



*Institut Pasteur de  
Tunis*

# **Evaluation *in vitro* de l'activité antivirale de *Thymus capitatus* contre des virus animaux**

**Présenté par : Marwa Mekni Toujani**

**Encadré par : Prof Abdeljelil Ghram**



# PLAN



Introduction



Méthodes et résultats



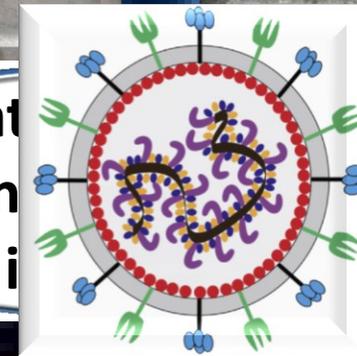
Conclusion

# Le virus de la maladie de Newcastle (NDV)

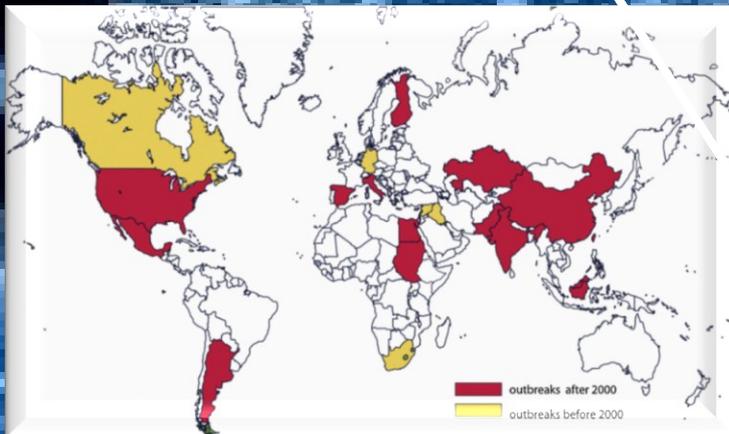
Agent pathogène de la maladie de Newcastle (ND)

Famille: *Paramyxoviridae*

Quat  
an  
i



Distribution mondiale



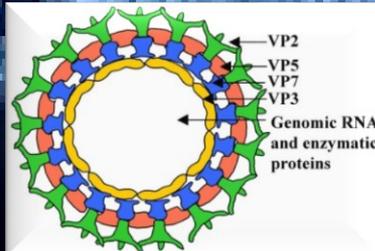
Cause la fièvre catarrhale chez les ruminants, tels que les ovins, les caprins, les cerfs et les bovins

Bluetongue virus (BTV)

Transmis par insectes



Perte économique estimée à 3 milliards de dollars par an dans



Famille: Reoviridae



Distribution of serotypes of Bluetongue virus and Culicoides spp. of the geographic areas. Source: Adapted from Tabachnick (2010). J Exp Biol. 213: 946-954.

# Y a-t-il un traitement antiviral efficace?

NDV

- Vaccination systématique dans le monde entier
- Pas d'effet protecteur, vu la différence entre les souches vaccinales et les souches de NDV actuelles.

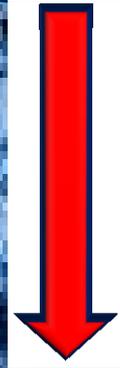
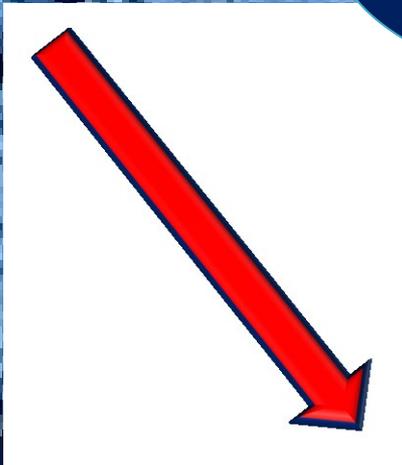
BTV

- Pas de traitements antiviraux.
- Pas de mesures de contrôle efficace.

