

UNIVERSITE DE YAOUNDE 1
UNIVERSITY OF YAOUNDE 1



FACULTE DES SCIENCES
FACULTY OF SCIENCE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES
DEPARTMENT OF ANIMAL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE ANIMALE
LABORATORY OF ANIMAL PHYSIOLOGY

Susceptibilité antidiarrhéique de *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preussii*, *Melenis munitiflora*, *Tricalysia okelensis* et propriétés antidiarrhéiques de *Dichrocephala integrifolia*

THESE

Présentée et soutenue en vue de l'obtention du Doctorat/Ph.D en Biologie et
Physiologie Animales

Option : Physiologie Animale

Par

FANKEM Gaëtan Olivier

Matricule : 06Q231

Maître ès-sciences

Sous la direction de :

KAMGANG René

Professeur

Année 2022



UNIVERSITE DE YAOUNDE I
UNIVERSITY OF YAOUNDE I



FACULTE DES SCIENCES
FACULTY OF SCIENCE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
ET PHYSIOLOGIE ANIMALES

BP 812- Tél. : (237) 222-56-59

Fax : (237) 233-46-96

CAMEROUN

ATTESTATION DE CORRECTION

Conformément à l'autorisation de soutenance de Doctorat/Ph.D. N°013-2022/UYI/CRFD/SVSE/URFD-SV/ad de Monsieur le Recteur, la thèse intitulée « **Susceptibilité antidiarrhéique de *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preussii*, *Melenis munitiflora*, *Tricalysia okelensis* et propriétés antidiarrhéiques de *Dichrocephala integrifolia*** » a été présentée le **Judi 20 Janvier 2022** par l'étudiant **FANKEM Gaëtan Olivier**, Matricule **06Q231**. Le document final a été corrigé suivant les recommandations du jury.

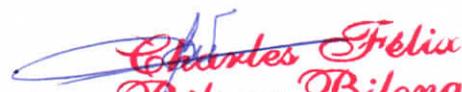
En foi de quoi la présente attestation est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Fait à Yaoundé, le 08 février 2022

L'Examineur


Pr. Longo Frida
Maître de Conférences

Le Président du Jury


Charles Felix Bilong Bilong
Professeur

Le Chef de Département




Charles Felix Bilong Bilong
Professeur

10 9 FEV 2022

UNIVERSITE DE YAOUNDE 1
UNIVERSITY OF YAOUNDE 1



FACULTE DES SCIENCES
FACULTY OF SCIENCE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES
DEPARTMENT OF ANIMAL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE ANIMALE
LABORATORY OF ANIMAL PHYSIOLOGY

Susceptibilité antidiarrhéique de *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preussii*, *Melenis munitiflora*, *Tricalysia okelensis* et propriétés antidiarrhéiques de *Dichrocephala integrifolia*

THESE

Présentée et soutenue en vue de l'obtention du Doctorat/Ph.D en Biologie et
Physiologie Animales

Option : Physiologie Animale

Par

FANKEM Gaëtan Olivier

Matricule : 06Q231

Maître ès-sciences

Sous la direction de :

KAMGANG René

Professeur

Année 2022

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I Faculté des Sciences Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I Faculty of Science Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS		LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF

LISTE PROTOCOLAIRE DE LA FACULTÉ DES SCIENCES

ANNÉE ACADEMIQUE 2021/2022

(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION 22 septembre 2021

ADMINISTRATION

DOYEN : TCHOUANKEU Jean- Claude, Maître de Conférences

VICE-DOYEN / DPSAA : ATCHADE Alex de Théodore, Maître de Conférences

VICE-DOYEN / DSSE : NYEGUE Maximilienne Ascension, Professeur

VICE-DOYEN / DRC : ABOSSOLO Monique, Maître de Conférences

Chef Division Administrative et Financière : NDOYE FOE Florentine Marie Chantal, Maître de Conférences

Chef Division des Affaires Académiques, de la Scolarité et de la Recherche DAASR : AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, Professeur

1- DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (37)			
N°	Noms et Prénoms	Grade	Observations
1	BIGOGA DAIGA Jude	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	FOKOU Elie	Professeur	En poste
4	KANSCI Germain	Professeur	En poste
5	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
6	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	Chef de Département
7	NINTCHOM PENLAP V. épouse BENG	Professeur	En poste
8	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste
9	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10	ATOGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
11	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître de Conférences	En poste
12	BELINGA née NDOYE FOE F. M. C.	Maître de Conférences	Chef DAF / FS
13	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
14	DJUIDJE NGOUNOUE Marceline	Maître de Conférences	En poste
15	EFFA ONOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
16	EWANE Cécile Annie	Maître de Conférences	En poste
17	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	Inspecteur de Service MINESUP
18	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
19	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
20	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
21	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
22	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste
23	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
24	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
25	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Chargé de Cours	En poste

25	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
26	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
27	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
28	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
29	KOTUE TAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
30	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
31	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
32	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste
33	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
34	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En poste
33	FOUPOUAPOUOGNIGNI Yacouba	Assistant	En poste
34	KOUOH ELOMBO Ferdinand	Assistant	En poste
35	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistante	En poste
36	OWONA AYISSI Vincent Brice	Assistant	En poste
37	WILFRIED ANGIE Abia	Assistante	En poste

2- DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (51)			
1	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	DAARS/FS
2	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	Chef de Département
3	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5	DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré	Professeur	En Poste
6	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	Vice Doyen/FMSB/Uyi
7	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
8	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	En poste
9	KEKEUNOU Sévilor	Professeur	En poste
10	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
11	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
12	NOLA Moïse	Professeur	En poste
13	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
14	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	Inspecteur de service Coord.Progr./MINSANTE
15	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	En poste
16	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
17	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
18	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHÉ	Maître de Conférences	En Poste
19	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Maître de Conférences	En poste
20	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
21	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
22	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
23	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste
24	ALENE Désirée Chantal	Chargée de Cours	En poste
25	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
26	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
27	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
28	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
29	GOUNOU KAMKUMO Raceline	Chargée de Cours	En poste
30	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
31	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
32	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
33	MOUNGANG Luciane Marlyse	Chargée de Cours	En poste
34	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste

35	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
36	NGUEMBOK	Chargé de Cours	En poste
37	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	Chef Div. UD
38	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
39	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
40	TAMSA ARFAO Antoine	Chargé de Cours	En poste
41	YEDE	Chargé de Cours	En poste
42	AMPON NSANGOU Indou	Assistant	En poste
43	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Assistant	En poste
44	ESSAMA MBIDA Désirée Sandrine	Assistante	En poste
45	FEUGANG YOUMUSSI François	Assistant	En poste
46	FOKAM Alvine Christelle Epse KEGNE	Assistante	En poste
47	GONWOUO NONO Legrand	Assistant	En poste
48	KOGA MANG DOBARA	Assistant	En poste
49	LEME BANOCK Lucie	Assistante	En poste
50	NWANE Philippe Bienvenu	Assistant	En poste
51	YOUNOUSSA LAME	Assistant	En poste

3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (31)			
1	AMBANG Zachée	Professeur	Chef Division/UYII
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
4	MBOLO Marie	Professeur	En poste
5	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
6	YOUMBI Emmanuel	Professeur	Chef de Département
7	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste
8	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
9	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
10	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
11	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	CT/ MINESUP
12	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	CE / MINRESI
13	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Maître de Conférences	En poste
14	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
15	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
16	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
17	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
18	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
19	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
20	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Chargé de Cours	En poste
21	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
22	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
23	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
24	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste
25	GODSWILL NTSOMBOH NTSEFONG	Assistant	En poste
26	KABELONG BANAHOU Louis-Paul-Roger	Assistant	En poste
27	KONO Léon Dieudonné	Assistant	En poste
28	LIBALAH Moses BAKONCK	Assistant	En poste
29	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Assistant	En poste
30	TAEDOUNG Evariste Hermann	Assistant	En poste
31	TEMEGNE NONO Carine	Assistant	En poste

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (32)			
1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	Chef de Département
2	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Professeur	En poste
3	Florence UFI CHINJE épouse MELO	Professeur	Recteur Univ.Ngaoundere
4	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	Ministre Chargé de Miss. à la PR
5	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
6	NDIFON Peter TEKE	Professeur	CT MINRESI
7	NDIKONTAR Maurice KOR	Professeur	Vice-Doyen Univ. Bamenda
8	NENWA Justin	Professeur	En poste
9	NGAMENI Emmanuel	Professeur	DOYEN FS UD
10	NGOMO Horace MANGA	Professeur	Vice Chancellor/UB
11	ACAYANKA Elie	Maître de Conférences	En poste
12	EMADACK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
13	KAMGANG YOUBI Georges	Maître de Conférences	En poste
14	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
15	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
16	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	En poste
17	NJIOMOU C. épse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
18	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste
19	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Maître de Conférences	En poste
20	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	CS/ ENS Bertoua
21	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
22	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste
23	KOUOTOU DAOUDA	Chargé de Cours	En poste
24	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
25	MBEY Jean Aime	Chargé de Cours	En poste
26	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
27	NEBAH Née NDO SIRI Bridget NDOYE	Chargée de Cours	CT/ MINPROFF
28	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste
29	PABOUDAM GBAMBIE A.	Chargée de Cours	En poste
30	NJANKWA NJABONG N. Eric	Assistant	En poste
31	PATOUOSSA ISSOFA	Assistant	En poste
32	SIEWE Jean Mermoz	Assistant	En Poste

5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (40)			
1	DONGO Etienne	Professeur	Vice-Doyen/FSE/UIYI
2	GHOGOMU TIH Robert Ralph	Professeur	Dir. IBAF/UDA
3	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	Chef de Département UDA
4	NYASSE Barthélemy	Professeur	En poste
5	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	Directeur/ MINESUP/ Chef de Département
6	WANDJI Jean	Professeur	En poste
7	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	Vice-Doyen / DPSAA
8	AMBASSA Pantaléon	Maître de Conférences	En poste
9	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste
10	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste
11	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13	KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
14	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
15	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste

16	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
17	MVOT AKAK CARINE	Maître de Conférences	En poste
18	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	Sous/Direct. MINERESI
19	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	C.E/ MINESUP
20	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	C.S/ MINESUP
21	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
22	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
23	TAGATSING FOTSING Maurice	Maître de Conférences	En poste
24	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	Doyen /FS/ UYI
25	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
26	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
27	ZONDEGOUNBA Ernestine	Maître de Conférences	En poste
28	KAMTO Eutrophe Le Doux	Chargé de Cours	En poste
29	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
30	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
31	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
32	SIELINOU TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste
33	MESSI Angélique Nicolas	Assistant	En poste
34	MUNVERA MFIFEN Aristide	Assistant	En poste
35	NONO NONO Éric Carly	Assistant	En poste
36	OUETE NANTCHOUANG Judith Laure	Assistante	En poste
37	TCHAMGOUE Joseph	Assistant	En poste
38	TSAFFACK Maurice	Assistant	En poste
39	TSAMO TONTSA Armelle	Assistante	En poste
40	TSEMEUGNE Joseph	Assistant	En poste

6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (25)

1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	Chef Div.MINESUP
2	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	Chef Dpt ENS/ IGA.MINESUP
3	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
4	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	En poste
5	AMINOU Halidou	Chargé de Cours	Chef de Département
6	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
7	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Chargé de Cours	En poste
8	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
9	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
10	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
11	MONTHÉ DJIADEU Valery M.	Chargé de Cours	En poste
12	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
13	OLLE OLLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	Directeur adjoint Enset. Ebolowa
14	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
15	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
16	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
17	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste
18	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
19	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste
20	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
21	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
22	MAKEMBE. S. Oswald	Assistant	En poste
23	MESSI NGUELE Thomas	Assistant	En poste

24	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistante	En poste
25	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste

7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (35)

1	AYISSI Raoult Domingo	Professeur	Chef de Département
2	EMVUDU WONO Yves S.	Professeur	Inspecteur MINESUP
3	KIANPI Maurice	Maître de Conférences	En poste
4	MBANG Joseph	Maître de Conférences	En poste
5	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
6	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Maître de Conférences	En poste
7	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
8	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	Chef service des programmes & Diplômes/FS/UYI
9	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	Directeur/AIMS Rwanda
10	TCHOUNDJA Edgar Landry	Maître de Conférences	En poste
11	BOGSO ANTOINE MARIE	Chargé de Cours	En poste
12	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	Chef Cellule MINPLAMAT
13	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
14	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
15	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
16	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
17	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
18	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
19	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
20	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
21	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
22	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
23	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
24	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
25	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargé de Cours	En poste
26	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste
27	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste
28	FOKAM Jean Marcel	Assistant	En poste
29	LOUMNGAM KAMGA Victor	Assistant	En poste
30	MBATAKOU Salomon Joseph	Assistant	En poste
31	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
32	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
33	OGADOA AMASSAYOGA	Assistant	En poste
34	TCHEUTIA Daniel Duviol	Assistant	En poste
35	TENKEU JEUFACK Yannick Léa	Assistant	En poste

8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (21)

1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	Chef de Département
2	NYEGUE Maximilienne Ascension	Professeur	VICE-DOYEN / DSSE
3	NWAGA Dieudonné M.	Professeur	En poste
4	ASSAM ASSAM Jean Paul	Maître de Conférences	En poste
5	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
6	KOITCHOU MABEKU Epse KOUAM Laure B.	Maître de Conférences	En poste
7	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste

8	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste
9	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
10	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
11	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
12	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
13	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste
14	ESSONO Damien Marie	Assistant	En poste
15	LAMYE Glory MOH	Assistant	En poste
16	MEYIN A EBONG Solange	Assistante	En poste
17	MONI NDEDI Esther Del Florence	Assistante	En poste
18	NKOUDOU ZE Nardis	Assistant	En poste
19	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Assistante	En poste
20	TAMATCHO KWEYANG Blandine Pulchérie	Assistante	En poste
21	TOBOLBAÏ Richard	Assistant	En poste

9. DEPARTEMENT DE PHYSIQUE (PHY) (44)

1	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Professeur	En poste
3	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Professeur	Vice-Recteur. UN
4	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
5	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
6	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
7	NANA NBENDJO Blaise	Professeur	En poste
8	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	Chef de Département
9	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	En poste
10	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
11	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
12	TABOD Charles TABOD	Professeur	Doyen FS Univ/Bda
13	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
14	WOAFO Paul	Professeur	En poste
15	ZEKENG Serge Sylvain	Professeur	En poste
16	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	DG/HYDRO Mekin
17	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
18	ENYEGUE A NYAM épse BELINGA	Maître de Conférences	En poste
19	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
20	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
21	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
22	MBANE BIOUELE César	Maître de Conférences	En poste
23	MBINACK Clément	Maître de Conférences	En poste
24	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
25	SAIDOU	Maître de Conférences	Chef de centre/IRGM/MINRESI de
26	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
27	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
28	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
29	WAKATA née BEYA Annie	Maître de Conférences	Directeur/ENS/UIYI
30	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
31	CHAMANI Roméo	Chargé de Cours	En poste
32	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
33	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	Chef Cell. MINADER
34	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
35	MELI'I Joelle Larissa	Chargée de Cours	En poste

36	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	En poste
37	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	DA/Univ Inter Etat/Sangmalima
38	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste
39	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Assistant	En poste
40	DJIOTANG TCHOTCHOU Lucie Angennes	Assistante	En poste
41	LAMARA Maurice	Assistant	En poste
42	OTTOU ABE Martin Thierry	Assistant	En poste
43	TEYOU NGOUPOU Ariel	Assistant	En poste
44	WANDJI NYAMSI William	Assistant	En poste

10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (42)

1	BITOM Dieudonné	Professeur	Doyen / FASA / UDs
2	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Professeur	En poste
3	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Professeur	En poste
4	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	Chef de Département
5	NGOS III Simon	Professeur	En poste
6	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
7	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
8	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	Vice-Doyen / DRC
9	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	Directeur/Projet Barrage Memve'ele
10	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	En poste
11	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
12	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	CD/Uma
13	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	CT/ MINIMDT
14	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	CEA/MINRESI
15	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
16	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
17	ONANA Vincent Laurent	Maître de Conférences	Chef service Maintenance & du Matériel/UYII
18	TCHAKOUNTE J. épouse NUMBEM	Maître de Conférences	Chef.cell / MINRESI
19	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
20	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
21	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	Chef Div. /MINTP
22	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	DG/ART
23	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
24	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
25	ELISE SABABA	Chargé de Cours	En poste
26	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
27	EYONG JOHN TAKEM	Chargé de Cours	En poste
28	FUH Calistus Gentry	Chargé de Cours	Sec. D'Etat/MINMIDT
29	LAMILLEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
30	MBESSE CECILE OLIVE	Chargée de Cours	En poste
31	MBIDA YEM	Chargé de Cours	En poste
32	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
33	MINYEM Dieudonné-Lucien	Chargé de Cours	CD/Uma
34	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
35	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargée de Cours	En poste
36	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
37	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargé de Cours	En poste
38	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste

39	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
40	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste
41	FEUMBA Roger	Assistant	En poste
42	MBANGA NYOBE Jules	Assistant	En poste

Répartition chiffrée des Enseignants de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I

NOMBRE D'ENSEIGNANTS

DÉPARTEMENTS	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
BCH	8 (01)	14 (10)	13 (05)	05 (02)	40 (18)
BPA	15 (01)	8 (06)	18 (05)	10 (03)	51 (15)
BPV	07 (01)	9 (01)	8 (06)	07 (01)	31 (9)
CI	10 (01)	09 (02)	10 (02)	03 (0)	32 (5)
CO	6 (0)	21 (05)	05 (02)	08 (02)	40 (9)
IN	2 (0)	1 (0)	14 (01)	08 (01)	25 (2)
MAT	2 (0)	8 (0)	15 (01)	09 (02)	34 (7)
MIB	3 (0)	5 (03)	06 (01)	06 (02)	20 (6)
PHY	15 (0)	14 (02)	09 (03)	08 (03)	46 (8)
ST	7 (1)	15 (01)	18 (05)	02 (0)	42 (7)
Total	75 (5)	104 (30)	116 (31)	66 (16)	361 (86)

Soit un total de 361 (86) dont :

Professeurs	75 (5)
Maîtres de Conférences	104 (30)
Chargés de Cours	116 (31)
Assistants	66 (16)
() = Nombre de Femmes	86

DÉDICACE

*A mon
Feue père
KEMGANG*

REMERCIEMENTS

Ce travail réalisé concomitamment au Laboratoire de Physiologie Animale de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I, et au Laboratoire d'Endocrinologie et de Radioéléments (LER) de l'Institut de Recherches Médicales et d'études des Plantes Médicinales (IMPM), n'aurait pu être effectué, n'eût été le concours de plusieurs personnes. Pour ce, je remercie sincèrement :

- le Pr KAMGANG René, pour m'avoir confié ce sujet, pour sa constante disponibilité et ses précieux conseils qui m'ont guidé durant ce travail pendant lequel j'ai pu apprécier la rigueur scientifique et le talent qui caractérisent ses travaux, pour son soutien incommensurable et pour sa gentillesse, recevez cher Professeur une reconnaissance très vive dans le respect et l'admiration venant du plus profond du cœur : merci Professeur !
- le Pr ESSAME OYONO Jean Louis, Directeur de l'IMPM et le Professeur MOYOU SOMO Roger, Chef du Centre de Recherches Médicales (CRM), qui m'ont permis d'accéder aux différentes structures de l'Institut ;
- M. SIMO David et M. AJANG NGIDE Raymond du Laboratoire de Phytochimie du Centre de Recherches en Plantes Médicinales et Médecine Traditionnelle (CRPMT) qui m'ont assisté dans la réalisation de l'extraction et les tests phytochimiques ;
- tous les enseignants du Département de Biologie et Physiologie Animales de l'Université de Yaoundé I pour leurs enseignements ;
- le Pr GONSU KAMGA Hortense, Chef de Laboratoire de Bactériologie du Centre Hospitalier Universitaire de Yaoundé (CHUY) et le Dr FONKOUA Marie Christine, Chef de Laboratoire de Bactériologie du Centre Pasteur du Cameroun (CPC) pour nous avoir fourni les différentes souches microbiennes sans lesquelles l'objectif visé dans ce travail n'aurait été atteint ;
- le Pr Désiré DZEUFIEU pour ses conseils, son équipe pour la réalisation des coupes histologiques et l'association de Pathologie, Cytologie et Développement (PCD) pour son matériel.
- tous les membres de l'équipe GEMS (General Endocrinology and Metabolism System) : en particulier Dr FOKAM TAGNE Michel Archange, Dr NOUBISSI Paul Aimé, Dr MVONGO Clemence, Dr WAMBE Henri, NGAKOU Joseph, TSAGMO Yves Ronny, KAMTCHUING Idrice, ONGBAHETEN Mireille, KOUMBAT Sandrine et AMFOUO MELY Yannick pour leurs critiques constructives à ce travail, leur esprit de partage et de solidarité ;
- toute la famille KAMGA Victor, en particulier Mme veuve KAMGA née Boudom Pauline, NGANGHEU Hermann, NGANLE Eliane, TAMEU Thierry, KEMNOE Léonie, DOMSU Christelle, KUEKEM Guy, DEMGNE Vanelle, mes tantes et oncle OUEGANG Anne, MAGNE Jeanne, et KENMOE Jacque,
- aux familles CHAKAM Marcelin, YANGUE André, YOUMBI Victor et KAMCHE George, pour leur soutien moral et financier consentis pour la réalisation de mes travaux ;
- tous mes amis en particulier TANGA Jean Marie, NSANA OLINGA Gladys, WETTE YANGUE Lemuel, TSIGUIA Ernest, HAIDAM fidéline et tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.

