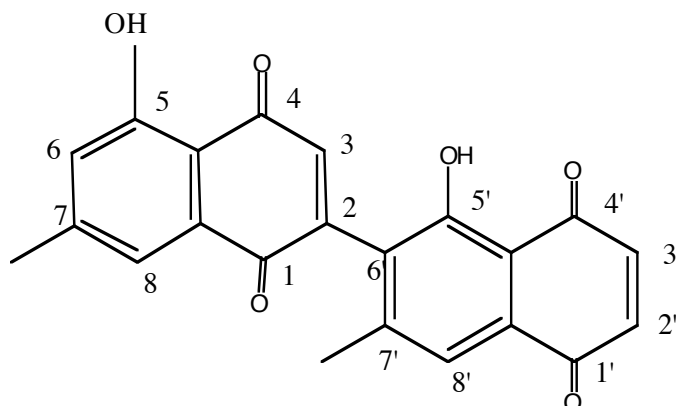
UV λ_{max} 216,8 ; 254,4

CL-SM (-ESI) m/z 373,2

¹H RMN (300MHz, CDCl₃)

Tableau LXX. Déplacements chimiques en ¹H RMN de l'isodiospyrine

Atome	δ ¹ H
2 et 3	6,73, 6,93 (2H, ABq)
2' et 3'	6,95 (2H, s)
5	12,40 (1H, s)
5'	12,06 (1H, s)
6	7,30 (1H, s)
7	2,04 (3H, s)
7'	2,01 (3H, s)
8'	7,58 (1H, s)

SK 77-4 Diospyrine 96

$C_{22}H_{14}O_6$

374 g.mol⁻¹

Cristaux orange

IR (CHCl₃) ν_{\max} 3688, 2928, 1672, 1644, 1600, 1595, 1381, 1262, 1213, 1092, 850 cm⁻¹

Pouvoir rotatoire non mesurable à cause de l'intense coloration

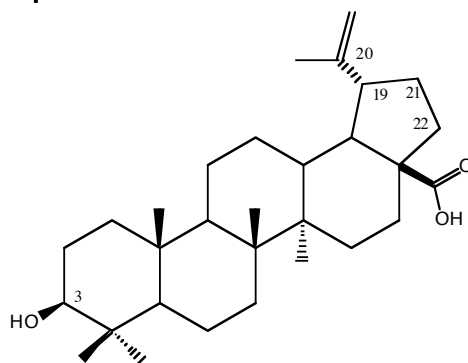
UV λ_{\max} 218 ; 253,2

CLMS (-ESI) m/z 373,2

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃)

Tableau LXXI. Déplacements chimiques en RMN ¹H de la diospyrine

Atome	δ ¹ H
2'et 3'	6,98 (2H, s)
3	6,92 (1H, s)
5	11,90 (1H, s)
5'	12,15 (1H, s)
6	7,15 (1H, s)
7	2,47 (3H, s)
7'	2,32 (3H, s)
8	7,53 (1H, s)
8'	7,58 (1H, s)

SK 77-6 Acide bétulinique 97 $C_{30}H_{48}O_3$ 456 g.mol⁻¹

Poudre blanche

[α]_D²⁵ + 7 (c 1 ; CHCl₃) (litt. +8, c 0,25, pyridine ; Zhong *et al.*, 1984)IR (KBr) ν_{\max} 2940, 1686, 1451, 1034 cm⁻¹ESI (mode positif) [M+Na]⁺ 479,5Tableau LXXII. Déplacements chimiques en RMN ¹H et ¹³C de l'acide bétulinique

Atome	δ^1H	$\delta^{13}C$
1	-	38,64
2	-	27,65
3	3,19 (dd)	78,6
4	-	38,64
5	-	55,25
6	-	18,14
7	-	34,2
8	-	40,52
9	-	50,43
10	-	37,15
11	-	20,78
12	-	25,43
13	-	38,13
14	-	42,3
15	-	30,49
16	-	32,33
17	-	56,31
18	-	46,91
19	2,99 (ddd)	49,07
20	-	150,82
21	-	29,54
22	-	36,99
23	0,93 (s)	26,76
24	0,75 (s)	15,14
25	0,82 (s)	15,88
26	0,96 (s)	15,78
27	0,97 (s)	14,42
28	-	?
29	4,60 ; 4,73 (d,d)	109,12
30	1,69 (s)	19,02

3.4 Étude chimique d'*Uvariopsis congensis* (Annonaceae) – lot Ug. 12*3.4.1 Fractionnement et isolement des produits des écorces*➤ *Extraction des écorces*

885 g d'écorces sèches et broyées sont soumises successivement à :

- trois macérations dans l'heptane à 40°C (pour enlever les huiles) 4,7426 g
- trois macérations dans l'AcOEt à 40°C 47,7295 g
- soxhlet à l'AcOEt 13,2300 g
- soxhlet au méthanol 59,2079 g

➤ *Premier essai de fractionnement bioguidé*▲ **CC sur 4,2 g de l'extrait heptanique (SK 11H)**

Une CC de silice fine a permis de fractionner l'extrait heptanique avec un gradient partant de CH₂Cl₂ pur et allant jusqu'à CH₂Cl₂/MeOH 9:1. 10 fractions ont été réalisées avec un rendement de 95%.

▲ **CC sur 4,2 g de l'extrait AcOEt issu du soxhlet (SK 11B)**

Le même protocole a été appliqué et 20 fractions ont été obtenues.

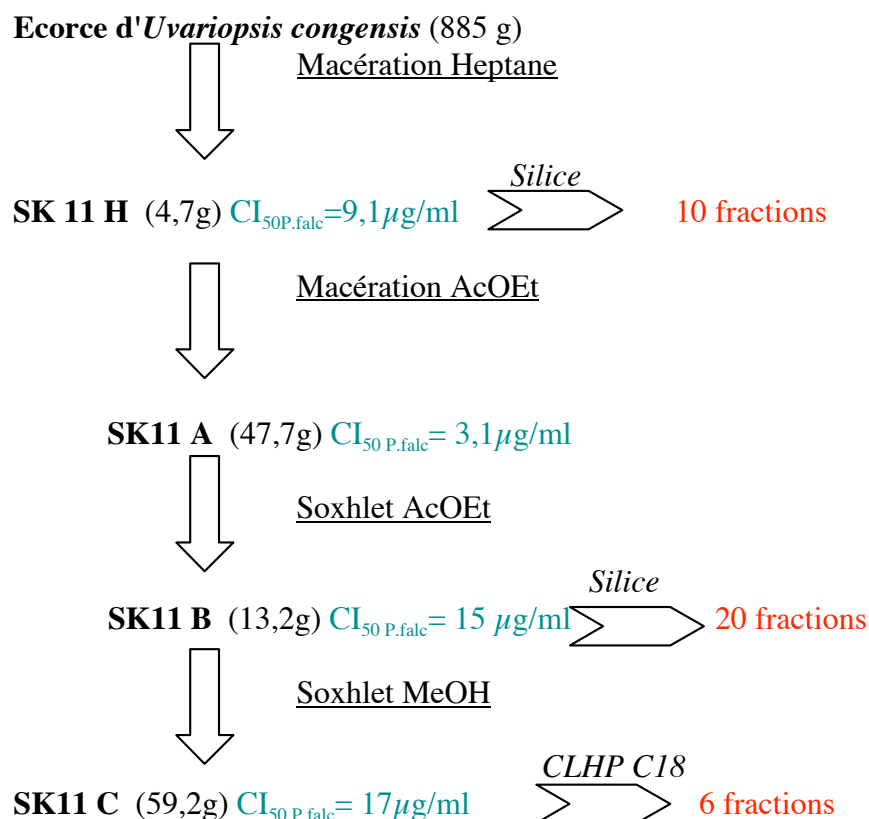
▲ **CLHP semi-préparative sur 50 mg l'extrait méthanolique issu du Soxhlet (SK 11C)**

Le fractionnement de l'extrait a été réalisé au moyen du système suivant :

<i>Temps</i>	<i>H₂O</i>	<i>CH₃CN</i>
0	100%	0%
10 min	100%	0%
25 min	0%	100%

6 fractions ont été recueillies avec un rendement de 90%.

Fig. 78 Fractionnement et activités antipaludiques des fractions d'extraits d'écorce d'*Uvariopsis congensis*



L'activité des fractions obtenues n'ayant pas été augmentée par ces méthodes de fractionnement, d'autres méthodes de fractionnement ont été employées pour fractionner l'extrait AcOEt (SK 11 A), le plus actif sur *P. falciparum*.

➤ *Deuxième essai de fractionnement bioguidé*

▲ **CC sur 21 g de l'extrait par macération à l'acétate d'éthyle (SK 11A)**

Une CC de silice fine a permis de fractionner l'extrait avec les systèmes de solvants suivants :

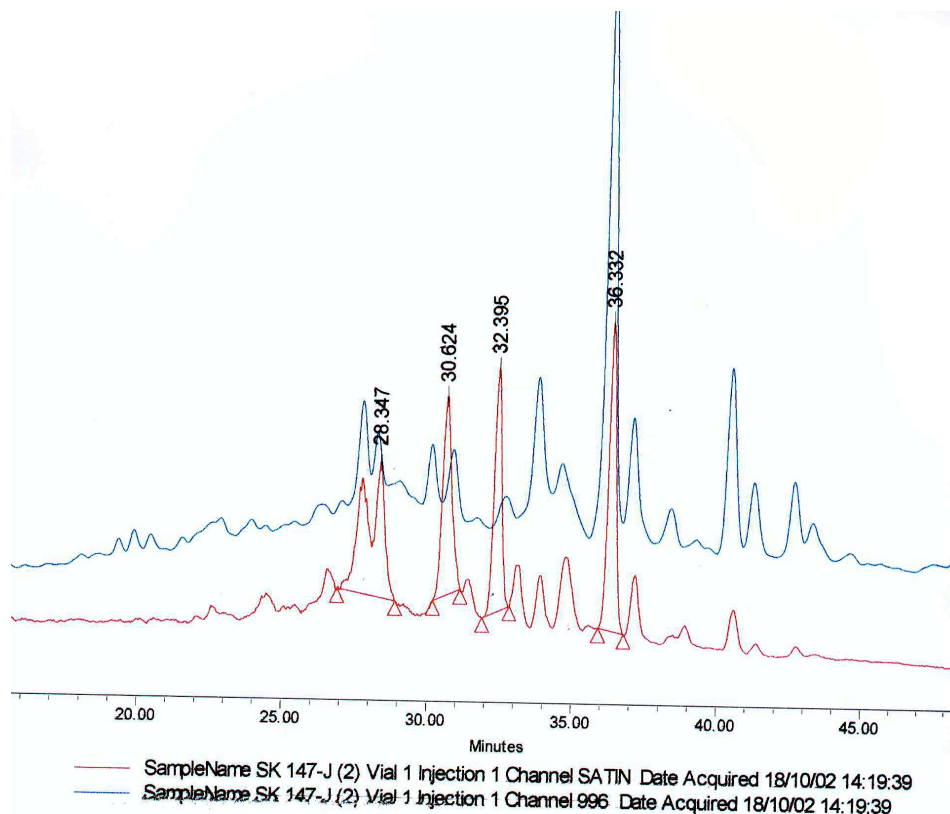
- gradient de Heptane/acétone 6:4 à acétone 100%
- gradient Acétone/MeOH 95:5 à 1:1

Le fractionnement a été bioguidé par l'activité cytotoxique sur cellules KB pour les 15 fractions obtenues (SK 147-A à O).

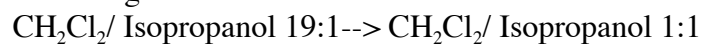
▲ **CC de 1,6 g de la fraction SK 147-J**

La fraction SK 147-J a été choisie pour son activité sur cellules KB : elle est la seule parmi les 15 fractions à avoir une cytotoxicité supérieure à 50% à 1 µg/ml.

Fig. 79 Profil CLHP de la fraction SK 147-J (C18 Symmetry, 4,6 x 250 mm, 40% d'eau à 100% d'acétonitrile en 45 min, 220nm)



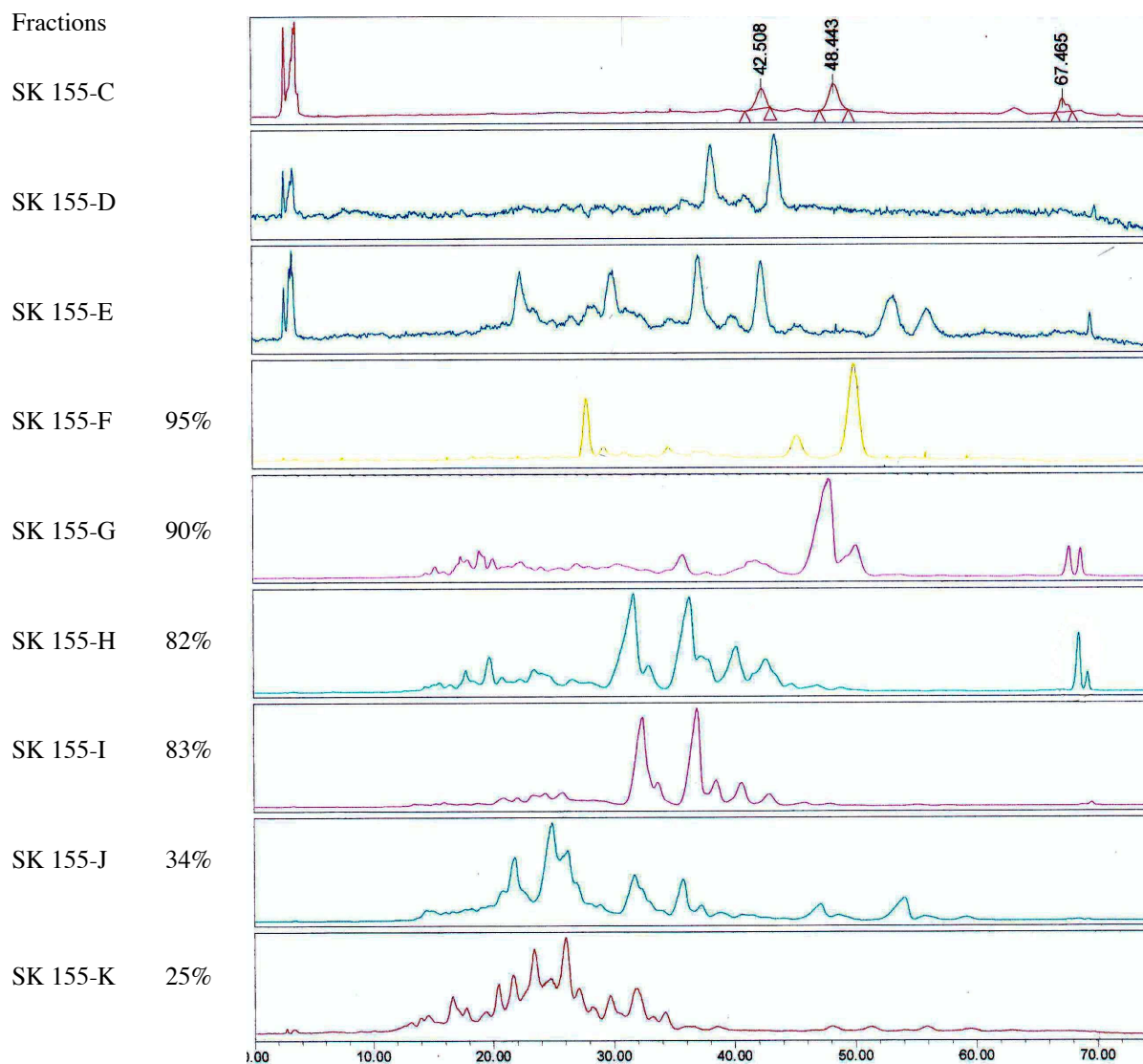
Vue la complexité du profil CLHP de la fraction, la purification a été effectuée sur colonne ouverte de silice. Une colonne de silice fine a été réalisée sur une pâte de la fraction SK147-J en utilisant le gradient suivant :



12 fractions (SK 155A à L) ont été obtenues et testées pour leur activité cytotoxique.

▲ **Contrôle analytique par CLHP des fractions**

Fig. 80 Contrôle CLHP des fractions SK 155 (C18 Symmetry, 4,6 x 250 mm, isocratique eau:acétonitrile 30/70 détection DDL) et cytotoxicité sur cellules KB à 0,1 μ g/ml

▲ **CLHP préparative de 170 mg SK 155-F au PSN**

La fraction SK 155-F a été choisie pour son activité et la relative simplicité de son profil chromatographique. Un fractionnement et une collecte en temps (collecte de 1 minute par tube) a été réalisée en utilisant une colonne C18 préparative avec une détection UV à 210 nm. Les solvants CH₃CN/H₂O ont été utilisés en isocratique 7:3.

Les fractions ont été rassemblées en fonction des pics majoritaires en 6 fractions.

<i>Fractions</i>	<i>Temps de rétention</i>	<i>Masse</i>
SK 157-1	0-22 min	17,4 mg
SK 157-2	23-25 min	9 mg
SK 157-3	26-41 min	19,9 mg
SK 157-4	42-46 min	30,6 mg
SK 157-5	47-56 min	6,1 mg
SK 157-6	57-59 min	16,9 mg
Rendement		59%

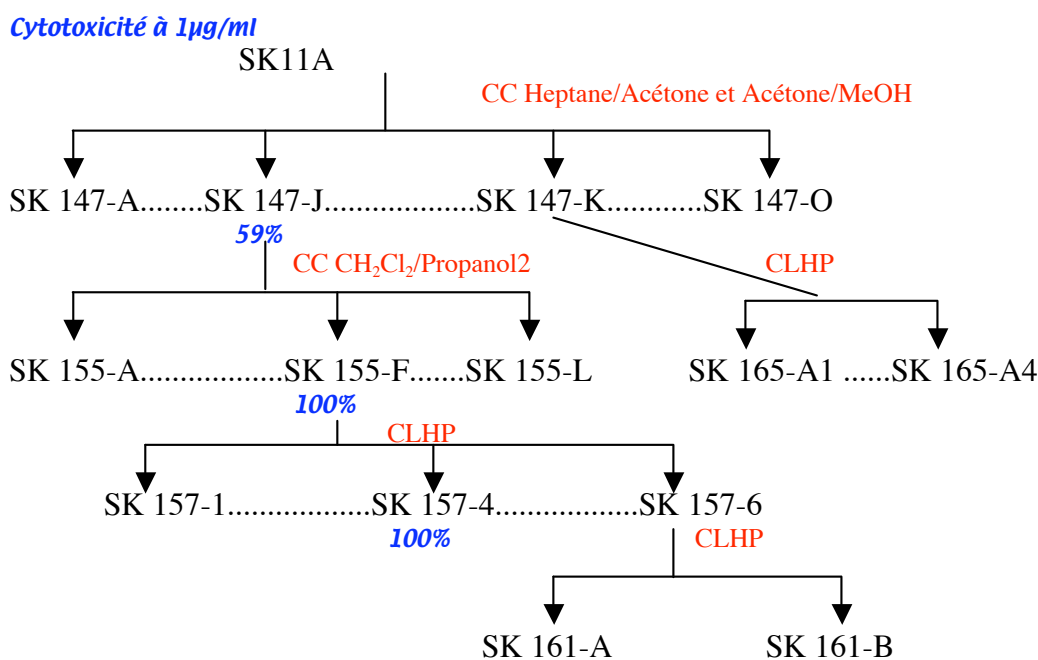
▲ CLHP semi-préparative de 16 mg de SK157-6

Les solvants CH₃CN/H₂O utilisés en isocratique 7:3 ont permis la séparation de deux produits grâce à une détection à 210 nm.

▲ CLHP semi-préparative de 100 mg SK 147-K

Les solvants CH₃CN/H₂O utilisés en isocratique 8:2 ont permis l'obtention de trois fractions dont la seconde correspondait à un pic unique en DDL et à 210 nm. Mais il est apparu au cours du contrôle analytique des fractions réalisé en isocratique CH₃CN/H₂O 65 :35 que la réponse DDL correspondait à un pic minoritaire à 210 nm qui n'était pas visible en isocratique 8:2. Un second fractionnement avec les conditions analytiques a permis d'obtenir deux produits.

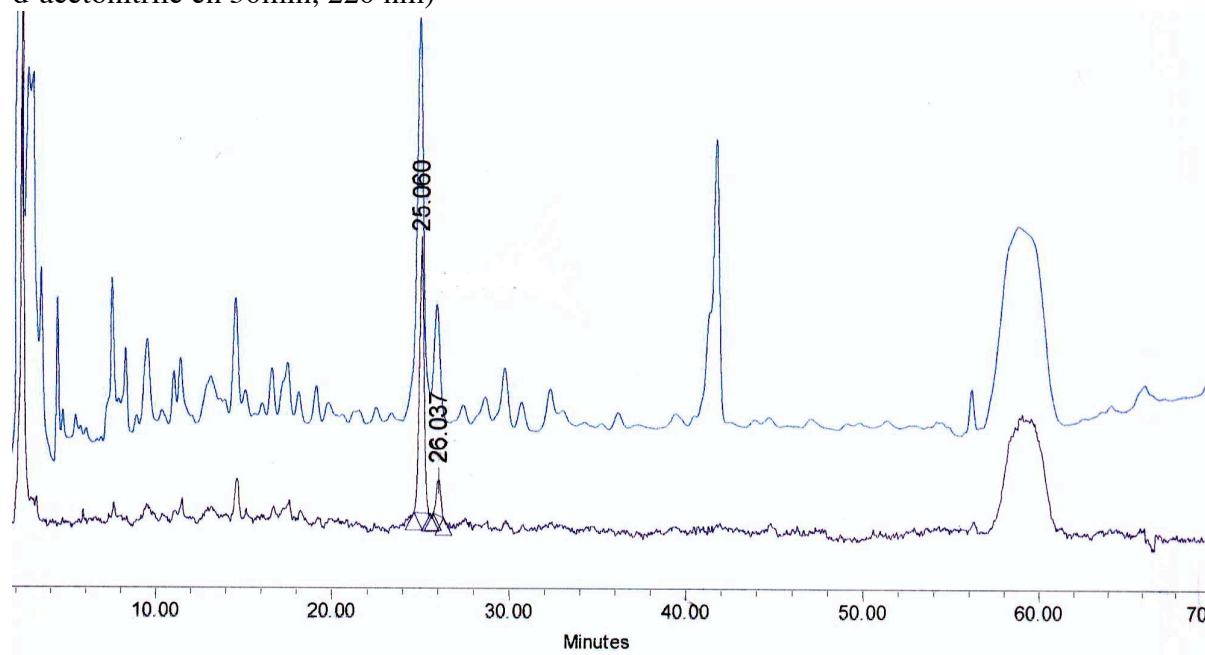
Fig. 81 Fractionnement de l'extrait d'écorces d'*Uvariopsis congensis* et cytotoxicité des fractions



3.4.2 Fractionnement et isolement de produits à partir des feuilles

➤ CLHP préparative de 150 mg d'extrait brut à l'acétate d'éthyle

Fig. 82 Chromatogramme obtenu par CLHP analytique de l'extrait brut AcOEt de feuilles d'*Uvariopsis congensis* (C18 Symmetry, 4,6 x 250 mm, eau:acétonitrile 30/70 à 100% d'acétonitrile en 50min, 220 nm)

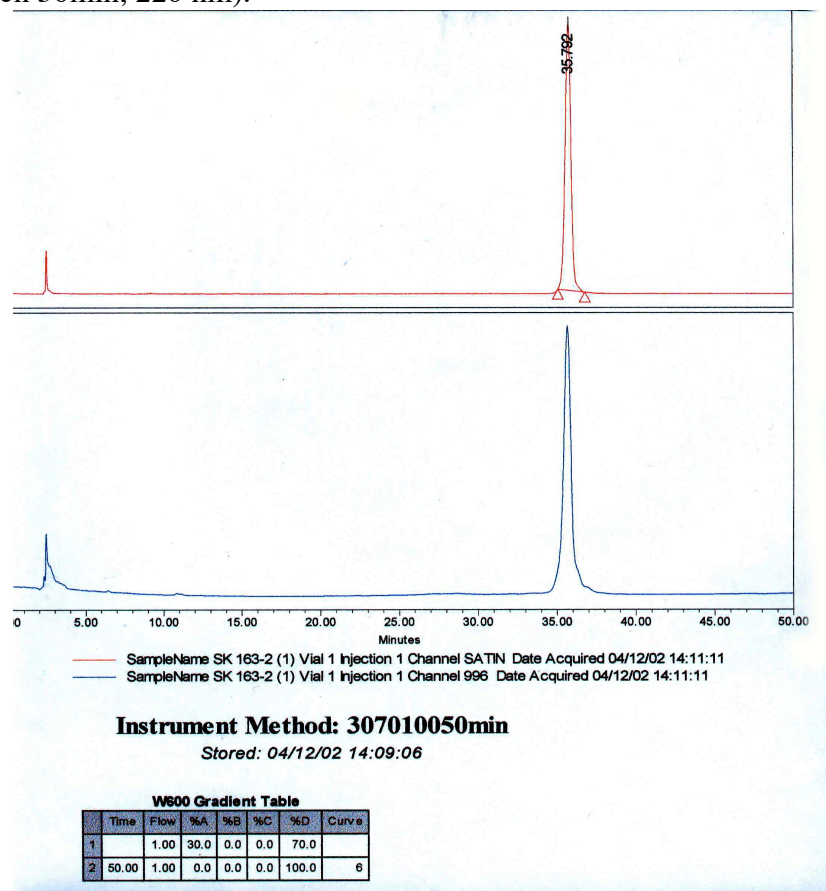


Une séparation sur colonne C18 250 x 21,2 mm a été appliquée à l'extrait de feuilles dissous dans 5 ml de méthanol avec le gradient suivant :

<i>Temps</i>	<i>H₂O</i>	<i>CH₃CN</i>
0	30%	70%
50 min	0%	100%

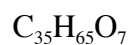
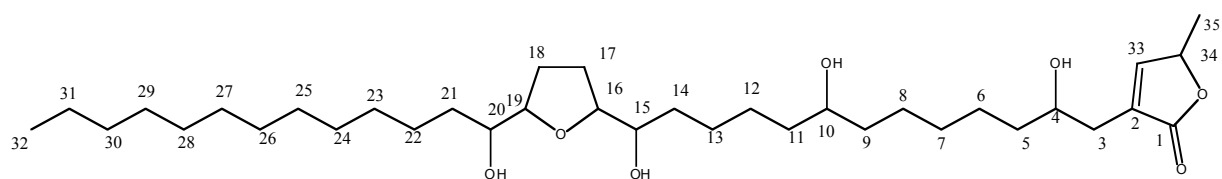
4 fractions (SK 163-1 à 4) ont été obtenues. La fraction SK 163-2 contenait le produit majoritaire purifié à raison de 4 mg.

Fig. 83 Contrôle analytique de la fraction SK 163-2 obtenue par CLHP des feuilles d'*Uvariopsis congensis* (C18 Symmetry, 4,6 x 250 mm, eau:acétonitrile 30/70 à 100% d'acétonitrile en 50min, 220 nm).



3.4.3 Caractérisation des produits obtenus

SK 157-4 et SK 163-2 Annonacine 98



596 g.mol⁻¹

Poudre blanche

$[\alpha]_D^{25}$ (SK 157-4) +17 (c 1 ; CHCl₃)

$[\alpha]_D^{25}$ (SK 163-2) +26 (c 1 ; CHCl₃)

$[\alpha]_D$ litt. +10 ; c 0,17 ; CHCl₃ (Woo et al., 1999) ; +13 ; c 0,19 ; MeOH (Gleye, 1998) ; +20,8 ; C 4,62 ; CHCl₃ (dans Cavé *et al.*, 1996)

IR (KBr) ν_{\max} (SK 157-4) 3407, 2920, 2851, 1738, 1467, 1070 cm^{-1}

IR (KBr) ν_{\max} (SK 163-2) 3420, 2922, 2848, 1740, 1465, 1076 cm^{-1}

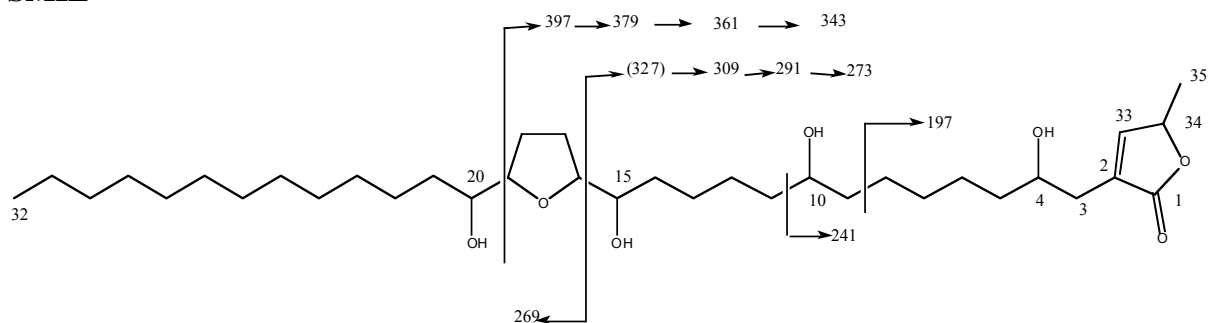
CLSM [M+Na] m/z 619,63

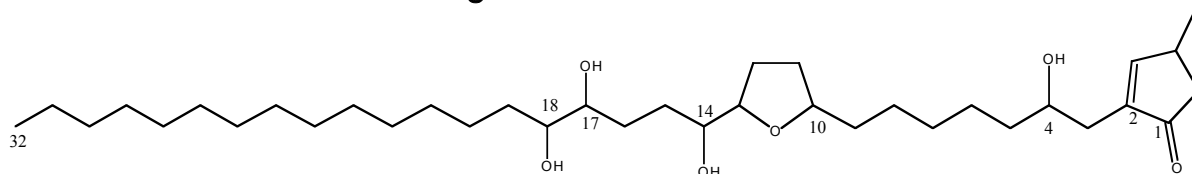
RMN ^1H et ^{13}C (300 MHz ; CDCl_3)

Tableau LXXIII. Déplacements chimiques en RMN ^1H et ^{13}C de l'annonacine

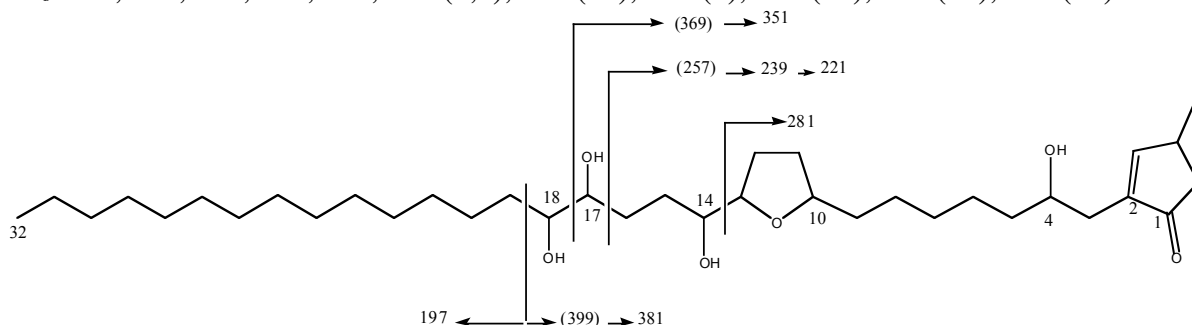
Atome	δ ^1H observés	$\delta^{13}\text{C}$ observés	$\delta^{13}\text{C}$ litt. de la cis-annonacine (Rieser <i>et al.</i> , 1996)
1	-	174,68	174,6
2	-	131,11	131,0
3a, 3b	2,40, 2,50 (1H, dd, dd)	33,38	33,4
4	3,77 (1H) (m)	69,82	69,8
5-8	1,10-1,60 (m)	25,50-37,30	22-38
9	1,10-1,60 (m)	37,24	22-38
10	3,55 (m)	71,63	71,6
11	1,10-1,60 (m)		22-38
12-14	1,10-1,60 (m)		22-38
15	3,38 (1H, m)	73,99	74,3
16	3,77 (1H, m)	82,62	82,7
17	1,76 (1H, m)	28,10	28,2
18	1,94 (1H, m)		
18	1,76 (1H, m)	28,79	28,2
18	1,94 (1H, m)		
19	3,77 (1H, m)	82,71	82,7
20	3,38 (1H, m)	74,10	74,3
21-31	1,10-1,60 (m)	22-37,5	22-38
32	0,75 (3H, t)	14,10	14,1
33	7,17 (1H, d)	151,90	151,8
34	5,03 (1H, dq)	78,01	78,0
35	1,45 (3H, d)	19,07	19,2

SMIE



SK 161-A et SK 161-B Gigantétrocine 99 $C_{35}H_{65}O_7$ 596 g.mol⁻¹

Poudre blanche

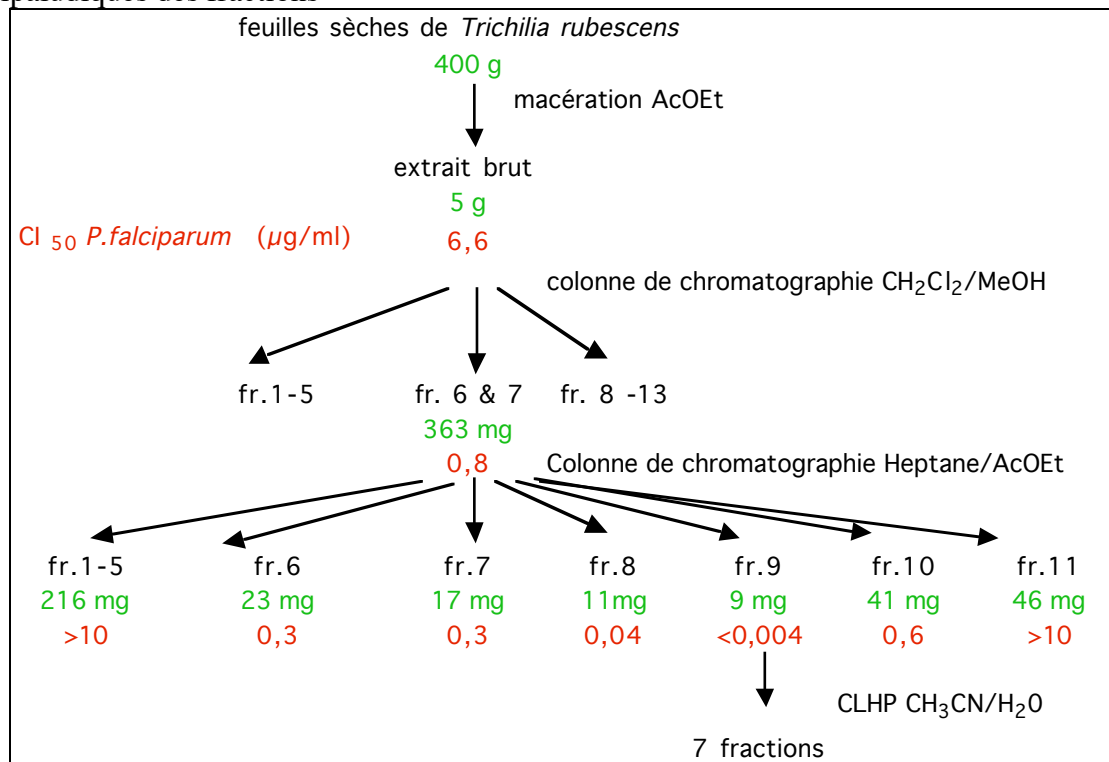
 $[\alpha]_D^{25}$ (SK 161-A) + 9 (c 1 ; CHCl₃) $[\alpha]_D^{25}$ (SK 161-B) + 7 (c 1 ; CHCl₃) $[\alpha]_D$ litt. +10,3 (Fang *et al.*, 1991) ; +8,8 ; c 8,8 ; CHCl₃ (dans Cavé *et al.*, 1996)IR (KBr) ν_{max} (SK 161-B) 3422, 2915, 2850, 1735, 1458, 1066, 1034 cm⁻¹**SMIE** m/z 596, 578, 560, 542, 524, 381 (3,5), 351 (27), 263 (6), 239 (82), 221 (17), 181 (17)**RMN ¹H et ¹³C (300 MHz ; CDCl₃)**Tableau LXXIV. Déplacements chimiques en RMN ¹H et ¹³C de la gigantétrocine

Position	δ^1H observés	$\delta^{13}C$ observés	$\delta^{13}C$ litt. (Fang <i>et al.</i> , 1991)
1		174,57	174,55
2		131,07	131,07
3a,3b	2,39, dd , 2,50, dd	32,35	32,28
4	3,81 (1H, m)	69,86	69,78
5	1,42, m	37,20	37,21
6-8	1,23-1,70	27-30	25-30
9	1,23-1,70	31,85	31,85
10	3,81	79,24	79,25
11-12	1,98	25,63, 25,42	25,70-26,06
13	3,81, m	81 ,68	81,75
14	3,40 (1H, m)	74,56	74,42
15		37,2-31,85	35,39
16	1,42, m	37,2-31,85	33,45
17-18	3,40 (2H,m)	74,35, 74,20	74,38 , 74,22
19	1,42,m	37,2-31,85	32,33
20-30	1,23-1,70	27-30	29-30
31	1,23-1,70	22,62	28,37
32	0,86 (3H, t)	14,05	14,05
33	7 ,16 (1H, d)	151,90	151,80
34	5,03 (1H, dd)	77,96	77,93
35	1,42 (3H, d)	19,04	19,02

3.5 Étude chimique de *Trichilia rubescens* (Meliaceae) – Lot Ug.22 et Ug.25

3.5.1 Fractionnement des extraits de feuilles des jeunes arbres - Lot Ug.22

Fig.84 Fractionnement des extraits de feuilles des jeunes arbres (Lot Ug. 22) et activités antipaludiques des fractions



On peut souligner la très forte activité antipaludique des fractions 8 et 9.