Absence de médicaments antiviraux

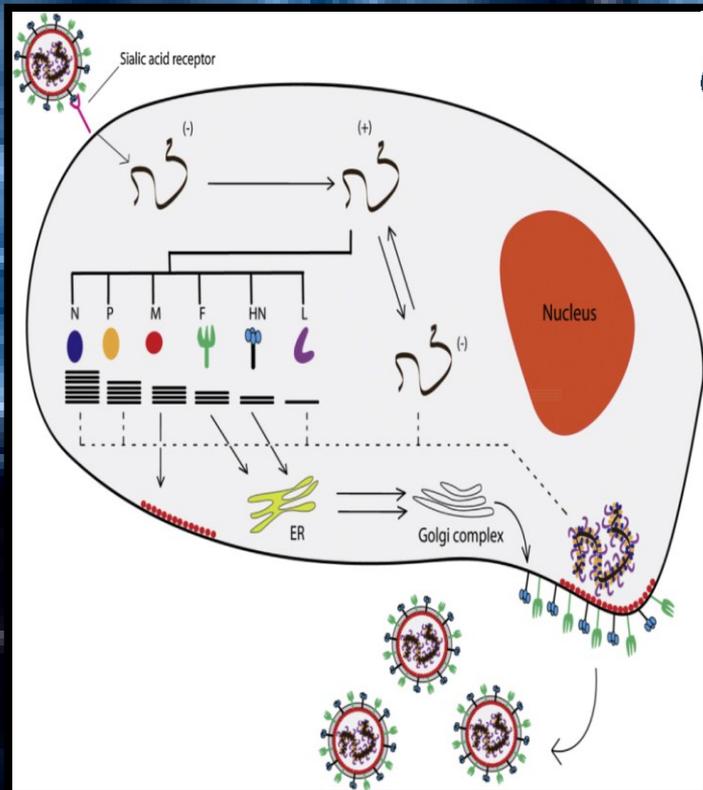
Rapidité de la réplication virale

Rapidité de la mutation virale



Thérapie antivirale

Pour inhiber une infection virale, il est nécessaire de cibler un site spécifique de la réplication virale



Attachement

Fusion

Réplication

Libération

Fig 1. Cycle de réplication du NDV

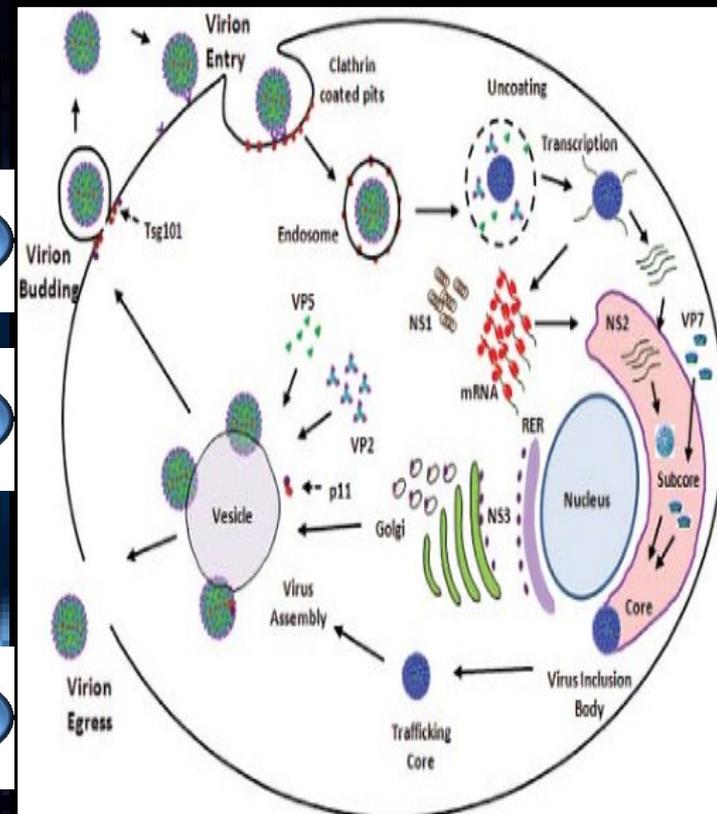


Fig 2. Cycle de réplication du BTB

Dans ce contexte, des thérapies alternatives ont été explorées en tant que produits naturels issus de plantes, sources de molécules actives