SOMMAIRE

DÉDICACE.....	x
REMERCIEMENTS.....	xi
SOMMAIRE	xii
LISTE DES TABLEAUX	xiv
LISTE DES FIGURES.....	xvi
LISTE DES ABRÉVIATIONS ET ACRONYMES	xix
RÉSUMÉ.....	xx
ABSTRACT	xxii
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE.....	5
I. GENERALITÉS SUR LE SYSTEME DIGESTIF	6
I.1. Anatomie de l'intestin.....	6
I.1.1. Anatomie de l'intestin grêle.....	6
I.1.2. Anatomie du gros intestin	6
I.2. Histologie de l'intestin	7
I.2.1. Histologie de l'intestin grêle.....	7
I.2.2. Histologie du gros intestin	9
I.3. Physiologie de l'intestin	10
I.3.1. Digestion et absorption	10
I.3.2. Motilité de l'intestin.....	11
I.4. Système immunitaire associé à l'intestin	16
I.5. Ecosystème gastro-intestinal.....	17
I.5.1. Distribution des bactéries dans le tube gastro-intestinal humain.....	17
I.5.2. Fonctions de la flore intestinale	18
I.6. Diarrhées	21
I.6.1. Définition	21
I.6.2. Classification des diarrhées.....	21
I.7. Fièvre typhoïde	31
I.7.1. Définition	31
I.7.2. Epidémiologie de la fièvre typhoïde	31
I.7.3. Sources d'infection et transmission.....	32
I.7.4. Symptômes de la fièvre typhoïde	32
I.7.5. Nature de la pathogénicité de <i>Salmonella typhi</i>	33
I.7.6. Prévention et traitement de salmonellose humaine	34
I.8. Traitement des diarrhées	34
I.8.1. Traitement conventionnel	35
I.8.2. Phytothérapie	37
I.9. Toxicité.....	37
I.9.1. Toxicité aiguë.....	38
I.9.2. Toxicité à court terme	38
I.9.3. Toxicité chronique ou à long terme	39
I.10. Plantes médicinales étudiées.....	39

I.10.1. <i>Trycalisia okelensis</i> Hiern (1869).....	39
I.10.2. <i>Dioscorea preusii</i> Pasc (1892).....	40
I.10.3. <i>Melenis minutiflora</i> P. Beauv. (1812).....	41
I.10.4. <i>Dichrocephala integrifolia</i> (L. f.) Kuntze (1891).....	42
CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES	45
II.1. Matériel	46
II.1.1. Matériel biologique.....	46
II.2. Méthodes	47
II.2.1. Préparation des extraits des différentes plantes et des fractions de l'extrait hydroéthanolique de <i>Dichrocephala integrifolia</i>	47
II.2.2. Tests phytochimiques qualitatif et quantitatif.....	50
II.2.3. Détermination de l'activité antimicrobienne des différents extraits de plantes et des fractions de l'extrait hydroéthanolique de <i>Dichrocephala integrifolia</i>	54
II.2.4. Détermination de l'activité des différents extraits de plantes et des fractions de l'extrait hydroéthanolique de <i>Dichrocephala integrifolia</i> sur les diarrhées motrices	59
II.2.5. Détermination des effets des différents extraits de plantes et des fractions de l'extrait hydroéthanolique de <i>Dichrocephala integrifolia</i> sur les diarrhées sécrétoires.....	64
II.2.6. Evaluation des effets de la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de <i>Dichrocephala integrifolia</i> sur la fièvre typhoïde induite chez le rat	68
II.2.7. Toxicité aiguë de la fraction active.....	78
II.2.8. Expression des résultats	79
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	80
III.1. Résultats	81
III.1.1. Choix de la plante efficace	81
III.1.2. Détermination de l'extrait efficace de <i>Dichrocephala integrifolia</i>	86
III.1.3. Détermination de la fraction efficace de l'extrait hydroéthanolique de <i>Dichrocephala integrifolia</i>	98
III.1.4. Effets <i>in vitro</i> de la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de <i>Dichrocephala integrifolia</i> sur les contractions duodénales induites par l'acétylcholine, le KCl et le BaCl ₂	110
III.1.5. Evaluation des effets de la yohimbine, du glibenclamide, de l'atropine et du naloxone sur l'activité de la fraction au dichlorométhane sur le transit induit par l'huile de ricin.....	112
III.1.6. Effets de la fraction au dichlorométhane de <i>Dichrocephala integrifolia</i> sur les sécrétions intestinales induites par la prostaglandine E ₂	113
III.1.7. Effets de la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de <i>Dichrocephala integrifolia</i> (FDDI) sur la fièvre typhoïde (<i>S. typhi</i>) induite chez le rat.....	114
III.1.8. Toxicité aiguë.....	133
III.2. Discussion	134
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	146
Conclusion	147
Perspectives	148
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	149

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Préparation de la gamme de concentrations des extraits de plante.	58
Tableau II : Protocole de dosage de l'ASAT et de l'ALAT	70
Tableau III : Technique de réalisation des courbes d'étalonnage pour le dosage de l'ASAT et de l'ALAT	70
Tableau IV : Protocole de dosage de la créatinine	71
Tableau V : Protocole de dosage des protéines totales	72
Tableau VI : Protocole de réalisation de la courbe d'étalonnage de la catalase	74
Tableau VII : Protocole de dosage du monoxyde d'azote (NO) sérique et tissulaire	76
Tableau VIII : Classes des composés chimiques identifiés dans les extraits hydroéthanoliques de <i>Dichrocephala integrifolia</i> , <i>Dioscorea preussii</i> , <i>Melenis minutiflora</i> et <i>Tricalysia okelensis</i>	81
Tableau IX : Sensibilité de <i>Salmonella typhi</i> , <i>Shigella dysenteriae A1</i> , <i>Escherichia coli</i> et <i>Candida albicans</i> aux extraits hydroéthanoliques de <i>Dichrocephala integrifolia</i> , <i>Dioscorea preussii</i> , <i>Melenis minutiflora</i> et <i>Tricalysia okelensis</i>	83
Tableau X : Concentration minimale inhibitrice (CMI), concentration minimale bactéricide (CMB) et concentration minimale fongicide (CMF) des extraits des plantes en mg/mL sur <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Shigella dysenteriae A1</i> et <i>Candida albicans</i>	84
Tableau XI : Effet des extraits hydroéthanoliques des plantes <i>Dichrocephala integrifolia</i> , <i>Dioscorea preussii</i> , <i>Melenis minutiflora</i> et <i>Tricalysia okelensis</i> sur l'accélération du transit intestinal induite par l'huile de ricin chez le rat.....	85
Tableau XII : Classes des composés chimiques identifiés dans les extraits aqueux, éthanolique et hydroéthanolique de <i>Dichrocephala integrifolia</i>	86
Tableau XIII : Quantification des composés chimiques identifiés dans les extraits aqueux, éthanolique et hydroéthanolique de <i>D. integrifolia</i>	87
Tableau XIV : Sensibilité de <i>Salmonella typhi</i> , <i>Salmonella choleraesuis</i> , <i>Shigella flexneri</i> , <i>Shigella dysenteriae A1</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Candida albicans</i> aux extraits aqueux (WEDi), éthanolique (EEDi) et hydroéthanolique (EWEDi) de <i>D. integrifolia</i>	89
Tableau XV : Concentration minimale inhibitrice (CMI), concentration minimale bactéricide (CMB) et la concentration minimale fongicide (CMF) des extraits de <i>D. integrifolia</i> sur <i>E. coli</i> , <i>S. typhi</i> , <i>S. choleraesuis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. dysenteriae A1</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>P. aeruginosa</i> et sur <i>C. albicans</i>	90

Tableau XVI : Effet des extraits aqueux (WEDi), hydroéthanolique (EWEDi) et éthanolique (EEDi) de <i>D. integrifolia</i> et du lopéramide (Lop) sur l'accélération du transit intestinal induite par l'huile de ricin chez le rat ; TD : témoins diarrhéiques	95
Tableau XVII : Effets des extraits à l'éthanol (EEDi), à l'éthanol/eau (EWEDi) et à l'eau (WEDi) de <i>Dichrocephala integrifolia</i> sur la diarrhée induite par l'huile de ricin chez le rat ; TD : témoins diarrhéiques.....	96
Tableau XVIII : Classes des composés chimiques identifiés dans les fractions à l'éthanol, à l'acétate d'éthyle et au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de <i>Dichrocephala integrifolia</i>	99
Tableau XIX : Quantification des composés chimiques identifiés dans les fractions au dichlorométhane, à l'acétate éthyle et à l'éthanol de l'extrait hydroéthanolique de <i>Dichrocephala integrifolia</i>	99
Tableau XX : Sensibilité de <i>S. typhi</i> , <i>S. choleraesuis</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. dysenteriae A1</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>P. aeruginosa</i> et <i>C. albicans</i> aux fractions à l'éthanol, à l'acétate d'éthyle et au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de <i>Dichrocephala integrifolia</i>	101
Tableau XXI : Concentration minimale inhibitrice (CMI) et concentration minimale bactéricide (CMB) des fractions de l'extrait hydroéthanolique de <i>Dichrocephala integrifolia</i> sur <i>S. typhi</i> , <i>S. choleraesuis</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. dysenteriae A1</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>P. aeruginosa</i> et sur <i>C. albicans</i>	103
Tableau XXII : Effet des fractions à l'éthanol (FEDi), à l'acétate d'éthyle (FAEDi) et au dichlorométhane (FDDi) de <i>D. integrifolia</i> et du lopéramide (Lop) sur l'accélération du transit intestinal induite par l'huile de ricin chez les rats.....	107
Tableau XXIII : Effets des fractions à l'éthanol (FEDi), à l'acétate d'éthyle (FAEDi) et au dichlorométhane (FDDi) de l'extrait hydroéthanolique de <i>Dichrocephala integrifolia</i> sur la diarrhée induite par l'huile de ricin chez le rat.	108
Tableau XXIV : Poids relatif des organes (reins, foie, cœur, rate et poumons).....	120
Tableau XXV : Valeurs des paramètres hématologiques des rats infectés avec <i>S. typhi</i> après le traitement	122

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Schéma du tube digestif du rat	6
Figure 2 : Schéma de la structure de l'intestin	7
Figure 3 : Représentation des différents types de cellules de l'épithélium intestinale	8
Figure 4 : Cellules interstitielles de Cajal	11
Figure 5 : Fibres nerveuses extrinsèques et intrinsèques dans les plexus entériques.....	13
Figure 6 : Interaction des protéines contractiles lors de la contraction et de la relaxation du muscle lisse.	14
Figure 7 : Types de mouvements intestinaux.....	15
Figure 8 : Organisation du système immunitaire intestinal	16
Figure 9 : Flore bactérienne intestinale	18
Figure 10 : Interactions microflore et système immunitaire et orientations de la réponse immunitaire	19
Figure 11 : Zones d'endémicité de la fièvre typhoïde dans le monde	32
Figure 12 : Mécanismes d'invasion de la muqueuse intestinale par <i>Salmonella typhi</i>	33
Figure 13 : Différents mécanismes d'action des médicaments antibactériens	37
Figure 14 : Photographie de <i>Tricalysia okelensis</i>	40
Figure 15 : Photographie de <i>Dioscorea preussii</i>	41
Figure 16 : Photographie de <i>Melenis minutiflora</i>	42
Figure 17 : Photographie de <i>Dichrocephala integrifolia</i>	43
Figure 18 : Protocole de préparation des extraits hydroéthanoliques.	47
Figure 19 : Protocole de préparation des extraits de <i>Dichrocephala integrifolia</i>	48
Figure 20 : Protocole de fractionnement de l'extrait hydroéthanolique de <i>Dichrocephala integrifolia</i>	49
Figure 21 : Réalisation de la méthode de diffusion des disques imprégnés sur Mueller-Hinton inoculé par <i>Shigella dysentériae</i> A1.....	56
Figure 22 : Réalisation de la méthode adaptée du E-test (AE-test) avec l'extrait de <i>D. integrifolia</i> sur Mueller-Hinton inoculés de <i>Shigella dysentériae</i> A1	57
Figure 23 : Dispositif d'enregistrement des contractions.....	60
Figure 24 : Courbes d'étalonnage d'ASAT et d'ALAT.....	71
Figure 25 : Courbe d'étalonnage des protéines.....	72
Figure 26 : Courbe d'étalonnage de la catalase	74
Figure 27 : Courbe d'étalonnage du monoxyde d'azote	76
Figure 28 : Inhibition de la croissance de <i>S. typhi</i> par l'extrait de <i>D. integrifolia</i> , par l'extrait de <i>M. minutiflora</i> et l'absence d'inhibition de la croissance de <i>E. coli</i> par l'extrait de <i>D. preussii</i>	82
Figure 29 : Tracé original des contractions spontanées de duodénum de rat.....	91

Figure 30 : Effet des concentrations cumulées de l'extrait aqueux de <i>D. integrifolia</i> sur l'amplitude de contraction	91
Figure 31 : Effet des concentrations cumulées de l'extrait éthanolique de <i>D. integrifolia</i> sur l'amplitude des contractions.	92
Figure 32 : Effet des concentrations cumulées de l'extrait hydroéthanolique de <i>D. integrifolia</i> sur l'amplitude des contractions.....	92
Figure 33 : Effet des concentrations cumulées de l'extrait aqueux de <i>D. integrifolia</i> sur le tonus de contraction.	93
Figure 34 : Effet des concentrations cumulées de l'extrait éthanolique de <i>D. integrifolia</i> sur le tonus de contraction.	94
Figure 35 : Effet des concentrations cumulées de l'extrait hydroéthanolique de <i>D. integrifolia</i> sur le tonus de contraction.....	94
Figure 36 : Volume des sécrétions intestinales induites par l'huile de ricin chez les rats traités aux extraits de <i>Dichrocephala integrifolia</i>	97
Figure 37 : Masse des sécrétions intestinales induites par l'huile de ricin chez les rats traités aux extraits de <i>Dichrocephala integrifolia</i>	98
Figure 38 : Tracé original des contractions spontanées de duodénum de rat.....	103
Figure 39 : Effet des concentrations cumulées de la fraction à l'acétate d'éthyle sur les contractions spontanées de duodénum de rat	104
Figure 40 : Effet des concentrations cumulées de la fraction à l'éthanol sur l'amplitude de contraction	104
Figure 41 : Effet des concentrations cumulées de la fraction au dichlorométhane sur l'amplitude de contraction	105
Figure 42 : Effet des concentrations cumulées de la fraction à l'acétate d'éthyle sur le tonus de contraction	105
Figure 43 : Effet des concentrations cumulées de la fraction à l'éthanol sur le tonus de contraction	106
Figure 44 : Effet des concentrations cumulées de la fraction au dichlorométhane sur le tonus de contraction	106
Figure 45 : Volume des sécrétions intestinales induites par l'huile de ricin chez les rats traités aux extraits de <i>Dichrocephala integrifolia</i>	109
Figure 46 : Masse des sécrétions intestinales induites par l'huile de ricin chez les rats traités aux extraits de <i>Dichrocephala integrifolia</i>	110
Figure 47 : Effet des concentrations cumulées de la fraction au dichlorométhane sur la contraction induite par l'acétylcholine.	111
Figure 48 : Effet des concentrations cumulées de la fraction au dichlorométhane sur la contraction induite par le KCl.	111
Figure 49 : Effet des concentrations cumulées de la fraction au dichlorométhane sur la contraction induite par le BaCl ₂	112

Figure 50 : Effet de la Yohimbine, du Naloxone, Glibenclamide et Atropine sur l'activité spasmolytique <i>in vivo</i> de la fraction au dichlorométhane de <i>Dichrocephala integrifolia</i>	113
Figure 51 : Sécrétion intestinale induite par la PGE2 chez les rats traités à la fraction au dichlorométhane de <i>Dichrocephala integrifolia</i>	114
Figure 52 : Densité de <i>S. typhi</i> dans les selles pendant le traitement à la fraction dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de <i>Dichrocephala integrifolia</i> chez les rats infectés.	115
Figure 53 : Variation de l'émission fécale pendant le traitement à la fraction de <i>Dichrocephala integrifolia</i> chez les rats infectés à <i>S. typhi</i>	116
Figure 54 : Variation de la prise alimentaire pendant le traitement à la fraction de <i>Dichrocephala integrifolia</i> chez les rats infectés à <i>S. typhi</i>	117
Figure 55 : Variation de la prise hydrique pendant le traitement à la fraction de <i>Dichrocephala integrifolia</i> chez les rats infectés à <i>S. typhi</i>	118
Figure 56 : Evolution du poids corporel des rats infectés à <i>S. typhi</i> pendant le traitement à la fraction de <i>Dichrocephala integrifolia</i>	119
Figure 57 : Variation de la température corporelle pendant le traitement à la fraction de <i>Dichrocephala integrifolia</i> chez les rats infectés à <i>S. typhi</i>	120
Figure 58 : Taux d'ALAT et d'ASAT pendant le traitement avec la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de <i>Dichrocephala integrifolia</i> chez les rats infectés par <i>S. typhi</i>	123
Figure 59 : Taux de protéines pendant le traitement avec la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de <i>Dichrocephala integrifolia</i> chez les rats infectés par <i>S. typhi</i>	124
Figure 60 : Créatininémie pendant le traitement avec la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de <i>Dichrocephala integrifolia</i> chez les rats infectés par <i>S. typhi</i> ...	125
Figure 61 : Activité de la superoxyde dismutase pendant le traitement avec la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de <i>Dichrocephala integrifolia</i> chez les rats infectés par <i>S. typhi</i>	126
Figure 62 : Activité de la catalase pendant le traitement avec la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de <i>Dichrocephala integrifolia</i> chez les rats infectés par <i>S. typhi</i>	127
Figure 63 : Concentration de glutathion réduit pendant le traitement avec la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de <i>Dichrocephala integrifolia</i> chez les rats infectés par <i>S. typhi</i>	128
Figure 64 : Concentration de malondialdéhyde (MDA) pendant le traitement avec la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de <i>Dichrocephala integrifolia</i> chez les rats infectés par <i>S. typhi</i>	129
Figure 65 : Concentration sérique et tissulaire du monoxyde d'azote pendant le traitement avec la fraction de <i>Dichrocephala integrifolia</i> chez les rats infectés par <i>S. typhi</i>	130
Figure 66 : Micrographies montrant l'aspect histologique du foie de rat (HE x 400).	131
Figure 67 : Micrographies montrant l'aspect histologique du rein de rat (HE x 400).	132

LISTE DES ABRÉVIATIONS ET ACRONYMES

ACTH	<i>Adrenocorticotrophic hormon.</i>
AE-Test	<i>Adapted Epsilon test.</i>
AMPc	Adenosine Monophosphate cyclique.
ATCC	<i>American Type Culture Collection.</i>
ATP	Adenosine Triphosphate.
CCK	Cholecystokinine.
CMB	Concentration Minimale Bactéricide.
CMF	Concentration Minimale Fongicide.
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice.
CRM	Centre de Recherches Médicales.
CRPMT	Centre de Recherches en Plantes Médicinales et Médecine Traditionnelle.
EMB	Eosine Bleu de Méthylène.
ESM	Erreur Standard sur la Moyenne.
Gélose DCLS	Gélose Desoxycholate-Citrate-Lactose-Saccharose.
Gélose SS	Gélose Salmonella-Shigella.
Gélose XLD	Gélose Xylose Lysine Desoxycholate.
HNC	Herbier National du Cameroun.
IMPM	Institut de Recherches Médicales et d'Etudes des Plantes Médicinales.
LER	Laboratoire d'Endocrinologie et de Radioéléments.
LTI	Longueur totale de l'intestin.
MALT	<i>Mucosa Associated Lymphoid Tissue.</i>
MH	Mueller-Hinton.
NCCLS	<i>National Committee for Clinical Laboratory Standards.</i>
NO	Monoxyde d'Azote.
Ø	Diamètre.
OMS	Organisation Mondiale de la Santé.
PAF	<i>Platelet Activating Factor.</i>
PC	Poids Corporelle.
PEG	Polyéthylène Glycol.
SRO	Solution de Réhydrations Orale.
TNF-α	<i>Tumor Necrosis Factor –alpha.</i>
UFC	Unité Formant Colonie.
UV	Ultraviolet.
V/V	Volume/Volume.

RÉSUMÉ

Les maladies diarrhéiques sont l'une des causes majeures de morbidité et de mortalité dans le monde et constituent un réel problème de santé publique. *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preussii*, *Melenis minutiflora* et *Tricalysia okelensis* sont empiriquement utilisés dans la Région de l'Ouest Cameroun pour le traitement des troubles et intoxications gastro-intestinaux. Dans l'optique de développer un Médicament Traditionnel Amélioré (MTA) efficace pour le traitement des affections diarrhéiques, les propriétés antidiarrhéiques de ces quatre plantes ont été évaluées afin de déterminer la plante, son extrait et sa fraction efficace. Les propriétés antimicrobiennes des extraits hydroéthanoliques de *D. preussii*, *D. integrifolia*, *M. minutiflora* et de *T. okelensis*, des extraits aqueux, éthanolique et hydroéthanolique de *D. integrifolia* et celles des fractions au dichlorométhane, à l'acétate d'éthyle et à l'éthanol de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* ont été évaluées *in vitro* par les méthodes de diffusion des disques et de dilution en milieu gélosé. Les effets des différents extraits et fractions de *D. integrifolia* sur la motilité intestinale ont été évalués *in vivo* sur le transit intestinal accéléré par l'huile de ricin et *in vitro* sur les contractions spontanées du duodénum isolé de rat. Aussi, l'activité antisécrétoire de ces extraits et fractions de *D. integrifolia* a été évaluée *in vivo* sur les diarrhées sécrétoires induite par l'huile de ricin par la mesure du volume et la masse du contenu luminal. De même, le mécanisme d'action antisécrétoire de la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* (FDDi) a été déterminé sur les sécrétions intestinales induites par la prostaglandine E₂ (PGE₂). D'autre part, la fièvre typhoïde a été induite par administration orale de 1,5 x 10⁸ UFC de *S. typhi* chez les rats et pendant 16 jours, ils ont été traités avec la FDDi. La densité fécale des salmonelles, la température rectale, la fréquence d'émission des fèces, la prise alimentaire et hydrique de chaque rat ont été enregistrées tous les jours. Après sacrifice, les paramètres biochimiques des fonctions hépatique et rénale (ALAT, ASAT et créatinine), du stress oxydant (SOD, CAT, MDA, GSH et NO) et histologiques ont été évalués. La toxicité aiguë de la FDDi a été réalisée suivant la ligne directrice 423 de l'OCDE. *D. integrifolia* a présenté la plus grande efficacité avec l'inhibition de toutes les souches bactériennes testées et l'inhibition de l'accélération du transit intestinal induit par l'huile de ricin. Parmi les différents extraits de *D. integrifolia*, l'extrait hydroéthanolique s'est révélé le plus efficace avec une activité bactéricide sur les souches de *E. coli*, *S. typhi*, *S. choleraesuis*, *S. aureus*, *S. flexneri*, une activité fongicide sur *C. albicans* ; Et a mieux que les autres extraits significativement (p < 0,01) inhibés *in vitro* et *in vivo* les contractions et les sécrétions intestinales. L'extrait à l'éthanol/eau a été fractionné pour une étude bioguidée de l'activité antidiarrhéique. La fraction au dichlorométhane (FDDi) par rapport à la fraction à l'acétate d'éthyle (FEADi) et à l'éthanol (FEDi) serait la plus efficace contre les souches microbiennes testées avec les rapports CMB/CMI respectifs de 1, 2, 2, 4 et 4 sur *S. choleraesuis*, *S. typhi*, *S. flexneri*, *S. dysenteriae* A 1 et *S. aureus*. *In*

vitro, la FDDi aux concentrations comprises entre 0,005 et 1 mg/mL, en milieu physiologique normal, a présenté une baisse significative ($P < 0,01$), concentration dépendante, de l'amplitude et du tonus de contractions. *In vivo*, sur le transit intestinal, la FAEDi et la FDDi (12,5, 25 et 50 mg/kg) ont significativement ($P < 0,01$), et de manière dose-dépendante, inhibé le transit intestinal. Par contre la FEDi inhibé le transit de façon dose inversement dépendante. Sur les sécrétions intestinales, la FAEDi et la FDDi ont significativement ($P < 0,01$) et de façon dose-dépendante inhibé le volume et la masse des sécrétions intestinales induites par l'huile de ricin. Par contre, la FEDi a inhibé de façon dose inversement dépendante le volume et la masse des sécrétions intestinales. Au vu de ces résultats, la FDDi a été utilisée pour la détermination des mécanismes d'action de l'activité antidiarrhéique. La FDDi a inhibé significativement ($P < 0,01$) les contractions phasiques induites par l'acétylcholine, le KCl et le BaCl₂. Le prétraitement des animaux à la yohimbine et au Naloxone n'a entraîné aucune modification significative de l'activité spasmolytique de la FDDi (50 mg/kg). Par contre, le prétraitement à l'atropine a augmenté ($p < 0,05$) l'activité spasmolytique de la FDDi, tandis que, le glibenclamide a réduit ($p < 0,01$) l'activité spasmolytique de la FDDi. La FDDi a inhibé significativement ($p < 0,01$) les sécrétions intestinales induites par PGE₂. Chez les rats infectés par *S. typhi*, la FDDi a significativement ($P < 0,01$), et de façon dose-dépendante, réduit la densité des *S. typhi*, le nombre de selles diarrhéiques ainsi que la température corporelle. La FDDi a entraîné une réduction significative ($P < 0,01$) du taux sérique d'ALAT, d'ASAT et de créatinine. La FDDi a entraîné une augmentation significative ($P < 0,01$) des concentrations de CAT, de SOD et du taux de GSH et une diminution significative du taux de MDA et de NO dans les différents tissus investigués. La FDDi n'a pas amélioré l'architecture du tissu hépatique mais a restauré la morphologie du tissu rénal des rats infectés aux salmonelles. La dose létale médiane DL₅₀ de la fraction au dichlorométhane serait supérieure à 5 000 mg/kg de poids corporel. *Dichrocephala integrifolia* par son extrait hydroéthanolique et par sa fraction au dichlorométhane serait efficace sur les diarrhées motrices, sécrétoires et infectieuses. Ces résultats justifieraient l'utilisation de *D. integrifolia* dans la médecine traditionnelle.