3.5.2 Fractionnement des extraits de feuilles de l'arbre adulte Lot Ug. 25

➤ Confirmation de l'identification botanique par CLHP analytique

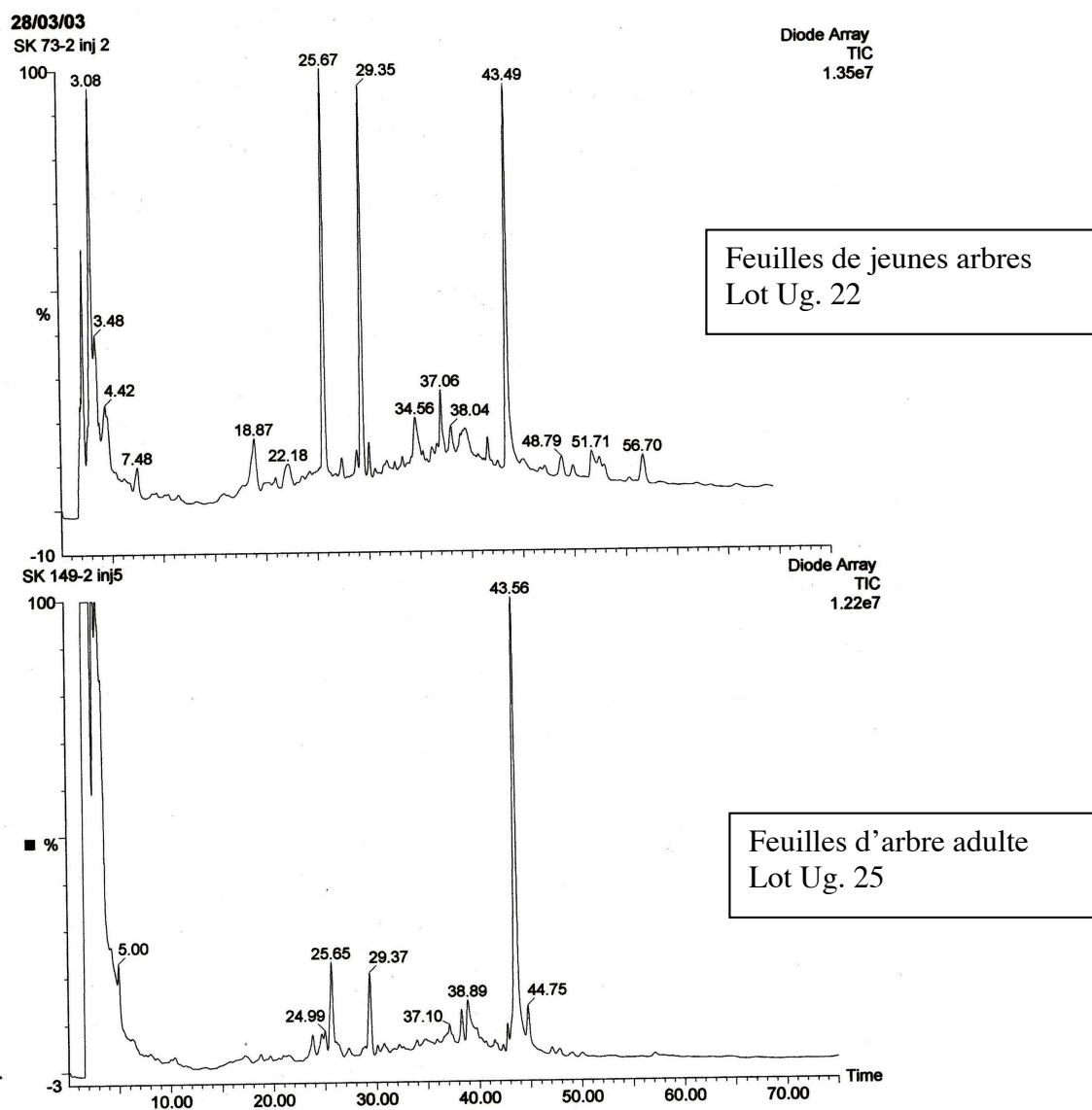
L'étude botanique du deuxième herbier provenant de la collecte de juillet 2002 (lot Ug. 25) a permis d'identifier l'échantillon comme appartenant à l'espèce *Trichilia rubescens*. Pour lever le doute sur l'identification de la première espèce, nous avons réalisé une comparaison des profils CLHP et des UV des pics majoritaires.

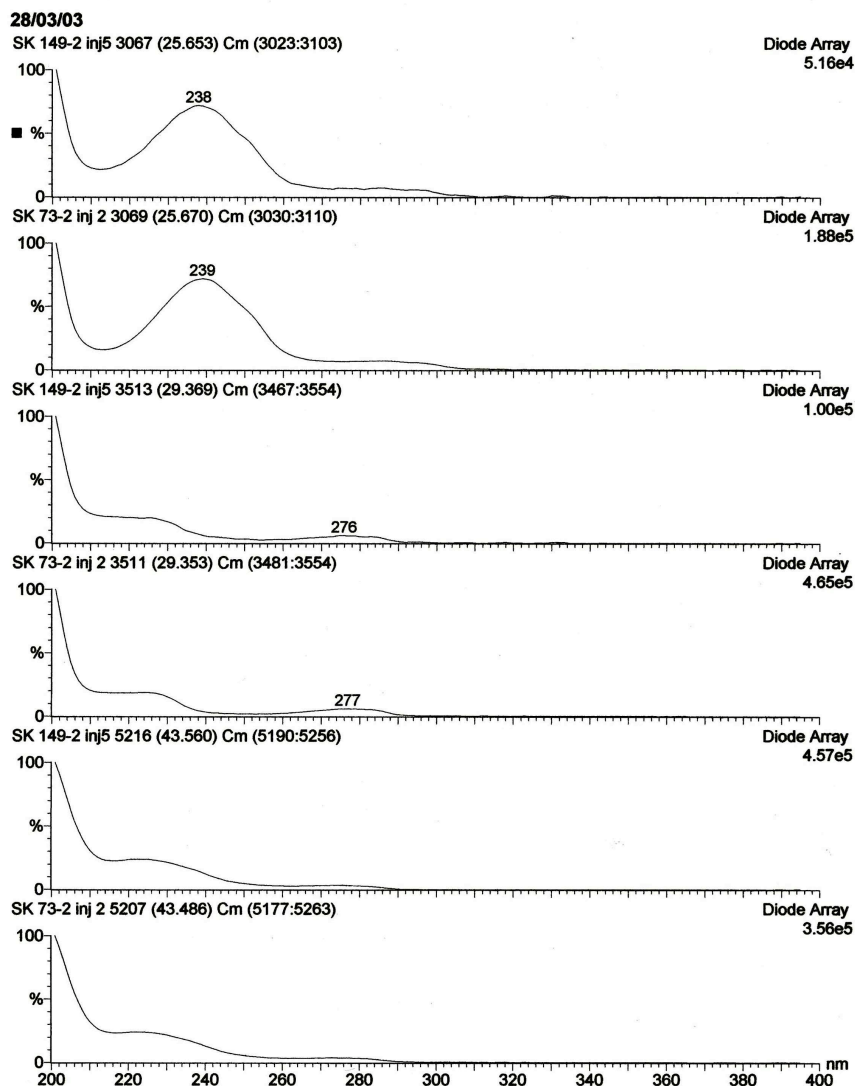
Les extraits bruts SK 73-2 et SK 149-2 ont été injectés sur colonne C18 Thermohypersil 250 x 4,6 mm-5 µ Kromasil, avec un débit d'1 ml/mn, en appliquant le gradient suivant :

Temps	H ₂ O	CH ₃ CN
0	50%	50%
11 min	50%	50%
48 min	0%	100%

La comparaison des profils CLHP et des temps de rétention a montré que les deux récoltes correspondaient très vraisemblablement à la même espèce, même si les proportions de produits n'étaient pas identiques.

Fig. 85 Comparaison CLHP analytique des profils TIC et des UV des pics principaux des extraits de feuilles d'un arbre immature (lot Ug. 22) et adulte (lot Ug. 25) de *Trichilia rubescens*





➤ *Extraction des feuilles d'arbre adulte de Trichilia rubescens (lot Ug. 25)*

Le broyage et l'extraction par macération à 40°C dans l'heptane puis dans le méthanol de 3 kg de feuilles a été effectué à l'Atelier Pilote d'Extraction de l'ICSN à Gif-sur-Yvette. Chaque fraction d'extraction a ensuite été évaporée à sec. On obtient 50 g d'extrait heptanique (rendement 1,6% m/m) et 300 g d'extrait méthanolique, SK 149-2 (rendement 10% m/m).

L'extrait méthanolique est actif sur *Plasmodium falciparum*. Le fractionnement de l'extrait est bioguidé par l'activité antipaludique.

➤ CC de 51 g de l'extrait brut méthanolique des feuilles

Une pâte de l'extrait réalisée avec de la silice épaisse est déposée sur une colonne de silice fine. Un gradient Heptane/AcOEt 8:2 jusqu'à 2:8 est utilisé comme éluant. 14 fractions sont obtenues.

Fractions	Masse (mg)	Rendement m/m
SK 151-A	139,6	0,27%
SK 151-B	368,7	0,72%
SK 151-C	66,7	0,13%
SK 151-D	39,3	0,08%
SK 151-E	220,7	0,43%
SK 151-F	414,3	0,81%
SK 151-G	231,1	0,45%
SK 151-H	1171,5	2,30%
SK 151-I	1173,1	2,30%
SK 151-J	554,9	1,09%
SK 151-K	948,8	1,86%
SK 151-L	1010	1,98%
SK 151-M	1396,7	2,74%
SK 151-N	22997	45,09%
	30732,4	60,26%

La fraction SK 151-K est la plus active sur *Plasmodium falciparum*.

➤ CC de 800 mg de la fraction SK 151-K

Une pâte de la fraction est déposée sur une colonne de silice fine et soumise à un gradient Heptane/acétone 8:2 jusqu'à 1:9.

13 fractions sont obtenues avec les proportions suivantes :

Fractions	Masse (mg)	Rendement m/m
SK 167-1	3,6	0,45%
SK 167-2	5,7	0,71%
SK 167-3	130,1	16,26%
SK 167-4	81,8	10,23%
SK 167-5	125,6	15,70%
SK 167-6	35,3	4,41%
SK 167-7	88,6	11,08%
SK 167-8	41,9	5,24%
SK 167-9	61,6	7,70%
SK 167-10	81,3	10,16%
SK 167-11	19,6	2,45%
SK 167-12	62,7	7,84%
SK 167-13	41,7	5,21%
	779,5	97,44%

La fraction SK 167-7, très active sur *P. falciparum* est ensuite étudiée.

➤ *CLHP préparative de 70 mg de la fraction SK 167-7*

Le fractionnement est réalisé en conditions isocratiques H₂O/CH₃CN 45 :55.

Un premier fractionnement, permettant d'isoler le pic majoritaire, est réalisé sur 25 mg de la fraction. 3 fractions sont obtenues (SK 169-1 à 3). Le pic majoritaire (SK 169-2) n'est pas le plus actif. Donc le fractionnement de la fraction SK 169-1 en 5 fractions et de 45 mg supplémentaires de SK 167-7 est conduit.

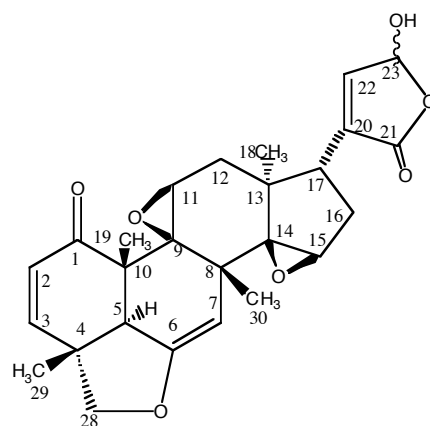
7 fractions sont obtenues :

Fractions	Masse (mg)	Rendement m/m
SK 169-1.1	3,1	4,43%
SK 169-1.2	1,6	2,29%
SK 169-1.3	2	2,86%
SK 169-1.4	2,1	3,00%
SK 169-1.5	9,5	13,57%
SK 169-2	7,7	11,00%
SK 169-3	25,3	36,14%
	51,3	73,29%

➤ *Purification de SK 169-2 par CLHP préparative*

La fraction est soumise à des conditions de solvant isocratique H₂O/CH₃CN 60:40 permettant d'obtenir 4 fractions (SK 169-21 à SK 169-24).

3.5.3 Caractérisation des produits obtenus

SK 167-10 Trichirubine A 100

$C_{26} H_{28} O_7$

m/z 452,2

laque jaune

$[\alpha]_D^{25} + 44$ (c 0,1 ; $CHCl_3$)

IR (KBr) ν_{max} 3419, 2929, 2386, 1760, 1681, 1455, 1383, 1258, 1094, 1018, 926 cm^{-1}

ES-MS (TOF) mode positif $[M+Na]$ 475,2074

MS-MS (infusion) mode positif $[M+Na]$ 475,2

MS-MS (infusion) mode négatif $[M-H]$ 451,2

SMIE 452 , 437 (15), 105 (27), 95 (65)

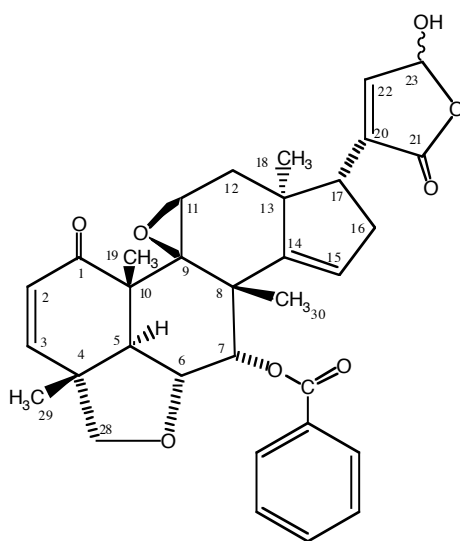
Les spectres de 1H RMN, ^{13}C RMN, COSY, HSQC, HMBC, NOESY ont été réalisés pour ce produit (600 MHz, CD_2Cl_2)

Tableau LXXV. Déplacements chimiques en RMN du ¹H et du ¹³C de SK 167-10

Massif de protons	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	J (Hz)	Nombre de protons	multiplicité
1	198,82 ; 198,84				
2	132,21 ; 133,33	5,84	10,2	1	d
3	150,82 ; 150,86	7,07	10,2	1	d
4	44,35				
5	53,87	3,278 3,282	2,6	1	d d
6	150,55				
7	100,24 ; 100,27	4,68 4,69	2,5	1	d d
8	41,65				
9	66,35				
10	47,62				
* 11	59,26	3,52		1	dd
* 12 α	35,13 ; 35,30	Signaux centrés à 1,99 ; 1,97	15,0	1	dd
* 12 β	35,13 ; 35,30	Signaux centrés à 1,99 ; 1,97	15,0	1	dd
13	41,65				
14	71,87				
15	54,82	3,36		1	s
# 16 α	30,52 ; 30,60	1,89 1,91	11,5	1	dd dd
# 16 β	30,52 ; 30,60	Signaux centrés à 2,10		1	dd
# 17	41,20	2,42 2,44	11,5 ; 6,6 ; 1,5	1	ddd ddd
18	19,43	0,73 0,76		3	s
19	19,10	1,41		3	s
20	137,59 ; 137,75				
21	171,25 ; 171,47				
22	146,70 ; 146,84	6,793 6,795	1,5 1,5	1	d d
23	96,90 ; 97,17	6,06 6,11		1	bs bs
28 α	81,56 ; 81,59	3,9	7,8	1	d
28 β	81,56 ; 81,59	4,1	7,8	1	d
29	21,48 ; 21,51	1,34		3	s
30	24,05	1,09 ; 1,10		3	s

* Le système de protons est un système du 2^{ème} ordre ABX. L'enchevêtrement des signaux du H-12 α avec le H-16 β n'a pas permis de déterminer avec précision les déplacements chimiques du CH₂-12. Le couplage J_{A-B} peut être lu directement sur les signaux du proton H-12 β .

Le système CH-17/CH₂-16 est un système que l'on peut traiter au 1^{er} ordre (la variation de déplacement chimique des protons H-16 α et H-16 β est de 10 fois supérieure à la valeur de J_{A-B}).

SK 169-24 Trichirubine B 101 $C_{33}H_{34}O_8$ m/z 558,04**ESI-SM mode négatif** [M-H] 557,03**SMIE** 558, 540 (0,5), 458 (0,7), 122 (33), 105 (100), 77 (80), 41 (48)

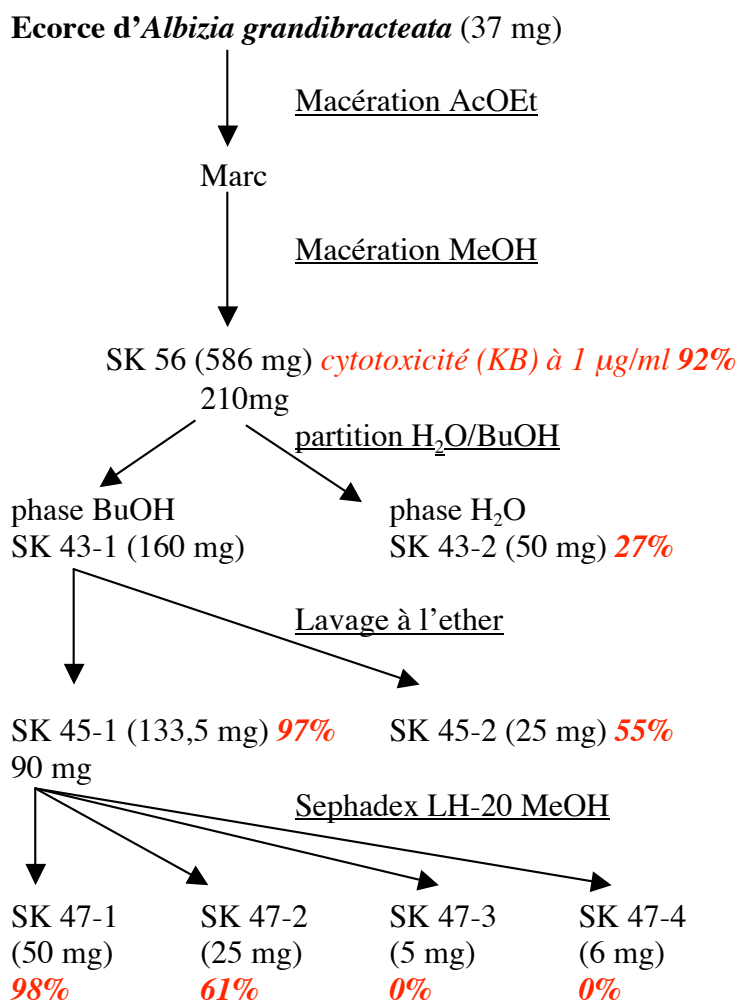
Les spectres de 1H RMN, ^{13}C RMN, COSY, HMBC, HMQC ont été réalisés (600 Mhz, CD_2Cl_2 +TFA)

Tableau LXXVI. Déplacements chimiques en RMN du ¹H et du ¹³C de SK 169-24

Atomes	¹³ C	δ ¹ H (ppm)	J (Hz)	multiplicité
1	202,50			
2	131,06	6,11	9,7	
3	154,00	7,23	9,7	d
4	43,08			
5	49,95	3,11	12,7	d
6	72,67	4,73	12,7 ;3,6	dd
7	79,21	5,85	3,6	d
8	45,73			
9	65,42			
10	47,90			
11	60,58	3,93		m
12	39,62	2,03 2,19	9,0	m m
13	45,80			
14	151,37			
15	126,96	5,84		bs
16	34,43	2,35		m
17	49,40	2,79		m
18	24,38	0,62		s
19	18,44	1,64		s
20	138,38			
21	173,52			
22		6,82		bs
23	97,85	6,10		bs
28	80,20	3,56 3,88	7,5	d d
29	21,13	1,37		s
30	26,66	1,64		s
1'	167,5			
2'	128,73			
3' 7'	130,17	7,91		
4' 6'	129,31	7,47		
5'	134,35	7,62		

3.6 Fractionnement bioguidé de l'extrait d'écorce d'*Albizia grandibracteata* (Mimosaceae) – Lot Ug. 17

Les écorces d'*Albizia grandibracteata* ont été fractionnées en fonction de leur activité cytotoxique sur cellules KB. Le protocole suivant a été utilisé.



4- Protocoles des essais biologiques

4.1 Essais trypanocides *in vitro* (*Trypanosoma brucei brucei*)

Service de Biologie et contrôle des organismes parasites de la Faculté de Chatenay-Malabry (France) d'après la méthode décrite par Loiseau et al. (2000) (Collaboration Philippe Loiseau).

Trypanosoma brucei brucei GVR 35/Cl.2 est utilisé pour le criblage des extraits *in vitro*. La souche *T. brucei brucei* est conservée dans l'azote liquide. On infecte des souris qui survivent 1 mois. 4 à 5 gouttes de sang sont prélevés avec une pipette stérile au niveau du sinus rétro-orbitaire d'une souris infectée depuis moins de 21 jours et le sang est mis en suspension dans le tube contenant le milieu de culture.

Tableau LXXVII. Composition du milieu de culture de *Trypanosoma brucei*

Produits	M.M. (g)	Quantité/100 ml
Béta-mercaptoethanol	78,13	1,4 µl
Hypoxanthine	136,10	1,36 mg
Thymidine	242,20	0,387 mg
Pyruvate de sodium	110	22 mg
Hepes	260,30	650 mg
Glucose		100 mg
NaHCO ₃		220 mg
Sérum de cheval décomplémenté		15 ml
Gentamycine		50 mg
MEM avec sels de Earle et L-Glutamine		Q.S.P. 100 ml

Après une homogénéisation, une filtration stérilisante est réalisée sur une membrane millipore de 0,4 µm. 5 ml de milieu de culture pour trypanosomes sont placés dans un tube stérile à fond conique maintenu dans la glace fondante. Après centrifugation à 2100 trs/min pendant 10 minutes à 4°C, le surnageant est éliminé dans des conditions stériles. Les parasites sont dénombrés à la cellule de Malassez et la culture est calibrée à raison d'environ 100 000 parasites /ml.

Dans chaque puits, est placé un volume de 195 µl, contenant 2 x 10⁴ parasites dans le milieu de culture (MEM, Gibco BRL), et 5 µl des extraits dilués dans du DMSO à la concentration souhaitée. La concentration en DMSO ne dépasse pas 2,5% (v/v). Les plaques sont ensuite placées à incuber à 37°C dans une atmosphère composée de 95% d'air et 5% de CO₂. Des puits recevant les excipients sont préparés et servent de témoins.

La Concentration Minimum Effective (CME) est définie comme la concentration minimale à laquelle aucun parasite viable (non mobile) n'est observé microscopiquement après 1h et 24 heures d'incubation.

4.2 Essais sur les formes promastigotes de *Leishmania donovani*

Service de Biologie et contrôle des organismes parasites de la Faculté de Chatenay-Malabry (France), selon la méthode décrite par Mbongo et al. (1997) (Collaboration P. Loiseau).

Des promastigotes de *Leishmania donovani* (MHOM/IN/80/DD8) ont été utilisés pour les tests biologiques *in vitro*.

Les promastigotes sont cultivés dans le milieu préparé de la façon suivante : le RPMI 1640 et la L-glutamine tamponnés avec du milieu HEPES (25 mM) sont enrichis avec 10% de sérum de veau foetal (Fetal Calf Serum FCS) et 50µg/ml de gentamycine. La culture de promastigotes est maintenue à 27°C dans l'obscurité. Le criblage est réalisé dans des plaques 96 puits. Les promastigotes issus d'une culture en phase de croissance logarithmique sont mis en suspension à la concentration de 10⁶ parasites/ml, calibrée par comptage à l'hémocytomètre. Chaque puits est rempli avec 200 µl de suspension de parasites, et les plaques multipuits sont placées à incuber à 27°C pendant 1 heure avant d'ajouter les extraits. Les extraits devant être testés sont dissous dans le DMSO et distribués aux concentrations souhaitées dans chaque puits. Jusqu'à une concentration de 2% (v/v), le DMSO n'a pas d'effet sur la croissance des parasites. La viabilité des promastigotes est vérifiée microscopiquement ou en utilisant une méthode colorimétrique (MTT). Les résultats sont exprimés en termes de concentrations inhibant la croissance de 50% des parasites (CI₅₀) après une période d'incubation de 3 jours.

4.3 Essais anti-paludiques

Laboratoire de Biologie fonctionnelle des protozoaires du Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris (collaboration Professeur Philippe Grellier et Mehdi Labaied).

La souche FcB1 de *Plasmodium falciparum*, résistante à la chloroquine est utilisée. Le milieu de culture de *Plasmodium falciparum* est préparé d'après le protocole suivant :

À partir d'un milieu de RPMI 1640 contenant 25 mM HEPES, on ajoute 2 g/l de glucose, 2 g/l d'hydrogénocarbonate de sodium et 10 ml/l d'antibiotiques (100 µg/ml de streptomycine et 100 IU/ml de pénicilline). On complète à 5 l avec l'eau distillée. Le pH est ajusté à 7,4 avec de la soude 5M, le milieu est ensuite filtré stérilement sur des filtres 0,22 µm sous hotte à flux laminaire et stocké à 4°C. Avant son utilisation, on ajoute au milieu préparé 7% (v/v) de sérum humain décomplémenté.

Une culture asynchrone de parasites est préparée (Trager & Jensen, 1976). Les parasites sont maintenus en culture *in vitro* à 37°C sous atmosphère à 3% de CO₂, 6% d'O₂ et 91% de N₂ avec une parasitémie (rapport entre le nombre de globules rouges parasités et le nombre de globules rouges sains) de 1 à 10% et un taux d'hématocrite (rapport entre le volume de cellules et le volume de milieu de culture) de 2%. Pour évaluer la parasitémie, on réalise un frottis de l'échantillon, fixé et coloré (Diff Quick™). Les globules rouges sont observés au microscope photonique à immersion, et les formes en anneau, les trophozoïtes et les schizontes sont recensés. Si la parasitémie est trop élevée (>20%), les parasites risquent de dégénérer : on dilue alors le culot avec les hématies saines et le milieu de culture.

L'activité antipaludique est évaluée selon la méthode de Desjardin *et al.* (1979) par incorporation d'un précurseur d'acide nucléique radiomarqué, l'hypoxanthine tritiée dans l'ADN parasite, les hématies étant anucléées.

On prépare une culture asynchrone de *Plasmodium falciparum* à 2% d'hématocrite et 1% de parasitémie. Dans chaque puits, 5 μ l des produits à tester dissous dans du DMSO sont distribués dans 100 μ l de milieu de culture auxquels on ajoute 100 μ l de la culture d'hématies parasitées préparée. Des puits témoins contenant du DMSO sont réalisés. Les plaques sont incubées à 37°C pendant 24h dans une atmosphère appauvrie en O₂. 25 ml d'hypoxanthine tritiée (0,25 μ Ci/25 μ l) sont ensuite distribués dans chaque puits et les plaques sont incubées dans les mêmes conditions pendant 18h puis congelées à -80°C pendant 3 heures minimum et décongelées pour lyser les érythrocytes. L'ADN des différents puits est récupéré sur filtre et la radioactivité incorporée mesurée à l'aide d'un compteur à scintillation. Pour chaque extrait, on détermine la CI₅₀ à partir d'une courbe de fonction :

$$\% \text{ d'inhibition} = \log (\text{concentration de l'extrait}).$$

4.4 Tests de cytotoxicité sur cellules cancéreuses

Christiane Gaspard a réalisé les essais de cytotoxicité à l'ICSN.

La lignée de cellules KB provient d'un carcinome épidermoïde de la langue et du plancher de la cavité orale d'un chauffeur de taxi de 54 ans (Eagle, 1955; Shoemaker *et al.*, 1983). Elles ont été prélevées en 1954 et entretenues depuis.

Les cellules KB sont entretenues par repiquage en flacon plastique et repiquées deux fois par semaine. Deux cultures arrivées à confluence sont lavées avec du P.B.S. puis les cellules sont décollées par la trypsine à 0,25%. Après 10 minutes d'incubation à 37°C, et centrifugation pendant 5 minutes à 6000 tours/min, le culot cellulaire servant au repiquage est repris par 3 ml de 199/HEPES et placé 4 jours à l'étuve à 37°C sous 5% de CO₂.

Pour la réalisation du test, le culot cellulaire est repris par 20 ml de 199/hydrogénocarbonate de sodium et la solution est calibrée de sorte que chaque puits des plaques multipuits reçoive 75 000 cellules dans 2 ml.

Les extraits dissous dans le DMSO sont déposés aux concentrations souhaitées, en double. Deux témoins avec les solvants et deux avec l'adriblastine à 10⁻⁷ M sont préparés. Les plaques sont placées à l'étuve pendant 3 jours.

200 μ l de rouge neutre (solution à 1% de rouge neutre dans un mélange eau/éthanol (1 :1) diluée à 50 fois) sont ajoutés et les plaques sont laissées à l'étuve pendant une nuit. Le lendemain, les plaques sont vidées, rincées au P.B.S., égouttées et 1 ml de S.D.S. à 1% est déposé dans chaque puits pour solubiliser le tapis cellulaire. Le rouge neutre marque les cellules vivantes (Borenfreund & Puerner, 1985) : on mesure la densité optique à 540 nm.

$$\% \text{ inhibition} = (1 - (\text{DO}_{\text{essais}} / \text{DO}_{\text{témoins}})) \times 100$$

Tableau LXXVIII. Composition du milieu de culture 199/hydrogénocarbonate de sodium (500 ml) pour cellules KB

199	50 ml
Sérum de veau nouveau-né	20 ml
L-Glutamine 2 mM	5 ml
Penicilline 1000 UI/ml et Streptomycine 10000 UI/ml	2.5 ml
Gentamycine 25 mg/ml	1,25 ml
Hydrogénocarbonate de sodium à 7,5%	25 ml
Eau purifiée stérile	360 ml

4.5 Évaluation *in vitro* de l'activité anthelminthique

Service de Biologie et contrôle des organismes parasites de la Faculté de Chatenay-Malabry (France) (collaboration C. Bories).