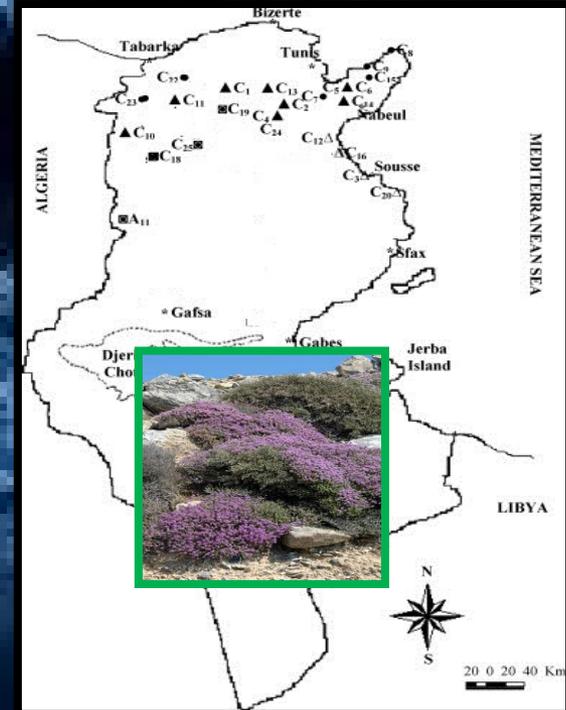
## La plante *Thymus capitatus*.

- Elle appartient à la famille des *Lamiaceae*
- Elle a été récoltée dans le sud de la Tunisie

Extrait aqueux (EA)

Extrait éthanolique (EE)

Huile essentielle (HE)



A

B

C

D

## Objectifs

- Evaluation de la cytotoxicité des extraits aqueux, éthanolique et de l'huile essentielle
- Détermination des concentrations non cytotoxiques sur cultures de cellules Vero

## Méthodes

- Essais MTS tetrazolium
- Calcul du pourcentage de viabilité cellulaire
- Evaluation de la concentration induisant 50% de cytotoxicité des cellules Vero (CC50).

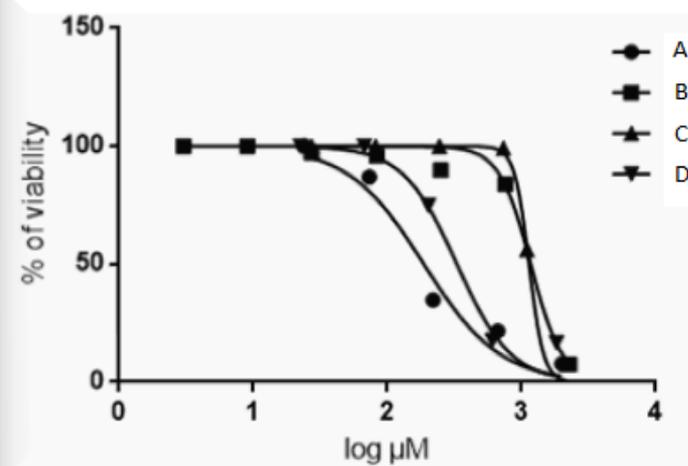
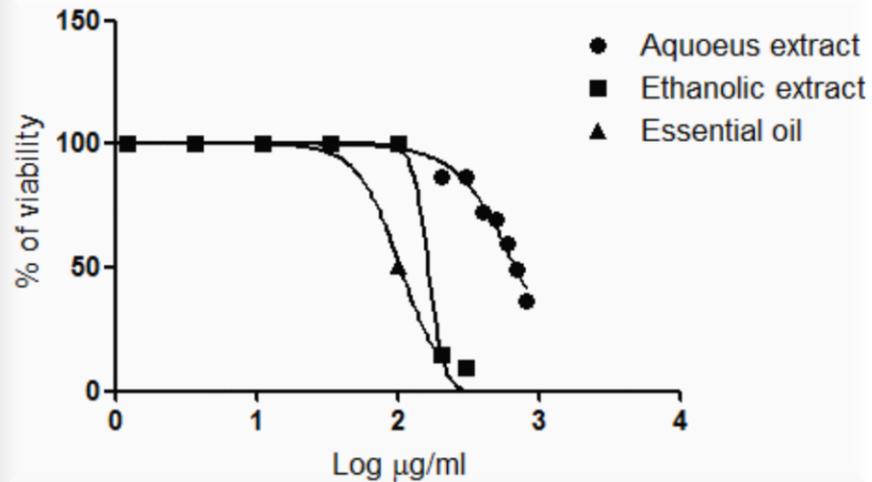