Mots clés : *Dichrocephala integrifolia*, diarrhée, *Salmonella typhi*, Huile de ricin, PGE₂, yphoïde

ABSTRACT

Diarrhoeal diseases are one of the major causes of morbidity and mortality in the world and constitute a real public health problem. *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preussii*, *Melenis minutiflora* and *Tricalysia okelensis* are empirically used in the West Cameroon Region for the treatment of gastrointestinal disorders and intoxication. In order to develop an improved traditional medicine (ITM) for the treatment of diarrhoeal diseases, the anti-diarrhoeal properties of these four plants were evaluated to determine the plant, its extract and its effective fraction. The antimicrobial properties of the hydroethanolic extracts of *D. preussii*, *D. integrifolia*, *M. minutiflora* and *T. okelensis*, the aqueous, ethanolic and hydroethanolic extracts of *D. integrifolia*, and the dichloromethane, ethyl acetate and ethanol fractions of the hydroethanolic extract of *D. integrifolia* were evaluated *in vitro* by the disc diffusion and agar dilution methods. The effects of the different extracts and fractions of *D. integrifolia* on intestinal motility were evaluated *in vivo* on castor oil-accelerated intestinal transit and *in vitro* on spontaneous contractions of isolated rat duodenum. Also, the anti-secretory activity of these extracts and fractions of *D. integrifolia* was evaluated *in vivo* on castor oil-induced secretory diarrhoea by measuring the volume and mass of luminal contents. Similarly, the mechanism of anti-secretory action of the dichloromethane fraction of *D. integrifolia* (FDDi) was determined on prostaglandin E₂ (PGE₂) induced intestinal secretions. On the other hand, typhoid fever was induced by oral administration of 1.5×10^8 CFU of *S. typhi* in rats and for 16 days they were treated with FDDi. Salmonella faecal density, rectal temperature, faecal emission frequency, food and water intake of each rat were recorded daily. After sacrifice, biochemical parameters of liver and kidney function (ALT, AST and creatinine), oxidative stress (SOD, CAT, MDA, GSH and NO) and histology were assessed. The acute toxicity of FDDi was performed according to OECD guideline 423. *D. integrifolia* showed the highest efficacy with the inhibition of all bacterial strains tested and the inhibition of castor oil-induced acceleration of intestinal transit. Among the different extracts of *D. integrifolia*, the hydroethanolic extract was the most effective with bactericidal activity on *E. coli*, *S. typhi*, *S. choleraesuis*, *S. aureus*, *S. flexneri*, fungicidal activity on *C. albicans*; and significantly ($p < 0.01$) better than the other extracts inhibited *in vitro* and *in vivo* contractions and intestinal secretions. The hydroethanolic extract was fractionated for a bioguided study of antidiarrhoeal activity. The dichloromethane fraction (FDDi) compared to the ethyl acetate (FEADi) and ethanol (FEDi) fraction was found to be the most effective against the tested microbial strains with the respective MBC/MIC ratios of 1, 2, 2, 4 and 4 on *S. choleraesuis*, *S. typhi*, *S. flexneri*, *S. dysenteriae* A 1 and *S. aureus*. *In vitro*, FDDi at concentrations between 0.005 and 1 mg/mL, in normal physiological conditions, showed a significant ($P < 0.01$) concentration-dependent decrease in contraction amplitude and tone. *In vivo*, on intestinal transit, FAEDi and FDDi (12.5, 25 and 50 mg/kg) significantly ($P < 0.01$) and in a dose-dependent manner inhibited intestinal transit. In contrast, FEDi inhibited transit in a dose-dependent manner. On intestinal secretions, FAEDi and FDDi significantly ($P < 0.01$) and in a

dose-dependent manner inhibited the volume and mass of intestinal secretions induced by castor oil. In contrast, FEDi inhibited the volume and mass of intestinal secretions in a dose-dependent manner. Based on these results, FDDi was used to determine the mechanisms of action of the anti-diarrhoeal activity. FDDi significantly ($P < 0.01$) inhibited acetylcholine, KCl and BaCl₂ induced phasic contractions. Pretreatment of animals with yohimbine and Naloxone did not significantly alter the spasmolytic activity of FDDi (50 mg/kg). In contrast, atropine pre-treatment increased ($p < 0.05$) the spasmolytic activity of FDDi, while glibenclamide reduced ($p < 0.01$) the spasmolytic activity of FDDi. FDDi significantly ($p < 0.01$) inhibited PGE₂-induced intestinal secretions. In *S. typhi*-infected rats, FDDi significantly ($P < 0.01$), and in a dose-dependent manner, reduced *S. typhi* density, the number of diarrhoeal stools and body temperature. FDDi significantly ($P < 0.01$) reduced serum ALT, AST and creatinine levels. FDDi significantly ($P < 0.01$) increased CAT, SOD and GSH levels and significantly decreased MDA and NO levels in the different tissues investigated. FDDi did not improve the architecture of liver tissue but restored the morphology of kidney tissue in Salmonella-infected rats. The median lethal dose LD₅₀ of the dichloromethane fraction was reported to be over 5000 mg/kg body weight. *Dichrocephala integrifolia*, through its hydroethanolic extract and its dichloromethane fraction, would be effective on motor, secretory and infectious diarrhoea. These results would justify the use of *D. integrifolia* in traditional medicine.

Key words: *Dichrocephala integrifolia*, diarrhea, *Salmonella typhi*, castor oil, PGE₂, Typhoid

INTRODUCTION

L'intestin normal reçoit quotidiennement 8 à 10 L de liquide provenant des aliments ingérés et des sécrétions intestinales. Sous l'influence des mouvements intestinaux, la majeure partie de ce liquide est réabsorbée par l'intestin grêle. Le côlon absorbe 1,5 à 2,0 L et environ 200 mL sont excrétés dans les fèces. Ainsi, une diminution de l'absorption, une augmentation de la motilité, une augmentation de la sécrétion de l'intestin grêle ou une diminution de la capacité d'absorption du côlon peuvent entraîner une diarrhée (Alam & Ashraf, 2003 ; Kiela & Ghishan, 2016).

Les diarrhées sont définies par l'OMS comme étant l'émission d'au moins trois selles molles ou liquides dans une journée (ou des selles plus fréquentes que ce qui est habituel pour le sujet atteint). Il s'agit d'une élimination anormale d'une quantité de selles et notamment d'eau, au-dessus de 300 grammes par jour ou 350 mL/24 h. Les diarrhées sont caractérisées par une élévation du contenu en eau, du volume ou de la fréquence des selles (WHO, 1993). Les diarrhées peuvent être d'origine non infectieuse (inflammatoire, tumorale, ou médicamenteuse) ou infectieuse (bactérienne, virale, parasitaire ou fongique). Dans ce cas, les diarrhées sont à 70 % le symptôme d'une infection intestinale pouvant être causée par l'un des principaux agents mis en cause chez l'homme que sont les *Shigella sp*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* et *Candida albicans* (Akhtar & Sutjita, 2006).

Les maladies diarrhéiques sont l'une des causes majeures de morbidité et de mortalité dans le monde et constituent un réel problème de santé publique. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 2003) on estime à près de 3 à 5 milliards le nombre de cas de diarrhées et à 5 millions le nombre de décès chaque année. Les maladies diarrhéiques représentent la deuxième cause de mortalité chez les enfants de moins de 5 ans avec 1 milliard de cas et 2,5 millions de décès chaque année (Bakare *et al.*, 2011). La probabilité de présenter des diarrhées est de 0,391 pour un africain au sud du Sahara, contre 0,072 dans les pays développés. Au Cameroun, les affections diarrhéiques sont la troisième cause de consultation, de morbidité et de mortalité infantile ; à Yaoundé, sa prévalence est de 14,4 % (Yongsi *et al.*, 2008).

Parmi les diarrhées infectieuses, la fièvre typhoïde causée par *Salmonella typhi* est responsable de 17 millions de cas et causent 600 000 décès chaque année, l'écrasante majorité des infections et des décès se produisant dans les pays en voie de développement où la fièvre typhoïde est endémique (Gosa, 2015). Cependant, l'ampleur réelle est difficile à quantifier parce que le tableau clinique est confondu avec de nombreuses autres maladies fébriles et les zones endémiques manquent d'installations pour confirmer le diagnostic. Cette incidence

grave sur la santé des populations est observée malgré les efforts que déploient les gouvernements et organismes internationaux dans la lutte contre les maladies diarrhéiques (Nitinkumar *et al.*, 2010).

Généralement, le traitement des affections diarrhéiques vise la correction de leurs caractéristiques physiopathologiques. Il peut être symptomatique et la prise en charge des pertes hydroélectrolytiques se fait par des sels de réhydratation orale (SRO), celle des vomissements par des antiémétisants (Métoclopramide) et celle de l'amaigrissement par des mesures diététiques (apports protéino-caloriques, régime sans résidu). Le traitement peut être spécifique par l'utilisation des ralentisseurs du transit (Lopéramide) et les antispasmodiques (Phloroglucinol) dans le cas des diarrhées motrices, les antisécrétoires (Tiorphan) contre les diarrhées sécrétoires alors que les pansements intestinaux sont prescrits dans le traitement contre les diarrhées inflammatoires ou infectieuses (Diosmectite). Le traitement étiologique est fonction du genre microbien, de l'antibiogramme (ou coproculture, recherche des toxines) et des contre-indications. On utilise entre autres les macrolides, les quinolones et les nitroimidazolés (Alam & Ashraf, 2003 ; Litou *et al.*, 2019 ; Bugaev *et al.*, 2019).

Nonobstant les multiples progrès de la médecine conventionnelle, le traitement des diarrhées reste insatisfaisant et confronté à des urgences thérapeutiques auxquelles s'ajoutent non seulement les effets secondaires des médicaments synthétiques, mais également la résistance, développée par la bactérie aux antibiotiques couramment utilisés, due au fait de leurs utilisations inadaptées et souvent anarchiques (Lakshminarayana *et al.*, 2011) et de la circulation rapide des pathogènes résistants au sein des communautés (Lima *et al.*, 2011). De plus, le coût élevé des produits pharmaceutiques et leur inaccessibilité ont poussé la population rurale à dépendre de la médecine traditionnelle, facilement disponible et considéré comme moins nocif. C'est ainsi que pour des soins de santé efficace, l'OMS, (2003) recommande d'investiguer sur les plantes médicinales qui pourraient être source de nouvelles molécules. Bien qu'un grand nombre de ces plantes aient déjà fait l'objet d'études scientifiques, beaucoup d'entre-elles restent cependant non étudiées ; leur utilisation peut donc s'avérer dangereuse, et leurs propriétés thérapeutiques restent parfois hypothétiques ou de simples placebos (Oubre *et al.*, 1997). Conscient de la grande diversité d'espèces que regorge la flore camerounaise, le Laboratoire de Physiologie Animale de l'Université de Yaoundé I, auquel appartient notre équipe de recherche (General Endocrinology and Metabolism Systems : GEMS) a, depuis quelques années, axé ses travaux de recherche dans le domaine de la phytothérapie de certaines pathologies humaines en utilisant des modèles

animaux, afin d'apporter des preuves scientifiques aux effets supposés ou réels des plantes de notre pharmacopée.

Dichrocephala integrifolia, *Dioscorea preussii*, *Melenis minutiflora* et *Tricalysia okelensis* sont utilisés traditionnellement dans l'arrondissement de Batié, à l'Ouest du Cameroun dans le traitement des affections gastro-intestinales. Ces plantes possèderaient des composés chimiques qui agiraient soit en inhibant la multiplication des bactéries pathogènes *in vitro* et/ou *in vivo* ou soit en inhibant la motilité et la sécrétion intestinales. La présente étude a été entreprise dans le but de confirmer les effets antimicrobiens et antidiarrhéiques de ces plantes et de contribuer à la mise sur le marché d'un MTA. Pour y parvenir, nous nous sommes proposés de :

1. évaluer les activités antidiarrhéiques de *D. integrifolia*, *D. preussii*, *M. minutiflora* et *T. okelensis* afin de choisir la plante la plus active ;
2. évaluer les activités antidiarrhéiques des extraits de la plante la plus active afin de déterminer l'extrait efficace ;
3. évaluer les activités antidiarrhéiques des fractions de l'extrait efficace afin de déterminer la fraction la plus efficace ;
4. déterminer les mécanismes d'action de la fraction efficace de la plante ;
5. étudier la toxicité aiguë de la fraction efficace sur les rats afin d'avoir une idée sur son innocuité.

Le présent travail est constitué en trois chapitres, précédés d'une introduction et clos par une conclusion et des perspectives.

- une introduction qui met l'accent sur la définition, les causes, l'épidémiologie des diarrhées et ressort la problématique, l'objectif principal et les objectifs spécifiques de l'étude ;
- un chapitre 1 : il se focalise sur l'anatomie et la physiologie des intestins, les généralités sur les diarrhées et des types de toxicité ;
- un chapitre 2 : il présente le matériel et les méthodes utilisées pour répondre à notre objectif principal ;
- un chapitre 3 : il présente et discute les résultats obtenus ;
- une conclusion qui résume l'ensemble du travail, rappelle les objectifs et précise si elles ont été atteints ;
- et des perspectives qui présentent les travaux envisagés à la suite de cette étude.

CHAPITRE I :

REVUE DE LA LITTÉRATURE

I. GENERALITÉS SUR LE SYSTEME DIGESTIF

Le tube digestif comprend de la bouche, à l'anus : le pharynx, l'œsophage, l'estomac, l'intestin grêle, le côlon et le rectum. L'intestin est la partie du tube digestif où les nutriments, l'eau et les électrolytes sont absorbés et /ou sécrétés, est composé de deux grandes parties : l'intestin grêle et le côlon (Silverthorn, 2007).

I.1. Anatomie de l'intestin

I.1.1. Anatomie de l'intestin grêle

L'intestin grêle mesure environ 6 m de long chez l'homme et a un diamètre de 45 mm. Il est divisé en trois parties qui sont de l'amont vers l'aval : le duodénum, le jéjunum et l'iléon (Figure 1).

Le duodénum, qui fait immédiatement suite à l'estomac, va du pylore jusqu'à l'angle duodeno-jéjunal, où débouchent les canaux excréteurs du pancréas et des voies biliaires. Le jéjunum, est le segment intermédiaire et l'iléon débouche dans le côlon à la hauteur de la valve iléo-cæcale (Catala *et al.*, 2008).

I.1.2. Anatomie du gros intestin

Le gros intestin comprend le cæcum auquel est rattaché l'appendice, le côlon, le rectum et l'anus. Le côlon s'étend du cæcum au rectum et se divise en quatre segments : le côlon ascendant ou droit, le côlon transverse ou horizontal, le côlon descendant ou gauche et le côlon sigmoïde (Catala *et al.*, 2008).

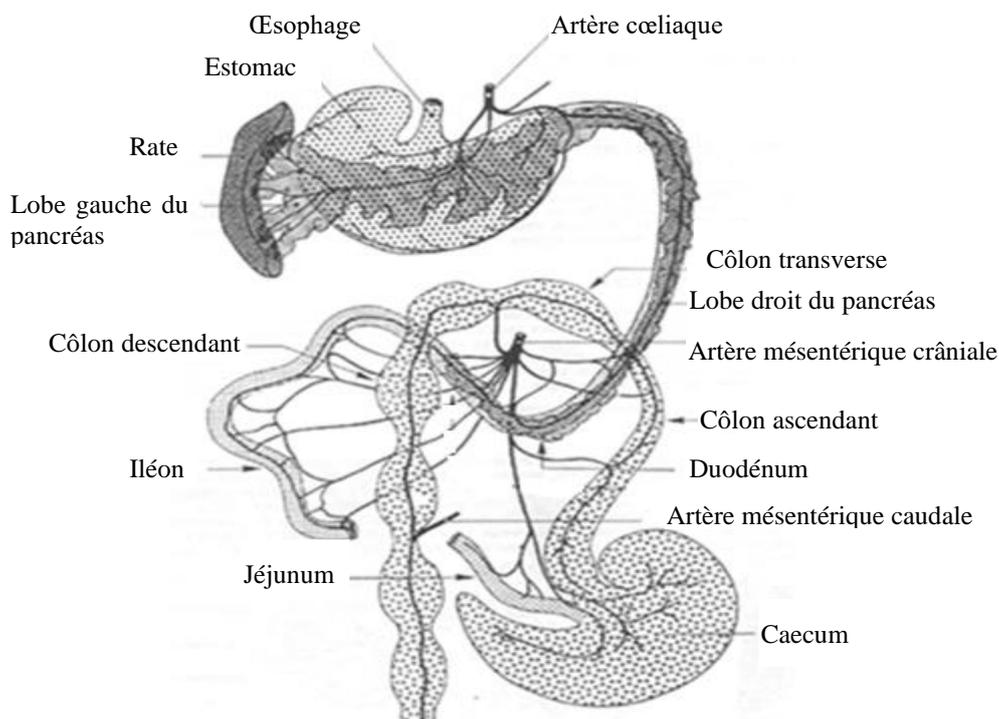


Figure 1 : Schéma du tube digestif du rat (Haton, 2005)

I.2. Histologie de l'intestin

I.2.1. Histologie de l'intestin grêle

L'intestin grêle possède les quatre tuniques constitutives du tube digestif (Figure 2). De la lumière vers la cavité abdominale on distingue : la muqueuse, la musculaire muqueuse, la sous muqueuse, la musculuse et la séreuse (Dadoune *et al.*, 2000 ; Catala *et al.*, 2008).

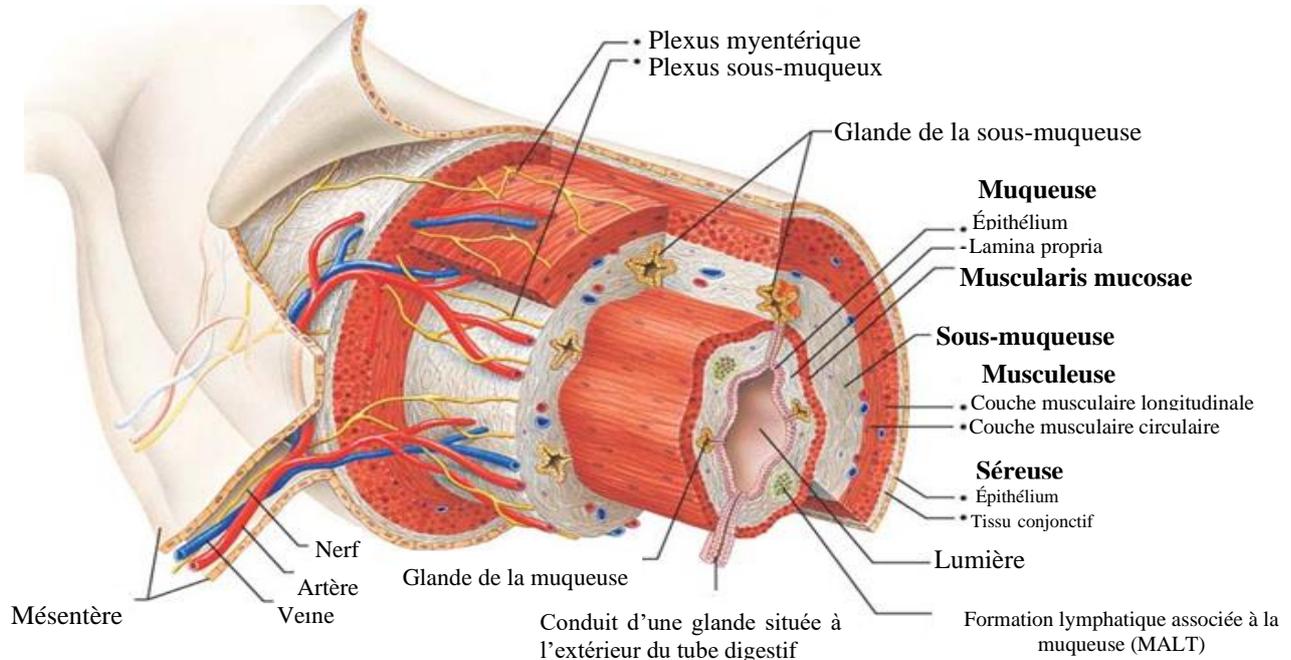


Figure 2 : Schéma de la structure de l'intestin (Marieb & Hoehn, 2006)

I.2.1.1. Muqueuse

La muqueuse de l'intestin grêle comprend un étage composé de villosités ainsi qu'un étage composé de glandes de Lieberkühn ou cryptes (André *et al.*, 1999).

a) Villosités

Les villosités s'étendent vers la lumière et sont tapissées par l'épithélium prismatique simple constitué de plusieurs types cellulaires dont les entérocytes, les cellules caliciformes, les cellules neuroendocrines et, au niveau de l'iléon appartenant au système immunologique, les cellules « M ».