Les *Rhabditis pseudoelongata* ont été isolés de selles de lapins sauvages et sont entretenus sur des déjections stérilisées de lapins. On récupère les vers d'une culture datant de 10 jours par la technique de Baermann. Les *Rhabditis* isolés sont un mélange d'adultes et de larves de stades I à IV. Une solution calibrée est réalisée de façon à déposer environ 200 vers dans chaque puits de plaques 24 puits. Les extraits, dilués dans du DMSO, sont placés aux concentrations souhaitées dans chaque puits que l'on complète à 500 µl avec de l'eau stérile. Les *Rhabditis* vivants sont comptés à la loupe binoculaire à t = 2h et 24h et comparés aux vers des puits témoins. Les résultats sont exprimés en DL₅₀ (dose létale 50%), dose qui tue 50% de la population de vers.

4.6 Autres essais antimicrobiens

Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles du Muséum National d'Histoire Naturelle dirigé par le Professeur B. Bodo (collaboration Valérie Bultel-Poncé).

4.6.1 Mesure des diamètres d'inhibition par diffusion en milieu solide (technique des disques)

Les souches bactériennes et fongiques utilisées pour les essais sont présentées dans le tableau LXXIX.

Tableau LXXIX. Souches utilisées et milieu de culture pour la réalisation d'essais antibiotiques et antifongiques

	<u>espèce</u>	<u>référence</u>	<u>Milieu de culture</u>	<u>Température de culture</u>
Souches bactériennes	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	Mueller Hinton	37° C
	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	Mueller Hinton, (isolement sur Luria Bertoni)	37°C
Souches fongiques	<i>Candida tropicalis</i>	LCP 01.4478, ATCC 66029	Sabouraud	27°C
	<i>Penicillium crustosum</i>	LCP 75.3045	Malt Agar Extract	

Les milieux de culture nécessaires ont été préparés en suivant le protocole présenté ci-après.

Tableau LXXX. Composition des milieux de culture des souches antibiotiques et antifongiques

<u>Luria Bertoni</u>	
Tryptone	10 g/l
Extrait de levure	5 g/l
NaCl	5 g/l
Agar	15 g/l
<u>Malt Agar Extract</u>	
Malt	20 g/l
Agar	20 g/l
<u>Mueller Hinton</u>	
Infusion de bœuf	4 g/l
Amidon	1,5 g/l
Hydrolysate de caséine	17,5 g/l
Agar	15 g/l
pH 7,4	
<u>Sabouraud</u>	
Glucose	20 g/l
Peptone	10 g/l
Gélose	15 g/l

500 µg de l'extrait dissous dans 20 µl de solvant (méthanol) sont déposés sur des disques de papier filtre de 8 mm de diamètre.

Les boîtes de pétri gélosées sont inondées avec les colonies microbiennes mises en suspension puis l'excès de suspension est réaspiré. Les boîtes sont séchées 15 minutes à 37°C. Les disques secs sont déposés sur la boîte de pétri à 15 mm de la périphérie de la boîte en appuyant légèrement sur le disque pour favoriser le contact. Le nombre de disques et leur disposition doivent être tels que les zones d'inhibition ne risquent pas de se recouper. Les boîtes sont placées en étuve à 27°C ou 37°C selon la souche pendant 18 heures.

Le diamètre des zones d'inhibition est mesuré à l'aide d'une règle. Si aucune colonie ne pousse dans la zone d'inhibition l'extrait est considéré comme bactéricide, si par contre quelques colonies sont observées (en densité faible), l'extrait est défini comme bactériostatique.

4.6.2 Évaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de dilution en milieu liquide

Seuls les résultats des tests d'inhibition de la croissance des souches de *S. aureus* étant significatifs, la détermination des concentrations minimales inhibitrices a été réalisée pour cette souche. 100 μ l de *Staphylococcus aureus* sont inoculés dans 10 ml de milieu Luria Bertoni et placés 2 heures, en agitant, dans une étuve à 37°C. L'absorbance à 620 nm est mesurée après 2 heures. Lorsqu'elle atteint 0,2 à 0,4 nm la culture est prête à être utilisée (elle est en phase de croissance exponentielle). La culture est placée dans la glace et diluée avec le milieu Luria-Bertoni pour atteindre une valeur théorique de $A_{620} = 0,001$. L'extrait dissous dans le DMSO est placé à la concentration souhaitée dans une plaque 96 puits et le puits est complété à 100 μ l avec la suspension bactérienne. Des puits-témoins sont réalisés avec des solutions de DMSO et de suspension bactérienne. La plaque est mise à incuber à 30°C pendant 18h, en maintenant une agitation à 250 RPM.

La lecture de la densité optique à 620 nm permet de déterminer la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI), qui est la plus faible concentration pour laquelle aucune croissance n'est observée. Le contenu du puits où aucune croissance n'est observée est alors cultivé dans des boîtes de pétri en utilisant du milieu de Mueller-Hinton, afin de confirmer l'activité de l'extrait et de définir l'effet bactéricide ou bactériostatique de l'extrait après 48h d'incubation. Si aucune pousse de bactéries n'est observée, la CMI est validée.

4.7 Tests d'immunomodulation

Service d'Immunologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort à Maisons-Alfort, grâce à la collaboration du Professeur Quintin-Colonna et l'aide technique de Françoise Gavard.

Un test de prolifération lymphocytaire des splénocytes a été réalisé. Des rates de souris sont prélevées et broyées, dans un homogénéiseur Potter. Les cellules sont ajustées à la concentration voulue et les extraits bruts sont placés à incuber avec les splénocytes dans des plaques multipuits pendant 48h. La thymidine tritiée est ajoutée et après une incubation de 18h, les cellules sont récupérées sur un filtre et la radioactivité de l'ADN tritié est évaluée. Des puits témoins reçoivent la concanavaline A et le DMSO.

4.8 Tests anti-VIH

L'équipe dirigée par A.M Aubertin à l'*Institut de Virologie de la faculté de Médecine de Strasbourg* a évalué l'effet des extraits bruts des plantes sur la réplication du VIH dans trois types de cellules (MT-4, CEM-SS, PBMC) (Moog *et al.*, 1994).

4.8.1 Sur cellules MT4

Les cellules MT-4 sont infectées par une dose de VIH-1 (souche HTLV IIIB) qui induit un effet cytopathogène, diminuant de 90% le nombre de cellules vivantes en 5 jours. Cette dose est déterminée en évaluant l'activité de la transcriptase inverse (RT) relarguée par les MT-4 infectés. Après adsorption du virus (30 min à 37°C) dans le milieu, les cellules

infectées sont calibrées à 2×10^5 cellules/ml et les extraits sont ajoutés à différentes concentrations.

Composition du milieu de culture

RPMI 1640 complétement avec 20% de sérum de veau foetal (FCS)
Pénicilline 100 UI/ml
Streptomycine 100 μ g/ml
Glutamine 2 mM

La viabilité des cellules est mesurée par la réaction colorimétrique (MTT) basées sur la capacité des cellules vivantes grâce aux déshydrogénases mitochondriales à réduire le 3-(4,5 diméthylthiazol-2-yl)-2,5 diphényltétrazolium bromide en formazan. La quantité de formazan produite (DO à 540 nm) est proportionnelle au nombre de cellules vivantes. L'effet toxique des composés sur les cellules MT-4 non infectées est mesuré par la même réaction colorimétrique. La concentration cytotoxique 50% (CC_{50}) est la concentration d'extrait produisant une diminution de moitié de la DO_{540} par rapport aux cellules témoins.

S'il y a lieu, la concentration de l'extrait conférant une protection de 50% (CI_{50} = concentration inhibant la réplication virale de 50%) est calculée.

4.8.2 Sur cellules PBMC

La multiplication du VIH-1 (souche HTLV IIIB et souche BaL) dans les cellules PBMC est évaluée *après 7 jours de culture* par dosage de la transcriptase inverse (RT). Après adsorption du virus dans le milieu de culture, les cellules sont lavées et les extraits sont ajoutés à hauteur de $0,4 \times 10^6$ cellules/ml dans du RPMI 1640 complétement avec 10% de FCS et 20U/ml de Il-2. Après 5 jours, 100 μ l de milieu sont éliminés et remplacés par un même volume de milieu frais contenant la même concentration d'extrait. Au 7^{ème} jour, la quantité de virus relargués par les cellules est estimée en fonction de la quantité de RT. L'effet toxique des extraits sur les cellules PBMC non infectées est mesuré par la réaction colorimétrique au MTT après 7 jours d'incubation.

4.8.3 Sur cellules CEM-MS (cellules issues d'une lignée lymphoblastique)

La multiplication du VIH-1 (souche LAI) dans les cellules CEM-MS est évaluée *après 5 jours de culture* par dosage de la transcriptase inverse (RT). L'effet toxique des extraits sur les cellules CEM-MS est appréciée par la réaction colorimétrique MMT décrite ci-dessus.

III- DISCUSSION ET PERSPECTIVES

A- EFFETS POTENTIELS DE L'ALIMENTATION SUR LA SANTE DES CHIMPANZES

1- Composition du régime alimentaire et comportement alimentaire des chimpanzés de Kanyawara

L'examen du comportement et du régime alimentaire des chimpanzés dans cette étude a pour objectif d'évaluer l'effet éventuel des items consommés sur leur état physiologique. Afin de déterminer les aliments susceptibles d'agir sur leur état sanitaire, il est nécessaire de reconnaître les plantes faisant partie, ou non, de leur alimentation courante. En effet, si des aliments potentiellement actifs sont consommés, des effets secondaires sont souvent inhérents à leurs activités biologiques et pourraient être toxiques, s'ils étaient consommés régulièrement, fréquemment et en quantité importante.

Les données de long terme sur ce groupe, la bibliographie et nos observations sur l'écologie des chimpanzés doivent permettre de reconnaître des comportements particuliers et des plantes inhabituelles parmi la liste des plantes consommées. La sélection des aliments en termes de composition nutritionnelle (protéines, glucides, énergie...) et de disponibilité dans le milieu, a été étudiée dans différents sites où sont observés les chimpanzés, et ces données peuvent permettre de mieux appréhender les multiples facteurs qui guident les choix alimentaires des chimpanzés. En effet, la faible consommation d'un aliment n'est pas forcément due à une forte teneur en composés secondaires : les différents critères qui influencent la composition du régime alimentaire des chimpanzés seront discutés.

1.1 Budget d'alimentation

Le budget d'activité des chimpanzés de Kanyawara, et en particulier le temps passé à s'alimenter (47,7%), est similaire à celui observé dans d'autres études. Le régime alimentaire des chimpanzés lors de cette étude est principalement frugivore et le temps passé à consommer des fruits (81%) (et par complément, celui passé à manger les parties végétatives des plantes) est proche de celui observé lors des études précédentes menées à Kibale (Chapman *et al.*, 1994 ; Wrangham *et al.*, 1992 ; Wrangham *et al.*, 1996). Au cours des observations d'Isabirye-Basuta (1989), le temps passé à consommer des fruits était plutôt semblable à celui observé dans d'autres communautés, comme celles de Gombe en Tanzanie ou de Sonso, en Ouganda (Wrangham, 1977 ; Goodall, 1986 ; Newton-Fisher, 1999). La consommation de fruits est donc particulièrement importante dans la communauté de Kanyawara. On y souligne l'absence de consommation d'insectes alors que cette activité occupe, certains mois, près de 20% du temps d'alimentation des chimpanzés de Gombe, par

exemple (Goodall, 1986), ce qui peut expliquer des proportions différentes entre les types d'aliments pour les différentes communautés de chimpanzés.

Tableau LXXXI. Comparaison des temps d'alimentation et de la part des fruits dans le régime alimentaire des chimpanzés de trois communautés.

communautés	Gombe		Sonso	Kibale				
période d'étude		1978-79	1994-95		1988-92	14 jours	1991-93	2000-2001
	Wrangham, 1977	Goodall, 1986	Newton-Fisher, 1999	Isabyrie-Basuta, 1989	Chapman <i>et al.</i> , 1994	Wrangham <i>et al.</i> , 1992	Wrangham <i>et al.</i> , 1996	Cette étude
Temps d'alimentation		50% (35-70%)	48,80%				54,3% (49,8-59,2%)	47,70%
Consommation de fruits (% du temps d'alimentation)	63%	59-60%	64,50%	61,30%	82,10%	71,70%	79%	81%

Ces caractéristiques montrent que, pour ces paramètres, notre étude ne s'écarte pas de façon significative des observations habituelles réalisées sur ces chimpanzés.

Wrangham (1977) souligne la grande diversité des aliments consommés par les chimpanzés de Gombe (13 aliments différents par jour, avec 40 à 60 aliments par mois en moyenne). Dans notre étude, le nombre moyen d'aliments consommés par mois est aussi élevé (de 11 à 34) : jusqu'à 29 espèces de plantes fournissent des aliments aux chimpanzés chaque mois, ce qui est supérieur aux 20 espèces maximales observées par Newton-Fisher (1999) sur 15 mois d'étude à Budongo. Les indices de diversité, H' et J' , varient, par contre, dans des gammes très similaires (cette étude : $1,5 < H' < 2,2$; $0,51 < J' < 0,77$; Newton-Fisher (1999) : $1,37 < H' < 2,15$; $0,49 < J' < 0,79$).

Malgré la relativement courte durée de cette étude, la diversité alimentaire des chimpanzés y est bien représentée.

1.2 Caractéristiques de la sélection alimentaire des chimpanzés

1.2.1 Une forte fibrosité de la ration alimentaire : du lest, des nutriments fermentescibles et des composés secondaires

Par leur apport en fibres fermentables (Conklin & Wrangham, 1994), la végétation terrestre herbacée (VTH) et les feuilles d'arbres peuvent apporter des nutriments à digestion plus lente (Wrangham *et al.*, 1996), peut-être plus utiles pendant la nuit que l'énergie directement assimilable fournie par les fruits, utilisable en cours de journée. De la même façon, en fonction de la qualité des parties végétatives, cette catégorie d'aliments peut constituer un apport nécessaire à l'équilibre du régime alimentaire, tant par la composition en nutriments que par le lest apporté par les fibres. On peut noter que même en période de très forte abondance en fruits, les chimpanzés quittent dans la soirée les arbres riches en fruits pour aller consommer des VTH (Hladik, 1977 ; Wrangham, 1977).

En effet, la fibrosité des parties végétatives est un élément à prendre en considération, à cause du volume et du poids apporté. Les déplacements rapides en cours de journée et les nombreuses visites et ascensions d'arbres pourraient être affectés par un estomac et un tube digestif trop remplis. Par contre, en soirée, avant la construction des nids, le bénéfice d'un

bolus volumineux, libérant tout au long de 12 heures de nuit de l'énergie et limitant la sensation de faim, semble considérable.

Les restes alimentaires peuvent fournir des informations sur la quantité de fibres consommées par les chimpanzés. Afin de comparer les résultats des différentes études où la fibrosité est mesurée sur des échelles différentes, des ajustements doivent être effectués. Si l'on rapporte les résultats des 73 échantillons de l'étude de Malenky & Wrangham (1994) mesurés sur une échelle allant de 0 à 4 aux nôtres (échelle de 0 à 3), la fibrosité moyenne est de 2,09 ce qui correspond à la fibrosité mesurée en décembre 2000 à Kanyawara. Les selles inspectées lors de l'étude des chimpanzés de Ndoki par Kuroda *et al.* (1996) ont une fibrosité de 5 à 55% selon les mois de l'étude soit sur une échelle de 0 à 3, une fibrosité qui varie entre 0,15 et 1,65.

Les résultats de notre étude sont donc proches de ceux obtenus dans les études précédentes, portant sur d'autres communautés.

Dans les restes trouvés dans les fèces au cours de notre étude, la diversité des graines en octobre 2000 est très faible. Par contre, une très forte proportion des échantillons (94%) contient des graines de *Ficus* spp. et la fibrosité des selles est élevée. En janvier 2001, la diversité des graines trouvées dans les fèces est la plus forte de l'étude (1,49) et la fibrosité est alors la plus faible. On note que, sur l'ensemble de l'étude, la diversité des fruits, détectée par l'observation des fèces, est faible, comme déjà observé chez les chimpanzés de Ndoki (Kuroda *et al.*, 1996) et de Kahuzi-Biega National Park en RDC (Yamagiwa *et al.* 1996). Le nombre d'espèces de fruits varie respectivement pour les deux études entre 0,3 et 3,5 entre décembre 1991 et Novembre 1992, et entre 1 et 5, avec un pic lors des deux mois de saison sèche. A la Lopé, Fernandez et Tutin (1990) ont analysé 813 selles qui contenaient entre 0 et 7 espèces de fruits/fèces, la classe la plus représentée contenant seulement 2 espèces de fruits.

Ces observations corroborent les hypothèses faisant des VTH des aliments de repli pour les chimpanzés, lorsque les fruits sont peu disponibles dans l'environnement.

Par contre, on peut remarquer que les graines de *Ficus* spp., présentes dans les selles régulièrement, sont aussi plus abondantes, quand la diversité des fruits est moins grande.

➤ *Les facteurs chimiques limitant la consommation de VTH chez les chimpanzés*

Le contenu chimique des VTH et des feuilles d'arbres ingérées a probablement un effet sur la composition qualitative et quantitative du régime alimentaire : l'hypothèse d'une fonction écologique des tanins en tant que défense des plantes vis-à-vis des prédateurs, présentée dans la première partie de cette thèse, suggère un impact important de ces métabolites secondaires.

Bate Smith (1972) a souligné que, dans son étude, le point commun entre toutes les plantes consommées par les gorilles des montagnes était leur faible teneur en tanins. L'analyse des plantes consommées par les guérezas de Kibale (Oates *et al.*, 1977) confirme que les plantes les moins consommées ou évitées par ces singes ont un taux de tanins supérieur à 0,2% (poids sec). La perception de l'astringence des tanins par les primates est imparfaitement connue, mais on sait par contre que les humains peuvent détecter les tanins à une concentration de 0,01 à 0,1% (Swain, 1979 cité par Wrangham & Waterman, 1983). Une étude récente (Simmen & Charlot, 2003) montre que des solutions d'acide tannique à 40mM sont évitées par les chimpanzés lors des tests, ce seuil étant proche de celui des humains. Même si le taux d'alcaloïdes semble avoir un effet plus léger sur la sélection par les guérezas,

il est possible qu'une sorte d'équilibre soit recherché : les feuilles matures de *Celtis durandii* sont assez souvent consommées, malgré un taux de tanins élevé (1,12 mg/g). Harborne (1988) suggère que le faible contenu en alcaloïdes (3,48 µg/ml) peut contre-balancer cette forte proportion de tanins.

Tableau LXXXII. Teneurs en certains composés secondaires dans les feuilles consommées par les chimpanzés de Kanyawara, selon (a) Gartlan *et al.*, 1980 et (b) Oates *et al.*, 1977, (exprimées en poids sec de feuilles).

Espèces	Indice de consommation	Pro-anthocyanidines (%)		Tanins (mg/g)		Alcaloïdes (µg/g)		
		jeunes feuilles (a)	feuilles matures (a)	jeunes feuilles (b)	feuilles matures (b)	(a) (analyses chromatographiques)	jeunes feuilles (b)	feuilles matures (b)
<i>Bosqueia phoberos</i>	1		1,05			Oui		
<i>Cassipourea ruwensorensis</i>	1	26,64	16,24			Non		
<i>Celtis africana</i>	2	0,03	0,75	0,2	0,45	Non	6,5	4,2
<i>Celtis durandii</i>	1		0,16	0,30	1,12	Oui	1,58	3,48
<i>Diospyros abyssinica</i>	1	0,65	0,55		2,85	Douteux		11,3
<i>Ficus exasperata</i>	1			0,5	0,01		13,8	4,2
<i>Markhamia platycalyx</i>	1	0,09	0,1	0,02		Douteux	8,1	
<i>Milletia dura</i>	1	2,49	2,39			Douteux		
<i>Mimusops bagshawei</i>	1	10,36	16,15			Non		
<i>Strombosia scheffleri</i>	avec la viande		1,30			Oui		
<i>Trema orientalis</i>	0				81,5			5,02
<i>Uvariopsis congensis</i>	1	0,13	0,24			Oui		

D'après l'analyse d'Oates *et al.* (1977), les jeunes feuilles de *Celtis africana* qui sont les feuilles les plus consommées par les chimpanzés pendant notre étude, ont une teneur en tanins de 0,2 mg/g et contiennent 6,5 µg/g d'alcaloïdes, mais l'étude chromatographique de Gartlan *et al.* (1980) ne confirme pas la présence d'alcaloïdes. On peut souligner qu'une très forte teneur en tanins a été détectée dans les feuilles de *Trema orientalis* qui ne sont consommées ni par les chimpanzés ni par les guérezas. Les résultats, parfois contradictoires obtenus par les méthodes semi-quantitatives, déjà observés personnellement lors de l'étude de plantes consommées par des chimpanzés réintroduits en République du Congo (travail de DEA), soulignent l'importance d'une étude plus approfondie. On peut supposer que les variabilités peuvent aussi être dues à la saison, aux variations individuelles de compositions chimique ou à des localisations de récolte différentes. Dans le cas des alcaloïdes, les faibles teneurs peuvent correspondre à la présence d'amines ou de petits peptides (T. Sévenet, comm.pers.).

➤ *La végétation terrestre herbacée (VTH) : une classe d'aliments dit de repli, facteur de cohésion sociale ?*

La part des fruits et de la végétation terrestre herbacée dans le régime alimentaire est sujette à un grand nombre d'études, notamment parce qu'il apparaît que les ressources alimentaires influencent grandement l'organisation sociale des communautés de primates et particulièrement celles des Grands Singes (Wrangham *et al.*, 1996).

Les arbres fournissant les fruits sont souvent dispersés et la quantité disponible conditionne alors la taille du groupe. En période de déficit en fruits, la recherche de nourriture implique des déplacements plus longs, et donc un coût énergétique supérieur, si les membres du groupe sont trop nombreux. L'énergie déployée par des mères chimpanzés devant porter

des enfants est plus élevée et la rapidité de déplacement entravée. La taille des groupes est donc généralement réduite en période de faible disponibilité.

La végétation terrestre herbacée est souvent définie comme un **aliment de repli** (*fallback food*) garantissant l'apport nutritionnel lorsque les fruits sont rares. L'hypothèse selon laquelle, la forte cohésion et la grande taille des groupes sociaux de gorilles des montagnes (*Gorilla gorilla beringei*) (Watts, 1984) et de bonobos (Malenky *et al.*, 1994) peuvent s'expliquer par la grande disponibilité de la végétation herbacée dans leur habitat a été remise en cause par les observations menées sur les communautés de chimpanzés de Kanyawara et de Gombe. À Gombe, en période de faible disponibilité en fruits, les VTH sont rares. Les chimpanzés se déplacent alors en plus petits groupes, les femelles passent plus de temps seules, et les individus souffrent alors des mauvaises conditions d'alimentation (perte de poids, mortalité, reproduction faible). À Kanyawara, au contraire, la VTH est toujours disponible lorsque les fruits sont rares. Même si les densités de VTH à Kibale (0,89) sont plus faibles qu'à Lomako (2,02) et Ndoki (2,25) (Malenky *et al.*, 1994), la présence et la consommation de VTH n'impliquent cependant ni une plus grande stabilité sociale dans la communauté de chimpanzés, ni des tailles de groupes de femelles plus grands (Wrangham *et al.*, 1996).

La taille des groupes sociaux semble donc être influencée par un autre facteur.

1.2.2 Les figues, aliment de base pour les chimpanzés de Kanyawara ?

➤ L'importance des figues dans l'alimentation

Nos résultats soulignent tout particulièrement l'importance des figues dans l'alimentation des chimpanzés de Kanyawara. Toutes parties de plantes confondues, leur consommation occupe plus de 50% de l'alimentation et trois espèces de fruits de *Ficus* spp. sont consommées pendant plus de 10% du temps d'alimentation. Deux espèces dominent le régime alimentaire pendant notre étude (*F. natalensis* et *brachylepis*). Pendant 2 des 4 mois d'étude, l'aliment le plus consommé appartient à une espèce de *Ficus* sp. (Décembre 2000 : *F. dawei*, janvier 2001 ; *F. brachylepis*). En février 2001, un temps équivalent est consacré à la consommation de fruits de *Cordia abyssinica* et de *Ficus natalensis*. Les graines de *Ficus* spp. sont aussi particulièrement abondantes dans les selles : au cours des 4 mois d'étude, plus de 50% (de 55 à 94%) des selles contenaient des graines de figues.

☞ *La brièveté de cette étude, malgré deux périodes distinctes d'observation, induit-elle un biais saisonnier dans la composition du régime alimentaire, procurant aux figues une place particulière, inhabituelle ?*

➤ Le rôle particulier des figues à Kanyawara

La consommation de figues par les chimpanzés est bien documentée. Conklin et Wrangham (1994) ont analysé la valeur nutritionnelle de 9 espèces de figues de Kanyawara et ils ont montré que les figues ont une teneur en sucre (glucides solubles) plus faible que les drupes et qu'elles procurent moins de carbohydrates digestibles. Il existe à Kanyawara une forte corrélation négative entre la consommation des figues et celle des autres fruits (Wrangham *et al.*, 1996). De plus les figues sont très souvent disponibles : de décembre 1987 à septembre 1993, il n'y avait pas de figues disponibles pendant seulement 1,2 mois/an, contre 4,5 mois/an sans fruits en moyenne. Mais lorsque des fruits sont disponibles, ils sont consommés plus souvent que les figues.

Ceci conduit à suggérer que les figues doivent être considérées comme le premier type d'aliment de repli. Les VTH sont donc classées comme second aliment de repli et les auteurs de l'étude suggèrent qu'il faudrait, pour être en accord avec l'hypothèse préalable sur le rôle des VTH dans la socio-écologie des chimpanzés, définir deux catégories de VTH, en fonction de leur qualité nutritionnelle. À Kanyawara, qui n'est pas représentatif du cas général des chimpanzés (Wrangham *et al.*, 1996), il semblerait donc que les VTH soient majoritairement de faible qualité (pauvres en protéines et riche en cellulose), expliquant que le choix des animaux se porte préférentiellement sur les figues. Malenky et Wrangham (1994) ont, de fait, montré que le taux de protéines des tiges de neuf espèces consommées par les chimpanzés de Kanyawara (9,3%) était très inférieur à celui des tiges de *Haumania liebrechstiana* consommées par les bonobos de Lomako (30,6%).

➤ *Apport nutritionnel des figues*

L'énergie métabolisable (EM) apportée aux chimpanzés par les figues semble pouvoir être comparée à celle fournie, par exemple, par les patates douces, les pommes de terre ou encore le riz complet aux humains. Parmi les 9 espèces étudiées, les fruits de *Ficus natalensis* ont l'EM la plus faible (147,6 cal/g) ; elles sont pourtant l'aliment le plus consommé pendant notre étude, mais aussi au cours des trois années 1991-1993 étudiées par Wrangham *et al.* (1996) où leur consommation représente 16,8 % du temps d'alimentation. Les fruits de *F. brachylepis* –l'aliment occupant la seconde place parmi les fruits les plus consommés de notre étude-, *F. exasperata* –occupant 11,1% de l'alimentation lors de l'étude de Wrangham *et al.* (1996), et *F. asperifolia* ont une EM supérieure à 300 cal/g, similaire à celle des pommes de terre (378 cal/g).

Le taux de protéines brutes des figues de *F. asperifolia* et *F. exasperata* est aussi particulièrement élevé (16,3 et 17,4 %), comparé à celui de *F. mucoso* (6%). L'étude, menée sur l'ensemble des aliments consommés par les chimpanzés de Kanyawara, montre qu'ils contiennent un taux moyen de protéines brutes de 9,5%, et près de 15% de glucides solubles, 2,5% de lipides et 34% de parois cellulaires (NDF : neutral detergent fibre) (Conklin-Britain *et al.*, 1998). Par conséquent, l'apport protéique constitué par les figues ne semble pas négligeable. Les taux protéiques des figues consommées par d'autres grands singes semblent plus faibles (3,5%) comparés à ceux des figues de Kanyawara dans la même étude (7,9%) (Wrangham *et al.*, 1991).

Par contre, les glucides solubles sont particulièrement faibles (12,6%) par rapport aux autres sites (32,4%). Contrairement à l'étude de Rogers *et al.* (1990), Wrangham *et al.* (1991) soulignent que les tiges n'apportent pas non plus un taux significatif de glucides. Les tiges pourraient plutôt fournir de l'énergie par fermentation des fibres (Conklin & Wrangham, 1994).

Compte tenu de la disponibilité quasi-permanente des figues dans l'environnement, de leur consommation très régulière et de leur apport nutritionnel, les figues peuvent être considérées plus comme un **aliment de base** ou **aliment clé**, que comme un aliment de repli (Newton-Fisher, 1999), expliquant que durant les quatre mois d'observation, les figues figurent, chaque mois, parmi les deux fruits les plus consommés.

À Mahale, une étude a montré que si les fruits consommés contenaient en moyenne plus de carbohydrates que les feuilles, les calories apportées par ces deux types d'aliments ne différaient pas significativement. Cependant, le contenu en carbohydrates et les calories

apportés par les fruits consommés pendant plus de 15% du temps sont significativement plus élevés que ceux des fruits moins consommés (Matsumoto-Oda & Hayashi, 1999).

☞ Ces résultats conduisent à suggérer que les chimpanzés tendent à choisir des fruits riches en carbohydrates, leur perception gustative ayant probablement évolué de façon particulière envers le goût sucré. Cette sélection, basée sur les carbohydrates, leur permet d'accéder à des plantes fournissant de l'énergie directement utilisable et par conséquent, des calories nécessaires aux activités quotidiennes.

➤ Les figes, des aliments riches en substances anti-nutritionnelles

Les aliments de repli sont souvent plus riches en substances anti-nutritionnelles (*antifeedant*) que les fruits - autres que les figes- consommés (Tableau LXXXII).

Ainsi, les fruits mûrs de *Celtis* sp., de *Mimusops bagshawei* et d'*Uvariopsis congensis*, qui font partie des fruits préférés des chimpanzés de Kanyawara (cf 2^{ème} partie, I-A), contiennent très peu de tanins condensés et totaux. Par contre, certaines figes (*F. capensis* et *brachypoda*) en contiennent plus que la moyenne des fruits immatures (4,7 et 6,1, n = 35 espèces testées), des feuilles (5,8 et 6,9, n = 75) ou encore des tiges (0,5 et 0,7, n = 12) testées (Wrangham *et al.*, 1998). Les fruits de *F. brachylepis* et *F. brachypoda* contiennent une forte quantité de triterpènes comparés aux autres aliments et ceux de *F. natalensis* sont constitués à plus de 50% de NDF, ce qui correspond aux parois cellulaires non digestibles.

Tableau LXXXIII. Concentration en composés antinutritionnels des fruits et figes mûrs consommés par les chimpanzés de Kanyawara (d'après Wrangham *et al.*, 1998). Tanins condensés et totaux sont exprimés en % d'unités de matière sèche (MS) de Quebracho. NDF, neutral detergent Fiber (parois cellulaires) en % de MS. Les monoterpènes et les triterpènes sont exprimés en % de densité optique. Les valeurs les plus significatives sont surlignées.

<i>espèces</i>	Tanins condensés	Tanins totaux	Monoterpènes	Triterpènes	NDF
<i>Celtis africana</i>	0,1	0	4,2	1,7	15,7
<i>Celtis durandii</i>	0,1	0	62,8	1,8	18,9
<i>Mimusops bagshawei</i>	1	0,2	0,7	10,8	35,5
<i>Uvariopsis congensis</i>	0	0	6,7	10,9	39,3
<i>Ficus brachylepis</i>	0,4	2,8	8,4	123,8	30,8
<i>Ficus exasperata</i>	0,3	0,5	8,9	0,3	30,3
<i>Ficus natalensis</i>	0,7	1,8	5	5,6	52,3
<i>Ficus brachypoda</i>	7,8	13,9	19,1	240,6	30,1
<i>Ficus capensis</i>	7,4	5,3	8,1	8,2	40,6
<i>Ficus cyatistipula</i>	1,1	0	27,7	14,8	39
<i>Ficus stipulifera</i>	3,7	2,8	15,4	19,2	38,5
<i>Ficus dawei</i>	2	3	14,4	29,1	44,9
<i>Ficus urceolaris</i>	0,2	0,2	13	25,4	16,7

1.2.3 Facteurs, autres que la composition chimique, pouvant influencer la sélection alimentaire

Des facteurs, autres que la toxicité et la faible valeur nutritionnelle de certaines plantes ou parties de plantes, peuvent expliquer qu'elles ne soient pas ou peu consommées par les chimpanzés.

Les caractéristiques morphologiques et physiques des aliments peuvent intervenir en influant sur la palatabilité des aliments et les possibilités de manipulation. Ainsi, les feuilles de *Ficus asperifolia* et de *F. exasperata*, très rugueuses, sont peut-être sélectionnées pour ce critère, comme le sont les feuilles d'*Aspilia* sp.. Les fruits minuscules d'*Urera* apportent peu de pulpe, les chimpanzés secouent souvent la branche au-dessus de leur main entrouverte pour récupérer les fruits, la manipulation étant rendue encore plus délicate par le caractère très urticant de la plante. Au contraire, les gros fruits de *Monodora* sont parfois délicats à manipuler, notamment pour les animaux souffrant de mutilations causées par les pièges (phalanges, main ou avant-bras manquants, poignets et doigts arthrosiques ...). Par ailleurs, la masse de pulpe par rapport aux graines est aussi un caractère qui peut influencer la sélection des animaux. Dans l'étude de Leighton (1993), une analyse multivariée des facteurs pouvant intervenir dans le choix des fruits par les orangs-outangs a été conduite, montrant que la sélection est guidée par un compromis visant à maximiser l'apport énergétique, minimiser les composés secondaires et trouver des agrégats de plantes alimentaires de grande taille. En effet, les orangs-outangs consomment aussi une large part de figues, contenant de forts taux de tanins et près de 75% de fibres indigestibles, mais ce faible apport nutritionnel semble compensé par de fortes concentrations de *Ficus* spp. sur certaines zones.