Figure 3. Cytotoxicité des extrait aqueux et éthanolique et de l'huile essentielle de *Thymus capitatus* sur les cellules Vero.

Extraits	CC50 µg/ml
Extrait aqueux	679,5 (632,9 to 729,4)
Extrait éthanolique	162,4 (134,1 to 196,6)
Huile essentielle	103,2 (96,87 to 109,9)

Composés naturels	CC50 µM
A	18,1(102,6 to 341,5)
B	1172 (923,9 to 1486)
C	1139 (1101 to 1178)
D	330 (264,5 to 412)

**Objectif**

- Déterminer l'activité antivirale de trois types d'extraits (EA,EE,HE)

**Méthodes**

- Un test de protection totale a été utilisé selon trois scénari:
  - Avant l'infection virale
  - Pendant l'infection virale
  - Après l'infection
- Pour chaque concentration de l'extrait, le titre viral a été déterminé dans le but de générer la courbe dose-réponse et de calculer la concentration inhibitrice produisant une réduction de 50% d'infection virale (EC50).
- L'indice de sélectivité (SI) a été obtenu en divisant la CC50 par la valeur EC50

**Le SI est primordial pour la sélection d'un antiviral efficace**

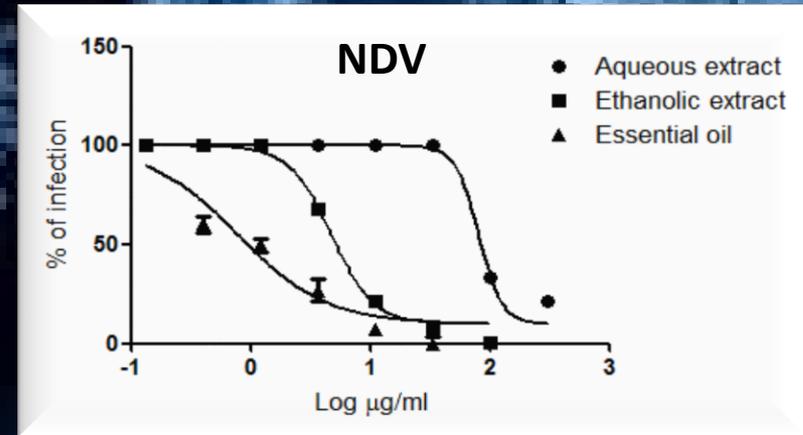
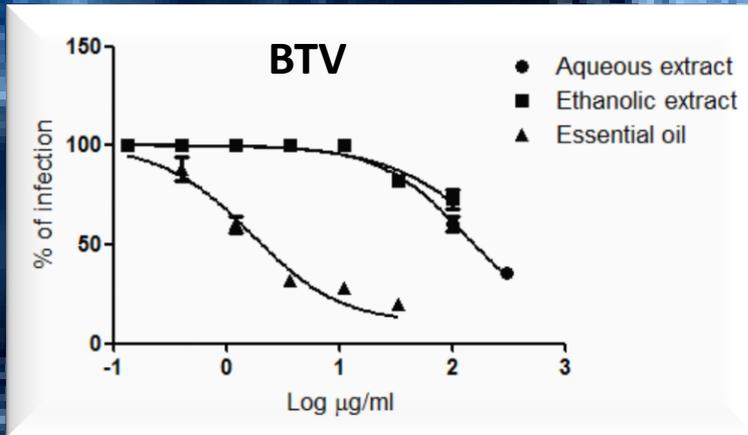