- Les entérocytes sont les principales cellules de l'épithélium et sont plus spécifiquement responsables de la fonction d'absorption des nutriments.

- Les cellules caliciformes sont des cellules à mucus qui permettent de protéger l'intestin de l'agression des sucs gastriques mais qui jouent également un rôle dans la protection vis-à-vis des bactéries de la lumière (Desjeux, 1996).

- Les cellules neuroendocrines sont responsables de la sécrétion hormonale, par exemple la cholécystokinine (CCK) et la sécrétine.

- Les cellules M (*microfold cells*) situées au niveau des plaques de Peyer (amas constitués de 20 à 40 lymphoïdes situés principalement dans la partie terminale de l'iléon, dans le chorion et dans la sous-muqueuse), jouent un rôle prépondérant dans la réponse immunitaire.

b) Cryptes ou glandes de Lieberkühn

Les cryptes ou glandes de Lieberkühn sont des invaginations tubulaires de l'épithélium s'enfonçant dans la *lamina propria* jusqu'à la *muscularis mucosae*. Dans les cryptes se trouvent les cellules de Paneth qui sécrètent la lysozyme, la phospholipase, le *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) et des cryptidines ou défensines. Ce compartiment est également composé de cellules souches multipotentes qui se divisent pour donner naissance aux 4 à 6 types cellulaires retrouvés dans l'épithélium intestinal (Figure 3). Ces cellules se divisent de façon asymétrique pour donner des cellules souches filles progénitrices qui vont soit régénérer les cellules souches, soit proliférer rapidement pour donner des cellules dites de « transit ». Ces dernières donneront en se différenciant les 4 types cellulaires décrits précédemment (Crosnier *et al.*, 2006).

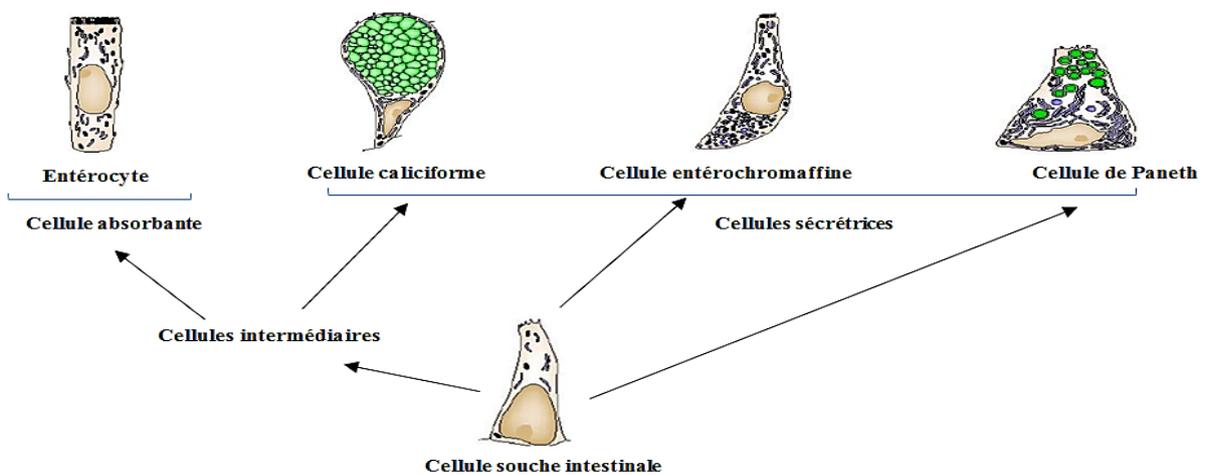


Figure 3 : Représentation des différents types de cellules de l'épithélium intestinal (Crosnier *et al.*, 2006).

Le chorion forme l'axe central de chaque villosité ; il contient un riche réseau vasculaire et lymphatique à l'intérieur duquel les produits de la digestion sont absorbés (Wheater *et al.*, 2004).

I.2.1.2. Musculaire muqueuse

La musculaire muqueuse est formée de plusieurs couches de fibres musculaires lisses, celles des couches les plus profondes étant orientées parallèlement à la lumière intestinale.

Les fibres musculaires superficielles se disposent perpendiculairement à la surface et s'étendent dans le chorion entre les glandes jusque dans les villosités. L'activité de la musculature muqueuse maintient la muqueuse superficielle et les glandes dans un état d'agitation douce et constante, qui mobilise les sécrétions des cryptes glandulaires profondes, prévient l'obstruction et accroît le contact entre l'épithélium et le contenu de la lumière intestinale dans le processus d'absorption.

I.2.1.3. Sous-muqueuse

La sous-muqueuse est constituée d'un tissu conjonctif lâche qui rattache la muqueuse à la masse importante de la couche musculaire. Elle contient les plus gros vaisseaux sanguins, lymphatiques et les nerfs destinés à la muqueuse. De très petits ganglions parasympathiques sont dispersés au sein de la sous-muqueuse, formant le plexus sous-muqueux de Meissner donnant naissance aux fibres post-ganglionnaires innervant la musculature.

I.2.1.4. Musculeuse

La musculeuse est faite de deux couches de tissu musculaire lisse : l'une circulaire interne et l'autre longitudinale externe. Entre ces deux couches se situe le plexus nerveux ou plexus mésentérique d'Auerbach.

I.2.1.5. Séreuse

Cette couche externe conjonctive lâche forme le tissu de soutien des gros vaisseaux et nerfs. Elle contient les tissus adipeux et est revêtue d'un épithélium pavimenteux simple : le mésothélium.

I.2.2. Histologie du gros intestin

Le gros intestin possède quatre tuniques observables : une muqueuse, une sous-muqueuse, une musculeuse et une séreuse.

La muqueuse n'a plus de villosités mais le nombre de glandes de Lieberkühn augmente énormément. De plus, la proportion des cellules caliciformes et des entérocytes est inversée par rapport à l'intestin grêle, avec 75 % de cellules caliciformes et 25 % d'entérocytes. La couche lymphoïde est plus développée.

La sous-muqueuse du gros intestin forme de nombreux plis semi-lunaires. A la différence des plis circulaires de l'intestin grêle, ce ne sont cependant pas des reliefs permanents mais des formations qui apparaissent en fonction des contractions de la musculature.

La musculaire du côlon se compose d'une couche circulaire homogène bien développée mais sa couche longitudinale est condensée sous forme de trois bandelettes épaisses, ou taeniae appelées taenia libre, taenia mésocolique et taenia omental. Les haustra sont des saccules saillants qui se forment entre les *taeniae coli* adjacents (Cohn *et al.*, 2009).

Selon la région, le gros intestin possède une adventice ou séreuse. La couche sous-séreuse renferme les adipocytes formant des amas souvent visibles sous forme d'appendice épiploïques à hauteur des taeniae (Lullmann-Rauch, 2008).

La séreuse est une couche cellulaire dérivée du mésothélium qui recouvre la surface péritonéale de la paroi colique. Par conséquent, les régions du côlon ascendant, du côlon descendant et du rectum qui se trouvent à l'extérieur de la cavité péritonéale n'ont pas de couche séreuse externe (Lullmann-Rauch, 2008).

I.3. Physiologie de l'intestin

I.3.1. Digestion et absorption

L'intestin a pour rôle de finir la digestion des sucres, des protéines, et l'essentiel des lipides. Il assure l'absorption des nutriments et celle de l'eau principalement grâce au côlon. Les dernières phases de la digestion se déroulent à la surface des entérocytes, au niveau de la bordure en brosse ainsi que toute l'absorption.

Les enzymes présentes à la surface des entérocytes telles que les dissaccharidases, la dextrinase et la glucoamylase assurent la digestion des sucres non dégradés par l'amylase pancréatique. Les polypeptides sont scindés en acides aminés par la carboxypeptidase sécrétée par le pancréas, et les enzymes de la bordure en brosse comme la dipeptidase et l'aminopeptidase. Les monosaccharides et les acides aminés issus de la digestion pénètrent dans les cellules par co-transport avec les ions sodium et par transport actif.

Les lipides quant, à eux, sont agglomérés en gros amas graisseux et transformés en une émulsion stable par l'action des sels biliaires qui agissent comme des détergents. Les lipases pancréatiques peuvent ensuite agir sur ces gouttelettes d'environ 1 μm de diamètre pour les dégrader en acides gras libres et en monoglycérides. Ceux-ci s'associent aux sels biliaires pour former des micelles qui peuvent, par leur taille, diffuser entre les microvillosités pour entrer en contact avec la membrane plasmique de la cellule (André *et al.*, 1999 ; Marieb, 1999).

I.3.2. Motilité de l'intestin

I.3.2.1. Automaticité de l'intestin

Le tissu musculaire intestinal est doué d'une activité contractile automatique. Cette activité s'observe dans les tissus dépourvus de toute innervation (Silbernagl & Despopoulos, 2001). Le système nerveux ne joue qu'un rôle de coordination et de modulation de l'activité motrice grâce à l'existence de plexus nerveux. L'automatisme de l'intestin repose sur l'existence de cellules spécialisées : les cellules interstitielles de Cajal (Figure 4). Ces cellules ne sont pas des cellules nerveuses mais des cellules d'origine mésenchymateuse. Elles forment un réseau qui interconnecte la musculature gastro-intestinale. Ces cellules sont principalement localisées entre les couches musculaires longitudinale et circulaire, au voisinage du plexus myentérique. Les cellules interstitielles de Cajal sont connectées aux cellules lisses par des jonctions serrées. Elles jouent le rôle de pacemaker de l'intestin et assurent la genèse des ondes lentes. Les jonctions serrées établies avec les cellules musculaires voisines permettent la transmission des messages ou influx nerveux aux cellules musculaires adjacentes pour entraîner leur excitation/contraction (Mader, 2004).

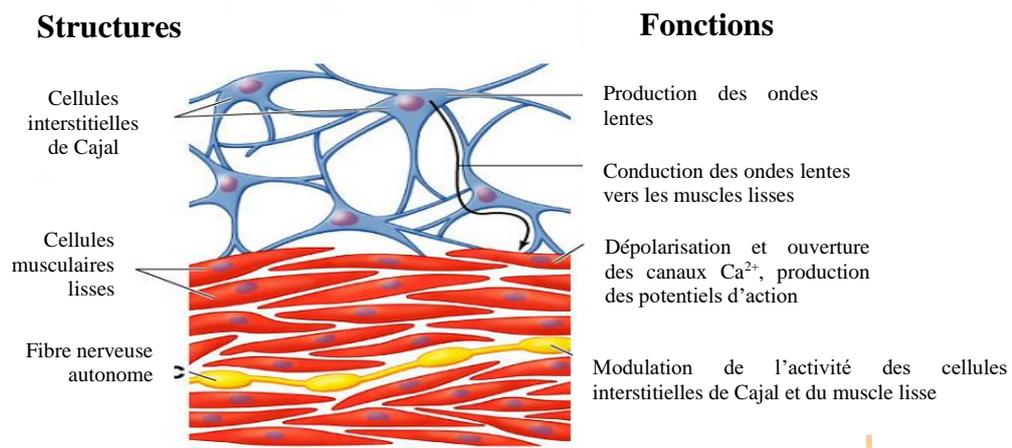


Figure 4 : Cellules interstitielles de Cajal (Mader, 2004)

I.3.2.2. Innervation de l'intestin

Le système nerveux entérique commande le péristaltisme ; Ces contractions qui en se propageant d'un bout à l'autre du tube digestif y assurent le transit du bol alimentaire. Le système nerveux entérique régule les fonctions intestinales aussi diverses que la motricité digestive, la sécrétion hydroélectrolytique de la muqueuse ou la circulation sanguine. Il contrôle également la barrière épithéliale intestinale qui a pour rôle de permettre le passage de nutriments à travers l'intestin et d'empêcher le passage d'agents pathogènes ou toxiques dans le corps.

D'une façon générale, les messages issus des neurones des intestins ont deux fonctions importantes ; ils fournissent un feed-back sensoriel aux réflexes locaux qui modulent en permanence l'activité motrice des différents viscères et ils informent les centres supérieurs (cerveau) des conditions ambiantes. L'intestin est doté sur toute sa longueur d'une innervation intrinsèque et extrinsèque (Mader, 2004).

➤ **Innervation intrinsèque**

Le contrôle nerveux intrinsèque dépend des cellules nerveuses localisées dans le tube digestif et présentant une activité automatique spontanée. Elles sont organisées en réseaux de cellules interconnectées appelés plexus. Le système digestif possède un système nerveux intrinsèque divisé en deux plexus dont les rôles sont en accord avec leur localisation dans la paroi qui sont :

- **le plexus myentérique** ou plexus d'Auerbach ; il est plus volumineux et situé dans la musculature entre les couches musculaires longitudinales et circulaires. Il est surtout responsable du contrôle moteur ;

- **le plexus sous-muqueux** ou plexus de Meissner. Il est situé dans la sous-muqueuse entre la couche musculaire circulaire et la muqueuse. Il contrôle surtout les sécrétions gastro-intestinales et le débit sanguin local (Roman & Mion, 2009).

➤ **Innervation extrinsèque**

Les plexus nerveux reçoivent des afférences du système nerveux extrinsèque (système parasympathique et sympathique) et émettent des axones efférents primaires qui remontent vers le système nerveux central. Le contrôle nerveux extrinsèque est neuro-végétatif. L'innervation extrinsèque du tube digestif implique le nerf crânien X ou nerf vague, pour l'estomac et l'intestin supérieur, les nerfs splanchniques pour l'estomac et l'intestin, et le nerf pelvien pour l'intestin distal (Blackshaw & Gebhart, 2002). Les cellules nerveuses sont localisées en dehors de la paroi digestive, au niveau des plexus abdominaux. Les fibres nerveuses issues de ces plexus font synapses au niveau des plexus nerveux de l'innervation intrinsèque et contrôlent leur activité (Figure 5). Le système nerveux autonome répond lui-même à une régulation dépendant des centres supérieurs localisés notamment au niveau de l'hypothalamus. Cette riche innervation digestive explique les liens étroits entre les émotions, le stress et certains dysfonctionnements de l'appareil digestif. Bien que le système nerveux entérique puisse assurer la motilité du tube digestif à lui seul, le système digestif est également sous l'influence des systèmes nerveux sympathique et parasympathique.

Les fibres sympathiques post-ganglionnaires proviennent des ganglions cœliaques ou mésentériques. Ces fibres efférentes inhibent le système nerveux entérique, ce qui entraîne

une diminution des sécrétions, des contractions et du tonus du tube digestif à l'exception des sphincters. Les axones nociceptifs du système digestif cheminent avec ceux du sympathique.

L'innervation parasympathique, quant à elle, est assurée par les nerfs vague et pelvien. Lorsque le parasympathique est stimulé, cela entraîne une augmentation de l'activité tant motrice que sécrétoire (Browning & Travagli, 2014).

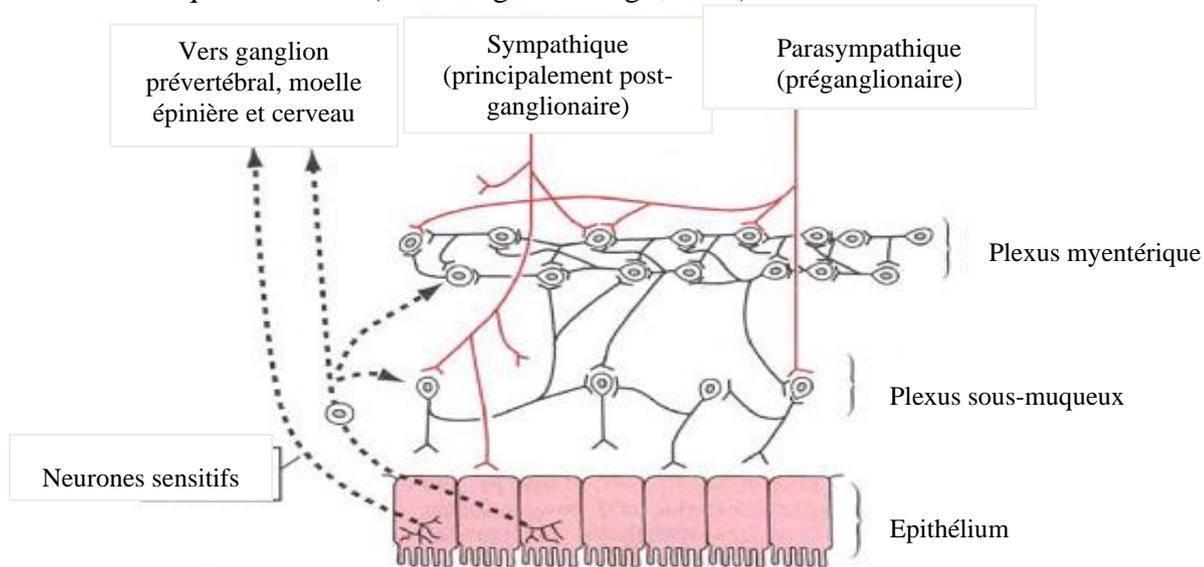


Figure 5 : Fibres nerveuses extrinsèques et intrinsèques dans les plexus entériques (Rhoades & Tanner, 2004)

I.3.2.3. Mécanisme de contraction/relaxation

Les cellules musculaires sont organisées en faisceaux d'une douzaine de cellules, appelées unités contractiles. Elles sont réunies sous forme d'un syncytium fonctionnel. Toutes les cellules formant un même syncytium se relâchent et se contractent en même temps (Guyton, 2003). L'orientation de ces cellules dépend de la couche dans laquelle elles sont situées : elle est longitudinale dans la couche longitudinale et transversale dans la couche circulaire.

La contraction et la relaxation d'un muscle reposent sur l'interaction des filaments d'actine et de myosine présents dans le cytoplasme des cellules musculaires et dépendent de la phosphorylation de la myosine (Seow, 2005). Celle-ci est régulée par deux enzymes : une kinase spécifique, la kinase des chaînes légères de myosine «myosin light chain kinase» (MLCK) et une phosphatase spécifique «myosin light chain phosphatase» (MLCP) (Harnett *et al.*, 2005). La contraction est déclenchée par l'augmentation de la concentration intracellulaire d'ions calcium (calcium majoritairement d'origine extracellulaire). Le mécanisme de glissement des myofilaments relève de l'interaction de l'actine et de la myosine et ce glissement est alimenté par l'ATP. Suite au défaut de la troponine, la régulation de la

contraction est assurée par la calmoduline (CaM) qui est le récepteur primaire du calcium. Dans le processus de contraction/relaxation du muscle lisse (Figure 6), l'augmentation de la concentration intracytoplasmique de calcium active la calmoduline qui fixe le Ca^{2+} (1). La calmoduline activée s'associe alors à la MLCK (2). Le complexe Ca^{2+} -calmoduline-MLCK phosphoryle la chaîne légère de chaque tête de myosine, ce qui entraîne une modification de la configuration des têtes de myosines (3). L'ATP, faiblement liée à la tête de myosine, est hydrolysée en ADP et phosphate inorganique (P_i) puis l'actine peut se fixer à la myosine (4). La libération de l'ADP et du P_i de la myosine (5) permet la fixation d'une nouvelle molécule d'ATP. L'actine est alors libérée de la myosine (6). La répétition de ce cycle (4 à 6) est à l'origine des contractions phasiques. La déphosphorylation de la chaîne légère de myosine par la MLCP est à l'origine de la relaxation du muscle lisse (7).

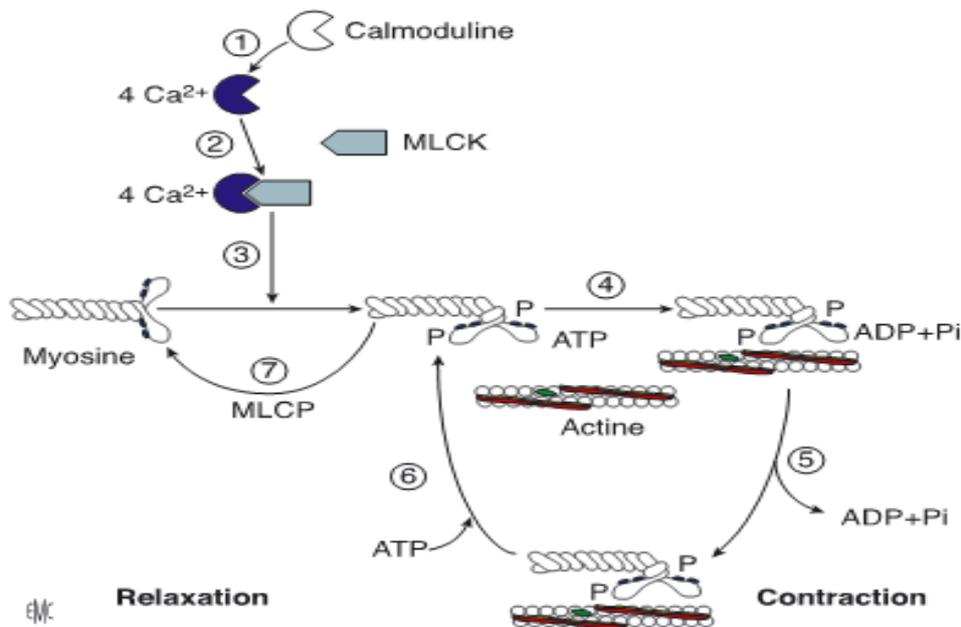


Figure 6 : Interaction des protéines contractiles lors de la contraction et de la relaxation du muscle lisse (Roman et Mion, 2009).

MLCK: «myosin light chain kinase»; MLCP: «myosin light chain phosphatase» ; ATP: adénosine triphosphate; ADP: adénosine diphosphate; P_i : phosphate inorganique.

I.3.2.4. Mouvements de l'intestin

La motilité est une fonction importante dans les processus de digestion et d'absorption dans l'intestin ; elle est nécessaire pour la propulsion du contenu intestinal et de son mélange avec les enzymes. La motilité intestinale est assurée par trois types de mouvements dirigés par un système nerveux local entérique fait du plexus nerveux d'Auerbach et du plexus sous-muqueux de Meissner. On distingue : les mouvements segmentaires ou annulaires, les mouvements péristaltiques et les mouvements pendulaires (Figure 7).