Un impact évident de la *compétition alimentaire* intervient dans la composition du régime alimentaire. En écologie, la compétition ne se réfère pas seulement à un comportement social mais plus à la réduction des ressources disponibles pour un individu à cause d'un autre individu. La compétition entre deux espèces ou entre deux individus de la même espèce peut se manifester si une ressource partagée est en faible quantité.

Dans le cas de la compétition interspécifique, soit une espèce exclut l'autre de façon agressive en la chassant (compétition par interférence), soit elle consomme l'aliment avant (compétition par exploitation). Les niches écologiques sont fonction d'une alimentation plus ou moins folivore des espèces vivant sur le même lieu, avec éventuellement des recouvrements partiels. En particulier, la sympatrie entre de nombreuses autres espèces de primates (12 à Kibale) accroît probablement cet effet et le régime alimentaire est la résultante d'une « stratégie » visant à limiter au maximum les compétitions.

D'après Waser (1987), les 11 espèces de primates de Kibale (n'a pas été pris en compte *C. aethiops*) représentent une densité de population de 546 individus/km² soit une biomasse de 2652 kg/km². Les colobes rouges apportent la plus forte contribution à la densité de population (300 ind/ km² et 1760 kg/km²). Les chimpanzés représentent, avec le très rare *C. l'hoesti*, la plus faible biomasse (30 kg/km² pour le chimpanzé et 13 kg/km² pour le second). Cinq autres communautés de primates ont été étudiées conjointement ; il se dégage de cette étude que la forêt de Kibale est la plus densément peuplée et supporte la plus forte biomasse de primates. Par exemple, la densité de population d'une autre forêt africaine, la forêt de Makokou au Gabon, où vivent 16 espèces de primates, dont des chimpanzés et des

gorilles, est estimée à 148 ind/km² et la biomasse ne s'élève qu'à 410 kg/km². Les conséquences sont une partition des niches écologiques. Les folivores peuvent atteindre des biomasses considérables par rapport aux espèces dont les fruits constituent la base du régime alimentaire. On peut noter que d'après l'étude de Hladik & Chivers (1978), la biomasse des chimpanzés est du même ordre de grandeur à Makokou et à Kibale. On peut, par ailleurs, constater que les interactions entre espèces ne sont pas toujours négatives. Des associations peuvent être bénéfiques. Les babouins, espèce terrestre, consomment les fruits d'arbres tombés au sol après le passage des Cercopithèques. Les *red-tail* et les *blue monkeys* peuvent aussi profiter du fait que les mangabeys ouvrent les lourds fruits de *Monodora myristica* qu'ils ne pourraient pas consommer autrement. Des associations entre groupes de *C. ascanius* et *C. badius* leur permettent de chasser des chimpanzés des arbres en fruits, alors que ces espèces de singes sont des proies potentielles pour les chimpanzés. Le temps passé en association avec d'autres espèces est relativement faible chez les chimpanzés. Les chimpanzés sont le plus souvent associés à des mangabeys, avec qui ils partagent 0,7% du temps alors que seulement 0,1 % du temps est passé avec *C. badius* et *ascanius* (Waser, 1987).

Chez les folivores, les capacités à digérer les composés secondaires diffèrent et diverses stratégies sont observées. Les colobes possèdent cette particularité de pouvoir digérer les plantes les plus toxiques grâce à une flore microbienne particulière (Oates, 1987). Les colobes bairi (*Colobus badius*) mangent une grande variété de jeunes feuilles moins riches en produits secondaires alors que les guérezas (*Colobus guereza*) se consacrent à la consommation spécialisée de feuilles matures. Mais les frugivores se spécialisent souvent pour certaines espèces de fruits et par conséquent doivent exploiter de larges territoires et plus encore lorsqu'ils se caractérisent par une forte masse corporelle. Les autres espèces consomment aussi ces mêmes fruits, mais complètent leur alimentation par d'autres items. En dehors de cas anecdotiques, le chimpanzé au milieu des 11 autres espèces n'est probablement que rarement arrêté par la potentielle compétition par interférence. Il peut, par contre, dépendre de la compétition par exploitation vue la forte biomasse que représentent les autres primates dans la forêt de Kibale.

La compétition intraspécifique peut aussi intervenir dans la composition du régime alimentaire. Elle se manifeste, par exemple, par une corrélation entre la taille des groupes présents sur un site alimentaire et la disponibilité de ce site. Dès 1988, paraît une étude portant sur les chimpanzés de Kanyawara où Isabirye-Basuta montre que le temps passé à s'alimenter par chaque individu est négativement corrélé à la taille du groupe entre juillet et mi-août 1985 ($r = -0,66$, $p < 0,001$). Néanmoins, en dehors de période de très faible disponibilité en fruits, la compétition entre individus de la même espèce est moins à même d'expliquer la consommation d'items inhabituels.

☞ *Les figes possèdent à la fois des qualités nutritionnelles et des composés anti-nutritionnels. Abondantes tout au long de l'année, elles ne sont pas sélectionnées par les chimpanzés pour leur appétence semble-t-il, mais servent plutôt d'aliment de fond apportant lest et protéines.*

Elles peuvent contenir, comme la VTH, une quantité non négligeable de composés secondaires de type phénolique ou terpénique, par exemple.

Wrangham et al. (1998) suggèrent que le taux de substances anti-nutritionnelles est maintenu à proximité d'un seuil physiologique maximal tout au long de l'année.

Il semble donc probable que la consommation continue d'aliments contenant des substances anti-nutritionnelles - et notamment les figes à Kanyawara- possède un impact sur la

digestion mais aussi sur l'état général des animaux en apportant des composés secondaires, susceptibles d'avoir des activités biologiques majeures.

On peut suggérer que ces métabolites ingérés sont favorables à une régulation continue et à un maintien homéostatique de la santé des individus.

Ces différentes études tendent à généraliser et à utiliser des moyennes pour catégoriser des types d'aliments (VTH, figues, etc) en fonction de leur valeur nutritionnelle. Elles prennent en compte cet ensemble de données pour expliquer le choix des chimpanzés envers une catégorie d'aliments.

Notre étude a, en plus, comme objectif de montrer si certains items sont plus spécifiquement **choisis à cause de particularités**.

Dans ce cas, des aliments susceptibles d'apporter des bénéfices sanitaires peuvent être considérés comme peu consommés dans certaines études et donc non pris en considération alors que **cette faible consommation aura, au contraire, un impact physiologique important**.

Effectivement, un aliment peu consommé n'apportera pas énergie et protéines de façon significative par rapport au reste des aliments consommés dans la journée. C'est justement cette consommation de plante sans intérêt évident qui dans le cadre de notre étude doit nous alerter. Les bénéfices sont probablement ailleurs, car le comportement fortement conservateur (Takahata *et al.*, 1986) des chimpanzés en terme d'alimentation confirme le fait que cette ingestion n'est pas fortuite.

1.3 Consommation occasionnelle d'items nutritionnellement pauvres ou inhabituels

1.3.1 Consommation d'écorces par les chimpanzés et utilisation par les tradipraticiens

Les écorces sont souvent très fibreuses, hautement lignifiées et indigestes. De plus, une importante énergie est souvent requise pour détacher du tronc des fragments d'écorce. Ces écorces, mâchées occasionnellement par les chimpanzés, sont aussi parfois utilisées comme remèdes en Afrique.

Les chimpanzés de Kanyawara consomment l'écorce de *Chaetacme aristata*, bien que le tronc de l'arbre soit hérissé d'épines. Elle est aussi prescrite par les médecins traditionnels dans le traitement des douleurs dentaires et des hémorroïdes (Watt & Breyer-Brandwijk, 1962). L'écorce de *Ficus natalensis*, employée par les tradipraticiens contre les coliques et les rhumes, ou encore pour induire la lactation, est parfois ingérée par les chimpanzés. Enfin, l'écorce d'une troisième espèce d'arbre faisant partie du régime alimentaire de la communauté de Kanyawara, *Pseudospondias microcarpa*, s'emploie en médecine traditionnelle congolaise comme fébrifuge et antitussif, mais aussi contre les intoxications alimentaires et les diarrhées (Bouquet, 1969). L'écorce d'*Albizia grandibracteata*, consommée de façon très rare (l'observation au cours de cette étude est la première) à l'occasion de troubles digestifs d'un chimpanzé, a montré des activités anthelminthiques (la plus forte des 84 extraits) et cytotoxiques (90% à 1 µg/ml), dues à la présence de saponosides.

La consommation d'écorces d'*Erythrina abyssinica* a été rapportée pour les chimpanzés des communautés de Gombe et Mahale en Tanzanie, mais bien que l'espèce soit présente à Kibale, aucune observation concernant la consommation de cet item n'est encore décrite. Les tradipraticiens utilisent l'écorce de cette plante dans le traitement des hépatites, au Rwanda (Van Puyvelde, non daté), et en Afrique de l'Est, dans le cas de trachome, éléphantiasis, paludisme et syphilis. Les extraits bruts des écorces possèdent une activité antipaludique et antischistosomale (Huffman *et al.*, sous presse). D'autres exemples de ce type proviennent des observations menées en Tanzanie (Huffman *et al.*, 1998) : les écorces de *Pycnanthus angolensis* (Myristicaceae) sont mâchées par les chimpanzés de Mahale et utilisées pour leurs propriétés purgatives, laxatives et contre les douleurs dentaires par les humains. Les écorces de *Grewia platyclada* (Tiliaceae) consommées par les chimpanzés de Mahale sont mastiquées par les populations tanzaniennes locales, pour contrer les maux d'estomac (Huffman, 1994). Est aussi décrite une utilisation conjointe par les chimpanzés de Gombe et les habitants du Ghana, comme anti-diarrhéique et émétique, de l'écorce d'*Entada abyssinica* (Mimosaceae). Celle de *Gongronema latifolium* (Asclepiadaceae), très amère, mangée par les chimpanzés de Bossou, est utilisée en Afrique de l'Ouest comme purgatif et pour lutter contre les symptômes induits par les parasitoses (Huffman *et al.*, 1998).

Ces utilisations d'écorces, à la fois par les populations locales et les chimpanzés, mais aussi les observations sanitaires relatives aux chimpanzés qui les consomment (cf paragraphe suivant), ont influencé le choix des plantes à soumettre à une étude phytochimique plus détaillée. Nos résultats confirment que les écorces de notre collecte renferment, plus fréquemment que les autres parties de plantes, des produits actifs.

1.3.2 Consommation de terre et de bois

Les épisodes de géophagie et de pica (tendance à manger des substances non comestibles) ont suscité des observations plus précises des individus les pratiquant. L'hypothèse que ces comportements puissent traduire un état de malaise ou un problème digestif et soient un moyen de régulation des symptômes associés au parasitisme intestinal, a été explorée (cf 3-). Dans plusieurs cas, il s'est avéré que ces comportements étaient effectivement pratiqués simultanément à des problèmes digestifs.

1.3.3 Consommation d'items particuliers

Certaines parties de plantes ne font pas partie du régime alimentaire courant des chimpanzés, peut-être à cause du goût particulier induit par des composés secondaires. L'observation de leur ingestion, comme celle des feuilles de *Trichilia rubescens*, a orienté la collecte d'échantillons. Cet aliment s'est révélé fortement actif sur les cultures de *Plasmodium falciparum* et sur une cible impliquée dans la régulation de l'appétit.

Dans le cas des feuilles de *Strombosia scheffleri* et d'*Illigera pentaphylla*, leur **consommation concomitante** avec, dans un cas celle de miel, et dans l'autre, celle de viande, est particulièrement intéressante et peut laisser supposer une pratique culturelle et/ ou une interaction éventuelle entre les deux types d'aliments, permettant de contrer les effets néfastes de l'un des deux. Il est observé par Goodall (1986) que les chimpanzés consomment presque toujours la viande avec des feuilles, parfois même mortes, formant ainsi des chiques qu'ils sucent longuement. Les chiques peuvent être avalées, mais souvent, elles sont rejetées avec une partie de la viande. Les chimpanzés ne mangent donc pas toujours la viande, mais en extraient le jus. Certains individus récupèrent la chique abandonnée par les premiers et la

mastiquent à leur tour. Il semble donc que la consommation de viande ne réponde pas seulement à un besoin nutritionnel mais exprime aussi un comportement social. En tout cas, le jus des feuilles est aussi exprimé dans la mastication des chiques.

Il faut noter que les feuilles de *Strombosia scheffleri* ne figuraient pas dans la liste des aliments consommés par les chimpanzés de Kanyawara. Les analyses de Gartlan *et al.* (1980) ont permis d'y détecter des alcaloïdes. Notre observation est la première rapportée. Une importante activité inhibitrice sur récepteur MCH a été observée (93%).

Les feuilles de *Ficus exasperata* et de *F. asperifolia*, sélectionnées au cours de notre récolte à cause de leur texture rugueuse, ont une activité importante sur le récepteur MCH (107% et deux fractions actives à 76%). Les extraits d'écorce de *F. exasperata* ont aussi une activité sur PPAR γ , qui semble jouer un rôle dans l'inflammation. Des feuilles et des tiges de *F. exasperata* ont notamment été consommées dans la semaine qui a suivi la blessure à l'orteil de LB.

De nombreuses plantes consommées par les chimpanzés de Kanyawara sont également utilisées en médecine traditionnelle africaine. Certaines contiennent des produits possédant des propriétés pharmacologiques intéressantes. Les recherches préalables sur ces différentes utilisations et études phytochimiques ont permis de guider la sélection vers des plantes qui n'avaient pas encore donné lieu à publication. Cependant, le fait que les recherches bibliographiques n'aient fourni aucune indication concernant une espèce, ne signifie pas forcément que cette plante n'a pas été travaillée.

2- Évaluation de l'état sanitaire des chimpanzés de Kanyawara

2.1 Étude parasitologique

Le nombre important d'échantillons collectés et l'identification des animaux, dont les fèces ont été collectées, rendent possible un suivi sanitaire individuel. La mission-pilote a permis de mettre au point les protocoles des méthodes de collecte et d'analyse des échantillons.

Les résultats obtenus confirment la bonne complémentarité des techniques employées :

- La flottation avec lecture par des lames de Mac Master permet une bonne détection des œufs d'helminthes,
- L'examen direct est intéressant pour le comptage des protozoaires et des larves d'helminthes (Krief *et al.*, 2003).

On remarque que les larves sont plus courantes en saison sèche : on peut émettre l'hypothèse que la chaleur (en particulier lors du transport au cours de la journée) induit une transformation plus rapide des œufs en larves. Ces dernières étant mieux détectées par examen direct, cette méthode est la plus efficace pour détecter les échantillons positifs en saison sèche.

À l'inverse, en saison des pluies, la proportion d'œufs d'helminthes par rapport aux larves est plus forte, la méthode de flottation de Mac Master est alors plus à même de détecter les infestations. L'association des deux méthodes est donc nécessaire, pour un suivi optimal des individus.

Tableau LXXXIV. Parasites intestinaux de chimpanzés en milieu sauvage selon différentes études

(1) Kawabata & Nishida (1991), (2) Huffman & Gotoh (obs. non publiées) dans Ashford *et al.* (2000), (3) File *et al.* (1976), (4) Murray (1990) dans Ashford *et al.* (2000), (5) Mc Grew *et al.* (1989), (6) Landsoud-Soukate *et al.* (1995), (7) Ashford *et al.* (2000)

Méthodes utilisées : examen direct (ED), Formol-éther concentration (FEC), flottation de Mac Master (MM), coproculture de Harada-Mori (H-M), flottation au sulfate de zinc (ZnSO₄), dilution volumétrique (DV), coloration à l'iode (Iode), concentration de Baermann (CB), fixation à l'alcool polyvinylique (PVA)

Terrain d'étude		Mahale				Gombe		Mt Assirik	La Lopé	Kibale		
Période d'étude		1975-1976 (1)	1989-1990 (2)	1991-1992 (2)	1993-1994 (2)	1973-1975 (3)	1989 (4)	1976-1979 (5)	1991-1992 (6)	1993-1994 (7)	2000-01 cette étude	2000-01 cette étude
Nombre d'échantillons		153	161	156	86	78	20	70	66	123	239	249
Nombre d'individus		<120	49	49	17	32	20	28	66	45	45	45
Méthodes utilisées		ED	FEC, MM	FEC, MM	FEC, MM	ED, FEC, ZnSO ₄ , H-M	ED, ZnSO ₄ , PVA	ED, FEC, ZnSO ₄ , H-M, PVA	ED, FEC, Kato, CB	DV, Iode	ED	MM(MgSO ₄)
% d'échantillons positifs												
<i>Troglyodytella</i> sp.	Protozoaires, Ciliés, Entodiniomorphes		12			75	14	77	35	91	66,4	0
Petit cilié	Protozoaires, Ciliés, Entodiniomorphes					28	10	27	4	81	22,8	0
<i>Dicrocoelium</i> sp.	Trématodes, Dicrocoeliidés		1						3			
<i>Bertiella</i> sp.	Cestodes, Anoplocephalidés	0,7								1,6	2,8	0
<i>Trichuris trichiura</i>	Nématodes, Trichuridés	2	7	24	36	9	5			0,8	0,4	1,7
<i>Strongyloides</i> sp.	Nématodes, Strongyloïdés	22				87		21	4,5	4,9		
<i>Strongyloides fulleborni</i>	Nématodes, Strongyloïdés		14	13	47		50				8,8	15,5
Strongles	Nématodes Strongyloïdés								21	31	26,3	62,5
<i>Necator</i> sp.	Nématodes, Ankylostomatidés					41	10					
<i>Oesophagostomum</i> sp.	Nématodes, Strongyloïdés	54	18	37	52	91	73				30,5	55,2
<i>Probstmayria</i> sp.	Nématodes, Atractidés					59	23			7,3	10,4	0,8
<i>Enterobius</i> sp.	Nématodes, Oxyuridés							13		0,8		
<i>Ascaris</i> sp.	Nématodes, Ascarididés						41		3			
<i>Physaloptera</i> sp.	Nématodes, Physaloptéridés					66	20	31				

Les proportions d'infestation observées pendant notre étude par examen direct et celles publiées par Ashford *et al.* (2000) qui a travaillé sur la même communauté, entre 1992 et 1994, sont proches pour plusieurs espèces :

- *Probstmayria* sp.,
- *Strongyloides fulleborni* (enregistré comme *Strongyloides* sp. par Ashford *et al.*, 2000),
- *Trichuris* sp.,
- *Bertiella* sp.,

- *Oesophagostomum* sp. (plus largement noté œufs de Strongles par Ashford *et al.*, 2000)

On peut remarquer la rareté des trichures et l'absence de trématodes à Kibale par rapport aux autres sites. La prévalence de *Strongyloides*, *Oesophagostomum* et *Probstmayria* est aussi beaucoup plus élevée dans l'étude de File *et al.* (1976) à Gombe.

La prévalence des ciliés entodiniomorphes est moins élevée que celle déterminée par Ashford *et al.* (2000) et est plus proche des proportions rapportées par Mc Grew *et al.* (1989) et File *et al.* (1976). Elle reste néanmoins plus élevée que toutes les autres estimations effectuées dans les autres études. Collet *et al.* (1984) suggèrent que ces ciliés devraient être considérés plus comme des symbiotes que comme des parasites, favorisant la digestion des fibres.

On note dans notre étude que les œufs d'*Oesophagostomum*, et de *Strongyloides*, les larves de *Probstmayria*, ainsi que les protozoaires *Troglodytella abressarti* et *Endolimax nana* sont plus fréquents en saison des pluies, au contraire des petits entodiniomorphes et de *Pseudolimax* dont la prévalence est plus forte en saison sèche.

Dans l'étude d'Ashford *et al.* (2000), les prévalences pour ces espèces sont stables au cours des saisons alors que Huffman *et al.* (1997) et Dupain *et al.* (2002) montrent que les prévalences d'*O. stephanostomum* et les larves d'une espèce de nématodes non identifiée sont significativement plus fortes en saison des pluies, respectivement pour les chimpanzés de Mahale et les bonobos de Lomako. La prévalence de *S. fuelleborni* ne montre pas de variation saisonnière dans ces 2 études. Celle de *T. abressarti* est aussi stable chez les bonobos de Lomako (Dupain *et al.*, 2002). Dans notre étude, l'examen des numérations de *T. abressarti* a permis de montrer une variation importante en saison des pluies. Les données comportementales et alimentaires ont révélé pendant cette période la consommation d'écorce de *Markhamia platycalyx* (cf .3-). Bien que la relation entre les deux phénomènes ne soit pas confirmée par des essais biologiques, cette piste serait intéressante à explorer.

On peut remarquer qu'une forte proportion des échantillons et des individus est infestée pendant les deux saisons : plus de 95% des échantillons sont identifiés comme positifs par au moins l'une des deux méthodes utilisées.

Une numération de la charge parasitaire des prélèvements a été effectuée pour chaque échantillon, à l'aide des deux techniques. Nos résultats montrent que les infestations sont généralement faibles et uniformes. Lorsque des infestations plus fortes apparaissent, elles sont généralement ponctuelles. Ce type d'étude avec numération des parasites est rare et aucune donnée n'a été publiée sur les résultats de telles numérations chez les primates non humains. Chez l'homme, en région tropicale, une charge parasitaire de 2000 œufs/ml est considérée comme modérément forte (Herberg *et al.*, 1986). Selon les auteurs de cette étude menée sur 586 sujets d'une zone rurale au Bénin, seul 1% de la population avait plus de 2000 œufs/ml, bien que la prévalence de certains parasites (ascaris et ankylostomes) soit relativement forte. Les résultats d'une étude (Froment & Koppert, comm. pers), portant sur 517 échantillons provenant d'une population forestière camerounaise, montrent que seuls 41% de la population ont une charge parasitaire supérieure à 300 œufs/ml, mais plus de 15% des individus ont une charge parasitaire supérieure à 2000 œufs/ml. Plus de 95% des sujets humains sont parasités (Froment, 2001), principalement par des trichocéphales (*Trichuris trichiura*) (92% des individus), et des ascaris (67% des individus). Cette analyse coprologique humaine révèle que

la prévalence des vers intestinaux est élevée chez les hommes des régions forestières tropicales, ainsi que notre étude l'a montré pour les chimpanzés. Par contre, elle souligne que la proportion d'hommes ayant une forte charge parasitaire est plus élevée que ce qui est observé dans la population du Bénin, étudiée en saison sèche et chez les chimpanzés. Les enquêtes sur les populations humaines soulignent le fait que l'ankylostomose est à l'origine d'anémie sévère, mais aucune corrélation n'a pu être montrée dans l'étude de Hercberg *et al.* (1986), probablement à cause de la faible charge parasitaire. Le climat et la saison d'étude possèdent certainement un impact important sur la charge parasitaire détectée. Richard Ashford (comm. pers.) a lui aussi pratiqué des numérations de parasites sur les fèces de chimpanzés de Kibale (comm. pers.) et confirme le fait que les charges parasitaires étaient faibles et uniformes pour la plupart des échantillons étudiés entre 1992 et 1994.

Les selles diarrhéiques, provenant de 1 à 6 individus chaque mois et représentant moins de 7% des échantillons, ne montrent pas des charges parasitaires significativement différentes des selles de consistance plus ferme. Par contre, les selles molles de chimpanzés sont significativement associées avec des charges parasitaires plus lourdes. Sur une période allant de juin 1992 à décembre 1997, le nombre d'individus de Kanyawara (R. Wrangham, comm. pers.) souffrant de diarrhée est également faible (moins de 8 chimpanzés) et semble plutôt négativement corrélé avec les précipitations. Dans l'enquête de Froment (2001), 14% des sujets humains (28% des moins de 5 ans) souffraient de diarrhée.

On peut souligner que de faibles infestations parasitaires sont surprenantes pour les chimpanzés de Kibale surtout que des forestiers, des habitants locaux ainsi que des braconniers exploitent la forêt et défèquent dans les sites où vivent les chimpanzés. Si on peut suspecter que les fortes prévalences observées chez les chimpanzés de Gombe sont dues à leur proximité avec les humains, on pourrait aussi s'attendre à de plus fortes infestations parasitaires chez les chimpanzés de Kibale. Cependant, l'enquête de Froment (2001) montre que les parasites les plus fréquents chez les sujets humains de son étude sont d'espèces différentes de ceux rencontrés chez les chimpanzés de Kibale, les ascaris, également prévalents dans l'étude de Hercberg *et al.* (1986), et les trichures étant quasi-absents dans les fèces des chimpanzés de Kibale. Ceci montre que la contamination d'origine humaine est probablement faible à Kibale.

Par ailleurs, même si comme le souligne Ashford (comm. pers.), on observe de plus faibles charges parasitaires chez les animaux sauvages que chez les animaux domestiques, il faut noter que les contacts sociaux et certains comportements dans cette espèce sont favorables à la transmission des parasites. Ainsi les chimpanzés passent de longs moments en groupe allongés au sol, à se reposer, proches les uns des autres, puis à s'épouiller, dans des lieux parfois souillés par des déjections. La promiscuité entre les individus d'une même famille est forte, les jeunes chimpanzés restant en contact étroit avec leur mère.

On doit néanmoins remarquer que la charge parasitaire des selles ne reflète pas toujours celle de l'intestin car la prolificité des parasites est variable selon les espèces. Par exemple, chez l'homme, un couple d'ascaris pond 1000 œufs/jour alors qu'un couple d'*Ancylostoma duodenale* n'en produit que 10/jour. Bien que de telles données ne soient pas disponibles chez le chimpanzé, les interprétations au sujet de la santé des animaux doivent être prudentes. Par contre, les comparaisons entre les échantillons parasités par les mêmes espèces informent sur la sévérité des infections. De plus, les comparaisons entre études sont rendues difficiles par la multiplicité des techniques employées.

➤ *Malgré ces quelques réserves, les données obtenues lors de notre étude tendent à montrer que les chimpanzés de Kanyawara, même s'ils sont tous infestés par des parasites de différentes espèces, sont généralement en bonne santé et possèdent un bon statut immunitaire qui semble leur garantir un équilibre de la faune intestinale. Les prévalences des différentes espèces de parasites sont stables au cours du temps. La prévalence de certaines espèces (S. fuelleborni et T. brassarti, notamment) varie entre les deux saisons d'étude ce qui n'avait pas été noté précédemment. Même si des facteurs climatiques et d'altitude interviennent probablement pour réguler le niveau d'infestation parasitaire, on peut suggérer que les composés secondaires présents dans l'alimentation des chimpanzés jouent un rôle dans la régulation de l'infestation parasitaire. L'étude phytochimique de quelques plantes, réalisée dans cette étude avec pour objectif d'explorer une éventuelle activité sur les parasites intestinaux, a montré des activités pour les extraits de feuilles et d'écorces d'A. grandibracteata et d'écorce de D. abyssinica.*

2.2 Analyse urinaire

Il faut souligner la difficulté d'interprétation liée au caractère innovant de cette étude et au manque de comparaisons possibles avec des données publiées. Néanmoins, R. Wrangham avait analysé 1600 échantillons d'urines des chimpanzés de Kibale (résultats non publiés) et nos données ont pu être comparées aux résultats de ses travaux (comm. pers.).

Tableau LXXXV. Analyses des urines prélevées pendant l'étude de long terme des chimpanzés de Kanyawara (R. Wrangham, comm. pers.) et pendant cette étude

	Wrangham (comm. pers.) 1994-1999	Wrangham (comm. pers.) 1997-1999 (15 mois)	Cette étude 2000-2001 (4 mois)
échantillons positifs pour:	n=1300-1600 échantillons	n=385 échantillons	n=76 échantillons
sang	Femelles adultes>Femelles juvéniles> Mâles adultes>Mâles juvéniles sang (+++) seulement chez femelles et mâles adultes	sang hémolysé (traces à +++): Femelles>Mâles, p=0,07 sang hémolysé (+ à +++), différences NS	sang (traces à +++): femelles>Mâles, p=0,002 sang (traces à +++): femelles non cyclées> mâles, p=0,02
leucocytes	<u>femelles adultes et juvéniles</u> (687 échantillons) : traces dans plus de 30% des échantillons, (+) dans 6% des échantillons, <u>mâles adultes</u> (817 échantillons) traces 25% des échantillons, (+) dans moins de 5% des échantillons	leucocytes (traces à +++): Femelles> Mâles, p<0,01 leucocytes (+ à +++): Femelles> Mâles, p<0,02	leucocytes (traces à +++): Femelles> Mâles, NS leucocytes (traces à +++): femelles cyclées>femelles non cyclées, p=0,035; femelles cyclées > mâles, p=0,04
ensemble des paramètres	Traces à (+++) (+) à (+++)		Traces à (+++) (+) à (+++)
	leucocytes : 30% protéines : 24% Sang hémolysé : 15% Nitrites : 15% Corps cétoniques <5%		leucocytes : 44% protéines : 6,5% Sang : 34% Nitrites : 14% Corps cétoniques : 2,6%
	Urobilinogène <5% Glucose <5%		Urobilinogène : 2,6% Glucose : 1,3%
	5% 8% 11% <5% <5%		13,1% 3,9% 10,5% 13,1% 1,3%
			0% 0%

Dans notre étude, *le sang* est présent plus fréquemment dans les échantillons des femelles, suitées ou cyclées, que dans ceux des mâles (différences significatives). Les résultats de l'étude de 1300 échantillons entre 1994 et 1999 confirment que les femelles adultes ont les plus forts taux d'échantillons positifs pour le sang. Les études menées entre 1997 et 1999 ne montrent pas de différences significatives entre mâles et femelles (sans distinction du statut du cycle œstral).

On peut donc noter que le sang chez les femelles n'est pas seulement induit par les menstruations mais que probablement, elles souffrent plus fréquemment d'infections urinaires que les mâles.

Dans notre étude, *les leucocytes* ne sont pas plus fréquents dans les échantillons provenant des femelles que des mâles, mais si on classe à part les femelles cyclées, celles-ci ont significativement des échantillons plus fréquemment positifs pour les leucocytes que les

femelles non cyclées et que les mâles. Un plus grand nombre d'échantillons de femelles que de mâles est positif dans les données de R. Wrangham portant sur 385 échantillons. Néanmoins, ce dernier souligne l'importance de l'effet observateur en particulier sur ce paramètre. Une comparaison entre les données prises par deux observateurs différents montre des écarts flagrants qui peuvent être attribués à la lecture des bandelettes. Il est d'ailleurs stipulé à plusieurs reprises dans la notice d'utilisation des bandelettes que la perception des couleurs peut varier d'un utilisateur à l'autre.

Dans le cadre de notre étude, la présence de leucocytes dans les urines semble corrélée avec un cycle œstral.

En considérant *l'ensemble des paramètres*, nous avons détecté plus d'échantillons positifs pour les leucocytes que lors des études précédentes (44% vs 30%). Un effet observateur peut effectivement induire un biais dans l'interprétation des résultats. De plus, notre collecte contient 10% de plus d'échantillons provenant de femelles adultes (51% vs 41%) - et donc plus riches en leucocytes- que celui de R. Wrangham. Pour le paramètre « sang » (34% avec les femelles cyclées, 26% sans, vs 15%) les mêmes observations sont faites. Des proportions équivalentes sont observées pour les autres paramètres.

Un autre point est à souligner : lors de la première mission, une forte proportion d'échantillons présentaient une couleur orange (19/45). On sait que l'alimentation peut influencer la coloration des urines. Il est noté dans la notice des bandelettes réactives que les substances colorant les urines peuvent gêner la lecture. Il est possible que cette coloration des urines ait conduit à surestimer la proportion d'échantillons positifs, lors de la première mission, expliquant ainsi les différences significatives de positivité entre nos deux missions et par rapport aux données de R. Wrangham, portant sur un échantillon beaucoup plus important.

Si on s'intéresse aux *résultats individuels*, peu de cas traduisant une éventuelle affection ont été détectés : seuls trois individus avaient plus de deux paramètres anormaux (un seul cas avec 4 paramètres anormaux, deux cas avec 3 paramètres anormaux).

L'exemple de LK, pour lequel à deux reprises des échantillons présentaient des valeurs anormales pour l'urobilinogène à plus de deux mois d'intervalle, permet de supposer une affection d'origine hépatique pour cet individu. L'urobilinogène provient de la métabolisation de la bilirubine qui peut être le signe de striction ou de lithiases biliaires, d'hépatite ou de masses hépatiques obstruant les canaux biliaires.

Dans la plupart des échantillons anormaux, les associations des leucocytes avec des protéines et/ou des nitrites, ou encore la présence de corps cétoniques, indiquent des infections urinaires ou des problèmes rénaux.

Le pH alcalin des urines reflète la forte proportion de végétaux dans le régime alimentaire. Dans deux cas, le pH est anormalement bas et associé à d'autres problèmes de santé pouvant permettre d'expliquer ces valeurs (cf paragraphe suivant).

Dans plusieurs cas, les problèmes, détectés par l'analyse d'urine sont corrélés à des affections mises en évidence par les méthodes associées.

3- Avantages de l'association de plusieurs méthodes non –invasives pour le diagnostic vétérinaire en milieu naturel

Le tableau XXXIV (cf. annexes) souligne les relations qui existent entre les résultats des différentes méthodes. Le recoupement des résultats des analyses urinaires avec les observations comportementales permet de préciser le diagnostic.