Fig 4. Test de protection complet de l'EA,EE et HE contre BTV et NDV

Virus	Extrait	EC50 µg/ml <sup>a</sup> (95% CI)	EC90 µg/ml <sup>c</sup> (95% C.I)	CC50 µg/ml <sup>d</sup>	SI
BTV	EA	161,9 ( 144,5 to 181,3)	na	679,5 (632,9 to 729,4)	4,19
NDV	EA	84,16 (72,82 to 97,27)	130,3 (107,7 to 157,5)		8,07
BTV	EE 	Na	Na	162,4 (134,1 to 196,6)	Na
NDV	EE	5,590 (5,173 to 6,039)	11,42 (8,816 to 14,78)		29,05
BTV	HE	2,448( 1,761 to 3,402)	12,53( 7,172 to 21,88)	103,2 (96,87 to 109,9)	42,15
NDV	HE	1,050(0,7883 to 1,398)	5,136(2,444 to 10,80)		98,28

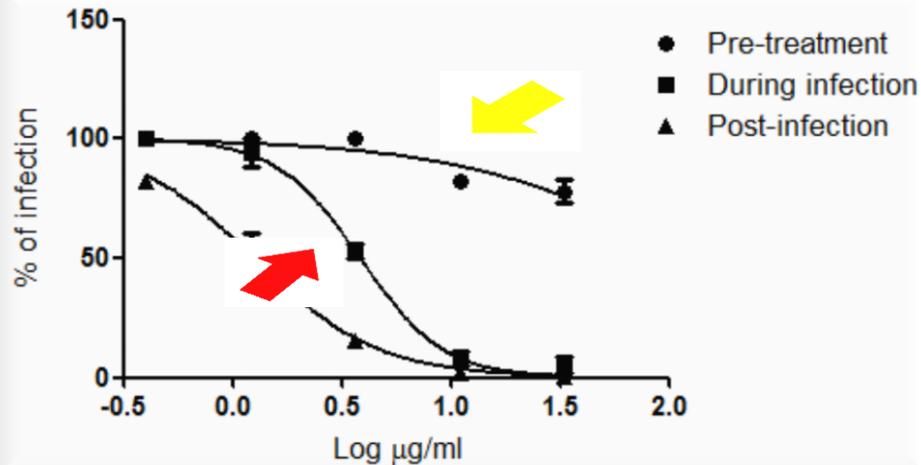


Fig 5. Effet de l'EO en fonction du temps contre NDV

➤ Le pré-traitement indique que l'HE n'a pas, comme cible, la surface cellulaire.

➤ Des courbes effet-dose ont été obtenues quand l'HE est ajoutée après l'infection virale.

➤ C'est donc intéressant de tester les principes bioactifs de l'HE.