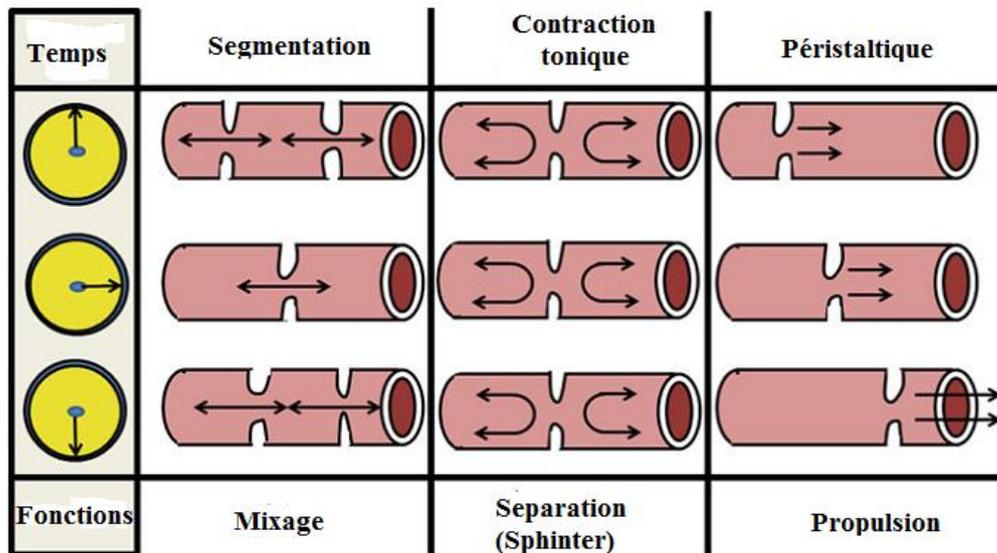


Figure 7 : Types de mouvements intestinaux (Chang & Leung, 2014).

Les mouvements segmentaires sont des contractions annulaires non propulsives des muscles circulaires provoquées par l'activation des circuits neuronaux élémentaires. Ces mouvements naissent à des endroits variables et disparaissent *in-situ* au bout de 20-30 secondes. Leur fréquence décroît le long de l'intestin grêle et passe ainsi de 12 à 9 oscillations par minute (CDU-HGE, 2014). Le brassage est dû aux couches musculaires circulaires et apparaît comme des anneaux de striction intestinale espacés de quelques centimètres. Les contractions segmentaires fragmentent et mélange le chyme stomacal avec les sécrétions intestinales avant la propulsion péristaltique. Elles facilitent l'absorption des nutriments en ralentissant le transit et en augmentant le contact du chyme avec la muqueuse intestinale (Chang & Leung, 2014).

Les mouvements pendulaires mobilisent une portion de l'anse intestinale selon le grand axe, de façon à épandre et à homogénéiser son contenu. Naissant à des endroits quelconques, ce sont des oscillations intestinales résultant des contractions isolées localisées et périodiques des fibres musculaires longitudinales.

Des phénomènes contractiles répétitifs, séquentiels et coordonnés du tube digestif, permettent la propagation de l'onde péristaltique dans le sens oral-aboral. Le mouvement péristaltique ou propulsif est spontané. Son rythme, sa fréquence et son amplitude sont irréguliers. Pouvant naître à tout endroit, les ondes péristaltiques résultent des contractions emboîtées et asynchrones des couches musculaires longitudinales et circulaires. Ces ondes propulsent le chyle non absorbé dans le côlon (CDU-HGE, 2014).

Au niveau du côlon, la motricité colonique permet le brassage des aliments et se traduit par des mouvements segmentaires assurant le brassage du chyle dans le but de l'absorption des ions, de l'eau et la transformation des déchets alimentaires en bol fécal. Ces contractions segmentaires sont progressivement remplacées par de mouvements pendulaires de masse qui propulsent lentement le bol fécal vers le rectum (Dadoune *et al.*, 2000).

I.4. Système immunitaire associé à l'intestin

Le système immunitaire intestinal (SII) doit reconnaître et éliminer des nombreux micro-organismes pathogènes et toxines présents sur la muqueuse intestinale. En même temps, il ne doit pas déclencher de réponses immunitaires contre des antigènes alimentaires et des bactéries commensales. Le SII est donc capable d'élaborer deux types de réponses contradictoires : la défense ou la tolérance ; les mécanismes par lesquels il effectue ce choix ne sont pas encore complètement élucidés (Moreau, 2005).

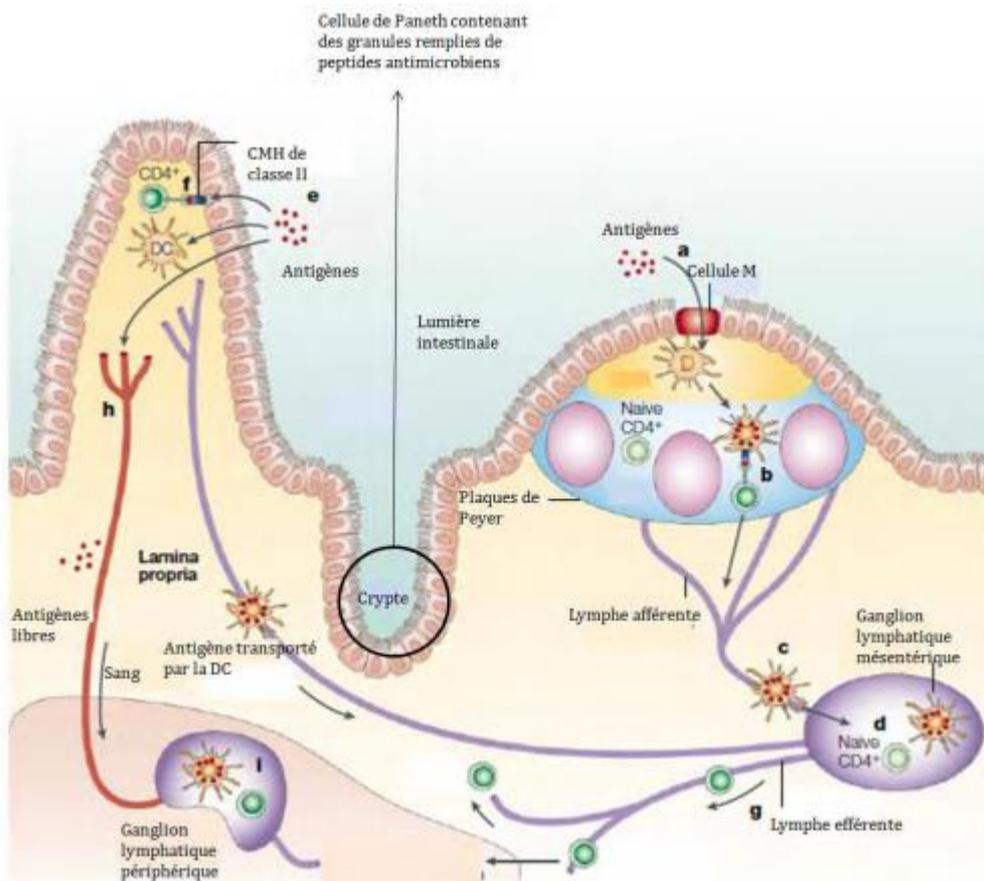


Figure 8 : Organisation du système immunitaire intestinal (Garrett & Gordon, 2010).

Le système digestif produit 60 % des immunoglobulines corporelles totales et contient la majorité des lymphocytes du corps humain, évaluée à 10^6 lymphocytes/g de tissu (Salminen *et al.*, 1998). Le système immunitaire associé à l'intestin est nommé GALT pour *gut*

associated lymphoid tissue. Il comprend des structures parfaitement organisées (plaques de Peyer et ganglions mésentériques), des structures plus diffuses (follicules lymphoïdes disséminés) et des cellules immunocompétentes dispersées dans la muqueuse. La *lamina propria* est un site effecteur contenant un grand nombre de cellules immunitaires activées et matures telles que CPA (DCs, macrophages), lymphocytes T dont une majorité de cellules T de type helper (CD4⁺) et beaucoup de cellules « mémoire », lymphocytes B et plasmocytes dont 90 % synthétisent les IgA (Genetet, 2005) (Figure 8). Ces dernières sont excrétées dans la lumière intestinale sous une forme dimérique associée à une protéine, la pièce sécrétoire, leur conférant une résistance à l'action des enzymes protéolytiques intestinales présentes dans l'intestin. La fonction obtenue par la médiation des anticorps IgA est appelée l'exclusion immunitaire. La sécrétion des anticorps empêche la colonisation épithéliale de pathogènes et interdit la pénétration de matières étrangères nuisibles (Bourlioux *et al.*, 2003).

I.5. Ecosystème gastro-intestinal

Le tractus gastro-intestinal est un écosystème complexe peuplé d'une importante population bactérienne appelée le microbiote intestinal. Il est le premier organe immunitaire de l'organisme et est considéré comme le deuxième cerveau du fait du nombre de cellules immunes et de neurones qu'il contient. Il est composé par une alliance stable entre l'épithélium gastro-intestinal, le système immunitaire qui lui est associé (GALT) et la flore microbienne résidente. Ces trois composants sont continuellement liés entre eux et évoluent ensemble en assurant une fonction et une activité normale de l'écosystème. Des altérations génétiques ou fonctionnelles de l'un des trois composants de l'écosystème peuvent perturber l'alliance et, par conséquent, favoriser l'installation de diverses pathologies (McCracken & Lorenz, 2001).

I.5.1. Distribution des bactéries dans le tube gastro-intestinal humain

De la bouche à l'anus, il existe plusieurs habitats microbiens. A l'état d'équilibre, les différents habitats du tube digestif sont occupés par les germes de la flore intestinale mais le taux de colonisation varie selon les germes et les segments (Figure 9).

Au sein de cette communauté intestinale, environ 400 à 1000 espèces bactériennes différentes ont été recensées. Cette microflore représente 10 à 20 fois le nombre total de cellules du corps humain, ce qui correspond à environ 2 à 4 millions de gènes si l'on considère le génome global (Hooper & Gordon, 2001).

L'ensemble des micro-organismes qui se trouvent dans le tube digestif est classé en trois sous groupes à savoir : les microorganismes résidents, intermédiaires et transitoires (Goulet, 2009).

- La microflore résidente est la première à coloniser l'intestin. Elle se localise dans les cryptes intestinales et participe au processus d'absorption en stimulant un renouvellement des entérocytes ; la présence de la microflore résidente stimule l'augmentation de la taille des villosités intestinales, ce qui a pour effet d'accélérer le transit duodénal.

- La microflore intermédiaire s'adapte à la microflore résidente déjà installée ; elle est plus ou moins fixée sur les villosités intestinales et desquame avec les cellules épithéliales. Cette microflore se renouvelle donc permanemment.

- La microflore transitoire a un rôle d'adaptation. De grandes quantités de microorganismes sont quotidiennement introduites dans l'intestin par l'alimentation et l'environnement ; ces germes peuvent modifier la flore intermédiaire et influencer l'effet de barrière. La présence de la flore intestinale accroît l'épaisseur de la paroi du tube digestif, principalement celle de la couche musculaire, et permet l'accélération du transit intestinal des différents compartiments (Corthier & Raibaud, 1993).

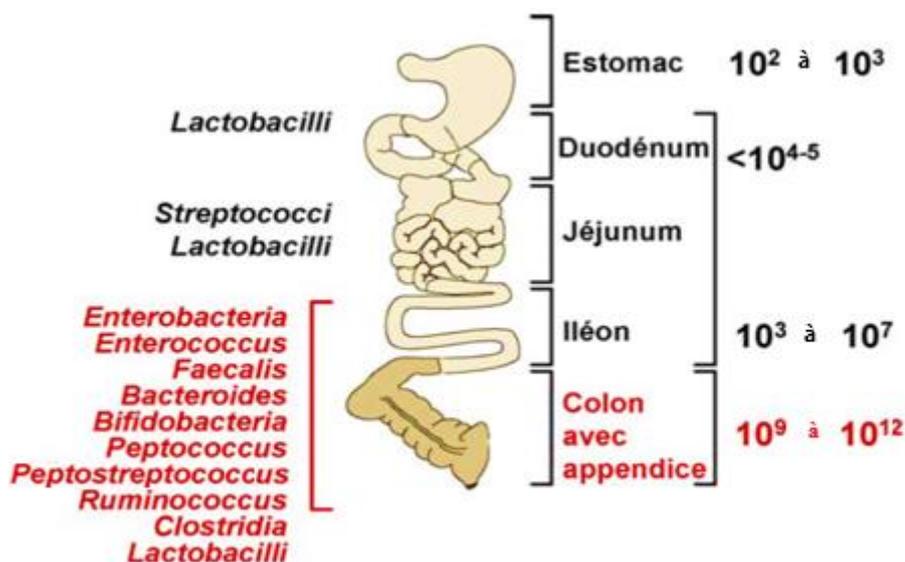


Figure 9 : Flore bactérienne intestinale (Goulet, 2009).

I.5.2. Fonctions de la flore intestinale

Le microbiote intestinal exerce de nombreuses fonctions physiologiques dont la plupart d'entre elles sont nécessaires et bénéfiques pour le maintien de la santé de l'hôte.

I.5.2.1. Système immunitaire associé à l'intestinal

Il existe un lien formel entre la flore bactérienne, la muqueuse intestinale et le système immunitaire, notamment par l'intermédiaire du système immunitaire inné dont les *toll-like receptors* (TLR) sont les principaux acteurs (Bashir *et al.*, 2004).

La muqueuse intestinale, avec une surface de plus de 300 m², est en permanence exposée à une quantité très importante d'antigènes, qu'ils soient d'origine alimentaire ou bactérienne. La flore bactérienne intestinale joue des rôles essentiels au niveau des systèmes immunitaires intestinal et périphérique : rôle d'activation, rôle de modulation des réponses spécifiques, par exemple au niveau intestinal sur la réponse vaccinale ou sur la réponse protectrice IgA antirotavirus. La flore joue enfin un rôle de régulation du système immunitaire. Celui-ci est immature et caractérisé par une réponse déséquilibrée des lymphocytes T helper 2 (Th2) supérieure à celle des Th1 de même qu'une insuffisance de T régulateurs. La colonisation bactérienne progressive du tube digestif est, à cet égard, essentielle pour établir un équilibre entre les Th2 et les autres types de lymphocytes (Th1 et Th3). La flore intestinale joue donc un rôle dans l'acquisition de la tolérance aux agressions extérieures et par conséquent dans la prévention de l'allergie (Figure 10) (Vaishnava *et al.*, 2008).

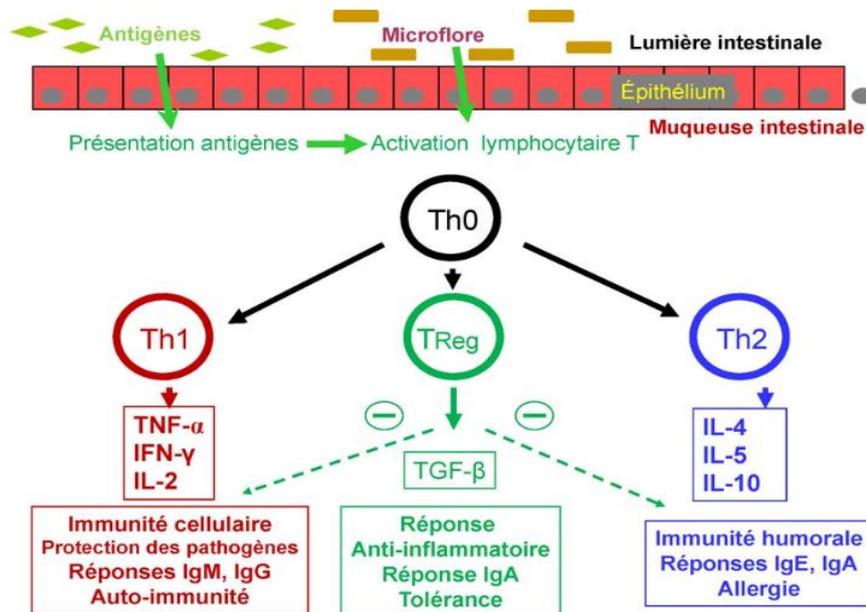


Figure 10 : Interactions microflores et système immunitaire et orientations de la réponse immune (Goulet, 2009).

I.5.2.2. Digestion et absorption de nutriments

La flore intestinale peut métaboliser de nombreuses substances d'origine exogène (les résidus alimentaires non digérés dans la partie supérieure du tractus digestif) et endogène (mucopolysaccharides, cellules desquamées et enzymes synthétisées par l'hôte). La dégradation et la fermentation de ces substrats conduisent ensuite à la production de divers métabolites comme des acides gras à chaîne courte, des vitamines B (B1, B2, B6 et B12) et de vitamine K. L'ensemble de ces productions fournit de l'énergie nécessaire à la croissance des bactéries et au maintien de leurs fonctions cellulaires. Ces activités sont également importantes pour l'hôte puisque :

- les métabolites formés sont, pour la plupart, absorbés et utilisés par l'organisme ;
- les bactéries facilitent par ailleurs l'absorption des ions, le métabolisme des xénobiotiques, le métabolisme hépatique des lipides et facilite le transit intestinal de par leur capacité d'effet de masse ;
- la fermentation des glucides, en stimulant la protéosynthèse microbienne, contribue largement à diminuer la disponibilité de nombreux métabolites potentiellement toxiques dérivés des protéines. Il a été clairement montré que le microbiote intestinal contribue à l'absorption par l'hôte de glucides et de lipides et régule le stockage des graisses (Sonnenburg *et al.*, 2005 ; Turnbaugh *et al.*, 2006).

I.5.2.3. Maturation et maintien de l'intégrité de l'intestin

Les bifidobactéries, les lactobacilles, ainsi que certains entérocoques, streptocoques et bactéroïdes, se distinguent par leurs effets bénéfiques sur la santé de l'hôte, tels que l'amélioration de la maturation et de l'intégrité de l'intestin et la modulation de la fonction immunitaire (Schiffrin & Blum, 2002). Ces bactéries participent aux défenses (barrière intestinale) contre des bactéries pathogènes. Les bactéries commensales occupent des sites potentiels de colonisation des pathogènes en empêchant la pénétration d'antigènes nuisibles et en évitant ainsi la pullulation de germes pathogènes. Elles consomment les nutriments disponibles et limitent ainsi ces ressources pour les pathogènes ; elles entrent en compétition avec les pathogènes pour l'accès aux récepteurs de l'hôte. De plus, elles sécrètent des molécules antimicrobiennes telles les bactériocines au niveau de la surface épithéliale et agissent aussi sur le milieu (acidification). L'équilibre de la flore intestinale participe à empêcher la pénétration d'antigènes hostiles et à éviter la pullulation de germes pathogènes (Nathan, 2004).

I.5.2.4. Détoxification

La flore intestinale peut dégrader les substances toxiques exogènes ou produites *in situ*, et module les effets des toxines émises par les micro-organismes pathogènes (Nathan, 2004).

I.6. Diarrhées

1.6.1. Définition

La diarrhée est définie par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 2003) comme l'émission d'au moins trois selles molles ou liquides de plus de 300 g par jour (Fattorusso & Ritter, 2004 ; Allen *et al.*, 2010).

I.6.2. Classification des diarrhées

Les diarrhées peuvent être classées selon leurs physiopathologies, leur évolution dans le temps, et leurs étiologies (Frank-Briggs, 2012).

I.6.2.1. Classification des diarrhées selon la physiopathologie

Selon la physiopathologie, quatre types de diarrhées peuvent être reconnues à savoir : les diarrhées osmotiques, sécrétoires, motrices et inflammatoires ou exsudatives (Thomson *et al.*, 2005).

➤ Diarrhées osmotiques

La diarrhée osmotique se produit soit lorsque des solutés non absorbables ou faiblement absorbables sont ingérés, soit lorsque les entérocytes ou les colonocytes ne peuvent pas les absorber. La force osmotique des solutés non absorbés résulte du passage de l'eau et, secondairement, des ions dans la lumière intestinale, ce qui provoque la rétention du fluide dans la lumière intestinale (Field, 2003).

Les solutés non absorbables comprennent les sucres tels que le mannitol ou le sorbitol, le magnésium, les sulfatés, les phosphates et des laxatifs type PEG (polyéthylène glycol). La diarrhée osmotique survient également en cas d'une malabsorption, d'une dépréciation spécifique de l'absorption de substances telles que le lactose (Field, 2003 ; Thomson *et al.*, 2005).

➤ Diarrhées sécrétoires

La diarrhée sécrétoire résulte d'un déséquilibre de la sécrétion par rapport à l'absorption, aboutissant à l'exagération de la déperdition hydroélectrolytique fécale. Le rôle

central dans ces déficiences est joué par une augmentation de l'AMPc qui a deux effets fondamentaux :

- l'inhibition de l'absorption du sodium et du chlore par les entérocytes entraînant une perte d'eau et d'électrolytes ; il s'agit du mécanisme entérotoxinique, dont le modèle est le choléra ;
- la stimulation de la sécrétion de chlorures, sans altérer les mécanismes de transport.

Les acides biliaires non résorbables et les acides gras peuvent stimuler la sécrétion des ions dans la muqueuse du gros intestin (Beyer, 2004).

➤ **Diarrhées motrices**

L'accélération du transit intestinal raccourcit la période de contact du chyme avec la muqueuse ; en conséquence de ce changement, le volume du chyme dans le gros intestin augmente et provoque rapidement l'évacuation. La distension va être provoquée par l'action directe des toxines (microbes parasites ou virus) sur l'activité du muscle lisse intestinal et des médiateurs relargués tels que l'acétylcholine (Schmit, 1978), et l'ACTH (Kamgang, 1989) ou un électrolyte comme le KCl (Devor & Duffey, 1992).

Les troubles qui diminuent le péristaltisme peuvent favoriser une prolifération bactérienne dans l'intestin grêle et causer de la diarrhée. Enfin, une vidange prématurée du côlon, à cause de son contenu anormal ou de son irritabilité (inflammation) entraîne une diminution du contact entre la muqueuse et le contenu intraluminal et par conséquent, une augmentation de la fréquence et de la fluidité des selles (Thomson *et al.*, 2005).

➤ **Diarrhées inflammatoires ou exsudatives**

Les diarrhées exsudatives sont dues à la rupture de la structure de la paroi intestinale par une inflammation ; les diarrhées exsudatives sont caractérisées par des ulcérations diffuses, des infiltrations et des tumeurs qui font augmenter les débris cellulaires, le mucus, les protéines sériques et le sang dans la lumière intestinale. Les effets sur le volume des selles sont plus prononcés si les lésions touchent le côlon, étant donné que les mécanismes normaux d'absorption des liquides et des électrolytes ne parviennent pas à compenser l'augmentation de volume du chyme (Adler *et al.*, 2008).

I.6.2.2. Classification des diarrhées selon leur durée

Selon l'approche clinique ou selon l'évolution dans le temps, on distingue trois types de diarrhées à savoir les diarrhées : aiguës, persistantes et chroniques.

➤ **Diarrhées aiguës**

Selon l’OMS (2003), les diarrhées aiguës sont l’émission d’au moins trois selles liquides ou molles par jour et évoluant depuis moins de quatorze jours (Hall, 2012).