Par exemple, le pH acide des urines de KK peut s'expliquer par l'acidose respiratoire induite par l'obstruction broncho-pulmonaire dont il souffre, confirmée par le diagnostic clinique et la modification de son budget d'activité. Les observations comportementales ont montré qu'il était le seul à consommer les fruits immatures de *Ficus capensis* qui, même mûrs, possèdent un fort taux de tanins (7,4% alors que le taux de tanins des fruits de *Celtis africana* et *C. durandii* et *Uvariopsis congensis* est <0,2%). L'acidité des urines de LB est concomitante à l'infection et à la période d'anorexie liées à sa plaie. Il a consommé le 20 février, de jeunes feuilles et des tiges de *F. exasperata*. Les extraits des écorces inhibent la croissance de *S. aureus* (diamètre d'inhibition 12 mm). Les figues consommées pendant cette période sont non seulement utilisées en médecine traditionnelle, mais elles sont aussi riches en substances anti-nutritionnelles (tanins condensés pour *F. capensis* et NDF ou parois cellulaires pour *F. natalensis*).

Dans le cas de la vieille femelle AR, plusieurs symptômes étaient aussi associés : toux, éternuements, maigreur, infection urinaire et infection à *Bertiella studeri*, rare dans cette communauté. Son affaiblissement peut s'exprimer par une plus forte propension à développer des infections parasitaires.

Il est notable que pendant les deux périodes où la vieille femelle LP manifestait une baisse de son état général (observations cliniques, analyses d'urine anormales et dans un cas, coccidiose, dans l'autre distension abdominale très importante), des épisodes de géophagie et une consommation de bois mort ainsi que de la coprophagie ont été observés. La terre consommée par les chimpanzés de Kibale a une composition chimique proche du Kaopectate® (Mahaney *et al.*, 1997) (cf 1^{ère} partie, II), et les propriétés pharmaceutiques de l'argile peuvent réduire les effets des parasitoses. On peut aussi suggérer que les graines prélevées dans les crottins d'éléphants peuvent apporter soit un supplément nutritionnel (Krief *et al.*, sous presse), soit des composés secondaires potentiellement actifs.

On peut enfin souligner que l'ingestion d'écorce d'*Albizia grandibracteata* par OK intervient dans un moment où la jeune femelle souffre de troubles intestinaux et d'infestation parasitaire intestinale, montrée par les coprologies.

Une réduction de la charge parasitaire mesurée par flottation de Mac Master et des *Troglodytella abrassarti* dans les selles a été observée dans une période de consommation saisonnière d'écorce de *Markhamia platycalyx*. Les analyses phytochimiques de cette plante ont montré la présence de quinones (Joshi *et al.*, 1985).

☛ Cette étude a permis de valider l'utilisation de méthodes non-invasives et notamment les analyses d'urine et les numérations parasitaires pour l'étude de l'état de santé d'animaux en milieu naturel.

L'association de ces méthodes a montré que les chimpanzés de Kibale sont en bonne santé, avec des taux d'infestation parasitaire inférieurs à ceux observés sur d'autres sites et des charges parasitaires faibles. Les fortes charges parasitaires sont plus rares que dans certaines populations humaines forestières africaines. Les analyses d'urine n'ont mis en évidence que peu de problèmes sanitaires et les observations d'animaux malades ont montré leur guérison rapide.

Les mutilations occasionnées par les pièges sont très fréquentes dans cette communauté et touchent de nombreux individus. Les déformations, résultant de ces blessures, ont été décrites dans d'autres communautés comme celle de Budongo (Waller & Reynolds, 2001). On peut trouver surprenant que de telles lésions ne conduisent pas à des infections graves et se résolvent.

*Les chimpanzés de Kanyawara ont dans leur régime alimentaire des plantes qui servent aux populations locales pour traiter divers maux. Ils présentent des comportements particuliers liés à l'ingestion d'items sans valeurs nutritionnelle importante (écorce, terre, bois mort, crottin d'éléphant) ou à des plantes consommées très rarement (feuilles de *Trichilia rubescens*, de *Strombosia scheffleri*, d'*Illigera pentaphylla*).*

Ces conjonctions d'observations sont autant d'arguments en la faveur d'une utilisation par les chimpanzés de leur environnement pour améliorer leur bien-être :

- *de façon régulière, les figues et les VTH apportent des composés secondaires qui sont susceptibles, tout au long de l'année de prévenir des problèmes sanitaires et de garantir une homéostasie*
- *de façon occasionnelle, certains comportements favorisent la guérison ou la diminution de certains symptômes.*

4- Activités biologiques des plantes collectées

4.1 Étude générale des activités biologiques

Pour l'ensemble des essais antibiotiques, antiparasitaires et cytotoxiques, les parties de plantes consommées par les chimpanzés fournissent un plus grand nombre d'extraits actifs (3,5 extraits en moyenne) que celles non consommées (2,2) mais les différences ne sont pas significatives. Par contre, les essais biologiques antifongiques et cytotoxiques montrent des différences significatives et en particulier, l'échantillon des parties de plantes consommées est significativement plus riche en plantes fortement cytotoxiques (plus de 50% de cytotoxicité à 1µg/ml) (6,7%) que le taux habituellement constaté sur les plantes de forêts tropicales, collectées systématiquement au cours de différentes études (1%, n = 650, Gaspard, comm. pers.).

Les extraits actifs proviennent plus souvent des écorces que des autres parties de plantes collectées (différence significative). Ceci confirme l'hypothèse selon laquelle la consommation d'écorce serait, pour les chimpanzés, un moyen d'augmenter leur ingestion de composés secondaires biologiquement actifs.

La toxicité, observée sur les cellules du système immunitaire (PBMC et MT4), de certaines parties de plantes, peut expliquer qu'elles ne soient pas consommées fréquemment et en quantité importante par les chimpanzés, malgré leurs activités biologiques (écorce d'*Albizia*

grandibracteata, feuilles d'*Uvariopsis congensis*, et dans une plus faible mesure feuilles de *Trichilia rubescens*, écorces de *Diospyros abyssinica*, feuilles de *Strombasia scheffleri*). Les feuilles d'*Albizia grandibracteata*, plus fréquemment mangées que les écorces ont une activité sur VIH-1 Bal/PBMC mais une toxicité 10 fois moins forte sur PBMC que les écorces. Cette toxicité est probablement un facteur expliquant la limitation de leur consommation, même si les composés les plus actifs sont cependant ingérés occasionnellement.

Les essais portant sur les cibles impliquées dans la régulation de l'appétit montrent des résultats similaires à ceux obtenus pour d'autres récoltes de Malaisie et de Nouvelle-Calédonie sauf pour la cible MCH1. Le nombre de plantes collectées en Ouganda actives sur ce récepteur est beaucoup plus élevé que celui observé en Malaisie (9,5% dont 11% de plantes consommées par les chimpanzés vs 1%, $p \leq 0,002$). Ce type d'activité ne semble pas influencer sur la sélection alimentaire des chimpanzés puisque les différences ne sont pas significatives entre les parties consommées ou non par les chimpanzés, sauf pour les plantes qui possèdent une activité sur H3 qui semblent contre-sélectionnées (pas de plantes antagonistes d'H3 consommées, 7,8% de plantes non consommées ayant cette activité, $p = 0,05$).

4.2 Étude particulière de quelques espèces consommées par les chimpanzés

L'étude phytochimique portant sur trois espèces de plantes a été guidée par les activités biologiques. Il a permis l'isolement et l'identification de molécules :

- les molécules responsables des fortes et multiples activités de *Diospyros abyssinica*, la diospyrine et l'isodiospyrine, ont été identifiées.
- deux nouvelles molécules de la famille des limonoïdes, les trichirubine A et B, ont été isolées des feuilles de *Trichilia rubescens*.
- l'existence, dans le genre *Uvariopsis*, d'une classe de molécules, les acétogénines, représentées ici par l'annonacine et la gigatotrépine, a été révélée.

Par ailleurs, une brève étude de l'écorce d'*Albizia grandibracteata* a montré que les activités cytotoxiques et anthelminthiques de l'extrait étaient dues à la présence de saponosides.

Les extraits de parties de plantes étudiées ont révélées des activités intéressantes montrant que l'étude du régime alimentaire des chimpanzés pouvait servir de guide pour la recherche de plantes biologiquement actives.

4.3 Quelques limites inhérentes aux méthodes employées

Cependant, les activités effectives des plantes sur l'organisme ne sont qu'entretenues lors de telles études.

- Les activités ont été recherchées ici seulement sur culture cellulaire et non *in vivo*.
- L'extraction chimique n'est pas semblable à la digestion et les produits instables peuvent être dégradés par l'un ou l'autre procédé.
- La composition en métabolites secondaires peut varier de façon intraspécifique, de façon saisonnière et même quotidiennement. Par exemple, le taux de conicine de la ciguë (*Conium maculatum*) peut atteindre 500% de la moyenne quotidienne à certaines heures de la journée (Fellows, 1992). La récolte, dans un but de criblage, peut fournir des compositions très dissemblables de ce qui est consommé par le chimpanzé.

- Le séchage, lorsqu'il est effectué dans des conditions différentes, peut aussi affecter la composition des plantes ; des infections des plantes peuvent aussi intervenir. Verpoorte (1989) rapporte que les anthraquinones isolées d'écorces de *Cinchona* ont été produites en réponse à une attaque fongique (phytoalexines).
- Des problèmes inhérents au criblage d'extraits bruts de plantes doivent aussi être soulignés. Nous avons vu précédemment que les effets non spécifiques de certains composés secondaires (tanins par exemple) peuvent gêner la lecture des résultats en induisant un nombre élevé de faux positifs. En les retirant par des pré-traitements (par exemple, filtration sur cartouche de polyamide), on peut perdre certains produits intéressants comme les flavonosides (Fellows, 1992).

5- Un effet global préventif et ponctuel curatif de la consommation de plantes?

Cette étude est en accord avec l'hypothèse suggérant que *l'ingestion régulière de faibles doses de composés secondaires* peut agir à titre préventif pour limiter l'effet des agents pathogènes sur la santé des chimpanzés.

Certains résultats peuvent en témoigner:

- les chimpanzés de Kanyawara sont en bon état général. Bien que tous les individus soient parasités, les charges parasitaires sont généralement faibles et uniformes. Les analyses d'urine ne montrent pas de pathologie majeure chez les chimpanzés de cette communauté. L'âge avancé de certains individus, associé à un état général convenable, sont aussi notables.
- des aliments, comme la végétation terrestre herbacée et les figes, particulièrement à Kanyawara, procurent aux chimpanzés un apport régulier de composés secondaires.

On peut certes supposer qu'un statut immunitaire performant, les conditions locales climatiques et l'altitude sont favorables à cette bonne santé, mais l'ensemble des composés secondaires ingérés jouent probablement un rôle non négligeable dans le maintien d'un équilibre sanitaire global.

Les résultats des analyses phytochimiques sont en accord avec les observations précédemment réalisées sur la *consommation ponctuelle* de plantes biologiquement actives par les chimpanzés.

Les items travaillés ont des caractéristiques communes :

- ils sont généralement utilisés par les populations africaines en médecine traditionnelle,
- ils ne sont consommés qu'occasionnellement par les chimpanzés de Kanyawara,
- ils possèdent des activités biologiques antimicrobiennes et cytotoxiques sur les cultures cellulaires et/ou sur une cible impliquée dans la régulation de l'appétit,
- ils ont permis l'isolement de molécules biologiquement actives.

Dans le cas des feuilles de *Trichilia rubescens*, une activité sur PPAR γ , une cible impliquée dans la régulation de l'appétit, a été détectée par l'Institut de Recherche SERVIER. Les observations menées sur le terrain ont montré que les chimpanzés consommant ces feuilles passaient, le jour de cette consommation, un temps plus long à s'alimenter que les individus du même groupe. De plus, ce jour-ci, le temps d'alimentation du consommateur de *Trichilia* est supérieur au temps moyen mensuel.

Afin d'estimer si les composés isolés peuvent avoir une éventuelle activité sur le consommateur, la quantité de feuilles de *T. rubescens* a été évaluée. De 10 à 35 feuilles (en moyenne, 21 feuilles) sont consommées à chaque épisode. Une feuille sèche pèse en moyenne 1,1 g (pesée de 10 feuilles de taille variable). Le rendement d'extraction par macération à l'acétate d'éthyle est de 1,25%. 21 feuilles fourniraient donc 265 mg d'extrait sec. Le corps d'un animal contient entre 0,08 et 0,10 l de sang par kg. On peut estimer que le volume de sang d'un chimpanzé varie entre 4 et 6 litres. L'extrait des feuilles serait donc présent à une concentration voisine de 50 μ g/ml de sang si la digestion avait un rendement semblable à celui de l'extraction chimique. Ceci n'est évidemment qu'une très vague approximation, mais permet de voir que même si le rendement de la digestion est 10 fois inférieur, la concentration de l'extrait serait encore supérieure à la CI₅₀ de l'extrait brut des feuilles sur les cultures de *P. falciparum* (inférieur à 3 μ g/ml). Il ne semble pas complètement utopique, dans ce cas précis, de penser que la plante peut effectivement agir sur la santé du chimpanzé qui la consomme.

Tableau LXXXVI. Bilan des données sur la consommation des plantes, leur utilisation en médecine traditionnelle, leurs activités sur cultures cellulaires et le type de composés secondaires isolés.

Aliments	Utilisation en médecine traditionnelle africaine	Consommation par les chimpanzés	activités biologiques <i>in vitro</i>	types de composés secondaires isolés
Feuilles de <i>Trichilia rubescens</i>	parfois confondue avec <i>T. dregeana</i> qui est utilisée comme : soporifique et en traitement de la dysenterie	occasionnelle, courte, lente, restreinte et individuelle. Les consommateurs passent plus de temps à s'alimenter que les autres	antipaludique, antibiotique, inhibition PPAR γ	Limonoides (deux nouvelles molécules)
Ecorces de <i>Diospyros abyssinica</i>		Rare	antipaludique, anti-leishmania, anthelminthique, cytotoxique, antibiotique, activateur H3, antagoniste MCH1	Binaphtoquinones, triterpène
Feuilles d' <i>Uvariopsis congensis</i>		Rare	antipaludique, anti-VIH	Acétogénines
Ecorces d' <i>Albizia grandibracteata</i>	Traitement du météorisme, des amibes et des parasitoses intestinales	très rare, observée chez un individu souffrant de troubles digestifs	anthelminthique, cytotoxique	Saponosides

B- HYPOTHESES SUR L'ORIGINE DE LA SELECTION DE PLANTES BIOLOGIQUEMENT ACTIVES

1- Acquisition individuelle et transmission de nouvelles habitudes alimentaires et d'éventuels comportements d'auto-médication

La façon dont les chimpanzés pourraient acquérir des comportements d'automédication est un sujet qui reste encore largement inexploré. L'aversion alimentaire acquise en réponse à une maladie induite suite à l'ingestion d'un aliment est connue (Letarte *et al.*, 1987), le processus inverse, au cours duquel un animal associerait une guérison à un aliment particulier, a été démontré par plusieurs exemples (cf l'exemple des poulets souffrant de boiteries, 1^{ère} partie), et est utilisé en expérimentation animale. On peut, également, conditionner aversivement des primates à l'ingestion de substances perçues comme sucrées, en injectant dans la cavité péritonéale du chlorure de lithium, immédiatement après la consommation de ce produit sucré (stimulus aversif) (Hellekant *et al.*, 1993). Des animaux soumis à des régimes carencés, ingèrent, malgré un goût amer répulsif induit par l'adjonction d'une substance habituellement rejetée, l'aliment permettant de combler la carence (Brandt *et al.*, 1980).

Des différences locales sont observées dans la composition des régimes alimentaires de communautés de chimpanzés voisines. Des comportements différents existent pour la consommation d'insectes, la chasse ou l'utilisation d'outils (1^{ère} partie). Des traditions sont aussi observées dans l'alimentation d'origine végétale. En dépit de leur disponibilité, 16 items provenant de 9 espèces de plantes sont mangés par les chimpanzés de Mahale régulièrement et ne sont pas ou très peu consommés à Gombe (Nishida *et al.*, 1983). Parmi ceux-ci figurent les fruits de *Cordia milenii*, qui constituent une part importante de l'alimentation à Mahale et qui sont également souvent consommés par les chimpanzés de Kibale.

Des différences très marquées ont été notées concernant la consommation d'écorces : à Mahale, les chimpanzés consomment les écorces de 21 espèces dont 13 sont présentes à Gombe. Seules trois d'entre elles sont consommées à Gombe (Goodall, 1986).

De telles dissemblances peuvent en partie être la conséquence de variations intraspécifiques dans la composition chimique des plantes, mais la force des traditions joue aussi un grand rôle.

L'acquisition de nouveaux aliments est difficile à observer en milieu naturel. Une étude portant sur les chimpanzés de Mahale a montré qu'il avait fallu attendre 7-8 ans avant que les adultes commencent à goûter les fruits domestiques, tels que les citrons ou les mangues sur des arbres abandonnés depuis le départ de villageois (Takahata *et al.*, 1986). Mais, une fois, le premier épisode de consommation initié, la propagation a été très rapide : en quelques semaines, tous les individus du groupe consommaient ces nouveaux items. Boesch (2003) a observé, pour la première fois après 19 ans d'étude, une femelle adulte consommant la tige d'un jeune palmier. Dans les jours suivants, il a pu voir quatre autres individus consommant cet item. Si les chimpanzés tendent à être très conservateurs dans leurs habitudes alimentaires, maintenant des préférences traditionnelles, ils possèdent une forte capacité d'imitation et d'apprentissage lorsque l'ingestion a été initiée. L'innovation pourrait être un phénomène régulier (Boesch, 2003).

Pourtant, compte tenu du fort conservatisme observé dans les habitudes alimentaires des chimpanzés, l'échantillonnage au hasard de nouveaux aliments, particulièrement lorsqu'ils sont malades, est peu probable. Vitazkova *et al.* (2001), à la suite de l'étude montrant que des souris peuvent éviter de succomber au paludisme en consommant des solutions de chloroquine, suggèrent qu'en consommant une variété de substances amères en petite quantité, les animaux réduisent la probabilité d'ingérer des doses létales en augmentant leur chance de consommer des plantes à valeur médicinale potentielle.

On peut donc proposer que ce mécanisme serait occasionnel, mais régulier. Dans certains cas de baisse ponctuelle d'état général, une association serait faite entre l'amélioration de l'état général et la consommation particulière d'une plante avec un goût amer, par exemple. En effet, Hellekant & Ninomiza (1994) ont montré que les goûts sucré et amer étaient véhiculés de façon indépendante par des groupes de fibres nerveuses, séparées chez le chimpanzé. Dans l'étude de Hladik *et al.* (2002), portant sur 412 sujets humains, les seuils de perception des tanins et d'un alcaloïde, la quinine, varient de façon conjointe, comme ceux du sucrose et du fructose, suggérant que les pressions de sélection puissent avoir opéré dans un système à deux dimensions, représentées par les substances bénéfiques d'une part et nocives d'autre part. Huffman et Wrangham (1994) suggèrent que les connotations hédoniques (bon *vs* mauvais), correspondant aux perceptions gustatives, peuvent varier en fonction de l'état physiologique de l'animal : à l'inverse de la femme enceinte qui devient moins tolérante aux toxines protégeant ainsi leur fœtus, un chimpanzé malade pourrait, par une modification de sa perception sensorielle, consommer un item qu'il aurait rejeté dans les conditions habituelles. Goodall (1986) a d'ailleurs remarqué que des bananes, contenant des antibiotiques, proposées à des chimpanzés malades étaient consommées jusqu'à amélioration de l'état général puis étaient ensuite laissées de côté. Suite à la consommation d'un aliment bénéfique, on peut supposer qu'un renforcement se produit alors, favorisant la consommation ultérieure de cet item.

Huffman (2001) propose que le comportement pourrait être apparu en période de disette alimentaire et que des chimpanzés, affamés et malades, auraient été forcés à essayer de nouveaux aliments. Recouvrant la santé, ils auraient associé cette guérison à la consommation du nouvel aliment.

Les jeunes primates, même s'ils ont tendance à essayer une plus large gamme d'aliments que leur mère (observations personnelles et Tarnaud, comm. pers.), sont très enclins, par la suite, à reproduire le comportement alimentaire de leur mère (Visalberghi *et al.*, 2003). Par exemple, lors de consommations de *Vernonia*, après avoir observé leur mère avec attention, certains jeunes ont tenté immédiatement après de consommer cette plante (Huffman & Seifu, 1989 ; Huffman & Wrangham, 1994).

2- Le chimpanzé, modèle de l'évolution humaine?

La similarité entre les choix de plantes par les chimpanzés (simultanément à des problèmes intestinaux par exemple), et l'utilisation en médecine traditionnelle par les humains de certaines plantes amène certains auteurs (Huffman, 2001) à y voir les prémices de la médecine humaine. Les premiers hominidés pourraient avoir partagé avec les chimpanzés et l'homme moderne des critères de sélection. Il est fort probable que l'exploration des éventuels comportements d'automédication chez les grands singes modernes puisse apporter des informations significatives sur les critères tels que le goût, l'odeur ou la texture des plantes

qui ont déterminé les premières utilisations de plantes à des fins curatives. Cependant, un des aspects fondamentaux de l'évolution de la médecine, mais aussi probablement des maladies, réside peut-être dans la détoxification, grâce à différentes préparations alimentaires : après l'élimination d'une partie des composés secondaires de l'alimentation, certains pathogènes ont pu trouver en l'homme des hôtes, permettant leur prolifération. L'émergence de certaines maladies a ainsi pu être ainsi favorisée.

L'alimentation quotidienne riche en composés secondaires des chimpanzés sauvages est probablement un facteur important de leur bon état général, de la faible prévalence des tumeurs, de la guérison des lésions infligées par les pièges, et des faibles charges parasitaires.

Plus généralement, les animaux sauvages bénéficient de leur longue co-évolution avec les pathogènes et les plantes ; la domestication rompt cet équilibre et réintroduit, à la faveur des médicaments vétérinaires (ou des « alicaments » ou aliments supplémentés en antibiotiques par exemple) de nouveaux composés secondaires très souvent issus de plantes... Mais au lieu de bénéficier de l'extrême diversité des composés secondaires présents dans la nature, certaines utilisations répétées de médicaments induisent des résistances, rendant le vétérinaire impuissant face à certaines affections. La même chose se produit probablement chez l'homme avec l'urbanisation et l'industrialisation. Les maladies affectant les premiers hominidés étaient probablement moins nombreuses. La médecine se confondait avec l'alimentation, les effets plus marqués de certaines plantes ayant été progressivement repérés, donnant alors lieu à des préparations particulières. À la faveur de l'augmentation des densités de population, de leur déplacement et des changements d'habitude alimentaire, certains pathogènes ont émergé, une plus grande virulence a probablement été sélectionnée.

C- PERSPECTIVES ET FUTURES ORIENTATIONS

1- Étudier les comportements d'auto-médication chez les animaux captifs ou domestiques

Introduire des plantes médicinales dans des sites où vivent des groupes de primates captifs peut, d'une part, permettre d'étudier la sélection et l'effet de ces plantes et d'autre part, faciliter les observations sur la transmission de ces comportements d'auto-médication dans les groupes sociaux.

De telles expériences ont déjà été pratiquées dans les zoos d'Apenheul en Hollande, dans la « vallée des singes » en France et dans le zoo de Denver au Colorado. A Apenheul, des plantes médicinales telles que *Berberis vulgaris* (Berberidaceae), le fenouil (*Foeniculum vulgare*, Apiaceae) ou encore l'aubépine (*Crataegus oxyacantha*, Rosaceae) ont été plantées sur des parcelles de terrain, couvertes de grillages placés à une hauteur telle que les animaux (*Lagothrix lagothricha*) puissent avoir accès aux plantes sans les détruire (Huffman *et al.*, 1998). Les résultats de ces études ne sont pas encore disponibles. Par ailleurs, les résistances vis-à-vis des médicaments se développant aussi en médecine vétérinaire, l'utilisation de produits d'origine naturelle pourrait également être envisagée pour les animaux d'élevage.

Ces applications permettraient dans les parcs zoologiques ou chez les animaux domestiques, dans les cas de pathologies mineures, d'éviter des interventions vétérinaires,

induisant du stress chez les animaux et des coûts élevés. De tels programmes autorisant le libre choix alimentaire chez des animaux favoriseraient l'enrichissement de leur environnement. Une étude de l'effet de l'introduction d'une diversification des aliments à disposition, et un suivi vétérinaire, avec des groupes témoins, permettrait de valider ou d'infirmer les hypothèses d'un effet régulateur, induit par une alimentation quotidienne variée, et d'une potentielle recherche de plantes plus actives, dans les cas ponctuels de maladie.

2- Approfondir les observations sur les comportements d'auto-médication chez des animaux sauvages

L'observation particulière des comportements liés à l'utilisation des espèces de plantes ayant montré des activités biologiques doit être généralisée.

L'effet saison est une variable intéressante à étudier. La saisonnalité des comportements d'ingestion de certaines espèces pourrait être recherchée, dans le but de déterminer s'il existe une relation avec les cycles éventuels des infestations parasitaires et la production saisonnière de métabolites secondaires par les plantes. En effet, l'évolution chimique des plantes est probablement conditionnée par la pression exercée par les phytophages. Une étude du contenu chimique de plantes de même espèce en fonction des saisons et des sites (sols plus ou moins riches, prédateurs différents...) et éventuellement à plusieurs années d'intervalle et de leur consommation par une espèce de grands singes pourrait mettre en évidence d'éventuelles corrélations.

Une estimation des quantités ingérées de plantes biologiquement actives ou destinées à être récoltées est nécessaire, afin de mieux appréhender l'impact réel sur la santé des consommateurs. Parallèlement, il serait utile de mettre en place et d'appliquer un protocole d'extraction acide se rapprochant des processus physiologiques de la digestion.

« Apes are caught between two worlds, of human and non-human consciousness. Ape observers are caught between two parallel worlds, between being convinced of apes mental complexity and finding them hard to prove [...] Even if we can't prove claims about what apes know and think and feel, though, we will make more mistakes by ignoring such signs of mental power than by taking them seriously. With apes, too many intriguing stories suggest that there are minds in the forest. »

Richard Wrangham and Dale Peterson
in *Demonic Males, Apes and the origins of human violence* (1996).

Plusieurs résultats originaux de cette étude peuvent être rappelés :

- (1) La surveillance sanitaire par association de plusieurs méthodes non-invasives de diagnostic, ciblée sur les individus, est efficace, les résultats des différentes techniques se recoupant.
- (2) La technique d'examen des fèces, identifiées individuellement, avec numération des différents parasites est nouvelle pour cette espèce en milieu naturel. Elle permet le suivi de l'infestation parasitaire au cours du temps. L'association de deux techniques - de type flottation de Mac Master et Examen direct sur selles formolées – aboutit à un inventaire plus complet des protozoaires et des helminthes parasites. Elle offre l'opportunité d'une étude rapide sur le terrain (pour suivre, par exemple, un cas clinique), cette étude étant complétée, par la suite, en laboratoire.
- (3) Cette étude a montré la possibilité d'utiliser l'analyse des urines, collectées sans effrayer le chimpanzé, pour détecter des affections autres que parasitaires.
- (4) Les résultats des différents examens soulignent le bon état général des chimpanzés de Kanyawara et leur guérison rapide en cas de blessure ou de maladie. Peu d'affections graves ont été observées, les problèmes sanitaires détectés par analyses urinaires sont peu importants. Les proportions d'échantillons parasités sont fortes, comme dans la majorité des autres études portant sur cette espèce en milieu naturel, mais les proportions d'échantillons positifs pour les différentes espèces de parasites sont généralement inférieures à celles observées dans les autres sites. Les charges parasitaires sont faibles et apparaissent même comme plus faibles que celles des populations humaines vivant en forêt.
- (5) Certains aliments des chimpanzés sont souvent utilisés en médecine traditionnelle africaine.
- (6) Parmi les aliments des chimpanzés, le nombre moyen d'extraits actifs sur les cibles parasitaires, bactériennes et tumorales est plus élevé (3,5) que celui parmi les parties non consommées (2,2). Une proportion significativement plus élevée d'extraits de plantes à activité fortement cytotoxique est observée dans les aliments des chimpanzés, par rapport à un échantillonnage systématique.
- (7) La proportion d'extraits actifs provenant d'écorces est significativement plus forte que la proportion initiale d'écorces collectées. Ceci valide l'hypothèse que la consommation d'écorce, coûteuse en énergie pour le chimpanzé, peut apporter des avantages autres que nutritifs et par exemple, des métabolites secondaires biologiquement actifs.

- (8) Des molécules, responsables des activités biologiques, ont été extraites et identifiées à partir des écorces de *Diospyros abyssinica*, des feuilles d'*Uvariopsis congensis* et des feuilles de *Trichilia rubescens*, ingérées occasionnellement par les chimpanzés.
- (9) L'isolement de deux nouveaux limonoïdes de *T. rubescens* a été réalisé. Le problème de détermination botanique concernant cette espèce a été résolu par comparaison des spectres CLHP.
- (10) La présence d'acétogénines dans le genre *Uvariopsis* a été montrée.
- (11) L'existence de saponosides dans l'écorce d'*Albizia grandibracteata*, consommée par un chimpanzé souffrant de troubles digestifs, a été détectée.
- (12) La consommation régulière de métabolites secondaires, notamment par l'intermédiaire des figues et de la végétation terrestre herbacée, est probablement un facteur de maintien du bon état général des animaux et de limitation de l'émergence de certains pathogènes et de résistance.
- (13) La consommation occasionnelle de certains aliments, telles l'écorce de *D. abyssinica*, les feuilles d'*U. congensis*, de *T. rubescens* ou l'écorce d'*A. grandibracteata* peut apporter des métabolites secondaires susceptibles d'agir sur la santé des chimpanzés.
- (14) Un tel type d'étude peut être considéré comme un moyen complémentaire original pour la recherche de métabolites secondaires.
- (15) Cette étude apporte également des éléments de réflexion sur la co-évolution entre les plantes et les animaux.

Le sujet de recherche entrepris dans cette thèse est vaste et ces résultats apportent des informations qui doivent stimuler la poursuite de l'étude. À l'interface entre plusieurs disciplines, ce travail a pris en compte ma formation vétérinaire, pour l'aspect essais biologiques et suivi sanitaire, et l'expérience acquise au préalable dans l'observation du comportement animal. Il a nécessité l'acquisition d'une formation complémentaire en chimie. À l'ICSN, les différentes équipes avec lesquelles j'ai collaborées m'ont fait bénéficier de leurs compétences pointues, et j'ai pu ainsi acquérir les bases des techniques de purification et d'analyse structurale. Qu'il s'agisse d'approfondir l'hypothèse de départ suggérant que les chimpanzés utilisent des plantes pour améliorer leur santé ou d'acquérir des connaissances en chimie des substances naturelles, ce temps de thèse a été particulièrement fructueux et enrichissant et a montré la valeur et la nécessité de poursuivre cette étude pluridisciplinaire.

La poursuite de cette recherche est nécessaire pour accumuler les éventuelles preuves de l'intentionnalité de ces comportements. La conscience de se soigner est-elle le propre de l'homme ? Peut-on envisager que les chimpanzés sélectionnent, à dessein, des plantes susceptibles de les guérir de certains maux ? Au centre de ces hypothèses figure une question, qui occupe toujours l'esprit des anthropologues et des philosophes, mais aussi de chacun d'entre nous : qu'est-ce qui rend l'Homme unique ?

Ce qui était absolument inimaginable il y a encore un siècle est aujourd'hui accepté par la grande majorité. Notre parenté avec les grands singes, pressentie dès le XVII^{ème} siècle et tracassant les occidentaux, n'a pu être explorée que depuis une petite cinquantaine d'années, lorsque l'homme a pénétré leur habitat naturel pour les y regarder vivre, chasser, utiliser et fabriquer des outils avec des traditions culturelles et une organisation sociale élaborée. Notre « cousinage » avec les grands singes semble, par contre, naturelle aux peuples qui vivent à leur proximité et les connaissent mieux.

Dans les tentatives de définir l'homme, plusieurs hypothèses ont failli.

Regarder jouer des chimpanzés convainc très vite que Rabelais était dans le faux : le rire n'est pas le propre de l'Homme. L'image idyllique de sociétés de primates vivant dans l'innocence, non spoliée par la corruption du monde humain, véhiculée par l'idée que les bonobos règlent leur conflit par le sexe, est aussi bien loin de la réalité : Frans de Waal, dans « Chimpanzee politics » (1982), décrit les alliances et la violence qui mènent au pouvoir. Le viol est courant chez les orangs-outangs, la tromperie et le mensonge ont été observés chez les primates. Richard Wrangham, dans « Demonic males » (1996) rapporte la description de patrouilles de défense du territoire et la mort de mâles, tués par ceux de la communauté voisine, jusqu'à extinction de la communauté rivale. Mais, la réconciliation, la coopération lors des épisodes de chasse existent aussi chez les chimpanzés. Lorsqu'on a soumis des grands singes captifs à différentes épreuves, bien loin des difficultés présentes dans leur environnement : ils ont appris les bases du langage des signes et les chimpanzés et bonobos ont montré qu'ils reconnaissent leur propre image dans un miroir. (Serions-nous même capables d'élaborer cette incroyable carte mentale qui leur permet de se diriger dans la forêt vers les arbres en fruits ?)

Ce qui fait le propre de l'homme ? Peut-être le fait que, lorsqu'un enfant humain apprend le langage, il l'utilise dans un contexte informatif ou déclaratif pour apporter des informations sur le monde, alors que le chimpanzé le produit dans un contexte de demande ? Ou le fort degré d'encéphalisation de l'humain, favorisé par la cuisson des aliments comme le propose Richard Wrangham, ou par la consommation de viande comme le suggère Craig Stanford dans « The Hunting Apes » (1999), ou bien encore l'absence de rites funéraires chez les grands singes ?