Virus	Extrait	Traitement	EC50 µg/ml	EC90 µg/ml	SI
NDV	EO	Pré-traitement	na	na	-
		Durant l'infection	3,812 (3,369 to 4,314)	6,755 (4,291 to 10,000)	27,07
		Post -infection	1,249 (1,089 to 1,432)	3,486 (2,000 to 5,817)	82,62

A

B

C

D

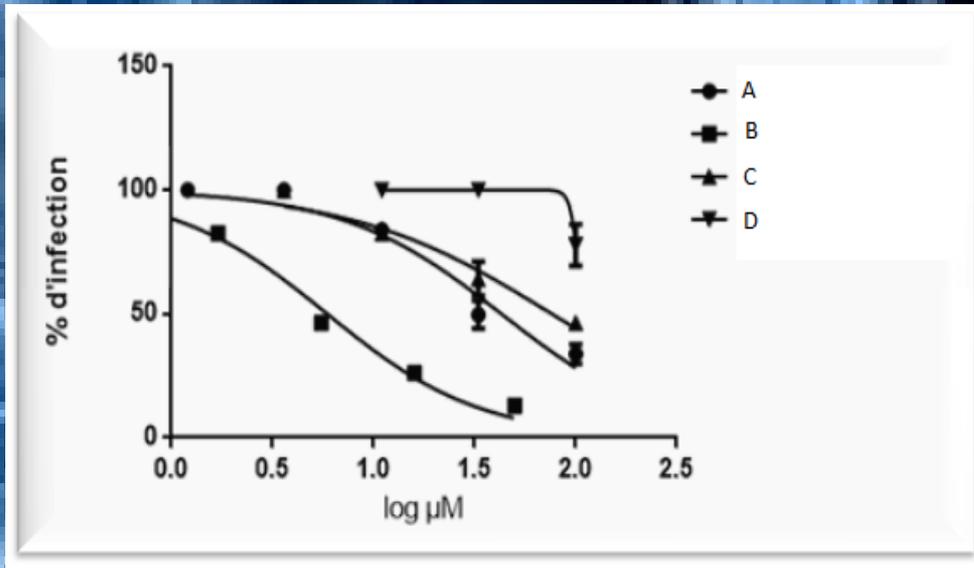


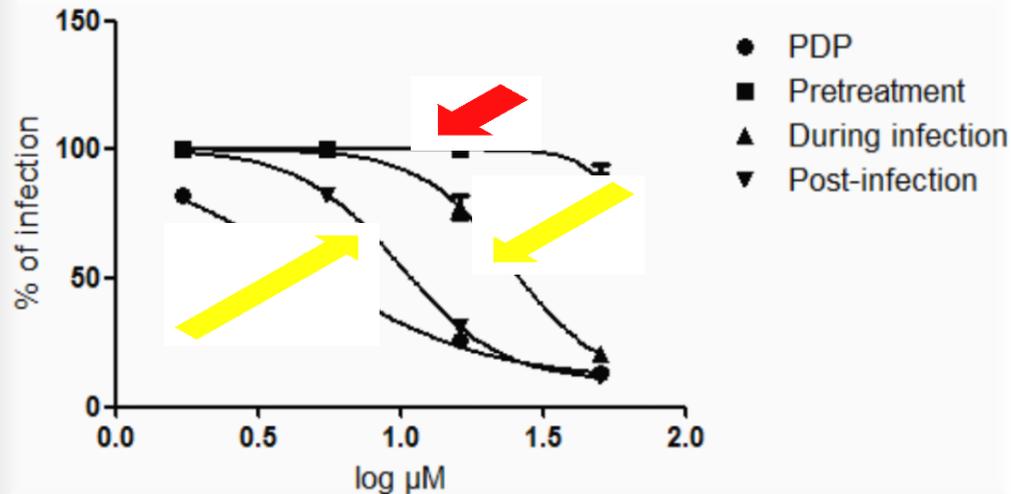
Fig. 6. Test de protection totale du A, B, C et D contre NDV

- Le B montre une inhibition importante

- A et C ont la capacité d'inhibier la réplication de NDV; mais, avec un indice de selectivité faible