➤ **Diarrhées persistantes**

La diarrhée persistante est définie comme une diarrhée de 2 à 4 semaines. Les étiologies infectieuses prédominent comme cause de diarrhée persistante similaire à celles des diarrhées aiguës (De Andrade & Fagundes-Neto, 2011). Elle est marquée par une perte de poids corporel, un volume de selles élevé avec des risques de déshydratation. Il n'y a pas de cause microbienne unique de diarrhée persistante. *Escherichia coli*, *Shigella spp* et *Cryptosporidium spp* entéro-adhérents peuvent jouer un rôle plus important que d’autres agents. La diarrhée persistante ne doit pas être confondue avec la diarrhée chronique, qui est une diarrhée récurrente ou de longue durée due à des causes non infectieuses, telles que la sensibilité au gluten ou des troubles métaboliques héréditaires (Frank-Briggs, 2012).

➤ **Diarrhées chroniques**

La diarrhée chronique dure plus de quatre semaines. Elle peut faire suite à des diarrhées infectieuses d’installation brutale ou progressive. Elle se manifeste par des ballonnements, des émissions de gaz anormales, des nausées, l’anorexie ou la polyphagie. On rencontre également des douleurs anorectales, abdominales et/ou thoraciques (Rambaud, 2001).

I.6.2.3. Classification selon l’étiologie des diarrhées

Les diarrhées peuvent être d’origine infectieuse ou non (Nguendo, 2009).

➤ **Diarrhées non infectieuses**

✓ ***Diarrhées dues à une allergie alimentaire ou à une intolérance aux composantes alimentaires***

Les diarrhées peuvent être associées à une allergie alimentaire ou à une intolérance aux composantes alimentaires telle que le lactose, le gluten, de sorbitol ou mannitol. Les sels biliaires et les lipides non digérés causent aussi une sécrétion liquide excessive dans le tractus gastro-intestinal (Schmelzer, 2011).

✓ ***Diarrhées médicamenteuses***

Une diarrhée médicamenteuse est un effet secondaire fréquent pour quelque 700 molécules de médicaments décrites (Chassany *et al.*, 2000). La diarrhée médicamenteuse peut être aiguë (le plus souvent dans les jours qui suivent l’ingestion d’une substance), ou

chronique (plusieurs semaines ou mois après l'ingestion du médicament), ce qui complique l'imputation de la diarrhée à un effet secondaire. Les médicaments peuvent reproduire toutes les grandes causes de diarrhée : osmotique, sécrétoire, motrice, inflammatoire, ou encore liées à une ischémie ou une malabsorption (Morard & Hadengue, 2008). Les antibiotiques sont impliqués dans plus de 25 % des cas et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) probablement aussi souvent.

- **Diarrhées dues aux antibiotiques**

Les antibactériens peuvent causer une diarrhée par plusieurs mécanismes. La destruction de la flore intestinale normale entraîne :

- la pullulation de pathogènes et plus particulièrement du *Clostridium difficile* ;
- une diminution de certaines fonctions métaboliques, comme la fermentation des hydrates de carbone entraînant une augmentation de la concentration intraluminaire d'hydrates de carbone et la diminution de la production d'acides gras à chaînes courtes, sont les causes de diarrhées osmotiques et sécrétoires (Beaugerie, 2011).

Les aminoglycosides peuvent entraîner une malabsorption soit en chélatant les acides biliaires, soit en entraînant une atrophie villositaire (Chassany *et al.*, 2000).

Les macrolides activent la motiline et peuvent causer des diarrhées motrices ; enfin certains antibiotiques ont été associés à des colites hémorragiques avec diarrhées inflammatoires (Morard & Hadengue, 2008).

- **Diarrhées dues aux anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)**

Par inhibition de la cyclooxygénase et diminution de la synthèse de prostaglandine ainsi que par toxicité directe, les AINS peuvent causer une diminution du flux sanguin intramuqueux, une augmentation de la perméabilité de la muqueuse intestinale, une translocation bactérienne, une inflammation intramuqueuse, enfin l'activation des fibroblastes.

L'association de la bile et des AINS aurait un effet irritant direct sur la muqueuse de l'intestin grêle causant la formation d'ulcérations. Ces ulcérations coliques seraient plutôt le fait de l'inhibition de la synthèse des prostaglandines, garante de l'intégrité de la muqueuse digestive (Morard & Hadengue, 2008).

- ✓ ***Autres causes de diarrhées non infectieuses***

Les diarrhées peuvent également être causées par la nervosité ou l'anxiété, les tumeurs, l'augmentation rapide des fibres dans le régime alimentaire, la déficience en certains nutriments tels que la vitamine A, le zinc, l'excès de certains nutriments spécifiques tels que

la vitamine C, les maladies inflammatoires de l'intestin, le syndrome de l'intestin irritable, le diabète (Forrester, 2002).

➤ **Diarrhées infectieuses**

Les diarrhées infectieuses sont des épisodes de diarrhées qui sont causées par les agents infectieux tels que les virus, les champignons, les parasites et les bactéries (Steurer & Spalinger, 2008 ; Cooke, 2010).

✓ ***Infections à virus***

Plus de la moitié des diarrhées infectieuses sont virales dans la population pédiatrique. Parmi les virus mis en cause, les rotavirus et les norovirus sont cités dans 70 % des cas ; il y a aussi des virus plus rares comme les adénovirus, les entérovirus, les calicivirus et les astrovirus (Gadewar & Fasano, 2005).

En général, les virus se répliquent sélectivement dans les cellules épithéliales absorbantes des villosités intestinales, épargnant les cryptes et l'épithélium colique. Les villosités infectées s'atrophient ou sont détruites et peu à peu remplacées par des entérocytes plus jeunes n'ayant pas terminé leur processus de maturation, ce qui entraîne une perte de la bordure en brosse. Les lésions cellulaires et la mort qui en résulte diminuent les capacités d'absorption et d'hydrolyse de l'intestin grêle mais laisse intacte la fonction sécrétoire des cryptes (Thielman & Guerrant, 2004). Dans les diarrhées à Rotavirus, de nouvelles preuves suggèrent que ce pathogène peuvent également provoquer une ischémie villositaire, produire une entérotoxine virale, causer une infiltration de cellules mononucléaires dans la *lamina propria* et même affecter le système nerveux entérique. *In vitro*, les rotavirus inhibent la synthèse des ARN, de l'ADN et des protéines des cellules eucaryotes. Ainsi, une diarrhée à rotavirus est considérée comme une combinaison de diarrhées sécrétoire et osmotique (Lorrot & Vasseur, 2007).

Les diarrhées virales se résolvent généralement en quelques jours, bien que l'adénovirus puisse provoquer une maladie grave persistante chez les patients immunodéprimés (Clark & McKendrick, 2004).

✓ ***Infections à champignons***

Les infections mycotiques se produisent habituellement chez les hôtes immunodéprimés, bien qu'elles puissent également se produire chez les hôtes normaux. Les agents étiologiques que sont *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Histoplasma capsulatum* et *Cryptococcus spp* ont tous été cultivés à partir de l'intestin grêle. Ces

microorganismes sont opportunistes et ne deviennent pathogènes que lorsqu'il y a des conditions favorables au développement chez l'hôte (Fantry *et al.*, 2009).

Chez un sujet sain, les champignons sont retrouvés en très petite quantité dans les selles et dans les sécrétions vaginales, c'est le cas de *Candida spp* dont le seul habitat est les muqueuses. Les *Candida* sont des champignons de couleur blanc cassé à crème, de surface cireuse et à formes variées. Ils sont le plus souvent globuleux, arrondis ou ovales, à bourgeonnement multiple. L'espèce *Candida albicans* se trouve dans les cavités naturelles de l'homme et de certains animaux. En pathologie, *Candida albicans* est la cause dans 70 à 80 % des cas, de candidoses humaines et près de 15 à 30 % de la population sont porteurs sains (Bouchet *et al.*, 2005).

Les lésions les plus courantes associées au *Candida spp* sont les ulcérations uniques ou multiples. Des érosions superflues, des masses sanglantes et des pseudomembranes se produisent aussi, mais avec moins de fréquence. Des plaques blanches et des plis muqueux épais peuvent également être observés lors de l'endoscopie. Les symptômes les plus communs associés à la candidose intestinale sont les douleurs abdominales et les diarrhées irritantes et abondantes (Fantry *et al.*, 2009).

✓ ***Infections à parasites***

Plusieurs parasites peuvent provoquer une diarrhée ; il s'agit entre autres de *Entamoeba histolytica*, *Gardia intestinalis*, *Schistosoma mansoni*, *C. parvum*, *Isospora belli*, *C. cayetanensis*, *Encephalitozoon intestinalis*, *Cryptosporidium spp* et *Strongyloides stercoralis* sont souvent responsables d'épidémies significatives par le biais de la consommation d'eau ou d'aliments contaminés. La symptomatique ne se distingue pas de celle des infections bactériennes ; tant qu'elle est auto-limitante, aucune mise en évidence de l'agent pathogène n'est nécessaire, sauf en raison d'une problématique épidémiologique (La Hoz & Morris, 2019).

Les diarrhées d'origine parasitaire peuvent également être classées en fonction de leur pathogénie.

- Les diarrhées du type "exsudatif" ou l'inflammatoires sont les plus fréquentes avec ulcérations et infiltrations cellulaires de la muqueuse intestinale dues à l'invasion parasitaire ou à la réaction de l'hôte en présence des parasites. Ce qui provoquent le passage dans l'intestin de protéines sériques, du sang et une grande production de mucus. La dysenterie amibienne (*Entamoeba histolytica*) est un exemple de diarrhée exsudative intense.

- Une diarrhée de type osmotique peut se produire dans certains cas de giardiose (*Giardia intestinalis*) et de strongyloïdose (*Strongyloides stercoralis*) à la suite d'un déficit secondaire en lactase provoqué par une atrophie villositaire. Certaines infections parasitaires peuvent aussi être à l'origine de l'accélération de la motilité de l'intestin avec des épisodes de diarrhées fréquents. C'est le cas dans l'ascaridiase.

- La diarrhée de type sécrétoire dans laquelle la muqueuse intestinale stimulée excrète du liquide de façon anormalement abondante, n'a pas encore été reconnue dans les infections parasitaires, bien que l'on sache que certains parasites intestinaux produisent des toxines par exemple *Entamoeba histolytica*.

Les parasites causent des diarrhées qui peuvent aussi être groupées en fonction de la localisation de l'infection. *Giardia lamblia*, *Strongyloides stercoralis* et *Capillaria philippinensis* se localisent dans l'intestin grêle essentiellement. D'autres parasites tels que *Entamoeba histolytica*, *Balantidium coli* et *Trichuris trichiura* se trouvent dans le gros intestin et provoquent en général une diarrhée de type exsudatif ; toujours l'on peut aussi avoir des diarrhées dues à une diminution de la capacité d'absorption du côlon, en particulier lorsque de vastes zones de la muqueuse sont altérées (Di Genova & Tonelli, 2016).

✓ **Infections à bactéries**

Plusieurs types de bactéries interviennent dans les diarrhées, avec des mécanismes différents, que l'on classe en deux groupes principaux : les bactéries entérotoxigènes et les bactéries entéro-invasives.

• **Bactéries entérotoxigènes**

Elles colonisent la muqueuse de l'intestin grêle sans l'envahir grâce à des facteurs d'attachement. Elles élaborent des toxines qui se fixent spécifiquement sur les cellules de la muqueuse et stimulent l'hypersécrétion d'eau et d'électrolytes. Les entérotoxines peuvent être cytotoniques ou cytotoxiques. La diarrhée est essentiellement aqueuse, sans leucocytes ni mucus : le plus souvent sans fièvre mais peuvent être graves par la déshydratation qu'elles entraînent. On trouve dans ce groupe *Escherichia coli* entérotoxigènes et *Staphylococcus aureus*.

❖ ***Escherichia coli***

Escherichia coli (*E. coli*) fait partie de la flore digestive normale de l'homme et de la plupart des animaux à sang chaud. La plupart des souches sont commensales et banales, mais certaines peuvent être à l'origine de pathologies intestinales et extra-intestinales.

Caractères morphologiques : *E. coli* est un bacille à coloration gram négative, de 2 à 3 µm sur 0,5 µm, cocciformes ou fusiformes, parfois mobiles grâce à une ciliature péritriche, aéro-anaérobie.

Caractères antigéniques : *Escherichia coli* possède environ 160 antigènes O ou Antigènes lipopolysaccharidiques différents. Les antigènes K, capsulaires, ou polysaccharidiques parmi lesquels ont été reconnus environ 70 antigènes d'enveloppe différents, et les antigènes H ou flagellaires, protéiques. On en connaît 52 types. Ils ne sont présents que chez les souches mobiles (Avril *et al.*, 1992).

Caractères culturels : *E. coli* se développe en 24 heures à 37°C sur les milieux gélosés en donnant des colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentées. Sur les milieux lactoses, les colonies sont généralement lactose positif. Sur la gélose au sang, elles peuvent être hémolytiques. Les colonies de *Escherichia coli* poussent sur le Milieu Eosine Bleu de Méthylène "E.M.B" qui est un milieu d'isolement des bacilles Gram⁻ très utilisé pour l'isolement des coliformes. Sur ce milieu, *E. coli* est très bombée, avec des muqueuses de diamètre 5 mm et un centre gris marron sans reflet.

Caractères biochimiques : *E. coli* est une entérobactérie, il est en général : indole (+), ONPG⁺, mannitol (+). Les caractères suivants sont positifs de façon moins constante : mobilité, LDC, ODC, sorbitol (les souches 0157:H7 et E.H.E.C. sont le plus souvent sorbitol⁻ et décarboxylases⁺, production de gaz lors de l'attaque du glucose.

Les caractères suivants sont toujours négatifs : inositol, urée, TDA, VP, gélatinase, citrate de Simmons (Avril *et al.*, 1992).

❖ *Staphylococcus aureus*

Caractères morphologiques : *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) est un cocci Gram-positif de 1 µm environ. Les cocci sont des bactéries surtout arrangés en grappes annelées, mais parfois aussi en singletons ou en cellules appariées. C'est un organisme non sporulant, immobile et souvent sans capsule.

Caractères culturels : *Staphylococcus aureus* est un germe aérobi-anaérobie facultatif, lorsqu'il est cultivé en milieu solide, lacté ou enrichi en sang, les colonies isolées sont circulaires (2-3 mm de diamètre), avec une surface lisse, luisante ; elles apparaissent opaques et fréquemment pigmentées. La culture est obtenue en 18 à 24 heures à 37° C (culture possible entre 10 °C et 45° C). *Staphylococcus aureus* pousse en présence de fortes concentrations salines (milieu sélectif de Chapman à 75 % de NaCl). Le pH optimal est de 7,0

à 7,5. À +4° C, *S. aureus* conserve sa vitalité pendant 3 mois dans le pus, pendant 1 an sur gélose, il est détruit à 58° C au bout de 60 mn.

✓ **Bactéries entéro-invasives**

Ces germes pénètrent et se multiplient dans les entérocytes par invasion et provoquent des lésions de la muqueuse. Il s'en suit un défaut de réabsorption et de sécrétion donnant lieu à une diarrhée dysentérique, invasive, douloureuse et fébrile avec émission de matières fécales contenant du pus, du sang et du mucus. Parmi ces germes, on peut citer les Shigelles et les salmonelles.

❖ ***Shigella spp***

Caractères morphologiques : Les shigelles sont des bâtonnets immobiles, courts et gram-, de 2 à 3 µm de long sur 0,5 à 0,7 de large, animés de mouvements pendulaires. Leur température optimale de croissance est de 37°C en milieu aérobie.

Caractères antigéniques : On peut classer les shigelles en 4 groupes sérologiques principaux (espèces), selon leurs antigènes somatiques (O) :

- Le groupe A comprend *Shigella dysenteriae* (ou *Shiga bacillus*) (10 sérotypes).
- Le groupe B est représenté par *S. flexneri* (8 sérotypes).
- Les souches du groupe C dont l'espèce type est *S. boydii* (15 sérotypes)
- Le groupe D comprend *S. sonnei* (1 sérotype) ; c'est le principal responsable de la dysenterie bacillaire.

Caractères culturaux : Les colonies de shigelles sont du type smooth "S", c'est-à-dire à bord régulier souvent semi-bombés et à surface lisse. Elles ont une consistance crémeuse et forment des suspensions homogènes, luisantes en lumière oblique et réfléchissant la lumière. Il est important de les isoler en milieu sélectif inhibant la croissance des germes Gram (+). Les milieux utilisés à cet effet sont la gélose *Salmonella-Shigella* (SS), la gélose de Mac Conkey et le milieu Hektoen. Sur milieu "SS", les colonies de shigelles sont translucides ou opaques (Berche *et al.*, 1988 ; Le Minor *et al.*, 1989 ; Larpent & Larpent, 1997 ; Delarras, 1998).

Caractères biochimiques : Les shigelles sont des entérobactéries, elles sont en général négatives au test à la lysine décarboxylase, au lactose, à l'arginine déshydrogénase, au citrate, à l'uréase, au sulfure d'hydrogène, au cyanure, au malonate, à l'acide sulfurique, à la réaction de Voges Proskauer et au mannitol (Larpent & Larpent, 1997 ; Singleton, 1999).

❖ *Pseudomonas aeruginosa*

Caractères morphologiques : *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) se présente comme un fin bacille (0,5 x 3 µm) asporulé et acapsulé ; son extrême mobilité est due à une ciliature polaire en général monotriche, gram négative ; il possède souvent des granulations plus fortement colorées (Edler, 2001).

Caractères culturels : *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie très peu exigeante se multipliant sur des milieux synthétiques simples. La culture de *Pseudomonas aeruginosa* sur gélose au sang TSA, MH est caractérisée par une odeur aromatique et la production de pigments (pyocyanine, pyoverdine). Sur le milieu Kligler-Hajna, on observe le brunissement de la pente et l'aspect métallisé de la culture (Edler, 2001).

Caractères biochimiques : *P. aeruginosa* n'est pas capable de fermenter les sucres mais peut les attaquer (le glucose en particulier) par voie oxydative, entraînant une acidification du milieu. D'autres caractères sont utiles pour le diagnostic d'espèce : Indole - ; urée - ; IDA - (tryptophane-désaminase) ; HzS - ; gélatine + ; ONPG - (orthonitrophenyl-galactose) ; Nitrate-réductase + ; LDC - (Lysine-décarboxylase) ; ODC - (Ornithine-décarboxylase) ; ADH + (Arginine-déshydrogénase).

Caractères antigéniques : Il possède des antigènes O et H, qui permettent de distinguer différents types.

- Les antigènes O somatiques distinguent 16 groupes différents, numérotés de 1 à 16, qui permettent de classer environ 95 % des souches rencontrées dans le genre *Pseudomonas*.
- Les antigènes O :1 à O :11 sont les plus fréquents ; le sérotype O :12 présente la particularité d'être le plus résistant aux antibiotiques et est le plus souvent incriminé dans les infections nosocomiales.
- Les antigènes H flagellaires sont de plusieurs types. Présents chez les formes mobiles des bactéries à Gram négatif, ils sont de nature protéique et possèdent des propriétés opposées à celles des antigènes O (Avril *et al.*, 1992).

❖ *Salmonella spp*

Biologie de *Salmonella sp* : *Salmonella spp* est un membre du genre *Salmonella* dans la famille des entérobactéries. Le genre *Salmonella* contient deux espèces *S. enterica* et *S. bongori*. *Salmonella enterica* est divisé en six sous-espèces (*S. enterica*, *S. salamae*, *S. arizonae*, *S. diarizonae*, *S. houtenae* et *S. indica*) contenant 2600 sérotypes (Graziani *et al.*, 2017).

Caractères morphologiques : Les salmonelles sont des entérobactéries à Gram négatif. Ce sont des bacilles aérobies, flagellés, non sporulés, en forme de tige de 2 à 3 µm de long et de 0,4 à 0,6 µm de diamètre (Graziani *et al.*, 2017).

Caractères culturels : *Salmonella spp* se multiplie entre 7°C et 45°C avec un optimum à 35°C / 37°C et un pH de 4,1 à 9,0. Ce sont des bactéries aéro-anaérobies facultatives. Ils poussent sur milieu ordinaire et milieu sélectif SS (Shigella – Salmonella), milieu Mueller – Kauffmann, la gélose au vert brillant, la gélose Hektoen, la gélose DCLS, la gélose XLD.

Caractères biochimiques : leurs caractères biochimiques sont : oxydase ⁻, catalase ⁺, glucose⁺, nitrate réductase ⁺ et lactose ⁻.

Caractères antigéniques : les sous espèces *Salmonella enterica* sont subdivisées sur la base de leurs antigènes somatiques : Ag O, flagellaires : Ag H et capsulaires : Ag Vi. Les sous-espèces les plus fréquentes sont : *S. enterica choleraesuis*, *S. enterica typhi*, *S. enterica typhimurium*, *S. enterica enteritidis*, *S. enterica arizonae*, *S. enterica dublin* (Jajere, 2019).

1.7. Fièvre typhoïde

1.7.1. Définition

La fièvre typhoïde est une infection systémique grave causée par une entérobactérie pathogène du sérotype de *Salmonella enterica* (*S. enterica typhi*, *S. enterica paratyphi A* et *S. enterica paratyphi B*). La fièvre typhoïde se propage par la voie féco-orale. Bien qu'il s'agisse d'une maladie la plupart du temps endémique, *S. typhi* peut provoquer des épidémies (Amicizia *et al.*, 2017).

1.7.2. Epidémiologie de la fièvre typhoïde

Dans le monde, on estime que 17 millions d'épisodes de fièvre typhoïde causent 600 000 décès chaque année, l'écrasante majorité des infections et des décès se produisant dans les pays en voie de développement où l'affection est endémique (Bal & Czarnowski, 2004 ; Gosa, 2015) (figure 11). Cependant, l'ampleur réelle est difficile à quantifier parce que le tableau clinique est confondu avec de nombreuses autres maladies fébriles ; de plus les zones endémiques manquent d'installations pour confirmer le diagnostic.

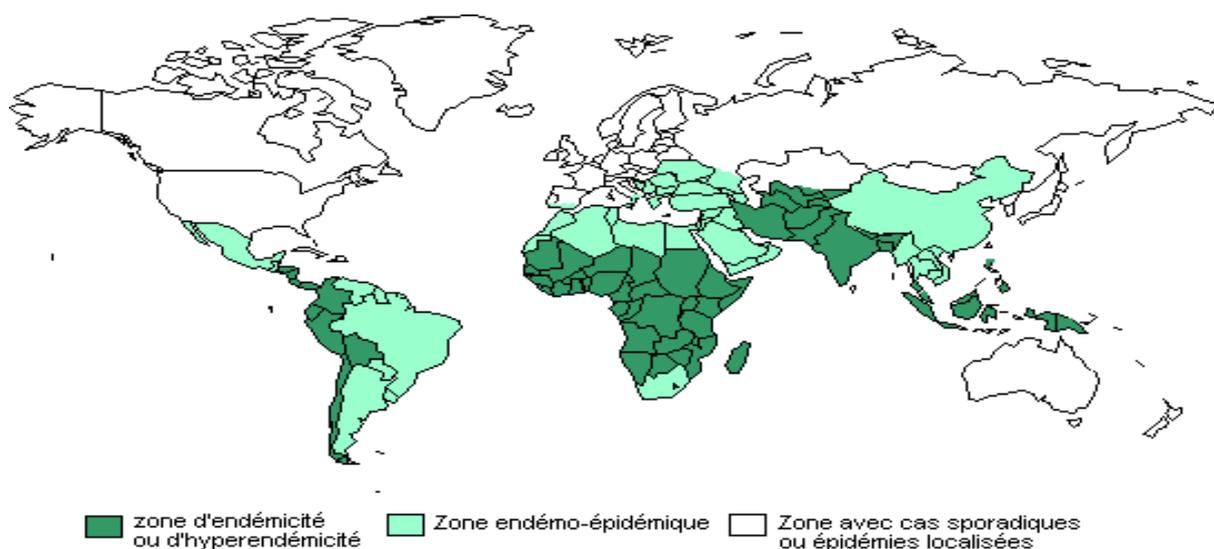


Figure 11 : Zones d'endémicité de la fièvre typhoïde dans le monde (Döller, 1993).