On peut aussi avancer que certains carnivores chassent en groupe, que l'organisation sociale des insectes est formidablement élaborée et complexe, que la loutre casse des moules à l'aide de pierre ou encore que la communication des oiseaux et des dauphins est extrêmement riche. Par crainte d'anthropocentrisme, on risque alors de banaliser ou de diminuer certaines observations sur les Grands Singes. Mais reconnaître des traits communs à deux espèces phlogénétiquement proches ne dévalue par les facultés cognitives des autres espèces. Continuer à tester l'hypothèse que les chimpanzés consomment intentionnellement des plantes à but d'améliorer leur bien-être peut apporter d'étonnantes observations.

Ce sont souvent des interprétations trop dépendantes de notre culture qui peuvent fausser les résultats. Comme le souligne Claude Marcel Hladik dans « la culture est-elle naturelle ? » (1998), les concepts occidentaux actuels de la médecine s'éloignent des pratiques traditionnelles où la frontière entre aliments et médicaments est floue. Vouloir classer et identifier un produit comme médicament plutôt que comme aliment se rapporte essentiellement à nos critères sémantiques pour certaines substances comme les vitamines ou pour la « nutraceutique ». Mais, ni un antitumoral tel le taxol, ni les limonoïdes antipaludiques de *T. rubescens* ou encore les binaphtoquinones de *D. abyssinica*, ne peuvent être confondus avec un aliment. Par contre, les figues apportent des métabolites secondaires, mais sont aussi des aliments riches en énergie et en fibres. Les aliments fournissent une matière première essentielle pour le stock énergétique et l'entretien physiologique ; par contre, une substance qui corrige un désordre métabolique est considérée comme un médicament.

L'ensemble des observations présentées dans cette thèse conduit à penser que ce travail préliminaire, s'il n'apporte aucunement des preuves d'une conscience par le chimpanzé de sa maladie et des soins qui lui seraient nécessaires, souligne néanmoins quelques traits comportementaux et écologiques en rapport avec la probable activité des

plantes sur la santé des chimpanzés. Avec ou sans intentionnalité, le chimpanzé tire bénéfice de l'incroyable richesse de son environnement. Notre étude montre que de telles observations peuvent guider la recherche de plantes biologiquement actives et favoriser la découverte de nouvelles molécules.

Les techniques actuelles utilisées en chimie et en biologie, sont de formidables outils qui peuvent permettre grâce à des essais biologiques spécifiques, rapides et fiables de cibler des extraits actifs et de fractionner rapidement, par des protocoles semblables à ceux utilisés au Pôle Substances Naturelles de l'ICSN, les extraits actifs. La CL-SM sur des mélanges et la RMN pratiquée sur des quantités très faibles de produits permettent d'identifier des molécules originales et qui auraient été autrefois probablement ignorées. Les quantités de plantes à récolter sont par conséquent moins importantes, permettant de protéger les habitats et d'augmenter le nombre d'espèces de l'échantillon.

Si ce n'est pour abreuver le débat sur l'humanité, de telles études mettent en évidence la nécessité de protéger des biotopes uniques, pouvant contenir de nombreuses espèces utiles à la recherche biomédicale. Les inter-relations et l'équilibre entre les espèces végétales et animales sont précieux et la conservation de ce patrimoine est, en partie, si ce n'est le propre de l'homme, du moins sa responsabilité.

<u>Fig. 1</u>	<i>Quelques phénols et acides phénoliques</i>	19
<u>Fig. 2</u>	<i>Quelques exemples de coumarines</i>	20
<u>Fig. 3</u>	<i>Deux exemples de lignanes</i>	20
<u>Fig. 4</u>	<i>Exemples de dérivés d'extension du phénylpropane</i>	21
<u>Fig. 5</u>	<i>Quelques flavonoïdes</i>	22
<u>Fig. 6</u>	<i>Un insecticide naturel, la roténone</i>	22
<u>Fig. 7</u>	<i>Le calanolide A issu de <i>Calophyllum</i> sp. et un exemple d'anthocyanidol, le pélargonidol</i>	23
<u>Fig. 8</u>	<i>Des éléments des tanins</i>	24
<u>Fig. 9</u>	<i>Quelques motifs quinoniques</i>	25
<u>Fig. 10</u>	<i>La juglone</i>	25
<u>Fig. 11</u>	<i>Le tétrahydrocannabinol</i>	26
<u>Fig. 12</u>	<i>Exemples de pyréthrine</i>	27
<u>Fig. 13</u>	<i>L'artémisinine et des dérivés</i>	27
<u>Fig. 14</u>	<i>Le taxol® et le taxotère®, diterpènes de l'if utilisés dans le traitement des tumeurs de l'ovaire, du poumon et du sein.</i>	28
<u>Fig. 15</u>	<i>Squelettes de base des triterpènes</i>	28
<u>Fig. 16</u>	<i>Le sarsaparilloside 35 de <i>Smilax medica</i>.</i>	29
<u>Fig. 17</u>	<i>Exemple d'un hétéroside cardiotonique: l'ouabaïne</i>	30
<u>Fig. 18</u>	<i>La cucurbitacine B</i>	30
<u>Fig. 19</u>	<i>La sénécionine</i>	31
<u>Fig. 20</u>	<i>Exemples d'alcaloïdes tropaniques</i>	32
<u>Fig. 21</u>	<i>Alcaloïde pyridiniques : la nicotine 42 et un dérivé, l'arécoline 43</i>	33
<u>Fig. 22</u>	<i>La (-) éphédrine</i>	33
<u>Fig. 23</u>	<i>Quelques alcaloïdes dérivés de la phénylalanine et de la tyrosine</i>	34
<u>Fig. 24</u>	<i>La vinblastine 49 et la vincristine 50</i>	35
<u>Fig. 25</u>	<i>Alcaloïdes de l'ergot de seigle</i>	35
<u>Fig. 26</u>	<i>La (-)-quinine</i>	36
<u>Fig. 27</u>	<i>Bases puriques</i>	36
<u>Fig. 28</u>	<i>Le resvératrol, une phytoalexine</i>	39
<u>Fig. 29</u>	<i>Exemples de terpènes isolés du genre <i>Diospyros</i></i>	50
<u>Fig. 30</u>	<i>Le β sitostérol</i>	50
<u>Fig. 31</u>	<i>Deux naphtoquinones isolées du genre <i>Diospyros</i></i>	51
<u>Fig. 32</u>	<i>La scopolétine</i>	51
<u>Fig. 33</u>	<i>Les différents types d'acétogénines des <i>Annonaceae</i></i>	52
<u>Fig. 34</u>	<i>Les sous-types des acétogénines des <i>Annonaceae</i></i>	53
<u>Fig. 35</u>	<i>Exemple d'une acétogénine cytotoxique, l'uvaricine</i>	54
<u>Fig. 36</u>	<i>Relation structure-activité des acétogénines des <i>Annonaceae</i> (après Cavé et al., 1996)</i>	54
<u>Fig. 37</u>	<i>Molécules isolées d'<i>Uvariopsis guineensis</i></i>	55
<u>Fig. 38</u>	<i>La limonine</i>	56
<u>Fig. 39</u>	<i>Exemples de limonoïdes</i>	57

<u>Fig. 40</u>	<i>Méliacine buténolide 80 isolée de Trichilia stipulata</i> _____	57
<u>Fig. 41</u>	<i>Protolimonoïdes isolés de Trichilia hirta</i> _____	58
<u>Fig. 42</u>	<i>Exemple de diterpènes du type dolabellane isolés de Trichilia trifolia</i> _____	58
<u>Fig. 43</u>	<i>La thiarubrine A 83</i> _____	67
<u>Fig. 44</u>	<i>Molécules isolées de Vernonia amygdalina</i> _____	70
<u>Fig. 45</u>	<i>Les acides kaurénoïque et grandiflorénique, isolés d' A. mossambicensis</i> _____	75
<u>Fig. 46</u>	<i>Classification des primates (Bariel, 1994)</i> _____	80
<u>Fig. 47</u>	<i>Répartition géographique des deux sous-espèces d'orang-outang Pongo pygmaeus (Bariel, 1994).</i>	81
<u>Fig. 48</u>	<i>Répartition en Afrique des trois sous-espèces de Gorilla gorilla (Bariel, 1994).</i>	82
<u>Fig. 49</u>	<i>Répartition géographique en Afrique des trois sous-espèces de chimpanzés, Pan troglodytes, et de l'espèce bonobo, Pan paniscus (Bariel, 1994).</i>	83
<u>Fig. 50</u>	<i>Les sites d'étude des chimpanzés sauvages (d'après Chimpanzee cultures, 1994)</i> _____	86
<u>Fig. 51</u>	<i>Morphologie de Balantidium coli</i> _____	106
<u>Fig. 52</u>	<i>Morphologie de Troglodytella abressarti</i> _____	107
<u>Fig. 53</u>	<i>Situation et carte du Parc National de Kibale, Ouganda</i> _____	113
<u>Fig. 54</u>	<i>La zone d'étude de Kanyawara et les transects</i> _____	124
<u>Fig. 55</u>	<i>Variation de la consommation des aliments les plus fréquents au cours de l'étude</i> _____	138
<u>Fig. 56</u>	<i>Budget d'activité de KK (215 min) et des 13 autres individus (680 min) du même groupe entre 11:35 et 18:50 le 16/02/01</i> _____	163
<u>Fig. 57</u>	<i>Examen clinique de KK le 16/02/01</i> _____	164
<u>Fig. 58</u>	<i>Évolution de la moyenne hebdomadaire en saison sèche de la charge parasitaire corrigée déterminée par examen direct</i> _____	175
<u>Fig. 59</u>	<i>Proportion d'échantillons positifs pour les paramètres sang et leucocytes en fonction du sexe et du cycle sexuel des femelles (les différences sont significatives entre les mâles et les femelles cyclées et non cyclées)</i> _____	181
<u>Fig. 60</u>	<i>Proportion des échantillons mâles et femelles ayant des paramètres anormaux (les différences ne sont pas significatives)</i> _____	182
<u>Fig. 61</u>	<i>Proportion et quantification des paramètres anormaux dans les urines des chimpanzés pendant les deux missions 2000-2001</i> _____	185
<u>Fig. 62</u>	<i>Analyses des selles des individus ayant consommé des écorces de Markhamia platycalyx avant et après l'ingestion.</i> _____	187
<u>Fig. 62</u>	<i>Cycle de Trypanosoma brucei (d'après Laboratory Identification of parasites of Public Health Concern ; site internet DPDx)</i> _____	193
<u>Fig. 63</u>	<i>Cycle de vie de Leishmania donovani (d'après Laboratory Identification of parasites of Public Health Concern ; site internet DPDx)</i> _____	194
<u>Fig. 64</u>	<i>Cycle de Plasmodium falciparum (d'après Wirth, 2002)</i> _____	196
<u>Fig. 65</u>	<i>Principales molécules utilisées dans le traitement du paludisme (d'après Ridley, 2002)</i> _____	198
<u>Fig. 66</u>	<i>L'isodiospyrine 95 isolée des écorces de Diospyros abyssinica</i> _____	223
<u>Fig. 67</u>	<i>La diospyrine 96 isolée des écorces de Diospyros abyssinica</i> _____	224
<u>Fig. 68</u>	<i>L'acide bétulinique 97, composé isolé des écorces de Diospyros abyssinica</i> _____	227
<u>Fig. 69</u>	<i>Fragmentations en SMIE de SK 157-4</i> _____	231
<u>Fig. 70</u>	<i>L'annonacine 98, isolée des feuilles et des écorces d'Uvariopsis congensis</i> _____	232
<u>Fig. 71</u>	<i>Fragmentations observées en SMIE du produit SK 161-A</i> _____	233

<u>Fig.72</u>	<i>La gigantétrocine 99, isolée des écorces d'Uvariopsis congensis</i> _____	234
<u>Fig.73</u>	<i>Structure du composé SK167-10, isolé des feuilles de Trichilia rubescens (lot Ug. 25).</i> _____	243
<u>Fig.74</u>	<i>Hypothèse de mécanisme d'épimérisation pouvant expliquer le dédoublement des signaux en RMN.</i> _____	243
<u>Fig.75</u>	<i>Corrélations observées sur le spectre NOESY et stéréochimie pour le composé SK 167-10</i> _____	244
<u>Fig.76</u>	<i>Vue en trois dimensions de la trichirubine A 100</i> _____	245
<u>Fig.77</u>	<i>Structure de la trichirubine B 101 (SK167-24), isolé des feuilles de Trichilia rubescens (lot Ug. 25).</i> _____	247
<u>Fig.77</u>	<i>Profil CLHP et fractionnement de l'extrait à l'acétate d'éthyle (AcOEt) d'écorce (SK 19)</i> _____	256
<u>Fig.78</u>	<i>Fractionnement et activités antipaludiques des fractions d'extraits d'écorce d'Uvariopsis congensis</i> _____	261
<u>Fig.79</u>	<i>Profil CLHP de la fraction SK 147-J</i> _____	262
<u>Fig.80</u>	<i>Contrôle CLHP des fractions SK 155 et cytotoxicité sur cellules KB à 0,1µg/ml</i> _____	263
<u>Fig.81</u>	<i>Fractionnement de l'extrait d'écorces d'Uvariopsis congensis et cytotoxicité des fractions</i> _____	264
<u>Fig.82</u>	<i>Chromatogramme obtenu par CLHP analytique de l'extrait brut AcOEt de feuilles d'Uvariopsis congensis</i> _____	265
<u>Fig.83</u>	<i>Contrôle analytique de la fraction SK 163-2 obtenue par CLHP des feuilles d'Uvariopsis congensis</i> _____	266
<u>Fig.84</u>	<i>Fractionnement des extraits de feuilles des jeunes arbres (Lot Ug. 22) et activités antipaludiques des fractions</i> _____	269
<u>Fig.85</u>	<i>Comparaison CLHP analytique des profils TIC et des UV des pics principaux des extraits de feuilles d'un arbre immature (lot Ug. 22) et adulte (lot Ug. 25) de Trichilia rubescens</i> _____	270

Tableau I.	<i>Quelques exemples d'activités pharmacologiques in vitro de différentes espèces de Diospyros sp. (d'après Mallavadhani et al., 1998)</i>	49
Tableau II.	<i>Nombre d'espèces et d'items alimentaires consommés par les chimpanzés de différents sites africains (Didier, 1998)</i>	89
Tableau III.	<i>Quelques caractéristiques de la reproduction chez les chimpanzés (d'après Nishida & Hiraiwa-Hasegawa, 1987)</i>	96
Tableau IV.	<i>Espèces de Primates présents dans le Parc National de Kibale</i>	114
Tableau V.	<i>Aliments consommés par les chimpanzés de la communauté de Kanyawara, Kibale Forest, Ouganda, d'après R.Wrangham (communication personnelle)</i>	117
Tableau VI.	<i>Identité, sexe et date de naissances des chimpanzés de la communauté de Kanyawara</i>	120
Tableau VII.	<i>Critères de reconnaissance des chimpanzés mâles de la communauté de Kanyawara</i>	122
Tableau VIII.	<i>Protocoles des analyses de selles utilisés à l'E.N.V.A.</i>	128
Tableau IX.	<i>Budget d'activité des chimpanzés de Kanyawara</i>	133
Tableau X.	<i>Espèces végétales consommées par les chimpanzés au cours des missions 2000-2001</i>	135
Tableau XI.	<i>Temps passé à consommer les différentes classes d'aliments</i>	137
Tableau XII.	<i>Aliments consommés pendant plus de 0,5% du temps d'alimentation</i>	138
Tableau XIII.	<i>Fruits les plus consommés par les chimpanzés de Kanyawara</i>	139
Tableau XIV.	<i>Part des Ficus spp. dans l'alimentation des chimpanzés</i>	139
Tableau XV.	<i>Mesure des diversités alimentaires par l'entropie de Shannon (H') et l'index standardisé (échelle de 0-1) de Shannon-Wiener (J') et le nombre d'espèces consommées (n)</i>	141
Tableau XVI.	<i>Nombre de graines et quantité de fibres trouvées dans les selles de chimpanzés</i>	142
Tableau XVII.	<i>Part de l'alimentation pour le consommateur (en caractères gras) de feuilles de Trichilia rubescens et pour les individus de son groupe, le jour de l'ingestion et les autres jours du mois.</i>	143
Tableau XVIII.	<i>Consommation d'écorces par les chimpanzés de Kanyawara</i>	146
Tableau XIX.	<i>Épisodes de géophagie et aliments consommés avant et après l'ingestion de sol</i>	147
Tableau XX.	<i>Utilisation des espèces de plantes consommées par les chimpanzés de Kanyawara (ou d'autres communautés si précisé) en médecine traditionnelle selon le site « Prélude » et d'autres sources bibliographiques. Produits isolés et activités biologiques connues pour ces espèces, selon Chapman & Hall (2003), et Chemical Abstracts (2002)</i>	149
Tableau XXI.	<i>Utilisations ethnomédicinales des aliments consommés par LB suite à sa morsure</i>	162
Tableau XXII.	<i>Caractéristiques des selles de OK</i>	167
Tableau XXIII.	<i>Utilisation de l'Albizia grandibracteata (Mimosaceae) en médecine traditionnelle africaine</i>	168
Tableau XXIV.	<i>Échantillons de consistance diarrhéique parmi les 252 échantillons prélevés (en italique, les individus dont plusieurs prélèvements étaient diarrhéiques)</i>	169
Tableau XXV.	<i>Présence de parasites et consistance des selles lors de la mission pilote</i>	170
Tableau XXVI.	<i>Comparaison des méthodes d'analyse coprologique testées lors de la mission pilote</i>	172
Tableau XXVII.	<i>Distribution des classes d'âge et de sexe des individus échantillonnés pour les coprologies par flottation de Mac Master</i>	172
Tableau XXVIII.	<i>Détection des échantillons et chimpanzés positifs avec deux techniques de coprologie parasitaire en fonction des saisons de récolte des échantillons</i>	174
Tableau XXIX.	<i>Proportion d'échantillons positifs pour différentes espèces de parasites intestinaux en fonction des saisons de récolte des échantillons</i>	176
Tableau XXX.	<i>Prévalences mensuelles des espèces observées le plus fréquemment dans les selles au cours des missions 2000-2001</i>	177

Tableau XXXI.	<i>Prévalence et numération mensuelles de Troglodytella abrassarti au cours des missions 2000-2001</i>	179
Tableau XXXII.	<i>Distribution des classes d'âge et de sexe des individus échantillonnés pour les analyses d'urine</i>	180
Tableau XXXIII.	<i>Paramètres urinaires anormaux dans les prélèvements effectués au cours des missions 2000-2001</i>	183
Tableau XXXIV.	<i>Résumé des observations concernant les animaux malades pendant les missions 2000-2001</i>	186
Tableau XXXV.	<i>Liste des espèces et des parties de plantes récoltées pendant les missions 2000-2001</i>	190
Tableau XXXVI.	<i>Liste des parties de plantes collectées et consommées ou non par les chimpanzés de Kanyawara</i>	191
Tableau XXXVII.	<i>Nombre d'extraits obtenus provenant de parties de plantes consommées et non consommées par les chimpanzés de Kanyawara</i>	191
Tableau XXXVIII.	<i>Extraits de plantes ayant une CI_{50} inférieure à 20 $\mu\text{g/ml}$ sur Plasmodium falciparum, en caractère gras, les activités les plus significatives</i>	200
Tableau XXXIX.	<i>Extraits de plantes ayant une cytotoxicité sur cellules KB supérieure à 50% à 10 $\mu\text{g/ml}$, en caractère gras, les activités les plus significatives</i>	201
Tableau XL.	<i>Extraits de plantes ayant une DL_{50} inférieure à 100 $\mu\text{g/ml}$ sur Rhabditis pseudoelongata</i>	202
Tableau XLI.	<i>Extraits de plantes ayant un diamètre d'inhibition supérieur à 10 mm pour S. aureus, en caractère gras, les activités les plus significatives</i>	204
Tableau XLII.	<i>Extraits de plantes ayant un diamètre d'inhibition supérieur à 8 mm pour E. coli</i>	205
Tableau XLIII.	<i>Extraits de plantes ayant un diamètre d'inhibition pour Candida tropicalis supérieur à 7 mm</i>	205
Tableau XLIV.	<i>Bilan des activités antimicrobiennes et cytotoxiques des extraits de plantes en fonction de leur consommation par les chimpanzés</i>	206
Tableau XLV.	<i>Proportion d'extraits issus d'écorces présentant une activité biologique</i>	207
Tableau XLVI.	<i>Activité anti-VIH-1 Bal sur cellules PBMC des extraits de plantes</i>	209
Tableau XLVII.	<i>Activité anti-VIH-1 IIB sur cellules PBMC des extraits de plantes</i>	210
Tableau XLVIII.	<i>Toxicité sur cellules PBMC et MT-4 des extraits de plantes</i>	211
Tableau XLIX.	<i>Propriétés antagonistes des extraits de plantes sur le récepteur H3</i>	214
Tableau L.	<i>Propriétés agonistes des extraits de plantes sur le récepteur H3</i>	215
Tableau LI.	<i>Activités des extraits de plantes sur PPAR γ_2</i>	216
Tableau LII.	<i>Activités des extraits de plantes sur le récepteur MCH</i>	217
Tableau LIII.	<i>Activités sur le récepteur NPY1 des extraits de plantes</i>	217
Tableau LIV.	<i>Proportions d'extraits bruts à activité antagoniste sur les récepteurs impliqués dans la régulation de l'appétit parmi les parties de plantes consommées ou non par les chimpanzés</i>	218
Tableau LV.	<i>Comparaison des activités des extraits bruts collectés en Malaisie, en Nouvelle-Calédonie (Litaudon, comm.pers.) et en Ouganda sur les cibles impliquées dans la régulation de la prise alimentaire</i>	219
Tableau LVI.	<i>Bilan des activités biologiques</i>	220
Tableau LVII.	<i>Activités antimicrobiennes et cytotoxiques des extraits à l'acétate d'éthyle et méthanolique d'écorce de Diospyros abyssinica</i>	221
Tableau LVIII.	<i>Activités de l'extrait à l'acétate d'éthyle sur des récepteurs impliqués dans la régulation de la prise alimentaire</i>	222
Tableau LIX.	<i>Déplacements chimiques en RMN du proton de l'isodiospyrine d'après Zhong et al. (1984) et du produit SK 77-2</i>	223

Tableau LX.	Déplacements chimiques en RMN du proton de la diospyrine (d'après Zhong et al., 1984) et du produit SK 77-4	225
Tableau LXI.	Déplacements chimiques observés en ^{13}C RMN pour le produit SK 77-6 et pour l'acide bétulinique (Mahato & Kundu, 1994)	227
Tableau LXII.	Bilan des activités biologiques des produits isolés de <i>D. abyssinica</i> par fractionnement bioguidé	228
Tableau LXIII.	Activités biologiques des extraits de feuilles et d'écorces d' <i>Uvariopsis congensis</i>	229
Tableau LXIV.	Déplacements chimiques en RMN du ^1H et du ^{13}C du produit SK 157-4 identifié à l'annonacine	231
Tableau LXV.	Activités des produits isolés d' <i>Uvariopsis congensis</i> sur cellules KB et quelques activités rapportées dans la bibliographie	235
Tableau LXVI.	Activités biologiques des extraits de feuilles de <i>Trichilia rubescens</i> (lot Ug. 22)	236
Tableau LXVII.	Déplacements chimiques des protons et des carbones du produit SK 167-10	238
Tableau LXVIII.	Bilan des activités biologiques d' <i>Albizia grandibracteata</i>	249
Tableau LXIX.	Lots de plantes collectées à Kanyawara, Kibale National Park, Ouganda	250
Tableau LXX.	Déplacements chimiques en ^1H RMN de l'isodiospyrine	257
Tableau LXXI.	Déplacements chimiques en RMN ^1H de la diospyrine	258
Tableau LXXII.	Déplacements chimiques en RMN ^1H et ^{13}C de l'acide bétulinique	259
Tableau LXXIII.	Déplacements chimiques en RMN ^1H et ^{13}C de l'annonacine	267
Tableau LXXIV.	Déplacements chimiques en RMN ^1H et ^{13}C de la gigantétrocine	268
Tableau LXXV.	Déplacements chimiques en RMN du ^1H et du ^{13}C de SK 167-10	275
Tableau LXXVI.	Déplacements chimiques en RMN du ^1H et du ^{13}C de SK 169-24	277
Tableau LXXVII.	Composition du milieu de culture de <i>Trypanosoma brucei</i>	279
Tableau LXXVIII.	Composition du milieu de culture 199/hydrogénocarbonate de sodium (500 ml) pour cellules KB	282
Tableau LXXIX.	Souches utilisées et milieu de culture pour la réalisation d'essais antibiotiques et antifongiques	283
Tableau LXXX.	Composition des milieux de culture des souches antibiotiques et antifongiques	283
Tableau LXXXI.	Comparaison des temps d'alimentation et de la part des fruits dans le régime alimentaire des chimpanzés de trois communautés	287
Tableau LXXXII.	Teneurs en certains composés secondaires dans les feuilles consommées par les chimpanzés de Kanyawara, selon (a) Gartlan et al., 1980 et (b) Oates et al., 1977, (exprimées en poids sec de feuilles)	289
Tableau LXXXIII.	Concentration en composés antinutritionnels des fruits et figues mûrs consommés par les chimpanzés de Kanyawara (d'après Wrangham et al., 1998)	292
Tableau LXXXIV.	Parasites intestinaux de chimpanzés en milieu sauvage selon différentes études	298
Tableau LXXXV.	Analyses des urines prélevées pendant l'étude de long terme des chimpanzés de Kanyawara (R. Wrangham, comm. pers.) et pendant cette étude	302
Tableau LXXXVI.	Bilan des données sur la consommation des plantes, leur utilisation en médecine traditionnelle, leurs activités sur cultures cellulaires et le type de composés secondaires isolés.	308

Jean-Michel Krief est l'auteur de l'ensemble des photos qui illustrent cette thèse.

<i>photo1</i>	Ingestion de sève après arrachage de l'écorce	91
<i>photo2</i>	Recherche de larves d'insectes dans du bois mort	91
<i>photo3</i>	Consommation de latex	91
<i>photo4</i>	Épouillage entre deux mâles adultes	97
<i>photo5</i>	Communication par vocalisation (KK)	97
<i>photo6</i>	MS, le mâle dominant de la communauté de Kanyawara, hérissé et vocalisant	97
<i>photo7</i>	La station de Recherche de Makerere University	115
<i>photo8</i>	Les marécages à papyrus	115
<i>photo9</i>	La forêt primaire, vue de Census Rd	115
<i>photo10</i>	Déplacement des chimpanzés sur une piste utilisée par les forestiers	115
<i>photo11</i>	Une zone d'exploitation forestière, visitée par les chimpanzés	115
<i>photo12</i>	Observations comportementales des chimpanzés de Kanyawara	131
<i>photo13</i>	Les autopsies sont rares, le travail vétérinaire implique surtout des méthodes de diagnostic non-invasives	131
<i>photo14</i>	Collecte de plantes consommées destinées au travail phytochimique	131
<i>photo15</i>	Étude des activités biologiques et de la composition chimique des plantes récoltées, au sein de l'équipe de Thierry Sévenet, ICSN, Gif/Yvette	131
<i>photo16</i>	Collecte d'urine à l'aide d'un sac plastique, enfilé sur une branche, par John, assistant à KCP	132
<i>photo17</i>	LP et LS dans <i>Ficus natalensis</i>	139
<i>photo18</i>	<i>Ficus dawei</i>	139
<i>photo19</i>	<i>Ficus brachilepis</i>	139
<i>photo20</i>	<i>Ficus cyathistipula</i>	139
<i>photo21</i>	<i>Ficus asperifolia</i>	139
<i>photo22</i>	<i>Ficus exasperata</i>	139
<i>photo23</i>	Feuilles piquantes d' <i>Acanthus pubescens</i>	143
<i>photo24</i>	<i>Urera sp.</i> , plante urticante	143
<i>photo25</i>	Amputation des phalanges de YB	159
<i>photo26</i>	Amputation des phalanges de YB (détail)	159
<i>photo27</i>	Amputation de l'avant-bras de KL	159
<i>photo28</i>	Piège à collet posé par les braconniers	159
<i>photo29</i>	KK, le 16 février, souffrant d'un syndrome grippal	164
<i>photo30</i>	Blessure de LB, le 16 février 2001	164
<i>photo31</i>	OK mange l'écorce d' <i>Albizia grandibracteata</i> (Mimosaceae)	165
<i>photo32</i>	Œuf de <i>Bertiella studeri</i> (55 x 55 µm)	177
<i>photo33</i>	Œuf d' <i>Oesophagostomum stephanostomum</i> (75 x 55µm)	177
<i>photo34</i>	Œuf de <i>Strongyloides fulleborni</i> (50 x 25 µm)	177
<i>photo35</i>	Larve de strongle (540 µm)	177
<i>photo36</i>	<i>Probstmayria sp.</i> (1600 µm)	177
<i>photo37</i>	Extrémité céphalique de <i>Probstmayria sp.</i>	177
<i>photo38</i>	Œuf de <i>Trichuris trichiura</i> (55 x 25 µm)	177
<i>photo39</i>	Petit entodiniomorphe (22 x 20 µm)	177
<i>photo40</i>	<i>Troglodytella abrassarti</i> (150 x 100 µm) cf Fig. 52	177

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- A.C.C.T. (1984). *Médecine traditionnelle et pharmacopée- Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Gabon*. Rapport de l'A.C.C.T.
- Achenbach, H., Waibel, R., Nkunya, M.H.H. , Weenen, H. (1992). Antimalarial compounds from *Hoslundia opposita*. *Phytochemistry*, **31**, 11, 3781-3784.
- Ake Assi, L., Abeye, J., Guinko, S., Giguët, R., Bangavou, Y. (1981). *Contribution à l'identification et au recensement des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle et la pharmacopée en République Centrafricaine*. Rapport de l'A.C.C.T..
- Altmann, J. (1974). Observational study of behavior; sampling methods. *Behaviour*, **48**, 1-41.
- Ashford, R.W., Reid, G.D.F., Wrangham, R.W. (2000). Intestinal parasites of the chimpanzee *Pan troglodytes* in Kibale Forest, Uganda. *Annales of Tropical Medicine and Parasitology*, **94**, 173-179.
- Audinot, V., Beauverger, P., Lahaye, C., Suply, T., Rodriguez, M., Ouvry, C., Lamamy, V., Imbert, J. Rique, H., Nahon, J-L., Galizzi, J-P., Canet, E., Levens, N., Fauchère, J-L., Boutin, J.A. (2001a). Structure-activity relationship studies of melanin-concentrating hormone (MCH) related peptide ligands at SLC-1, the human MCH receptor. *Journal of Biological Chemistry*, **276**, 13554-13562.
- Audinot, V., Lahaye, C., Suply, T., Beauverger, P., Rodriguez, M., Galizzi, J-P., Fauchère, J-L., Boutin, J.A. (2001b). [¹²⁵I]-S36057 : a new and highly potent radioligand for the melanin-concentrating hormone receptor. *British Journal of Pharmacology*, **133**, 371-378.
- Aufreiter, S. Mahaney, W.C., Milner, M.W., Huffman, M.A., Hancock, R.G.V., Wink, M., Reich, M. (2001). Mineralogical and chemical interactions of soils eaten by chimpanzees of the Mahale Mountains and Gombe Stream National Parks, Tanzania. *Journal of Chemical Ecology*, **27**, 285-311.
- Bailanger, J. (1973). *Coprologie parasitaire et fonctionnelle*. Imprimerie E. Drouillard, Bordeaux, France.
- Baker, M. (1996). Fur rubbing : use of medicinal plants by capucins monkeys (*Cebus capucinus*). *American Journal of Primatology*, **38**, 263-270.
- Baker, M. (1997). Identification and selection of fur-rubbing materials by white-faced capuchin monkeys (*Cebus capucinus*). *American Journal of Primatology*, **47** (2), 93.
- Balagizi Karhagomba, I., Ntumba Kayembe, F. (1998). Plantes utilisées dans le traitement des helminthoses gastro-intestinales des petits ruminants dans le groupement d'Irhambi-Katana (Région du Bushi, Province du Sud-Kivu, RDC). *Recherches Africaines*, **1**, 90-99.
- Balick, M.J. (1990). Ethnobotany and the identification of therapeutic agents from the rainforest. In Wiley & Sons (Ed.), *Bioactive compounds from plants*, Ciba foundation Symposium.
- Barbault, R. (1997). *Écologie générale, structure et fonctionnement de la biosphère*. Masson, Paris, 285 p..
- Bariel, V. (1994). *Les relations de parenté au sein des Hominoidea et la place de Pan paniscus : comparaison et analyse méthodologiques des phylogénies morphologiques et moléculaires*. Thèse de Doctorat de l'Université de Paris 6. Paléontologie.