➤ Pour cette raison, le composé B a été sélectionné comme un composé bioactif contre le NDV

Compounds	EC50( $\mu\text{M}$ )	EC90( $\mu\text{M}$ )	CC50 $\mu\text{M}$	SI
A	42,98 (35,14 to 52,57)	na	187,1 (102,6 to 341,5)	4,35
<b>B</b>	<b>5,747 (4,982 to 6,630)</b>	<b>22,65 (19,01 to 26,99)</b>	<b>1172 (923,9 to 1486)</b>	<b>203,93</b>
C	76,40 (59,36 to 98,33)	na	1139 (1101 to 1178)	14,9
D	na	na	330 (264,5 to 412)	na



➤ Le pré-traitement des cellules Vero en présence de B n'inhibe pas la réplication virale.

➤ Ces résultats montrent que ce composé est incapable d'interagir avec les récepteurs des glycoprotéines virales.

➤ Quand il est ajouté durant ou après l'infection, la réduction du titre viral, de manière dose-réponse, est démontrée.

Fig. 2. Effet du composé B en fonction du temps contre NDV

Composés	Traitement	EC50( $\mu\text{M}$ )	EC90( $\mu\text{M}$ )	CC50 $\mu\text{M}$	SI
B	Pré- traitement	na	na	1172 (923,9 to 1486)	na
	Durant- infection	27,90 (25,40 to 30,65)	53,58 (43,80 to 65,56)	-	42
	Post-infection		24,45 (23,48 to 25,45)	-	

## Essais d'attachement

Pour évaluer la capacité d'inhibition des stades précoces de la réplication virale du composé, un essai d'attachement a été testé.