1.7.3. Sources d'infection et transmission

La transmission de cette infection se fait par ingestion des aliments ou boissons contaminés. Des cas humains résultant d'un contact avec des animaux infectés, notamment des animaux domestiques comme les chats ou les chiens, ont été relevés. La taille de l'inoculum et le type de véhicule dans lequel il est ingéré influence grandement la gravité de la fièvre typhoïde (WHO, 2003).

1.7.4. Symptômes de la fièvre typhoïde

Après l'infection par ingestion de *Salmonella typhi*, une phase asymptomatique de 7 à 14 jours s'installe. La survenue de la bactériémie est marquée par une fièvre en plateau à 40°C associée à des signes de souffrance viscérale. Les patients présentent généralement, après le début de la fièvre, des symptômes semblables à ceux de la grippe avec des frissons, un mal de tête frontal, un malaise, une anorexie et des nausées, mais peu de signes physiques (Graziani *et al.*, 2017). Une diarrhée ocre avec une odeur fétide, et en "jus de melon" peut survenir. L'état général est altéré et la bradycardie relative est fréquente dans la fièvre typhoïde, bien qu'elle ne soit pas spécifique. Le blanchissement de la langue, les taches roses sur l'abdomen et la poitrine et des lésions maculopapulaires érythémateuses habituellement de 2 à 4 mm de diamètre sont rapportées dans 5 à 30 % des cas. Une hépatomégalie et une splénomégalie peuvent exister. Des complications plus graves, par exemple une insuffisance gastro-intestinale, une perforation intestinale et une encéphalopathie typhoïde, peuvent survenir chez 10 à 15 % des cas de fièvre typhoïde dans les pays d'endémie (Contini, 2017).

1.7.5. Nature de la pathogénicité de *Salmonella typhi*

La fièvre typhoïde commence comme une infection du tractus gastro-intestinal et se transforme en une maladie systémique. La charge infectieuse chez des volontaires varie entre 10^3 - 10^9 organismes. L'infection dépend des défenses de l'hôte telles que l'acidité gastrique, les effets inhibiteurs de la flore intestinale normale et les mouvements péristaltiques de l'intestin (Hornick *et al.*, 1970).

Après l'ingestion, *Salmonella typhi* passe à travers le pylore et atteint l'intestin grêle, pénètre rapidement la muqueuse épithéliale de l'iléon distal par l'un des deux mécanismes suivant pour arriver dans la *lamina propria*. Lors du premier mécanisme d'invasion, les bactéries sont activement absorbées par les cellules M, qui couvrent les plaques de Peyer et d'autres tissus lymphoïdes organisés de l'intestin (Denise *et al.*, 2004).

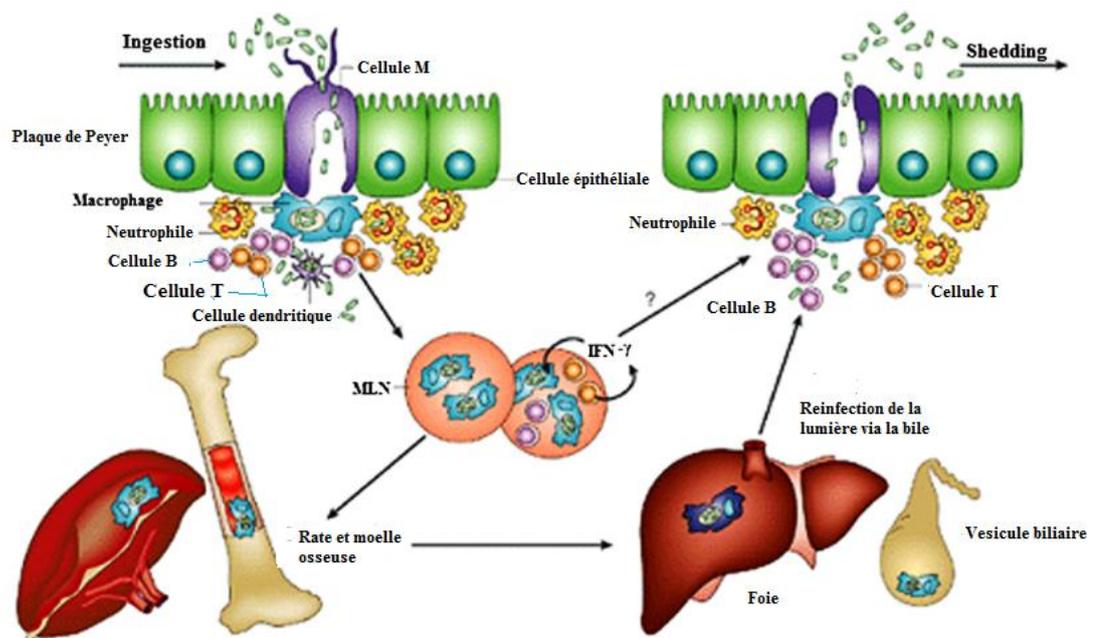


Figure 12 : Mécanismes d'invasion de la muqueuse intestinale par *Salmonella typhi* (Denise *et al.*, 2004)

Lors du second mécanisme, les bactéries sont internalisées par les entérocytes où elles entrent liées à la membrane et se retrouvent à l'intérieur de la cellule dans de larges vacuoles qui traversent la cellule pour finalement libérer les bactéries à la partie basale de la cellule sans détruire l'entérocyte (Figure 12). En arrivant à la *lamina propria* de l'hôte, après le franchissement de la barrière intestinale, par l'un des deux mécanismes, les bactéries provoquent un afflux de macrophages qui sont en contact avec les cellules M des plaques de Peyer (Cossart & Ansonetti, 2004). Ces macrophages ingèrent les bactéries mais sont généralement incapables de les tuer (House *et al.*, 2001). Certaines bactéries restent dans les

macrophages du tissu lymphoïde de l'intestin grêle, pendant que d'autres sont transportées jusqu'aux ganglions mésentériques sous-jacents, où en plus de la multiplication, il y aura ingestion par les macrophages (House *et al.*, 2001 ; Zhang *et al.*, 2003).

Principalement véhiculées par les macrophages qui constituent une niche intracellulaire importante pour les salmonelles, les bactéries rejoignent la voie sanguine à partir des ganglions mésentériques puis accèdent aux sites systémiques tels que le foie, la rate et de la moelle osseuse en raison d'un tropisme pour ces organes. Les germes s'y multiplient. Les bactéries se propagent alors dans l'organisme par la voie sanguine. Cette propagation est responsable d'une bactériémie (présence anormale de la bactérie dans le sang) à l'origine des symptômes et qui peut engendrer par la suite un sepsis (infection générale de l'organisme due à la propagation de la bactérie par le sang) (Pennec & Garré, 2003 ; Kaur & Jain, 2012).

1.7.6. Prévention et traitement de salmonellose humaine

La prévention passe par l'amélioration des conditions d'hygiène dans les pays d'endémie et par la vaccination. Les vaccins sont disponibles : le TyphimVi® ou le Typherix®, Ils nécessitent une injection sous cutanée ou intramusculaire. L'efficacité de ce vaccin est constatée 15 à 20 jours après l'injection et reste valable 3 ans. Ce vaccin est utilisable chez l'adulte, l'enfant de plus de 2 ans.

Pour traiter la fièvre typhoïde chez l'adulte, des antimicrobiens appartenant au groupe des fluoroquinolones sont considérés, dans la plupart des cas, comme la solution optimale. Ces médicaments sont relativement bien tolérés, présentent une bonne absorption par voie orale et assurent un effet plus rapide et plus fiable que les antimicrobiens plus anciens.

Chez l'enfant gravement atteint, on fait largement appel aux céphalosporines de troisième génération (à administrer par injection), les quinolones étant généralement déconseillées pour cette tranche d'âge. Les médicaments plus anciens, chloramphénicol, ampicilline et amoxicilline, ainsi que le triméthoprim-sulfaméthoxazole, sont utilisés occasionnellement comme solutions de remplacement.

I.8. Traitement des diarrhées

Le traitement des diarrhées a pour but de prévenir la déshydratation, d'écourter la durée de la maladie, et de réduire la période à laquelle la personne est infectée (Hossain *et al.*, 2011).

I.8.1. Traitement conventionnel

Les diarrhées sont généralement traitées par l'usage courante des solutions de réhydratation orale (SRO), l'administration des potages salés, des jus de fruits, qui compensent les pertes d'eau et d'ions (Na^+ , K^+ et Cl^-). Le traitement se fait également avec des groupes de médicaments tels que les inhibiteurs de la motricité intestinale, des antisécrétoires, des pré et probiotiques, des agents intraluminaux et des antibiotiques (Olives & Ghisolfi, 2000 ; Fattorusso & Ritter, 2004).

I.8.1.1. Solutés de réhydratation orale (SRO)

Les solutions de réhydratation orale (SRO) constituent la thérapie primordiale de la prise en charge des diarrhées chez l'enfant et chez l'adulte dès lors qu'il existe des signes de déshydratation. Le principe repose sur l'absorption active de sodium associé à du glucose par la muqueuse intestinale. L'absorption d'eau et d'électrolytes du contenu luminal de l'intestin étant fait de manière passive (Carré *et al.*, 2001).

I.8.1.2. Médications anti-diarrhéiques

Ces médicaments ont pour but de réduire le nombre d'émissions des selles et donc la déshydratation. Ils agissent par trois mécanismes différents : le ralentissement du transit, l'action antisécrétoire et l'adsorption.

➤ Inhibiteurs de la motricité intestinale et les antisécrétoires

Les inhibiteurs de la motricité intestinale provoquent une diminution de la contraction de la fibre musculaire lisse. Ils induisent par conséquent un ralentissement du transit et donc augmentent le temps de contact du liquide intestinal avec la surface absorbante. Ils sont contre-indiqués dans les syndromes dysentériques et déconseillés en cas de diarrhée sévère (Thielman et Guerrant, 2004 ; Cooke, 2010). Les antisécrétoires agissent sur la muqueuse de l'intestin grêle généralement par l'inhibition de la pompe ATP-AMPC à l'origine de la sécrétion. Malgré leur efficacité, certains de ces médicaments tels que le racécadotril, qui agit essentiellement au niveau du jéjunum par inhibition de l'enképhalinase, enzyme chargée de dégrader les enképhalines intracellulaires, n'agit que dans les états pathologiques conduisant à une hypersécrétion muqueuse (Carré *et al.*, 2001).

➤ Médicaments agissant par phénomène d'adsorption

Ces médicaments appartiennent à la famille des argiles ; les plus utilisés sont la diosmectite (Smecta®) et l'attapulгите (Actapulgte®). Ils entraînent une augmentation de la consistance des selles (Carré *et al.*, 2001). Le polycarbohydre de calcium absorbe le liquide en

excès de la diarrhée pour former un gel ; cet agent mucilagineux est utilisé quand la muqueuse intestinale ne peut pas absorber le liquide. Le kaolin, la pectine et l'opium absorbent le liquide et protègent les muqueuses (Schmelzer, 2011).

➤ **Agents intraluminaux**

Les agents intraluminaux exercent leur action dans la lumière intestinale ; ils comprennent les silicates, la cholestyramine, le bismuth. Les silicates, en recouvrant les membranes entérocytaires, protègent la muqueuse intestinale ; ils interagissent avec cette muqueuse pour augmenter la filance et les glycoprotéines du mucus. La cholestyramine a les mêmes propriétés vis-à-vis des selles biliaires. Le bismuth atténue la sécrétion intestinale et permet de réduire tant le volume des selles que la durée de la diarrhée. Il a été utilisé avec efficacité pendant de nombreuses années dans la prophylaxie et le traitement de la diarrhée du voyageur (Figueroa-Quintanilla *et al.*, 1993).

➤ **Pré et probiotiques**

Un prébiotique est un ingrédient alimentaire non digestible stimulant de manière sélective la multiplication et/ou l'activité d'un nombre limité d'espèces bactériennes au niveau du côlon, dans le but d'améliorer la physiologie de l'hôte (Gibson & Roberfroid, 1995).

Les probiotiques ont été définis comme une préparation microbienne ou des composants des cellules microbiennes, qui ont des effets bénéfiques sur la santé et le bien-être de l'hôte (Allen *et al.*, 2010 ; Kioussi *et al.*, 2019). Ces germes saprophytes du tube digestif jouent à l'état basal un rôle de "flore de barrière" face à des bactéries pathogènes. Les probiotiques provoquent la baisse du pH intestinal, la production de polyamines, l'inhibition de l'adhésion bactérienne, la synthèse de composés inhibiteurs de certains pathogènes, la stimulation de la réponse immune et la consommation compétitive de certains nutriments empêchant la prolifération de certains pathogènes. Ils sont administrés sous forme de médicaments ou de préparations alimentaires, contenant des bactéries anaérobies principalement *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Saccharomyces boulardii*, *Bifidobacteria* (Sherman & Madsen, 2009 ; Aegerter & Bally, 2012).

➤ **Antibiotiques**

Suivant leur mécanisme d'action (figure 13), ils sont classés en bêtalactamines, aminosides ou aminoglycosides, phénicoles, tétracyclines, polypeptides, quinolones, sulfamides, association sulfaméthoxazole-triméthoprime, nitrofuranes, 5 nitroimidazoles, acide fusidique, novobiocine, rifamycines, antituberculeux et groupe des macrolides, lincosanides et synergistines. Les antibiotiques les plus utilisés sont le cotrimoxazole (peu coûteux et ancien), les cyclines et les fluoroquinolones. Ces dernières sont contre indiquées

chez l'enfant et la femme enceinte. Les céphalosporines de 3^e génération et les macrolides de nouvelle génération (azithromycine) constituent, pour beaucoup d'entérobactéries, une alternative intéressante parce qu'ils sont utilisables chez l'enfant et la femme enceinte (Leclerc *et al.*, 1995 ; Etebu & Arikekpar, 2016).

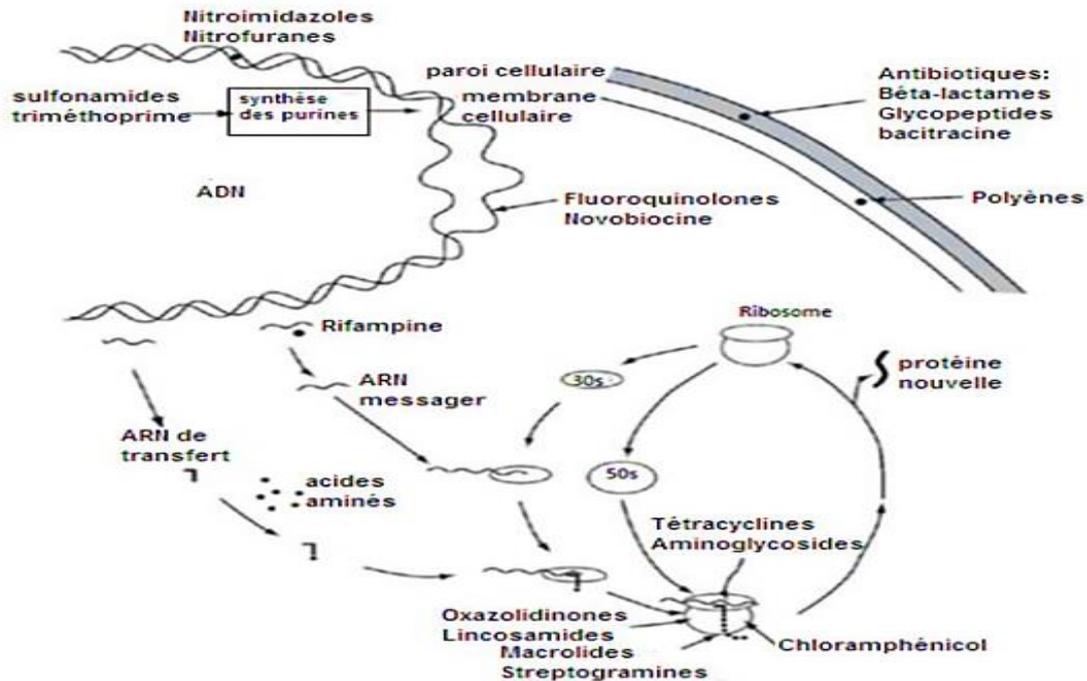


Figure 13 : Différents mécanismes d'action des médicaments antibactériens (Giguère, 2013)

I.8.2. Phytothérapie

De nombreuses plantes sont utilisées traditionnellement pour traiter les maladies diarrhéiques ; on peut citer *Eremomastax speciosa* (Oben *et al.*, 2006); *Mallotus oppositifolium* (Kamgang *et al.*, 2006), *Euphorbia prostata* (Kamgang *et al.*, 2007), *Stachytarpheta indica* (Otimenyin *et al.*, 2008), *Morinda morindoides* (Meite *et al.*, 2009), *Trilepisium madagascariense* (Ngo Teke *et al.*, 2010), *Hibiscus sabdariffa* (Ali *et al.*, 2011), *Moringa Oleifera* (Lakshminarayana *et al.*, 2011), *Pentadesma butyracea* (Wansi *et al.*, 2014a), *Euphorbia scordifolia* (Kamgang *et al.*, 2015), *Oxalis barrelieri* (Fokam *et al.*, 2015) et *Crinum jagus* (Noubissi *et al.*, 2016).

I.9. Toxicité

La toxicité est l'ensemble des manifestations indésirables notées suite à des lésions morphologiques et physiologiques consécutives à l'administration d'une substance quelconque à l'organisme vivant (Diezi, 1992). Les molécules ou substances destinées à la thérapie humaine doivent subir avant tout leur essai clinique, des tests de toxicité, afin de limiter la marge thérapeutique et d'éliminer celles qui sont très toxiques. Il existe trois types

de toxicité en fonction de la durée de traitement et des effets recherchés : la toxicité aiguë, la toxicité à court terme (toxicité subaiguë et toxicité subchronique) et la toxicité chronique ou à long terme (Shank, 2004).

I.9.1. Toxicité aiguë

La toxicité aiguë d'une substance peut être définie comme les effets adverses survenus au cours d'un laps de temps après administration d'une dose unique ou multiple répartie sur 24 heures (CDER, 1996). Elle permet d'évaluer non seulement la dose de traitement qui tue 50 % de la population (DL_{50}) après 48 heures d'administration, mais aussi toutes les modifications comportementales ou autres signes qui apparaissent concernant la locomotion, la sensibilité au toucher et au bruit, l'agressivité, l'aspect des selles, la prise alimentaire et hydrique (Dunant, 2002). L'étude de la mortalité en toxicité aiguë permet de déterminer la dose létale totale (DL_{100}) où on a 100 % de décès et surtout la dose létale médiane (DL_{50}). Des valeurs de $DL_{50} < 5$ g/kg de poids corporel correspondent à des substances toxiques, et des valeurs de $DL_{50} > 5$ g/kg de poids corporel correspondent à des substances faiblement toxiques (Diezi, 1992). La DL_{50} dépend de l'espèce animale, de l'âge, du sexe et de la voie d'administration ; elle est généralement basse pour la voie parentérale par rapport à la voie entérale (Allain, 2000). Pour ce test, les souris, les rats et les cobayes sont généralement utilisés.

I.9.2. Toxicité à court terme

La toxicité à court terme est subdivisée en toxicité subaiguë et la toxicité subchronique en fonction de la durée d'exposition des animaux à une substance.

Ce temps est d'environ 4 semaines (28 jours) en toxicité subaiguë et de 30 à 90 jours en toxicité subchronique chez les rats ou les souris. Les animaux doivent être divisés en groupes d'au moins dix animaux (5 mâles et 5 femelles) (OECD/OCDE, 2009). Les doses à administrer doivent être choisies en tenant compte à la fois des résultats expérimentaux de l'épreuve de la toxicité aiguë et des indications d'ordre épidémiologique. Durant cette épreuve, on note les signes cliniques d'intoxication (variation pondérale, la prise alimentaire et hydrique, l'aspect des selles, la sensibilité au bruit et au toucher, l'agressivité) quotidiennement ou hebdomadairement. Au terme de l'expérimentation, les animaux survivants sont sacrifiés et autopsiés, les organes et tissus prélevés pour des analyses biochimiques, hématologiques et histologiques afin de comprendre les troubles de croissance, de prise alimentaire et hydrique et de fonctionnement des organes tels que le foie, les reins, les poumons, le cerveau, le cœur, la rate (Molle, 1986 ; Diezi, 1992).

I.9.3. Toxicité chronique ou à long terme

La toxicité chronique est une toxicité à long terme d'une substance chez les animaux après administration répétée pendant une période s'étendant sur la plus grande partie de sa vie et sur plusieurs générations. Les animaux sont sélectionnés à partir de la toxicité subchronique ou à court terme. Cette toxicité permet de déceler les substances responsables des maladies liées à l'âge telles que les cardiopathies, les déficiences rénales chroniques et immunitaires (OECD/OCDE, 2008b).

I.10. Plantes médicinales étudiées

Pour cette étude quatre espèces végétales ont été utilisées, il s'agit de : *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preussii*, *Melenis minutiflora* et de *Tricalysia okelensis*.

I.10.1. *Tricalysia okelensis* Hiern (1869)

I.10.1.1. Systématique

Règne : Plantae

Sous-règne : Angiospermes

Classe : Astéridées

Sous-classe : Lamiidées

Ordre : Gentianales

Famille : Rubiaceae

Genre : *Tricalysia*

Espèce : *Tricalysia okelensis* Hiern (1869)

I.10.1.2. Description botanique

Tricalysia okelensis est une plante de la famille des Rubiacées. Cette plante se présente sous forme d'un arbuste sarmenteux de 3 à 4 m de haut, souvent ramifié dès la base, avec des branches disposées à l'horizontale. Ses feuilles sont opposées glabres ou plus moins pubescentes, elliptiques, ovales ou obovales de 10-15 × 3-7 cm à sommet obtus ou courtement acuminé (Figure 14). Les fleurs sont blanches odorantes d'environ 1,5 cm de diamètre à calice pubescent obscurément denté à corolle à 5 à 8 lobes elliptiques de 5 à 7 mm de long. La floraison étant en début de saison des pluies, ses fruits sont des baies globuleuses, glabre, lisse de 5 à 6 mm de diamètre de couleur rouge à maturité et surmontée par une couronne pubescente correspondant aux restes desséchés du calice (Arbonnier, 2009).

