



TECHNIQUE D'ETUDE DE LA TOXICITE DES EXTRAITS DE PLANTE PAR LA METHODE DU MTT

TECHNIQUE FOR STUDYING THE TOXICITY OF PLANT EXTRACTS BY THE MTT METHOD

| Gueyraud Rolland Kipré ^{1*} | Hriday Shankar Pandey ² | Pankaj Seth ² | and | Allico Joseph Djaman ^{1,3} |

¹. Université Félix Houphouët-Boigny | UFR Biosciences | Laboratoire de Pharmacodynamie Biochimique | Abidjan | Côte d'Ivoire

². National Brain Research Centre | NH-8, Manesar, Gurugram | Inde |

³. Institut Pasteur de Côte d'Ivoire | Laboratoire de Biochimie | Abidjan | Côte d'Ivoire |

| Received 08 May 2019 |

| Accepted 22 June 2019 |

| Published 05 July 2019 |

| ID Article | Kipré-Ref.6-ajira080619 |

RESUME

Introduction : Les plantes sont largement utilisées par les populations africaines pour se soigner. L'étude de la toxicité des extraits de plante s'avère nécessaire. Objectif : l'objectif de cette étude est de donner une méthode *in vitro* permettant d'évaluer la toxicité des extraits de plante. **Méthode :** La méthode utilisée est celle de la culture de cellules souches en présence de MTT (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium). **Conclusion :** Le test du MTT a permis d'évaluer *in vitro* la toxicité des extraits de plantes avant leur utilisation sur des animaux de laboratoire.

Mots-clés: Cellules souches, MTT, Toxicité.

ABSTRACT

Introduction: Plants are widely used by African populations for healing. The study of the toxicity of plant extracts is necessary. Objective: The objective of this study is to provide an *in vitro* method to evaluate the toxicity of plant extracts. **Method:** The method used is that of cell culture in the presence of TTM (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium). **Conclusion:** The MTT test assessed *in vitro* the toxicity of plant extracts before their use on laboratory animals.

Keywords: Stem cells, MTT, Toxicity.

1. INTRODUCTION

L'homme a toujours utilisé les plantes à des fins multiples, c'est-à-dire alimentaires, pharmacologiques, cosmétiques...etc. Les plantes médicinales fournissent non seulement un ingrédient actif, mais une multitude de composés aux effets thérapeutiques complémentaires, formant un complexe biochimique équilibré [1]. Cependant il faut faire preuve de prudence dans leur utilisation, car souvent l'utilisation abusive et incontrôlée de ces plantes dont la sécurité n'est pas ignorée pourrait exposer les individus à d'autres conditions malgré la présence de leurs ingrédients actifs. En effet, les doses utilisées pour les différents traitements traditionnels sont imprécises, c'est pourquoi des études toxicologiques sont réalisées sur les plantes médicinales pour éviter les risques réels d'accidents thérapeutiques parfois dramatiques [2,3].

L'efficacité des produits phytochimiques thérapeutiques dans le criblage de médicaments et leur cytotoxicité peuvent tous être évalués par la quantification et la surveillance de la viabilité et de la croissance cellulaires.

Une méthode pour mesurer la cytotoxicité des extraits de plante consiste à incuber les cellules souches avec un sel de tétrazolium tel que le MTT (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium).

2. PRINCIPE

Le principe du test repose sur l'utilisation d'un sel de tétrazolium qui est réduit en formazan par certains enzymes intracellulaires (succinate déshydrogénase mitochondriale) des cellules vivantes. La quantité de formazan produite est proportionnelle à l'activité métabolique des cellules. Ce composé insoluble de couleur violette devra être solubilisé par du DMSO ou de l'isopropanol pour permettre son dosage spectrophotométrique à 570 nm [4].

3. MATERIEL ET METHODOLOGIE

3.1 Matériel

- Hotte à flux laminaire,
- Etuve à CO₂,
- Microplaque de 96 puits,
- Spectrophotomètre,
- Pipetman de 200 µL et 1 mL,
- Culture cellulaire,
- Milieu de culture contenant du sérum (FBS) adaptée au type de cellules cultivées,
- Réactif MTT (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tétrazolium) en poudre,
- Concentrations de drogues à étudier,
- Molécule de référence (toxique pour le type de cellules cultivées),
- DMSO (Diméthylsulfoxyde).