- Basabose, K. (2002). Diet composition of chimpanzees inhabiting the Montane Forest of Kahuzi, Democratic Republic of Congo. *American Journal of Primatology*, **58**, 1-21.
- Baskin, G.B. (2002). Pathology of non-human Primates. In :Primate Info Net, Wisconsin Primate Research Center. www.primata.wisc.edu/pin/pola6-99.html.
- Bate-Smith, E.C. (1972). Attractants and repellents in higher animals. In Harborne, J.B. (Ed), *Phytochemical ecology*, Academic Press, London, 44-56.
- Berger, P.J. Sanders, E.H., Gardner, P.D., Negus N.C. (1977). Phenolic plant compounds functioning as reproductive inhibitors in *Microtus montanus*. *Science*, **195**, 575-577.
- Birkinshaw, C.R. (1999). Use of millipedes by black lemurs to anoint their bodies. *Folia Primatologica*, **70**, 170-171.
- Bloiland, P.B. (2001). *Drug resistance in malaria*. WHO/CDS/DRS/2001.4.
- Boesch, C. (2001). L'homme, le singe et l'outil : question de cultures ? In Picq, P., Coppens, Y. (Eds), *Aux origines de l'humanité, vol. 2, Le propre de l'Homme*. Fayard.
- Boesch, C. (2003). Is culture a golden barrier between human and chimpanzee ?. *Evolutionary Anthropology*, **12**, 82-91.
- Boesch, C., Boesch-Achermann, H. (1991) - Les chimpanzés et l'outil. *La Recherche*, **22**, 724-731.
- Bolton, K.A., Campbell, V.M., Burton, F.D. (1998). Chemical analysis of soils of Kowloon (Hong-Kong) eaten by hybrid rhesus macaques. *Journal of Chemical Ecology*, **341**, 121-124.
- Borenfreund, E., Puerner, J.A. (1985). Toxicity determined *in vitro* by morphological alteration and neutral red absorption. *Toxicology Letters*, **24**, 119-124.
- Born, L., Lieb, F., Lorentzen, J.P., Moeschler, H., Nonfon, M., Söllner, R., Wendish, D. (1990). The relative configuration of acetogenins isolated from *Annona squamosa* : Annonin I (squamocin) and Annonin VI. *Planta Medica*, **56**, 312-316.
- Borowiec, M., Wasilewska-Dziubinska, E., Chmielowska, M., Wolinska-Witort, A., Baranowska, B. (2002). Effect of leptin and neuropeptide Y on hormones release in female rats. *Neuroendocrinology Letters*, **23**, 149-154.
- Bouquet, A. (1969) *Féticheurs et médecines traditionnelles du Congo (Brazzaville)*. Mémoire O.R.S.T.O.M.
- Bourrée, P. (1994). Aide mémoire de parasitologie et de pathologie tropicale. Flammarion, Paris. 388 p..
- Boutin, J.A, Suply, T., Audinot, V., Rodriguez, M., Beauverger, P., Nicolas, J-P., Galizzi, J-P., Fauchère, J-L. (2002). Melanin concentrating hormone and its receptors : state of the art. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, **80**, 1-8.
- Bradbury, R.B., White, D.E. (1954). Oestrogens and related substances in plants. *Vitamins and Hormones*, **12**, 207-233.
- Brand, J.G., Kare, M.R., Naim, M.(1980). Restraints in accepting new foods : relationships among taste, acceptability and digestion. In Pearson, P.B. & Greenwell, J.R. (Eds), *Nutrition, Food and Man. An interdisciplinary perspective*, The University of Arizona Press, Tucson, 105-123.
- Bruneton, J. (1993). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Technique et documentation Lavoisier, Paris, 915 p..
- Bryant, J.P., Reichardt, P.B., Clausen, T.P., Provenza, F.D., Kuropat, P.J. (1992). Woody Plant-Mammal Interactions. In Rosenthal, G.A., Berenbaum, M.R. (Eds), *Herbivores : their interactions with*

- secondary plant metabolites*, 2^E, volume 2, *Ecological and Evolutionary Processes*, New York Academic Press.
- Bushbaum, R., Valiela, I., Teal, J.M. (1984). The role of phenolic compounds and other plant constituents in feeding by Canada Geese in coastal marsh. *Oecologia*, **63**, 343-349.
- Bussi eras, J., Chermette, R. (1995). *Parasitologie vétérinaire. Helminthologie*. Fascicule 3. Service de Parasitologie de l'ENVA (Ed.). Maisons-Alfort, France.
- Butler, D. (2002). What difference a genome make ? *Nature*, **419**, 426-428.
- Bygott, J.D. (1974). Agonistic behaviour and dominance in wild Chimpanzees, Ph.D Thesis, Cambridge University.
- Carpani, G., Orsini, F., Sisti, M., Verotta, L. (1989). Saponins from *Albizzia anthelminthica*. *Phytochemistry*, **28**, 863-866.
- Cav , A., Figad re, B., Laurens, A., Cortes, D. (1996). Acetogenins from Annonaceae. In Herz, W., Kirby, G.W., Moore, R.E., Steglich, W., Tamm, C. (Eds), *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, Springer, Wien, 81-288.
- Champagne, D.E., Koul, O., Isman, M.B., Scudder, G.G.E., Towers, G.H.N. (1992). Biological activity of limonoids from Rutales. *Phytochemistry*, **31**, 377-394.
- Chan-Bacab, J. Pena-Rodríguez, L. (2001). Plant natural products with leishmanicidal activity. *Natural Products Reports*, **18**, 674-688.
- Chapman & Hall (2003). Dictionary of Natural Products on CD-ROM. Version 11 :2. CRC Press UK.
- Chapman, C.A., Wrangham, R.W. (1993). Range use of the forest chimpanzees of Kibale : implications for the understanding of chimpanzee social organization. *American Journal of Primatology*, **31**, 263-273.
- Chapman, C.A., White, F.J., Wrangham, R.W. (1994). Party size in chimpanzees and bonobos. A reevaluation of theory based on two similarly forested sites. In Wrangham R.W., Mc Grew W.C., de Waal F.B.M., Heltne P.G. (Eds), *Chimpanzee cultures*, Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 41-54.
- Clark, L., Russel Masson, J. (1985). Use of nest material as insecticidal and anti-pathogenic agents by the European starling. *Oecologia*, **67**, 169-176.
- Clark, L., Russel Masson, J. (1987). Olfactory discrimination of plant volatiles by the European starling. *Animal Behaviour*, **35**, 227-235.
- Clark, L., Russel Masson, J. (1988). Effect of biologically active plants used as nest material and the derived benefits to starling nestlings. *Oecologia*, **77**, 174-180.
- Cogswell, F.B. (2000). Malaria and Piroplasms of Non-Human Primates. In Bowman D.D.(Ed.), *Companion and Exotic Animal Parasitology*, International Veterinary Information Service, Ithaca NY (www.ivis.org) A0304.0600.
- Collet, J.Y., Bourreau, E., Cooper, R.W., Tutin, C.E.G., Fernandez, M. (1984). Experimental demonstration of cellulose digestion by *Troglodytella gorillae*, an intestinal ciliate of lowland gorillas. *International Journal of Primatology*, **5**, 328.
- Conklin-Brittain, N.L., Wrangham, R.W. (1994). The values of figs to a hind-gut fermenting frugivore : a nutritional analysis. *Biochemical Systematics and Ecology*, **22** (2), 137-151.
- Conklin-Brittain, N.L., Wrangham, R.W., Hunt, K.D. (1998). Dietetary response of chimpanzees and Cercopithecines to seasonal variation in fruit abundance. II. Macronutrients. *International Journal of Primatology*, **19** (6), 971-998.

- Connolly, J.D. (1983). Chemistry of the limonoids of the Meliaceae and the Cneoraceae. In Waterman, P.G., Grundon, M.F. (Eds). *Chemistry and chemical taxonomy of the Rutales*, 175-213.
- Cortes, D., Myint, S.H., Leboeuf, M., Cavé, A. (1991). A new type of cytotoxic acetogenins : the tetrahydrofuranic β -hydroxy methyl γ -lactones. *Tetrahedron Letters*, **32**, 6133-6134.
- Cortez, D.A.G., Fernandes, J.B., Vieira, P.C., Das, M.F., Da Silva, G.F., Ferreira, A.G., Cass Q. B., Pirani, J.R. (1998). Meliacin butenolides from *Trichilia stipulata*. *Phytochemistry*, **49**, 2493-2496.
- Cortez, D.A.G., Vieira, P.C., Fernandes, J.B., Da Silva, G.F., Ferreira, A.G. (1992). Limonoids from *Trichilia hirta*. *Phytochemistry*, **31**, 625-628.
- Cragg, G.M., Newman, D.J., Snader, K.M. (1997). Natural products in drug discovery and development. *Journal of Natural Products*, **60**, 52-60.
- Currie, C.R., Scott, J.A., Summerbell, R.C., Malloch, D. (1999). Fungus-growing ants use antibiotic bacteria to control garden parasites. *Nature*, **398**, 701-704.
- Daley, J.W., Spande, T.F. (1986). Amphibian alkaloids : chemistry, pharmacology and biology. In Pelletier, S.W. (Ed.), *Alkaloids, Chemical and Biological Perspectives*, **4**, 1-274, Wiley, New York.
- Danbury, T.C., Weeks, C.A., Chambers, J.P., Waterman-Pearson, A.E., Kestin, S.C. (2000). Self-selection of the analgesic drug carprofen by lame broiler chickens. *Veterinary Record*, March, 11, 2000, 307-311.
- Davies, A.G., Baillie, I.C. (1988). Soil-eating by red leaf monkeys (*Presbytis rubicunda*) in Sabah, Northern Borneo. *Biotropica*, **20**, 252-258.
- Demanche, C., Petit, T., Moisson, P., Ollivet, F., Rigoulet, J., Chermette, R., Dei-Cas, E., Wakefield, A.E. (2003). Assessment of *Pneumocystis* species carriage in captive primates. *Veterinary Record*, **152**, 811-813.
- De Waal, F. (1982). *Chimpanzee Politics : power and sex among the Apes*. Harper and Row, New York.
- DeCarvalho, A.C.V., Ndi, C.P., Tsopmo, A., Tane, P., Ayafor, J., Conolly, J.D., Teem, J.L. (2002). A novel natural product compound enhances cAMP-regulated chloride conductance of cells expressing CFTR Δ F508. *Molecular Medicine*, **8** (2), 75-87.
- Defour, G. (1994). *Plantes médicinales traditionnelles au Kivu (République du Zaïre)*. Documentation du sous-réseau Prélude.
- Degi Esposti, M., Ghelli, A., Ratta, M., Cortes, D., Estornell, E. (1994). Natural substances (acetogenins) from the family *Annonaceae* are powerful inhibitors of mitochondrial NADH dehydrogenase (Complex I). *Biochemistry Journal*, **301**, 161-167.
- Deputte, B. (1997). Existe-t-il d'autres cultures qu'humaines ? *Science et Vie*, **200** (Suppl), 70-77.
- Desjardin, R.E., Canfield, C-J., Haynes, J.D., Chulay, J.D. (1979). Quantitative assesment of antimalarial activity in vitro by a semi-automated microdilution technique. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **16** (6), 710-718.
- Didier, S. (1998). *Etude de la vie de relation d'un groupe de chimpanzés réintroduits en milieu naturel, dans la réserve de Conkouati, Congo (dans le cadre du projet H.E.L.P.)*. Thèse de Doctorat Vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.
- Ducros, A., Ducros, J. (2001). La découverte des Grands Singes ou le parent retrouvé. In Picq, P., Coppens, Y., *Aux origines de l'humanité, Vol. 2, Le propre de l'Homme*, Fayard.

- Dupain, J., Van Elsacker, L., Nell, C., Garcia, P., Ponce, F., Huffman, M.A. (2002). New evidence for leaf swallowing and *Oesophagostomum* infection in Bonobos (*Pan paniscus*). *International Journal of Primatology* **23** (5), 1053-1062.
- Dyer, C.J., Simmons, J.M., Matteri, R.L., Keisler, D.H. (1998). Effects of an intravenous injection of NPY on leptin and NPY-Y1 receptor mRNA expression in ovine adipose tissue. *TEKTRAN*. www.nal.usda.gov/tektran/data.
- Eagle, H. (1955) Propagation in a fluid medium of a human epidermoid carcinoma, strain KB (21811). *P.S.E.B.M.*, **89**, 362-364.
- Ehrlich, P.R., Raven, P.H. (1964). Butterflies and plants : a study in coevolution. *Evolution*, **18**, 586-608.
- Euzeby, J. (1981a). La coprologie chez les Primates. In Euzeby, J. (Ed), *Diagnostic expérimental des helminthoses animales (Animaux domestiques-Animaux de laboratoire-Primates) Tome I*. Informations Techniques des Services Vétérinaires, Paris. 347 p., 147-157.
- Euzeby, J. (1981b). Helminthes gastro-intestinaux des singes. In Euzeby, J. (Ed), *Diagnostic expérimental des helminthoses animales (Animaux domestiques-Animaux de laboratoire-Primates) Tome II*. Informations Techniques des Services Vétérinaires, Paris. 347 p., 235-245.
- Fallas, A.L., Thomson, R.H. (1968). Ebenaceae extractives. Part III. Binaphthoquinones from *Diospyros* species. *Journal of the Chemical Society (C)*, 2279-2282.
- Fang, X.P., Rupprecht, J.K., Alkofahi, A., Hui, Y.H., Liu, Y-M., Smith, D.L., Wood, K.L., McLaughlin, J.L. (1991). Gigantetrocin and gigantriocin : two novel bioactive annonaceous acetogenins from *Goniothalamus giganteus*. *Heterocycles*, **32**, 11-17.
- Farnsworth, N.R. (1990). The role of ethnopharmacology in drug development. Ciba foundation Symposium. In Wiley and Sons (Ed.), *Bioactive compounds from plants*, 2-11.
- Farnsworth, N.R., Akerele, O., Bingel, A.S., Soejarto, D.D., Guo, Z.G. (1985). Medicinal plants in therapy. *Bulletin WHO*, **63**, 965-981.
- Fauth, P.T., Kremetz, D.G., Hines, J.E. (1991). Ectoparasitism and the role of green nesting material in the European starling. *Oecologia*, **88**, 22-29.
- Fellows, L.E. (1992). Pharmaceuticals from traditional medicinal plants and others : future prospects. In Coombes, J.D. (Ed), *New drugs from natural sources*, IBC technical services LTD, London.
- Fernandez, M., Tutin, C.E.G. (1990). Écologie comparée des chimpanzés et des gorilles au Gabon. In Roeder, J.J., Anderson, J.J. (Eds), *Primates, recherches actuelles*. Masson, Paris.
- Ferry, G., Bruneau, V., Beauverger, P., Goussard, M., Rodriguez, M., Lamamy, V., Dromaint, S., Canet, E., Galizzi, J-P., Boutin, J.A. (2001). Ding of prostaglandins to human PPAR γ : tool assessment and new natural ligands. *European Journal of Pharmacology*, **417**, 77-89.
- File, S.K. (1976). *Probstmayria gombensis* sp. N. (Nematoda : Atractidae) from the chimpanzee. *Journal of Parasitology*, **62** (2), 256-258.
- File, S.K., Mc Grew, W.C. and Tutin, C.E.G. (1976). The intestinal parasites of a community of feral chimpanzees. (*Pan troglodytes schweinfurthii*). *Journal of Parasitology*, **62** (2), 259-261.
- Flynn, R.J. (1973). Ciliates. *Parasites of laboratory animals*, Ch. 4. Iowa State University, Ames, 114-117.
- Fujimoto, Y., Murasaki, C., Shimada, H., Nishioka, S., Kakinuma, K., Singh, S., Singh, M., Gupta, Y.K., Sahai, M. (1994). Annonaceous acetogenins from the seeds of *Annona squamosa*. Non adjacent bis tetrahydrofuranic acetogenins. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **42** (6), 1175-1184.

- Froment, A. (2001). Santé et nutrition des régions forestières. In Bahuchet, S., De Maret, P., Grenand, F., Grenand, P. (Eds), *Des forêts et des hommes, un regard sur les peuples des forêts tropicales*, APFT-ULB, Bruxelles, 177-186.
- Garcez, F.R., Garcez, W.S., Tsutsumi, M.T., Roque, N.F. (1997). Limonoids from *Trichilia elegans* spp. *elegans*. *Phytochemistry*, **45**, 141-148.
- Gartlan, J.S., Mc Key, D., Waterman, P.G., Mbi, C.N., Struhsaker, T. (1980). A comparative study of phytochemistry of two african rain forests. *Biochemical Systematics and Ecology*, **8**, 401-422.
- Gauthier, G., Bédard, J. (1990). The role of phenolic compounds and nutrients in determining food preference in greater snow geese. *Oecologia*, **84**, 553-558.
- Gereau, R.E., Kenfack, D. (2000). Le genre *Uvariopsis* (Annonaceae) en Afrique tropicale, avec la description d'une espèce nouvelle du Cameroun. *Adansonia*, **22**, 39-43.
- Ghiglieri, M.P. (1984). *The chimpanzees of Kibale Forest : a field study of ecology and social structure*, Columbia University Press, New-York.
- Gilardi, J.D., Duffey, S.S., Munn, C.A., Tell, L.A. (1999). Biochemical functions of geophagy in parrots : detoxification of dietary toxins and cytoprotective effects. *Journal of Chemical Ecology*, **25**, 897-922.
- Glander, K.E (1980). Reproduction and population growth in free-ranging mantled howling monkeys. *American Journal of Physical Anthropology*, **53**, 25-36.
- Glander, K.E (1994). Non human primate self-medication with wild plant foods. In Etkin, N.L. (Ed), *Eating on the Wild Side: the pharmacological, ecological and social implications of using non-cultigens*, Tuscon, University of Arizona Press, 239-256.
- Glander, K.E, Wright, P.C., Seigler, D.S., Radrianosolo, V., Radrianosolo, B. (1989). Consumption of cyanogenic bamboo by a newly discovered species of bamboo lemur. *American Journal of Primatology*, **19**, 119-124.
- Gleye, C. (1998). *Acétogénines des racines et des graines d'Annona muricata (Annonaceae), étude particulière des précurseurs biogénétiques*. Thèse de l'Université de Paris XI.
- Goodall, J. (1968). The behaviour of free-living chimpanzees in the Gombe Stream Reserve. *Animal Behavior monography*, **1**, 165-311.
- Goodall, J. (1975). Chimpanzees of the Gombe National Park : thirteen years of research. In Kurth, G., Eibl-Eibesfeldt, I, *Hominsation und Verhalten*, Fisher Verlag, Stuttgart, 74-136.
- Goodall, J. (1991). *Les chimpanzés et moi*. Réédition, Ed Stock, Paris, 317 p..
- Goodall, J. (1994). Foreward in Chimpanzee Cultures. In Wrangham R.W., Mc Grew W.C., de Waal F.B.M., Heltne P.G. (Eds), *Chimpanzee cultures*, Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- Goodall, J., (1986). *The chimpanzees of Gombe : Patterns of behaviour*, Belknap Press, Harvard, 673 p..
- Goodman, M. (1999). The genomic record of humankind's evolutionary roots. *American Journal of Human Genetics*, **64**, 31-39.
- Graham, C. (1981). Menstrual cycle physiology of the great Apes. In Graham, C.E. (Ed), *Reproductive biology of the great Apes : comparative and biomedical perspectives*, Academic Press, New York.
- Groves, C.P. (1997). Taxonomy and phylogeny of primates. In Blancher, A., Klein, J., Socha, W.W. (Eds), *Molecular biology and evolution of blood group and MHC antigens in primates*, Springer-Verlag, Berlin.

- Guignard, J.-L. (1996). *Biochimie végétale*. Masson, Paris, 255 p..
- Gwinner, H., Oltrogge, M., Trost, L., Nienaber, U. (2000). Green plants in starling nests : effects on nestlings. *Animal Behaviour*, **59**, 301-309.
- Hagerman, A.E., Butler, L.G. (1991). Tannins and lignins. In Rosenthal, G.A. and Berenbaum, M.R. (Eds), *Herbivores : their interactions with secondary plant metabolites*, 2^E, volume 1, *The Chemical Participants*, New York, Academic Press.
- Hahn, B.H., Shaw, G.M., De Cock, K.M., Sharp, P.M. (2000). AIDS as a zoonosis : scientific and public health implications. *Science*, **287**, 607-614.
- Handa, S.S., Kinghorn, A.D., Cordell, G.A., Farnsworth, N.R. (1983). Plant anticancer agents. XXVI. Constituents of *Peddia fischeri*. *Journal of Natural Products*, **46**, 2, 248-250.
- Hansinger, M.J., Simon, E.L., Pilbeam, D.R., Horn, D.R., Gartlan, J.S. (1973). The 1972 field study of the pygmy chimpanzee, *Pan paniscus*, in Central Africa. *American Journal of Physical Anthropology*, **40**, 139 (abstract).
- Harborne, J.B. (1988). *Introduction to ecological biochemistry*. Academic Press, London.
- Hartmann, T. (1991) Alkaloids. In Rosenthal, G.A. and Berenbaum, M.R. (Eds), *Herbivores : their interactions with secondary plant metabolites*, 2^E, volume 1, *the chemical participants*, New York Academic Press.
- Hasegawa, H., Kano, T., Mulavwa, M. (1983). A parasitological survey on the feces of Pygmy chimpanzee, *Pan paniscus*, at Wamba, Zaïre. *Primates*, **24** (3), 419-423.
- Haslam, E. (1988). Plant polyphenols synonym vegetable tannins and chemical defense, a reappraisal. Fourth Annual meeting of the International Society of Chemical Ecology, Hull, England, July, 13-17, 1987. *Journal of Chemical Ecology*, **14**, 1789-1805.
- Heine, B., König, C. (1988). *Plant concepts and plant use. An ethnobotanical survey of the semi-arid and arid lands of East Africa. Part 2: plants of the So (Uganda)*. Cologne development Studies Verlag Breitenbach Publishers, Saarbrücken, Fort Lauderdale.
- Hellekant, G., Hladik, C.M., Dennys, V., Simmen, B., Roberts, T.W., Glaser, D. (1993). On the relationship between sweet taste and seasonal body weight changes in a primate (*Microcebus murinus*). *Chemical senses*, **18**, 1, 27-33.
- Hellekant, G. and Ninomiya, Y. (1994). Bitter taste in single chorda tympani taste fibers from chimpanzee. *Physiology & Behavior*, **56** (6), 1185-1188.
- Hercberg S., Chauliac M., Galan P., Devanlay M., Zohoun I., Agboton Y., Soustre Y., Bories C., Christides J-P, Potier de Courcy G., Masse-Raimbault A.M., Dupin H. (1986). Relationship between anaemia, iron and folacin deficiency, haemoglobinopathies and parasitic infection. *Human Nutrition : clinical nutrition*, **40 C**, 371-379.
- Heymann, E.W., Hartmann, G. (1991). Geophagy in moustached tamarins *Saguineus mystax* (Platyrrhini : Callitrichidae), at the Rio Blanco, Peruvian Amazonas. *Primates*, **32**, 532-537.
- Hill, M.O. (1973). Diversity and evenness: unifying notation and its consequences. *Ecology*, **54** (2), 427-432.
- Hladik, C.M. (1973). Alimentation et activité d'un groupe de chimpanzés réintroduits en forêt gabonaise. *La Terre et la Vie*, **27**, 343-413.
- Hladik, C.M. (1977). Chimpanzees of Gabon and chimpanzees of Gombe : some comparative data on the diet. In Clutton-Brock, T.H. (Ed), *Primate Ecology : studies of feeding and ranging behaviour in lemurs, monkeys and apes*, New-York Academic Press, New-York. 631 p..

- Hladik, C.M. (1998). Aliments et médicaments : des “traditions” chez les chimpanzés et leurs interprétations. In Ducros, A., Ducros, J., Joulian, F. (Eds), *La culture est-elle naturelle? Histoire, épistémologie et applications récentes du concept de culture*, Errance, Paris, 151-161.
- Hladik, C.M., Gueguen, L. (1974). Géophagie et nutrition minérale chez les Primates sauvages. *Compte-rendu de l'Académie des Sciences, série D, Paris*, **279**, 1393-1396.
- Hladik, C.M., Viroben, G. (1974). L'alimentation protéique du chimpanzé dans son environnement forestier naturel. *Compte-rendu de l'Académie des Sciences, série D, Paris*, **279**, 1475-1478.
- Hladik, C.M., Chivers, D.J. (1978). Ecological factors and specific behavioural patterns determining primate diet. In Hladik, C.M., Chivers, D.J. (Eds), *Primates feeding behaviour in relation to food availability and composition*, Section IV, In Chivers, D.J., Herbert, J. (Eds) *Recent advances in primatology*, Academic Press, London, 433-444.
- Hladik, C.M., Pasquet, P., Simmen, B. (2002). New perspectives on taste and primate evolution : the dichotomy in gustatory coding for perception of beneficial versus noxious substances as supported by correlations among human thresholds. *American Journal of Anthropology*, **117**, 342-348.
- Hoffman, S.L., Subramanian, G.M., Collins, F.H., Venter, J.C. (2002). *Plasmodium*, human and *Anopheles* genomics and malaria. *Nature*, **415**, 702-709.
- Horn, A.D. (1980). Some observations on the ecology of bonobo chimpanzee (*Pan paniscus*, Schwarz 1929) near lake Tumba, Zaïre. *Folia Primatologica*, **34**, 145-169.
- Huffman, M.A. (1994). The C.H.I.M.P.P. Group : a multi-disciplinary investigation into the use of medicinal plants by chimpanzees. *Pan Africa News*, 1, 3-5.
- Huffman, M.A. (1997). Current evidence for self-medication in Primates : a multidisciplinary perspective. *Yearbook of Physical Anthropology*, **40**, 171-200.
- Huffman, M.A. (2001). Self-medicative behavior in the African Great Apes – an evolutionary perspective into the origins of human traditional medicine. *Bioscience*, **51**, 551-561.
- Huffman, M.A., Seifu, M. (1989). Observations of illness and consumption of a possibly medicinal plant *Vernonia amygdalina* (Del.), by a wild chimpanzee in the Mahale Mountains National Park, Tanzania. *Primates*, **30** (1), 51-63.
- Huffman, M.A., Wrangham, R.W. (1994). Diversity of medicinal plants use by chimpanzees in the wild. In Wrangham, R.W., McGrew, W.C., de Wall, F.B., Heltne P.G. (Eds), *Chimpanzee cultures*, Harvard University Press, Mass, 129-148.
- Huffman, M.A., Page, J.E., Sukhdeo, M.V.K., Gotoh, S., Kalunde, M.S., Chandrasiri, T., Towers, G.H.N. (1996). Leaf swallowing by chimpanzees, a behavioral adaptation for the control of strongyle nematode infections. *International Journal of Primatology*, **72**, 475-503.
- Huffman, M.A., Gotoh, S., Turner, L., Yoshida, K. (1997). Seasonal trends in intestinal nematode infection and medicinal plant use among chimpanzees in the Mahale Mountains, Tanzania. *Primates*, **38** (2), 111-125.
- Huffman, M.A., Elias, R., Balansard, G., Ohigashi, H., and Nansen, P. (1998). L'automédication chez les singes anthropoïdes : une étude multidisciplinaire sur le comportement, le régime alimentaire et la santé. *Primatologie*, **1**, 179-204.
- Isabirye-Basuta, G. (1988). Food competition among individuals in a free-ranging chimpanzee community in Kibale forest, Uganda. *Behaviour*, **105**, 135-147.
- Isabirye-Basuta, G. (1989). Feeding ecology of chimpanzees in the Kibale Forest, Uganda. In Heltne P.G., Marquardt L.A. (Eds), *Understanding Chimpanzees*, Harvard University Press, Cambridge, 407 p., 116-127.

- Janssen, D.L. (1993). Diseases of Great Apes. In Fowler, M.E. (Ed.), *Zoo and wild animal medicine*, 3rd ed., W.B.Saunders Company, Philadelphia.
- Jeannoda, V., Rakotonirina, O. Randrianarivo, H. Rakoto, D., Wright, P., Hladik, C.M. (2003). Le principe toxique du bambou consommé par *Hapalemur aureus* n'est pas neutralisé par la terre ingérée. *Revue d'Ecologie (Terre Vie)*, **58**, 151-153.
- Jisaka, M., Ohigashi, H., Takagaki, T., Nozaki, H., Tada, T., Hirota, M., Irie, R., Huffman M.A., Nishida, T. Kajie, M., Koshimizu, K. (1992). Bitter steroid glucosides, vernoniosides A1, A2 and A3, and related B1 from a possible medicinal plant, *Vernonia amygdalina*, used by wild chimpanzees. *Tetrahedron*, **48**, 625-632.
- Johnson, S.C. (1981). Bonobos : generalised hominid prototypes or specialized insular dwarfs? *Current Anthropology*, **22**, 363-375.
- Jolad, S.D., Hoffman, J.J., Schram, K.H., Cole, J.R., Tempesta, M.S., Kriek, G.R., Bates, R.B. (1982). Uvaricin, a new antitumor agent from *Uvaria acuminata* (Annonaceae). *Journal of Organic Chemistry*, **47**, 3151-3153.
- Joshi, K. C., Singh, P., Sharma, Mahesh, C. (1985). Quinones and other constituents of *Markhamia platycalyx* and *Bignonia unguiscati*. *Journal of Natural Products* , **48**, 1, 145.
- Joulian, F. (1995). Mise en évidence de différences traditionnelles dans le cassage des noix chez les chimpanzés (*Pan troglodytes*) de la Côte d'Ivoire, implications paléoanthropologiques. *Journal des africanistes*, **65**, 57-77.
- Kano, T. (1984). Distribution of pygmy chimpanzees (*Pan paniscus*) in Central Zaire Bassin. *Folia Primatologica*, **43**, 36-52.
- Karban, R., English-Loeb, G. (1997). Tachinid parasitoids affect host plant choice by caterpillars to increase caterpillar survival. *Ecology*, **78** (2), 603-611.
- Katende, A.B., Birnie, A., Tengnäs, B.O. (1995). *Useful trees and shrubs for Uganda*, Identification, propagation and management for agricultural and pastoral communities. Regional Soil Conservation Unit.
- Kawabata, M. Nishida, T. (1991). A preliminary note on the intestinal parasites of wild chimpanzees in the Mahale Mountains, Tanzania. *Primates*, **32**, 275-278.
- Ketch, L.A., Malloch, D., Mahaney, W.C., Huffman, M.A. (2001). Comparative microbial analysis and clay mineralogy of soils eaten by chimpanzees (*Pan troglodytes schweinfurthii*) in Tanzania. *Soil Biology and Biochemistry*, **33**, 199-203.
- Kloos, H., McCullough, F.S. (1987). Plants with recognized molluscicidal activity. In Mott, K.E. (Ed.), *Plant molluscicides*. New York.
- Knezevich, M. (1998). Geophagy as a therapeutic mediator of endoparasitism in a free-ranging group of Rhesus Macaques (*Macaca mulatta*). *American Journal of Primatology*, **44**, 71-82.
- Kokwaro, J.O. (1976). *Medicinal plants of East Africa*. East african literature bureau. Kampala, Nairobi, Dar Es Salaam, 368p..
- Kortland, A. (1984). Habitat richness, foraging range and diet in chimpanzees and some other primates. In Chivers, D.J., Wood, B.A., Bilsborough, A. (Eds). *Food acquisition and processing in Primates*, Plenum Press, New York.
- Krebs, C.J. (1989). *Ecological methodology*, Harper Collins, New York.

- Krief, S., Jamart, A., Hladik, C.M. (in press). On the possible adaptive value of coprophagy in free-ranging chimpanzees. *Primates*.
- Krief, S., Bories, C., Hladik, C.M. (2003). Résultats des examens parasitologiques de selles pratiqués sur une population de chimpanzés sauvages (*Pan troglodytes schweinfurthii*) d'Ouganda. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, **96**, 2, 80-82.
- Kuke, C., Williamson, E.M., Roberts, M.F., Watt, R., Hazra, B., Lajubutu, B.A., Yang, S.L. (1998). Antiinflammatory activity of binaphthoquinones from *Diospyros* species. *Phytotherapy research*, **12**, 155-158.
- Kuroda, S., Nishihara, T., Suzuki, S., Oko, R.A. (1996). Sympatric chimpanzees and gorillas in the Ndoki Forest, Congo. In Mc Grew, W.C., Marchant, L., Nishida, T. (Eds), *Great Apes Societies*, Cambridge University Press, 45-57.
- Landsoud-Soukate, J., Tutin, C.E.G., Fernandez, M. (1995). Intestinal parasites of sympatric gorillas and chimpanzees in the Lopé Réserve, Gabon. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, **89**, 73-79.
- Le Guenno, B., Formenty, P., Boesh, C. (1999). Ebola virus Outbreaks in the Ivory Coast and Liberia, 1994-1995. *Current topics in Microbiology and Immunology*, **235**, 77-84.
- Leboeuf, M., Cavé, A. (1972). Alcaloïdes des écorces de l'*Uvariopsis guineensis*. *Phytochemistry*, **11**, 2833-2840.
- Lebreton, P. (1982). Tanins ou alcaloïdes : deux tactiques de dissuasion des herbivores. *Revue d'Écologie (Terre et Vie)*, **52**, 221-238.
- Leighton, M. (1993). Modelling dietary selectivity by Bornean Orangutans : evidence for integration of multiple criteria in fruit selection. *International Journal of Primatology*, **14**, 257-313.
- Letarte, A., Dube, L., Troche, V. (1997). Similarities and differences in affective and cognitive origins of food liking and dislikes. *Appetite*, **28**, 185-191.
- Loiseau, P.M., Lubert, P., Wolf, J.G. (2000). Contribution of dithiol ligands to the *in vitro* and *in vivo* trypanocidal activities of dithiarsanes and study of ligand exchange in aqueous solution? *Antimicrobial agents and chemotherapy*, **44**, 2954-2961.
- Lozano, G.A. (1998). Parasitic stress and self-medication in wild animals. In Møller, P.A., Milinski, M., Slater, P.J.B. (Eds), *Advances in Study Behaviour*, Academic Press, London, **27**, 291-317.
- Luiciani, P. (1998). Clinique et thérapeutique chez les primates. *Primatologie*, **1**, 507-546.
- Mahaney, W.C. (1993). Scanning electron microscopy of earth mined and eaten by mountain gorillas in the Virunga Mountains, Rwanda. *Primates*, **34**, 311-319.
- Mahaney, W.C., Watts, D.P., Hancock, R.G.V. (1990). Geophagia by mountain gorillas (*Gorilla gorilla beringei*) in the Virunga Mountains, Rwanda. *Primates* **31**, 113-120.
- Mahaney, W.C., Hancock, R.G.V., Inoue, M. (1993). Geochemistry and clay mineralogy of soils eaten by Japanese macaques. *Primates*, **34**, 85-91.
- Mahaney, W.C., Aufreiter, S., Hancock, R.G.V. (1995). Mountain gorilla geophagy : a possible strategy for dealing with effects of dietary changes. *International Journal of Primatology*, **16**, 475-488.
- Mahaney, W.C., Hancock, R.G.V., Aufreiter, S., Huffman, M.A. (1996). Geochemistry and clay mineralogy of termite mound soil and the role of geophagy in chimpanzees of the Mahale Mountains, Tanzania. *Primates*, **37**, 121-134.