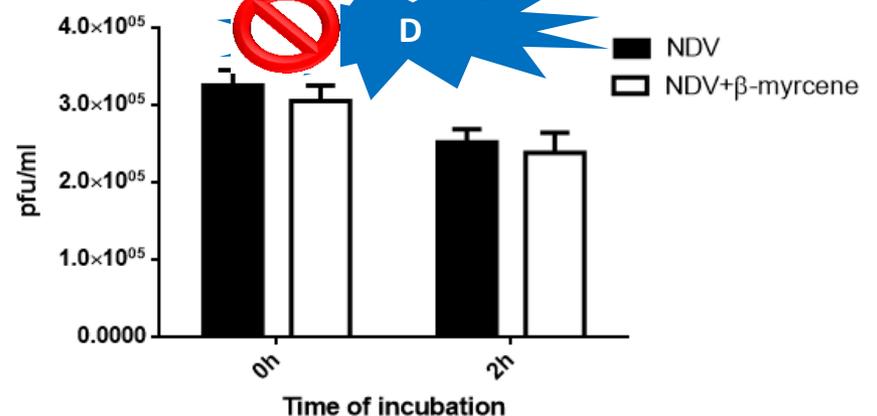
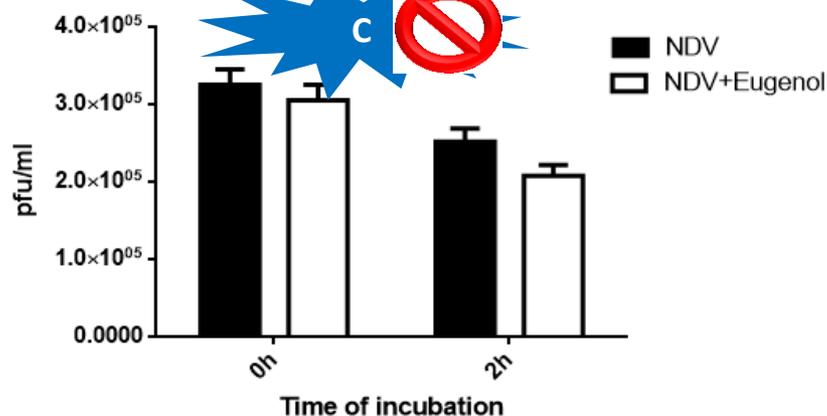
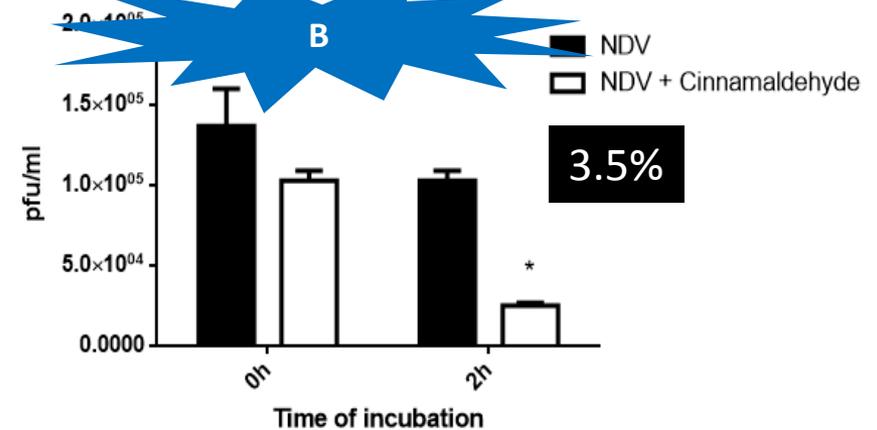
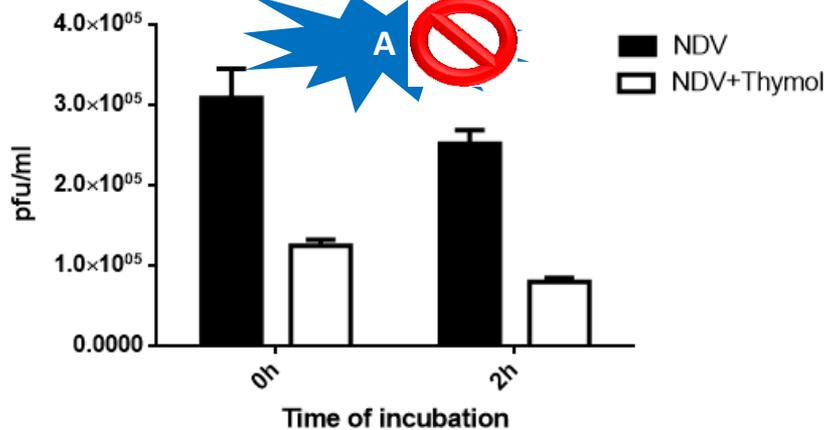
Le test d'attachement a mis en évidence la capacité du composé bioactif à agir / inhiber la liaison du virus à la surface de la cellule hôte.

Concentration ( $\mu\text{M}$ )	% d'infection
100	100%
50	100%
25	100%

➤ **Les résultats montrent que le composé B n'inhibe pas la phase d'attachement**

## Essais virucide

Explorer la capacité des composés purs à inactiver directement les particules virales du NDV



**Cette étude évalue l'activité antivirale des extraits de *Thymus Capitatus* et de ses composés contre le NDV et le BTV.**

**Elle montre, pour la première fois, la capacité de l'huile essentielle à inhiber l'infection virale au niveau de la cellule hôte.**

**Le screening des composés actifs à partir de l'HE montre que le A, B et C ont la capacité d'inhiber la réplication du NDV.  
Le principal composé bioactif est le principe actif B, qui interagit avec le virus à l'intérieur de la cellule hôte.**

**Ces résultats suggèrent que le composé B est doté de l'activité antivirale la plus élevée.**

**→ Il représente un candidat potentiel pour le développement  
D'une molécule antivirale active contre l'infection par Paramyxovirus.**

*Merci  
Pour votre attention*



[mekni.toujani.marwa2@gmail.com](mailto:mekni.toujani.marwa2@gmail.com)