3.2 Méthode

- Ensemencer les cultures cellulaires dans la plaque de culture en raison de 5000 cellules par puit avec un volume total de 200 µL de milieu de culture,
- Mettre la plaque à l'étuve CO₂ à 37°C pendant 24h,
- Après 24 h, enlever le milieu et remplacer le par les différents concentrations de drogues et molécule de référence en raison de 200 µL par puit,
- Incuber la plaque pendant 48 h dans une étuve à CO₂ à 37°C,
- Après 48 h, éliminer le produit et ajouter 200 µL de MTT à la concentration de 0,5 g/mL dans chacun des puits (*à l'abri de la lumière*), (*Veillez à préparer la solution de MTT dans le milieu de culture sans sérum*).
- Remettre la plaque à l'étuve pendant 2 h dans une étuve à CO₂ à 37°C,
- Après le temps d'incubation, éliminer le MTT de chaque puits,
- Ajouter 100 µL de DMSO par puits,
- Laisser la plaque sous agitation lente pendant 30 min à l'abri de la lumière,
- Faire ensuite la lecture de la plaque au spectrophotomètre à 570 nm,

4. RESULTATS

On obtient un tableau Excel avec la densité optique (DO) de chaque puit.

On calcule alors le % de survie de chaque concentration à partir de la formule suivante :

$$\% \text{ de survie} = \frac{DO \text{ moyenne de la concentration}}{DO \text{ moyenne du témoin négatif}} \times 100 \quad (1)$$

Des courbes dose-réponse (concentration en fonction des absorbances) sont réalisées pour chacun des produits. Ces courbes permettent de déterminer la CI₅₀ (concentration qui tue 50% de cellules) de chaque composé.

5. CONCLUSION

Le test du MTT (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium) a permis d'évaluer *in vitro* la toxicité des extraits de plantes avant leur utilisation sur des animaux de laboratoire ce qui permet d'éviter des problèmes d'éthique. De plus la préparation du MTT dans le milieu de culture sans sérum au lieu du MTT commercial ou préparer dans une solution tampon phosphate (Phosphate Buffer Solution) est moins stressant pour les cellules.

6. REFERENCES

1. Longuefosse JL., Le guide de phytothérapie créole: Bien se soigner par les plantes créoles, Ile de la Réunion, ed.Orphie, 2010,p371.
2. Barry M. S. Les guérisseurs et leurs techniques thérapeutiques en Moyenne-Guinée. *Rev Med Pharm Afr*, 1999, 13 : 91-103.
3. Adjoungoua A, Diafouka F, Koffi P, Lokrou A Et Attai H Valorisation de la pharmacopée traditionnelle : action de l'extrait alcoolique de *Bidenspilosa* (Asteraceae) sur l'exploration statique et dynamique de la glycémie. *Rev Med Pharm Afr*, 2006, 19: 1-12.
4. Alley MC, Scudiere DA, Monks A, Czerwinski M, Shoemaker R, Boyd MR. Validation of an automated microculture tetrazolium assay (MTA) to assess growth and drug sensitivity of human tumor cell lines. *Proc Am Assoc Cancer Res*, 1986, 27: 389-91.



Cite this article: Gueyraud Rolland Kipré, Hriday Shankar Pandey, Pankaj Seth, and Allico Joseph Djaman. **TECHNIQUE D'ETUDE DE LA TOXICITE DES EXTRAITS DE PLANTE PAR LA METHODE DU MTT.** *Am. J. innov. res. appl. sci.* 2019; 9(1): 30-32.

This is an Open Access article distributed in accordance with the Creative Commons Attribution Non Commercial (CC BY-NC 4.0) license, which permits others to distribute, remix, adapt, build upon this work non-commercially, and license their derivative works on different terms, provided the original work is properly cited and the use is non-commercial. See: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>