- Mahaney, W.C., Milner, M.W., Hancock, R.G.V., Aufreiter, S., Wrangham, R.W., Pier, H.W. (1997). Analysis of geophy soils in Kibale Forest, Uganda. *Primates*, **38**, 159-176.
- Mahaney, W.C., Zippin, J., Milner, M., Sanmugadas, K., Hancock, R.G.V., Aufreiter, S., Campbell, S. Huffman, M.A., Wink, M., Malloch, D. Kalm, V. (1999). Chemistry, mineralogy, and microbiology of termite mound soil eaten by the chimpanzees of the Mahale Mountains, Western Tanzania. *Journal of Tropical Ecology*, **15**, 565-588.
- Mahato, S.B., Kundu, A.P. (1994). ¹³CNMR spectra of pentacyclic triterpenoids-a compilation and some salient features. *Phytochemistry*, **37**, 1517-1575.
- Malenky, R.K., Kuroda, S., Vineberg, E.O., Wrangham, R.W. (1994). The significance of terrestrial herbaceous foods for bonobos, chimpanzees, and gorillas. In Wrangham, R.W. Mc Grew, W.C., de Waal, F.B.M., Heltne, P.G. (Eds), *Chimpanzee cultures*, Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts. 424 p., 169-179.
- Malenky, R.K., Wrangham, R.W. (1994). A quantitative comparison of terrestrial herbaceous food consumption by *Pan paniscus* in the Lomako Forest, Zaire, and *Pan troglodytes* in the Kibale Forest, Uganda. *American Journal of Primatology*, **32**, 1-12.
- Mallavadhani, U.V., Panda, A.K., Rao, Y.R. (1998). Pharmacology and chemotaxonomy of *Diospyros*. *Phytochemistry*, **49**, 901-958.
- Matsumoto-Oda, A., Hayashi, Y. (1999). Nutritional aspect of fruit choice by chimpanzees. *Folia Primatologica*, **70**, 154-162.
- Mbongo N, Loiseau PM, Lawrence F, Bories C, Craciunescu DG., Robert-Gero M. (1997). In vitro sensitivity of *Leishmania donovani* to organometallic derivatives of pentamidine. *Parasitology Research*, **83**, 515-517.
- Mc Cloud, T.G., Smith D.L., Chang C.-J., Cassady, J.M. (1987). Annonacin, a novel, biologically active polyketide from *Annona densicoma*. *Experientia*, **43**, 947-949.
- Mc Grew, W.C. (1992). *Chimpanzee material culture : implications for human evolution*, Cambridge University Press, Cambridge, 277 p..
- Mc Grew, W.C., Baldwin, P.J., Tutin C.E.G. (1988). Diet of wild chimpanzees (*Pan troglodytes verus*) at Mont Assirik, Senegal, I : composition. *American Journal of Primatology*, **16**, 213-226.
- Mc Grew, W.C., Tutin, C.E.G., Collins, D.A. and File, S.K. (1989). Intestinal parasites of sympatric *Pan troglodytes* and *Papio* spp. At two sites : Gombe (Tanzania) and Mt. Assirik (Senegal). *American Journal of Primatology*, **17**, 147-155.
- Mc Grew, W.C., Ham, R.M., White, L.J.T., Tutin, C.E.G., Fernandez M. (1997). Why don't chimpanzees in Gabon crack nuts? *International Journal of Primatology*, **18**, 353-374.
- Mc Henry, H.M. (1984). The common ancestor : a study of a postcranium of *Pan paniscus*, *Australopithecus* and other hominoids. In Susman R.L. (Ed), *The Pygmy chimpanzee, evolutionary biology and behavior*, Plenum Press, New-York, 435 p., 201-230.
- Mc Grew, W.C., Tutin, C.E.G., Collins, D.A., File, S.K. (1989). Intestinal parasites of sympatric *Pan troglodytes* and *Papio* spp. At two sites : Gombe (Tanzania) and Mt. Assirik (Senegal). *American Journal of Primatology*, **17**, 147-155.
- Messner, E.J., Wrangham, R.W. (1996). *In vitro* testing of the biological activity of *Rubia cordifolia* leaves on primate *Strongyloides* species. *Primates*, **37** (1), 105-108.
- Mole, S. and Waterman, P.G. (1987). A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies. II. Techniques for biochemically defining tannins. *Oecologia*, **72**, 148-156.

- Mole, S., Butler, L.G., Iason, G. (1990). Defense against dietary tannin in Herbivores : a survey for proline-rich salivary proteins in mammals. *Biochemical Systematics and Ecology*, **18**, 287-293.
- Moog, C., Wick, A., Le Ber, P., Kim, A., Aubertin, A-M. (1994). Bicyclic imidazo derivatives, a new class of highly selective inhibitors for the human immunodeficiency virus type 1. *Antiviral research*, **24**, 275-288.
- Moore, J. (1997). *Parasites and host behaviour*, Oxford University Press, Oxford.
- Morel, C.M., Touré, Y.T., Dobrokhotov, B., Oduola, A.M.J. (2002). Mosquito genome-a breakthrough for public health. *Science*, **298**, 79.
- Mulholland, D.A., Taylor, D.A.H. (1980). Limonoids from the seeds of the natal mahogany, *Trichilia dregeana*. *Phytochemistry*, **19**, 2421-2425.
- Murphy, G.J., Holder, J.C. (2000). PPAR- γ agonists : therapeutic role in diabetes, inflammation and cancer. *Trends in Pharmacological Sciences*, **21**, 469-473.
- Musza, L.L., Killar, L.M., Speight, P., Barrow, C.J., Guillum, A.M., Cooper, R. (1995). Minor limonoids from *Trichilia rubra*. *Phytochemistry*, **39**, 621-624.
- Napier, J.R., Napier, P.H. (1985). *The natural history of Primates*, MIT Press, Cambridge, Massachusetts.
- Newton-Fisher, N.E. (1999). The diet of chimpanzees in the Budongo Forest Reserve, Uganda. *African Journal of Ecology*, **37**, 344-354.
- Nishida, T. (1974). Ecology of wild chimpanzees. *Human Ecology*, 15-60. R.Otsuka, Tokyo, Kioritsu-Shuppan.
- Nishida, T. (1979). The social structure of chimpanzees of Mahale Mountains. In Hamburg D.A., Mc Cown E.R., *The Great Apes*, Menlo Park, California : Benjamin/Cummings. 73-122.
- Nishida, T. (1983). Alloparental behavior in wild chimpanzées of the Mahale Mountains, Tanzania. *Folia Primatologica*, **41**, 1-33.
- Nishida, T., Uehara, S. (1983). Natural diet of chimpanzees (*Pan troglodytes schweinfurthii*). Long-term records from Mahale Mountains, Tanzania. *African Study Monographs*, **3**, 109-130.
- Nishida, T., Wrangham, R.W., Goodall, J., Uehara S. (1983). Local differences in plants feeding habits of chimpanzees between the Mahale Mountains and Gombe National Park, Tanzania. *Journal of Human Evolution*, **12**, 467-480.
- Nishida T., Hiraiwa-Hasegawa, M. (1987). Chimpanzees and bonobos : cooperative relationships among males. In Smuts, B.B., Cheney, D.L., Seyfarth, R.M., Wrangham, R.W., Struhsaker, T.T. (Eds), *Primates Societies*, University of Chicago Press, Chicago.
- Norhamon, A.W. and Hazra, B. (1997). Inhibition of tumor promoter induced Epstein-Barr virus activation by Diospyrin, a plant-derived anti-tumour compound, and its synthetic derivatives. *Phytotherapy research*, **11**, 588-590.
- Nosjean, O. Boutin, J.A. (2002). Natural ligands of PPAR γ are prostaglandin J₂ derivatives really playing the part? *Cellular signalling*, **14**, 573-583.
- Nowark, R.M. (1991). *Walker's mammals of the world*, 5th ed. Vol 1, The John Hopkins University Press, London.
- Nyakabwa, M., Gapusi, R. (1990). Plantes médicinales utilisées chez les Banyamulenge de Fizi au Sud -Kivu (Zaïre). *African Study Monographs*, **11**, 2, 101-114.

- Oates, J.F. (1978). Water-plant and soil consumption by guereza monkeys (*Colobus guereza*): a relationship with mineral and toxins in the diet? *Biotropica*, **10**, 241-253.
- Oates, J.F. (1987). Food distribution and foraging behavior. In Smuts, B.B., Cheney, D.L., Seyfarth, R.M., Wrangham, R.W., Struhsaker, T.T. (Eds), *Primates Societies*, University of Chicago Press, Chicago.
- Oates, J.F., Swain, T., Zantovska, J. (1977). Secondary compounds and food selection by colobus Monkeys. *Biochemical Systematics and Ecology*, **5**, 317-321.
- Oates, J.F., Waterman, P.G., Choo, G.M. (1980). Food selection by the south Indian Leaf-monkey, *Presbytis johnii*, in relation to leaf chemistry. *Oecologia*, **45**, 45-56.
- Ohigashi H., Huffman, M.A., Izustu, D., Koshimizu, K., Kawanaka, M., Sugiyama, H., Kirby, G.C., Warhust, D.C., Allen, D., Wright, C.W., Phillipson, J.D., Timmon-David, P., Delnas, F., Elias, R., Balansard, G. (1994). Towards the chemical ecology of medicinal plant use in chimpanzees: the case of *Vernonia amygdalina* (Del.). A plant used by wild chimpanzees possibly for parasite-related diseases. *Journal of Chemical Ecology*, **20**, 541-553.
- Olugbade, T.A., Adesanya, S.A.(2000). Prieurianoside, a protolimonoid glucoside from the leaves of *Trichilia prieuriana*. *Phytochemistry*, **54**, 867-870.
- Ott-Joslin, J.E. (1993). Zoonotic diseases of non-human primates. In In Fowler, M.E.(Ed.). *Zoo and wild animal medicine*, 3rd Ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia, 358-373.
- Padmaja, V., Thankhamany, V., Hisham, A. (1993). Antibacterial, Antifungal and anthelmintic activities of root bark of *Uvaria hookeri* and *Uvaria narum*. *Journal of Ethnopharmacology*, **40**, 181-186.
- Page, J.E, Huffman, M.A., Smith, V., Towers, G.H.M. (1997). Chemical basis for medicinal consumption of *Aspilia* leaves by chimpanzees: a re-analysis. *Journal of Chemical Ecology*, **23**, 2201-2225.
- Page, J.E., Balza, F.F., Nishida, T., Towers, G.H.N. (1992). Biological active diterpenes from *Aspilia mossambicensis*, a chimpanzee medicinal plant. *Phytochemistry*, **31** (10), 3437-3439.
- Paige, K.N., Whitham, T.G. (1985). Individual and population shifts in flower color by scarlet gila: a mechanism for pollinator tracking. *Science*, **227**, 315-317.
- Pal, S.(1994). *Investigations on the antitumour and antileishmanial activities of a natural product and its derivatives*. Thesis of Jadavpur University, India.
- Pal, S., Barnerjee, A., Hazra, B. (1996). Pharmacological studies on the effect of the treatment of Swiss A Mice with Diospyrin, a tumour-inhibitory plant product, and its synthetic derivatives. *Phytotherapy Research*, **10**, 393-397
- Pickford, M. (1998). Dater les Anthropoïdes néogènes de l'Ancien Monde: une base essentielle pour l'analyse phylogénétique, la biogéographie et la paléocologie. *Primatologie*, **1**, 27-92.
- Pupo, M.T., Vieira, P.C., Fernandes, J.B., Das, M.F., Da Silva, G.F., Rodrigues Fo, E. (1997). Androstane and pregnane 2 β , 19-hemiketal steroids from *Trichilia clausenii*. *Phytochemistry*, **45**, 1495-1500.
- Pupo, M.T., Vieira, P.C., Fernandes, J.B., Das, M.F., Da Silva, G.F. (1998). γ -lactones from *Trichilia clausenii*. *Phytochemistry*, **48**, 307-310.
- Queiroz, E.F. (1999). Étude chimique et biologique d'*Annona spinescens* Mart. et d'*Annona salzmanii* D.C. (Annonaceae) et étude de dérivés glycolsylés des Acétogénines. Thèse de l'Université de Paris XI.
- Ramirez, M.D.C., Toscano, R.A., Arnason, J. Omar, S., Cerda-Garcia-Rojas, C.M., Mata, R. (2000). Structure, conformation and absolute configuration of new antifeedant Dolabellanes from *Trichilia trifolia*. *Tetrahedron*, **56**, 5085-5091.

- Ridley, R.G. (2002). Medical need, scientific opportunity and the drive for antimalarial drugs. *Nature*, **415**, 686-692.
- Robbins, C.T., Hagerman, A.E., Austin, P.J., Mc Arthur, C., Hanley, T.A. (1991). Variation in mammalian physiological responses to a condensed tannin and its ecological implications. *Journal of Mammology*, **722**, 480-486.
- Robbins, C.T., Mole, S., Hagerman, A.E., Hanley, T.A. (1987). Role of tannins in defending plants against ruminants : reduction in dry matter digestion? *Ecology*, **68** (6), 1605-1615.
- Rodriguez, E., Aregullin, M., Nishida, T., Uehara, S., Wrangham, R., Abramowski, Z., Finlayson, A., Towers, G.H.N. (1985). Thiarubrine A, a bioactive constituent of *Aspilia* (Asteraceae) consumed by wild chimpanzees. *Experientia*, **41**, 419-420.
- Rodriguez, E., Wrangham, R.W. (1993). Zoopharmacognosy : the use of medicinal plants by animals. In Downum, K.R., Romeo, J.T., Stafford, H. (Eds), *Recent advances in phytochemistry*, **27**, *Phytochemical potential of tropic plants*, Plenum Press, New York, 89-105.
- Rodriguez-Hahan, L., Cardenas, J. Arenas, C. (1996). Trichavensin, a prierurianin derivative from *Trichilia havanensis*. *Phytochemistry*, **43**, 457-459.
- Rogers, M.E., Maisels, F., Williamson, E.A., Fernandez, M. and Tutin, C.E.G. (1990). Gorilla diets in the Lopé Reserve, Gabon : a nutritional analysis. *Oecologia*, **84**, 326-339.
- Rooney, M. Sleeman, J. (1998). Identifying potential disease threat to the mountain gorillas (*Gorilla gorilla beringei*) and chimpanzees (*Pan troglodytes*) of Uganda by establishing the disease endemic to the human populations living in close proximity to the great apes. Rapport non publié.
- Ropartz, P. (1990). La taxonomie des Primates. In Roeder, J.J., Anderson, J.R.(Eds), *Primates, Recherches actuelles*, Masson, Paris.
- Rupprecht J.K., Hui, Y.H., McLaughlin, J.L. (1990). Annonaceous acetogenins : a review. *Journal of Natural Products*, **53**, 237-278.
- Santiago, M.L., Rodenburg, C.M., Kameya, S., Bibollet-Ruche, F., Gao, F., Bailes, E., Meleth, S., Soong, S-J, Kilby, J.M., Moldoveanu, Z., Fahey, B., Muller, M.N., Ayouba, A., Nerrienet, E., McClure, H.M., Heeney, J.L., Pusey, A.E., Collins, D.A., Boesh, C., Wrangham, R.W., Goodall, J., Sharp, P.M., Shaw, G.M., Hahn, B.H. (2002). SIVcpz in wild chimpanzees. *Science*, **295**, 465.
- Scalbert, A., Haslam, E. (1987). Polyphenols and chemical defence of the leaves of *Quercus robur*. *Phytochemistry*, **26**, 3191-3195.
- Senut, B. (1998). Les grands singes fossiles et l'origine des hominidés : mythes et réalités. *Primatologie*, 1998, 1 :93-134.
- Sévenet, T. (1994). *Plantes, molécules et médicaments*. CNRS Édition, Paris.
- Shoemaker R.H., Abbot B.J., Macdonald M.M., Mayo J.G., Venditti J.M., Wolpert-De Filippes M.K. (1983). Use of the KB cell line for in vitro cytotoxicity assays. *Cancer Treatment reports*, **67**, 97.
- Sidhu, G.S., Pardhasaradhi, M. (1967). Structure of Diospyrin. *Tetrahedron Letters*, **14**, 1313-1316.
- Skorupa, J.P. (1985). Responses of rainforest Primates to selective logging in Kibale Forest, Uganda : a summary report. In Benirschke, K. (Ed), *Primates. The road to self-sustaining populations*, Springer-Verlag.
- Stanford, C.B. (1999). *The hunting Apes : meat eating and the origins of human behavior*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.

- Starker, L.A., Erwin, M., Oh, J., Browning, B. (1976). Phytoestrogens : adverse effects on reproduction in California quail. *Science*, **191**, 98-100.
- Struhsaker, T.T., Hunkeler, P. (1971). Evidence of Tool-Using by Chimpanzees in Ivory Coast. *Folia Primatologica*, **15**, 212-219.
- Struhsaker, T.T., Cooney, D.O., Siex, K.S. (1997). Charcoal consumption by Zanzibar red Colobus monkeys : its function and its ecological and demographic consequences. *International Journal of Primatology*, **18**, 61-72.
- Sugiyama, Y., Koman J. (1987). A preliminary list of chimpanzees' alimentation at Bossou, Guinea. *Primates*, **28**, 133-147.
- Swenson, R.B. (1993). Protozoal parasites of Great Apes. In Fowler, M.E.(Ed.). *Zoo and wild animal medicine*, 3rd Ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia, 352-355..
- Takahata, Y., Hiraiwa-Hasegawa, M., Takasaki, H., Nyundo, R. (1986). Newly acquired feeding habits among chimpanzees of the Mahale Mountains National Park, Tanzania. *Human Evolution*, **1** (3), 277-284.
- Taniguchi, M., Chapya, A., Kubo, I., Nakanishi, K. (1978). Screening of East African plants for antimicrobial activity, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **26**, 9, 2910-2913
- Taniguchi, M., Kubo, I. (1993). Ethnobotanical drug discovery based on medicine men's trials in the african savanna : screening of east african plants for antimicrobial activity II. *Journal of Natural Products*, **56**, 9, 1539-1546.
- Teleki, G. (1973). The omnivorous chimpanzee. *Scientific American*, **228**, 32-42.
- Toft J.D. (1986). The pathoparasitology of non-human primates: a review. In Benirshke K. (Ed.), *Primates : the road to self-sustaining population*, Springer-Verlag, New York, 571-679.
- Trager, W., Jensen, J.B. (1976). Human malarial parasites in continuous culture. *Science*, **193**, 673-675.
- Trouiller, P., Oliaro, P.J. (1998). Drug development output from 1975 to 1996 : what proportion for tropical diseases ? *International Journal of Infectious Diseases*, **3**, 61-63.
- Tutin, C.E.G. (1979). Mating patterns and reproductive strategies in a community of wild chimpanzees (*Pan troglodytes schweinfurthii*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **6**, 29-38.
- Tutin, C.E.G. (1980). Reproductive of wild chimpanzees in the Gombe National Park, Tanzania. *Journal of Reproduction and Fertility Supp.*, **28**, 43-57.
- Tutin, C.E.G. (1994). Reproductive success story : Variability among chimpanzees and comparisons with gorillas. In Wrangham, R.W., Mc Grew, W.C., de Waal, F.B.M., Heltne, P.G. (Eds), *Chimpanzee cultures*, Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts. 424 p., 169-179.
- Tutin, C.E.G. Fernandez, M. (1992). Insect-eating by sympatric lowland gorillas (*Gorilla g. gorilla*) in the Lopé reserve, Gabon. *American Journal of Primatology*, **28**, 29-40.
- Tutin, C.E.G., Fernandez M. (1993). Composition of the diet of chimpanzees and comparison with that of sympatric lowland gorillas in the Lopé Reserve, Gabon. *American Journal of Primatology*, **30**, 195-211.
- Tyler, V.E., Brady, L.R., Robbers, J.E. (1881). *Pharmacognosy*. Lea & Febiger, Philadelphia, 520 p..
- Van Puyvelde, L., Ngaboyisonga, M., Rwangabo, P.C., Mukarugambwa, S., Kayonga, A., Runyinya-Barabwiriza. (non daté). *Enquêtes ethnobotaniques sur la médecine traditionnelle Rwandaise. Tome 1 : préfecture de Kibuye*.

- Van Waerebeke, D., Cahbaud, A.G., Collet, J.Y. (1988). Nouveaux Nématodes Atractides parasites du chimpanzé et du gorille au Gabon. *Annales de Parasitologie humaine et comparée*, **63** (1), 37-47.
- Vandermeersch, C. (1990). Diagnostic différentiel des principales affections chez les primates non humains et contrôle des zoonoses. Thèse de Médecine Vétérinaire, Alfort.
- Verpoorte, R. (1989). Some phytochemical aspects of medicinal plant research. *Journal of Ethnopharmacology*, **25**, 43-59.
- Visalberghi, E., Janson, C.H., Agostini, I. (2003). Response toward novel foods and novel objects in wild *Cebus apella*. *International Journal of Primatology*, **24**, 3, 653-675.
- Vitazkova, S.K., Long, E., Paul, A., Glendinning, J.I. (2001). Mice suppress malaria infection by sampling a "bitter" chemotherapy agent. *Animal Behaviour*, **61**, 887-884.
- Wakibara, J.V., Huffman, M.A., Wink, M., Reich, S., Aufreiter, S., Hancock, R.G.V., Sodhi, R., Mahaney, W.C., Russel, S. (2001). The adaptive significance of geophagy for Japanese macaques (*Macaca fuscata*) at Arashiyama, Japan. *International Journal of Primatology*, **22**, 495-520.
- Waller, J.C., Reynolds, V. (2001). Limb injuries resulting from snares and traps in chimpanzees (*Pan troglodytes schweinfurthii*) on the Budongo Forest, Uganda. *Primates*, **42**, 2, 135-139.
- Walsh C.F. *et al.* (2003) Catastrophic Ape decline in western equatorial Africa. *Nature* published online, doi: 10.1038/nature01566.
- Waser, P.M. (1987). Interaction among Primates. In Smuts, B.B., Cheney, D.L., Seyfarth, R.M., Wrangham, R.W., Struhsaker, T.T. (Eds), *Primates Societies*, University of Chicago Press, Chicago.
- Watt, J.M., Breyer-Brandwijk, M.G. (1962). *Medicinal and poisonous plants of Southern and Eastern Africa*. E. & S. Livingstone LTD, 2nd edition.
- Watts, D.P. (1984). Composition and variability of mountain gorilla diets in the Central Virungas. *American Journal of Primatology*, **7**, 326-356.
- Weenen, H., Nkunya, M.H.H., Bray, D.H., Mwasumbi, L.B., Kinabo, S., Kilimali, V.A.E.B. (1990). Antimalarial activity of Tanzanian medicinal Plants., *Planta Medica*, **56**, 368-370.
- Wildman, D.E., Uddin, M., Grossman, L.I., Goodman, M. (2003). Implications of natural selection in shaping 99.4% non synonymous DNA identity between humans and chimpanzees : enlarging genus Homo. *Proceedings of the national Academy of Sciences*, **100** (12), 7181-7188.
- Wilson, D.E., Reeder, D.M. (1993). *Mammals species of the world*. Smithsonian Institution Press, Washington.
- Wing, L.D., Buss, I.O. (1970). Elephants and forests. *Wildlife Monographs* **19**.
- Wink, M., Hofer, A., Bilfinger, M., Englert, E., Martin, M., Schneider, D. (1993). Geese and plant dietary allelochemicals-food palatability and geophagy. *Chemoecology*, **4**, 93-107.
- Wirth, D.F. (2002). The parasite genome, biological revelation. *Nature*, **419**, 495-497.
- Wrangham, R.W. (1974). Artificial feeding of chimpanzees and baboons in their natural habitat. *Animal Behaviour*, **22**, 83-94.
- Wrangham, R.W. (1975). *The behavioural ecology of chimpanzees in Gombe National Park*. Ph.D. thesis, University of Cambridge.
- Wrangham, R.W. (1977). Feeding behavior of chimpanzees in Gombe National Park, Tanzania. In Clutton-Brock, T.H. (Ed), *Primate Ecology : studies of feeding and ranging behaviour in lemurs, monkeys and apes*, New-York Academic Press, New-York. 631 p., 503-538.

- Wrangham, R.W. (1979). Sex differences in chimpanzee dispersion. In Hamburg, D.A., Mc Cown, E.R. (Eds), *the Great Apes*, Benjamin/Cummings, Menlo Park, Calif.
- Wrangham, R.W. (1995). Leaf-swallowing by chimpanzees and its relationship to tapeworm infection. *American Journal of Primatology*, **37**, 297-304.
- Wrangham, R.W., Smuths, B. (1980). Sex differences in behavioral ecology of Chimpanzees in Gombe National Park, Tanzania. *Journal of Reproduction and Fertility Supp.*, **28**, 13-21.
- Wrangham, R.W., Waterman, P.G. (1981). Feeding behavior of vervet monkeys on *Acacia tortilis* and *Acacia xanthophloea* with special reference to reproductive strategies and tannin production. *Journal of Animal Ecology*, **50**, 715-731.
- Wrangham, R.W., Waterman, P.G. (1983). Condensed tannins in fruits eaten by chimpanzees. *Biotropica*, **15** (3), 217-222.
- Wrangham, R. W., Nishida, T. (1983). *Aspilia spp.* leaves : a puzzle in the feeding behavior of wild chimpanzees. *Primates*, **24** (2), 276-282.
- Wrangham, R.W., Goodall, J. (1989). Chimpanzee use of medicinal leaves. In Heltne, P.G., Marquardt L.A. (Eds), *Understanding Chimpanzees*, Harvard university Press, Cambridge, 22-37.
- Wrangham, R.W., Conklin, N.L., Chapman, C.A, Hunt, K.D. (1991). The significance of fibrous foods for Kibale Forest chimpanzees. *Philosophical transactions of the Royal Society of London, Series B*, **334**, 171-178.
- Wrangham, R.W., Clark, A.P., Isabirye-Basuta, G. (1992). Female social relationships and social organization of kibale Forest chimpanzees. In Mc Grew, W.C, Marler, P., Pickford, M., deWaal, F.B.M., *Topics in Primatology*, vol.1, *Humans origins*, University of Tokyo Press, 81-98.
- Wrangham, R.W., Chapman, C.A., Clark-Arcadi, A.P., Isabirye-Basuta, G. (1996). Social ecology of Kanyawara chimpanzees : implications for understanding the costs of great apes groups. In Mc Grew, W.C., Marchant, L., Nishida, T. (Eds), *Great Apes Societies*, Cambridge University Press, 45-57.
- Wrangham, R.W., Peterson, D. (1996). *Demonic males : apes and the origins of human violence*. Houghton Miffling Company, Boston.
- Wrangham, R.W., Conklin-Brittain, N.L., Hunt, K.D. (1998). Dietary response of chimpanzees and Cercopithecines to seasonal variation in fruit abundance. I. Antifeedants. *International Journal of Primatology*, **19** (6), 949-970.
- Yamajiwa, J., Maruhashi, T., Yumoto, T., Mwanza, T. (1996). Dietary and ranging overlap in sympatric gorillas and chimpanzees in Kahuzi-Biega National Park, Zaire. In Mc Grew, W.C., Marchant, L., Nishida, T. (Eds), *Great Apes Societies*. Cambridge University Press, 45-57.
- Yardley V., Snowdon, D., Croft, S., Hazra, B. (1996). In vitro activity of Diospyrin and derivatives against *Leishmania donovani*, *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma brucei brucei*. *Phytotherapy research*, **10**, 559-562.
- Zhong, S-M., Waterman, P.G., Jeffreys, J.A.D. (1984). Naphtoquinones and triterpenes from African *Diospyros* species. *Phytochemistry*, **23**, 1067-1072.
- Zihlman, A.L. (1984). Body build and tissue composition in *Pan paniscus* and *Pan troglodytes* with comparisons to others hominoids. In Susman, R.L., *The Pygmy chimpanzee, evolutionary biology and behavior*, Plenum Press, New-York. 435 p., 179-200.
- Zucker, W.V. (1983). Tannins : does structure determine function? An ecological perspective. *The American Naturalist*, **121** (3), 335-365.

SITES INTERNET consultés jusqu'en juillet 2003

CHIMPP Group : Chemo-ethology of Hominoid Interactions with Medicinal Plants and Parasites :
<http://jinrui.zool.kyoto-u.ac.jp/CHIMPP/CHIMPP.html>

DPDx : www.dpd.cdc.gov/dpdx/

Kibale National Park : <http://weber.ucsd.edu/~jmoore/apesites/Kibale/Kibale.html>

OMS / WHO: www.who.int/fr/

Prelude : l'utilisation de quelques plantes en médecine traditionnelle et vétérinaire en Afrique sub-saharienne :
<http://www.preludedb.be.tf>

Primate Info Net, Wisconsin Primate Research Center : <http://www.primate.wisc.edu/pin/>

Roll Back Malaria, OMS : www.rbm.who.int.

RÉSUMÉ

L'étude de l'écologie chimique de l'alimentation animale montre que des parties de plantes non nutritionnelles, riches en composés secondaires, sont consommées, suggérant leur possible utilisation à des fins thérapeutiques. Afin de sélectionner des plantes ayant des propriétés pharmacologiques, un suivi éthologique et vétérinaire d'une espèce proche de l'homme, le chimpanzé (*Pan troglodytes schweinfurthii*), a été conduit, grâce à des méthodes non-invasives, dans le Parc National de Kibale en Ouganda. Des échantillons de fèces (252) et d'urine (76), provenant d'individus identifiés, ont été examinés. Les différentes méthodes d'observation et de diagnostic vétérinaire se recoupent et montrent la consommation d'items pauvres en nutriments, mais aussi le bon état général des animaux et leur faible charge parasitaire, en dépit de la forte prévalence des infestations.

Quarante-deux échantillons provenant de 24 espèces de plantes, consommées par les chimpanzés et souvent utilisées en médecine traditionnelle africaine, ont été collectés. Des essais biologiques antiparasitaires (helminthes et protozoaires), antibactériens, antifongiques et antiviraux (VIH) ont été pratiqués *in vitro* sur 84 extraits bruts. Les propriétés cytotoxiques, immunomodulatrices et l'effet sur la régulation de la prise alimentaire des extraits bruts ont été évalués par des tests biologiques. Parmi les nombreux extraits biologiquement actifs, deux binaphtoquinones, isolées de l'écorce de *Diospyros abyssinica*, et des acétogénines, telles l'annonacine et la gigantétrocine isolées des feuilles et écorces d'*Uvariopsis congensis*, possèdent une cytotoxicité significative. Deux nouveaux limonoïdes, à forte activité antipaludique, ont été isolés des feuilles de *Trichilia rubescens*.

Ces résultats confirment que le régime alimentaire des chimpanzés, riches en métabolites secondaires, peut agir de façon préventive et curative pour améliorer leur santé et pourrait être utilisé pour guider la recherche de nouvelles molécules potentiellement utilisables en médecine humaine.

DISCIPLINE

Écologie et Chimie des Substances Naturelles

MOTS CLÉS

Pan troglodytes, zoopharmacognosie, coprologie, analyse d'urine, phytochimie, *Diospyros abyssinica*, *Uvariopsis congensis*, acétogénines, *Trichilia rubescens*, limonoïdes, *Albizia grandibracteata*, ethnomédecine.

ADRESSES DES LABORATOIRES

ICSN-CNRS
1, avenue de la Terrasse
91198 GIF-SUR-YVETTE Cedex

Éco-Anthropologie et Ethnobiologie, MNHN
4, avenue du Petit Château
91800 BRUNOY

SECONDARY COMPOUNDS AND ANIMAL BEHAVIOUR :

HEALTH MONITORING AND FEEDING BEHAVIOUR OF WILD CHIMPANZEES (*Pan troglodytes schweinfurthii*) IN UGANDA

BIOLOGICAL ACTIVITIES AND CHEMICAL STUDY OF SOME PLANTS INGESTED

ABSTRACT

The study of chemical ecology of plants in the diet of non-human primates has begun to show that a variety of secondary compounds of non-nutritional plant parts is ingested. In order to select plants with potential pharmacological effects, behavioural and health monitoring of wild chimpanzees (*Pan troglodytes schweinfurthii*), from Kibale National Park, in Uganda, has been conducted.

Fecal samples (252) and urine samples (76) were analyzed and the health status evaluated to diagnose eventual illness and/or to provide evidence of self medicative behavior. 84 crude extracts from 24 plants species from chimpanzees' diet were tested *in vitro* for a wide range of biological properties such as antimalarial, anthelmintic, antileishmanial, antimicrobial, cytotoxic activities and effects on the feeding behavior.

Among the crude extracts investigated, significant results were obtained in cytotoxicity and antiparasitic activity. Chemical investigations led to the isolation of bioactive compounds from three plants namely *Uvariopsis congensis* (acetogenins), *Diospyros abyssinica* (binaphthoquinones) and *Trichilia rubescens* (two new limonoids).

These results are consistent with the hypothesis that certain plants may have prophylactic and/or therapeutic effects on the health of chimpanzees. In addition to shedding light on the complex interaction between plants, animals and pathogens, the study of self-medication in great apes, based on behavioral and veterinary survey is expected to provide a novel approach to the discovery of new bioactive products.

SPECIALITY

Ecology and Chemistry of Natural Products

KEY WORDS

Pan troglodytes, z oopharmacognosy, coprology, urinalysis, phytochemistry, *Diospyros abyssinica*, *Uvariopsis congensis*, acetogenins, *Trichilia rubescens*, l imonoids, *Albizia grandibracteata*, ethnomedicine

ICSN-CNRS
1, avenue de la Terrasse
91198 GIF-SUR-YVETTE Cedex

Éco-Anthropologie et Ethnobiologie, MNHN
4, avenue du Petit Château
91800 BRUNOY