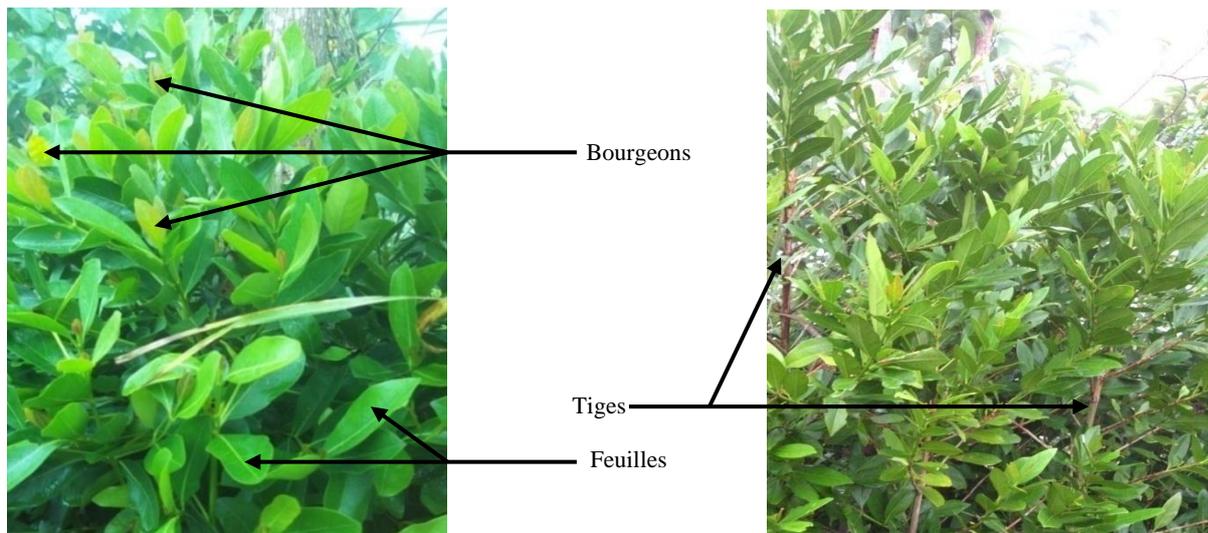


Figure 14 : Photographie de *Tricalysia okelensis* (Photo prise par Fankem le 27 Mai 2011 à Batié)

I.10.1.3. Utilisation pharmacologique

Tricalysia okelensis encore appelé "*Kia Mbap*" à Batié à l'Ouest Cameroun est utilisé dans le traitement du paludisme et des troubles digestifs.

I.10.2. *Dioscorea preussii* Pasc (1892)

I.10.2.1. Systématique

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Classe : Liliopsida

Sous-classe : Liliidae

Ordre : Liliales

Famille : Dioscoreaceae

Genre : *Dioscorea*

Espèce : *Dioscorea preussii* Pasc (1892)

I.10.2.2. Description botanique

Dioscorea preussii est une plante annuelle de la famille des dioscoreaceae. La tige de l'igname est généralement une vigne volubile mince, qui débute à partir du tubercule profondément enfoui, permettant à la plante de grimper. La tige peut atteindre 30 mètres, non épineuse et souvent ailées. Les feuilles sont larges de 8 à 35 cm, ovale et pétiolées à la base ; elles présentent 9 nervures principales et plusieurs nervures secondaires (Figure 15). Les inflorescences sont solitaires et peuvent atteindre jusqu'à 40 cm de long. Les fruits sont ascendants, oblongues, étroitement ailés, pileuse d'abord puis glabre. Les graines sont ailées à

chaque extrémité. Son appareil racinaire est constitué d'un tubercule et des racines adventives (Hutchinson & Dalziel, 1972 ; Wilkin, 2001).

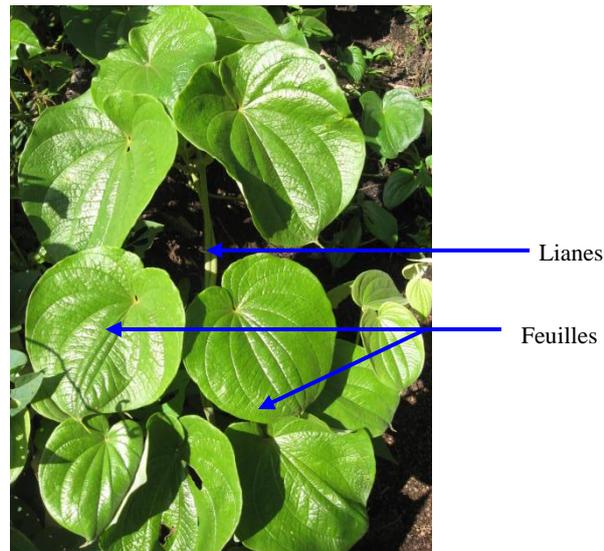


Figure 15 : Photographie de *Dioscorea preussii* (Photo prise par Fankem le 27 Mai 2011 à Batié)

I.10.2.3. Utilisation pharmacologique

Les feuilles macérées de *Dioscorea preussii* encore appelé "loug" à Baté à l'Ouest Cameroun sont utilisées comme anticonvulsant et dans les congestions nasales. Ses tubercules sont conseillés aux personnes diabétiques.

I.10.3. *Melinis minutiflora* P. Beauv. (1812)

I.10.3.1. Systématique

Règne : Plantae

Sous-Règne : Viridaeplantae

Classe : Equisetopsida

Sous-Classe : Magnoliidae

Ordre : Poales

Famille : Poaceae

Genre : *Melinis*

Espèce : *Melinis minutiflora* P. Beauv. (1812)

I.10.3.2. Description botanique

Melinis minutiflora est une plante pérenne, dressée ou ascendante qui peut atteindre jusqu'à 3 m, s'enracinant aux nœuds inférieurs. Les feuilles sont linéaires, longues de 10 à 18 cm et sont hirsutes avec des poils visqueux ; fortement odorantes. L'inflorescence est en panicule, longue de 15 à 30 cm. Les panicules peuvent être dense plus ou moins contractée,

verdâtre ou rose violacé. *Melenis minutiflora* possède des branches très fine qui présentent rarement quelques poils (Van der Zon, 1992).

Melenis minutiflora se trouve dans les savanes en altitude. L'espèce est confinée à l'Afrique tropicale et introduite ailleurs. Au Cameroun on la retrouve dans les zones soudano-guinéenne (Van der Zon, 1992).

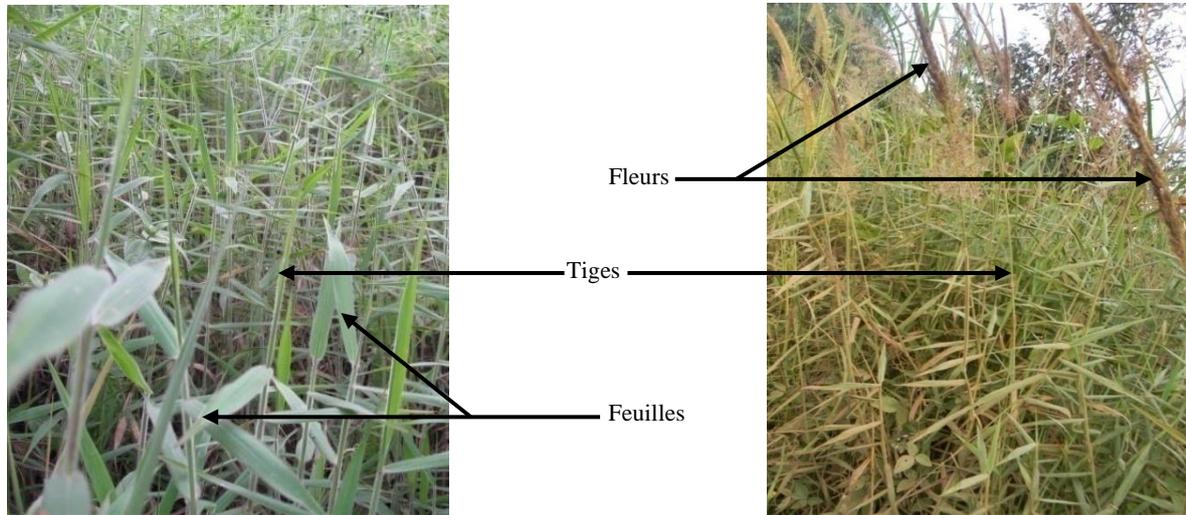


Figure 16 : Photographie de *Melenis minutiflora* (Photo prise par Fankem le 27 Mai 2011 à Batié)

I.10.3.3. Utilisation pharmacologique

Melenis minutiflora est appelé "fugzè" à Batié, "Azarndjang paba" chez les Mboum, "Ngouet" chez les Bamoun. Les feuilles macérées sont utilisées à l'Ouest Cameroun dans le traitement des diarrhées et pour traiter les enflures. L'infusion de la plante était utilisée en traditionnelle au Brésil pour le traitement des diarrhées (Watt & Breyer-Brandwijk, 1962). Par ailleurs *Melenis minutiflora* est une plante fourragère de bonne valeur et à croissance rapide et elle est un insecticide (Van der Zon, 1992).

I.10.4. *Dichrocephala integrifolia* (L. f.) Kuntze (1891)

I.10.4.1. Systématique

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae

Genre : *Dichrocephala*

Espèce : *Dichrocephala integrifolia* (L. f.) Kuntze (1891)

I.10.4.2. Description botanique

Dichrocephala integrifolia (L. f.) Kuntze est une plante annuelle de la famille des Asteraceae. *Dichrocephala integrifolia* est une herbe dressée ou ascendante de 0,8 à 1,3 m de haut, les tiges sont glabres ou pileuses, simple ou branché. Les feuilles sont larges et spatulées de 1 à 6,5 cm de long et de 1 à 4 cm de large. Les feuilles sont habituellement pétiolées, irrégulièrement dentées sur les contours et présentent des poils épars sur les deux faces. Les fleurs sont de petits capitules globuleux, verdâtre porté sur des pédoncules long et mince. Les fruits sont des akènes comprimés sans pappus (Figure 17). La propagation se fait par les semences (Pruski, 2011).

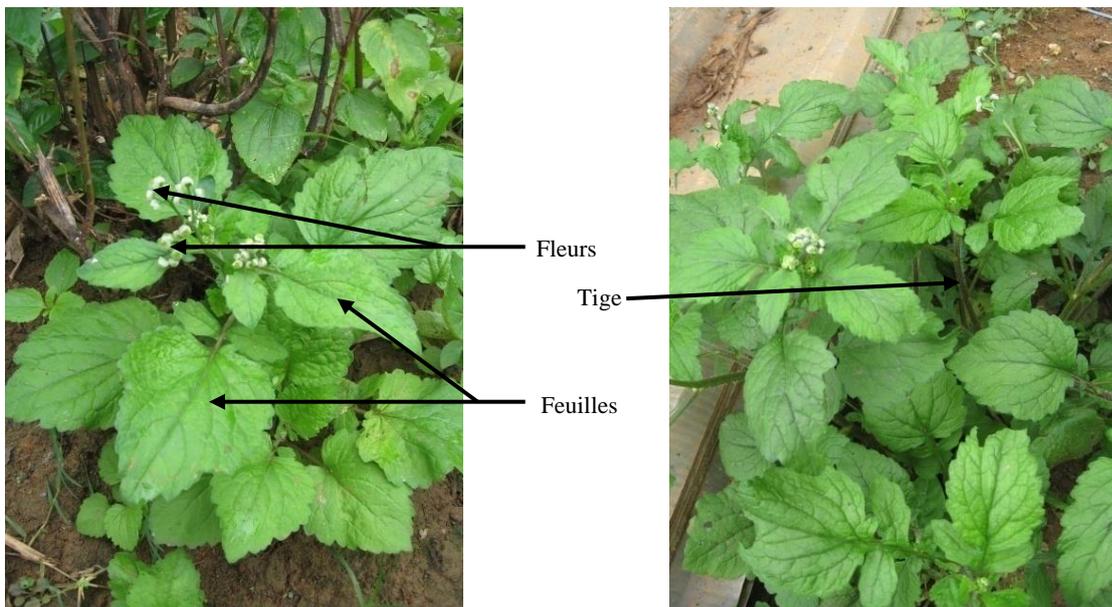


Figure 17 : Photographie de *Dichrocephala integrifolia* (Photo prise le 27 Mai 2013 à Batié)

I.10.4.3. Distribution et écologie

Dichrocephala integrifolia est une plante originaire d'Afrique, d'Asie et de la région du Pacifique Ouest et a été introduite dans certains continents comme l'Australie, Europe, et Amérique du sud. *Dichrocephala integrifolia* est l'espèce la plus commune et se distingue des deux autres espèces du genre que sont *Dichrocephala chrysanthemifolia* et *Dichrocephala benthamii* par des feuilles plus grandes et larges (Pruski, 2011).

I.10.4.4. Utilisation ethnopharmacologique

Au Cameroun, *Dichrocephala integrifolia* encore appelé "*Tchutchua ngnié*" à Batié "*Mbag api*" à Dschang et "*Ngnignada Elok*" chez les Ewondo est utilisé de manière différente selon les aires géographiques :

- Dans la région de l'Ouest, dans l'Arrondissement de Batié des tradithérapeutes l'utilisent pour le traitement des diarrhées, de l'ictère et de l'hépatite.

- Dans la région du Centre, il est utilisé pour l'extraction des dents, pour soigner les plaies et des vers intestinaux. Il est aussi utilisé dans les cas de fièvre paludéenne et instillé dans les narines pour traiter la sinusite et la migraine. Le macérât des têtes de fleurs est inhalé pour soulager la congestion nasale (Jiofack *et al.*, 2010).

- Dans la région de l'Est, *Dichrocephala integrifolia* est utilisé pour le traitement des enflures, des infections, des œdèmes chez le bétail (Agbor *et al.*, 2011).

En République Démocratique du Congo, *Dichrocephala integrifolia* est utilisé chez le bétail pour le traitement d'aveuglement, de cécité, de conjonctivite, d'affections oculaires associées, de la Peste bovine et de la maladie du charbon (Kusamba, 1998 ; Agbor *et al.*, 2011).

En Chine, cette plante médicinale est utilisée pour soigner la dyspepsie, l'indigestion, comme un antiphlogistique (anti-inflammatoire) et comme un antiémétique. A Taïwan la plante est utilisée pour favoriser la circulation sanguine, pour soigner la dysménorrhée, les entorses et contre les œdèmes.

Les extraits à l'éther de pétrole et à l'éthanol de *Dichrocephala integrifolia* auraient des propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antioxydants et anticancéreuses (Tesfaye & Chalachew, 2012 ; Loosli, 1998).

I.10.4.5. Phytochimie

L'extrait à l'éther de pétrole contiendrait les alcaloïdes, de saponines, de caroténoïdes, et de tanins alors que l'extrait à l'éther de pétrole et pendant que les phytostérols et les saponines ont été détectés dans l'extrait à l'éthanol. Les alcaloïdes ont été détectés dans les fractions à l'acétate d'éthyle, au chloroforme et à l'éther de pétrole (Tesfaye & Chalachew, 2012).

CHAPITRE II :

MATÉRIEL ET MÉTHODES

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

II.1.1.1. Animaux

Les souris blanches (mâles et femelles) pesant entre 30 et 36 g ont été utilisées pour le choix de la plante efficace et les rats albinos de souche Wistar (mâles et femelles) pesant entre 130 et 180 g ont été utilisés pour le reste des tests effectués. Ces animaux ont été élevés à l'animalerie du Laboratoire d'Endocrinologie et de Radioéléments (LER), de l'Institut de Recherches Médicales et d'études de Plantes Médicinales (IMPM). Tous les animaux recevaient *ad libitum* une alimentation composée d'un mélange de farine de maïs (60 %), de farine de blé (10 %), de farine de poisson (12 %), de farine de soja (15 %), et d'huile de palme (3 %) (Kamgang *et al.*, 2008). La température et l'éclairage étaient ceux du milieu ambiant. Lors des différents tests, les animaux ont été individualisés dans les cages métaboliques.

II.1.1.2. Microorganismes

Les souches microbiennes utilisées pour ce travail ont été obtenues au Centre Pasteur du Cameroun (CPC). Six bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Salmonella choleraesuis*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Pseudomonas aeruginosa*), deux bactéries gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*) et un champignon microscopique (*Candida albicans*), responsable des diarrhées, ont été utilisés pour les tests antimicrobiens *in vitro*. *Salmonella typhi* a été utilisée pour induire la typhoïde chez les rats.

II.1.1.3. Matériel végétal : récolte et identification des plantes

Le matériel végétal utilisé dans ce travail était constitué de *Dichrocephala integrifolia* (L.f.) O Kuntze (Asteraceae), *Dioscorea preussii* Pasc. (Dioscoraceae), *Melenis minutiflora* Beauv. (Poaceae) et *Tricalysia okelensis* Hiern. (Rubiaceae). Ces plantes ont été choisies après une investigation auprès des tradithérapeutes et des populations de l'Arrondissement de Batié à l'Ouest Cameroun.

Les plantes *Dichrocephala integrifolia* (L.f.) O Kuntze (Asteraceae), *Dioscorea preussii* Pasc. (Dioscoraceae), *Melenis minutiflora* Beauv. (Poaceae) et *Tricalysia okelensis* Hiern. (Rubiaceae) fraîches ont été récoltées en Mai 2013, dans l'Arrondissement de Batié (région de l'Ouest Cameroun). Elles ont été identifiées à l'Herbier National du Cameroun (HNC) en comparaison avec les échantillons conservés respectivement sous les numéros N° 5603/SRFcam, N° 16394/SRFcam, N° 34330/HNC, et N° 23930/ SRFcam.

II.2. Méthodes

II.2.1. Préparation des extraits des différentes plantes et des fractions de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia*

II.2.1.1. Préparation des extraits hydroéthanoliques de *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preussii*, *Tricalysia okelensis* et *Melenis minutiflora*

➤ **Choix du solvant d'extraction**

Pour une efficacité optimale de son traitement, le tradipraticien recommande la macération des tiges et des feuilles des différentes plantes dans du vin de palme pendant 48 h. Dans l'optique de se rapprocher de ce mode d'extraction, nous avons effectué une macération dans un mélange Eau / Ethanol (1v/1v).

➤ **Protocole de préparation des extraits hydroéthanoliques de *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preussii*, *Tricalysia okelensis* et de *Melenis minutiflora***

Les feuilles de *D. preussii* et de *T. okelensis* d'une part ; les parties aériennes (les tiges et les feuilles) de *D. integrifolia* et de *M. minutiflora* d'autre part, ont été séchées à l'ombre puis réduites en poudre. La poudre (600 g) de chacune des plantes a été macérée pendant 48 heures dans trois (03) litres d'un mélange Eau-Ethanol (1v/1v) puis chaque macérat a été filtré sur papier filtre Watman (N°3) et concentré à l'évaporateur rotatif. Les concentrés des extraits obtenus ont été séchés à l'étuve par la suite à une température de 45°C (Figure 18).

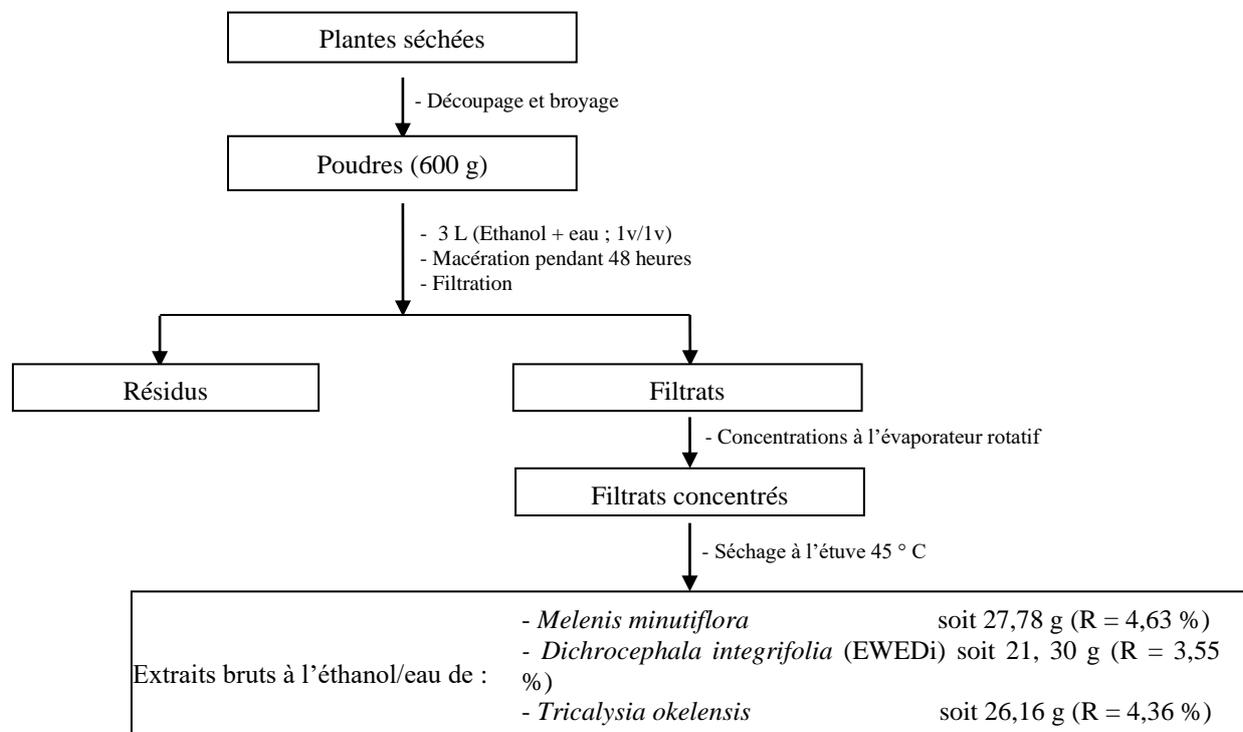


Figure 18 : Protocole de préparation des extraits hydroéthanoliques.

II.2.1.2. Préparation des extraits aqueux et éthanolique de *Dichrocephala integrifolia*

Les parties aériennes (les tiges et les feuilles) de *Dichrocephala integrifolia* ont été séchées à l'ombre, puis réduites en poudre. Six cent grammes (600 g) de poudre ont été macérés pendant 72 h séparément dans les solvants d'extraction suivants : éthanol et eau (volume de 2 L) ; Par la suite, les macérats ont été filtrés sur papier Watman N°3 et concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif. Les différents macérats concentrés ont été lyophilisés (Figure 19).

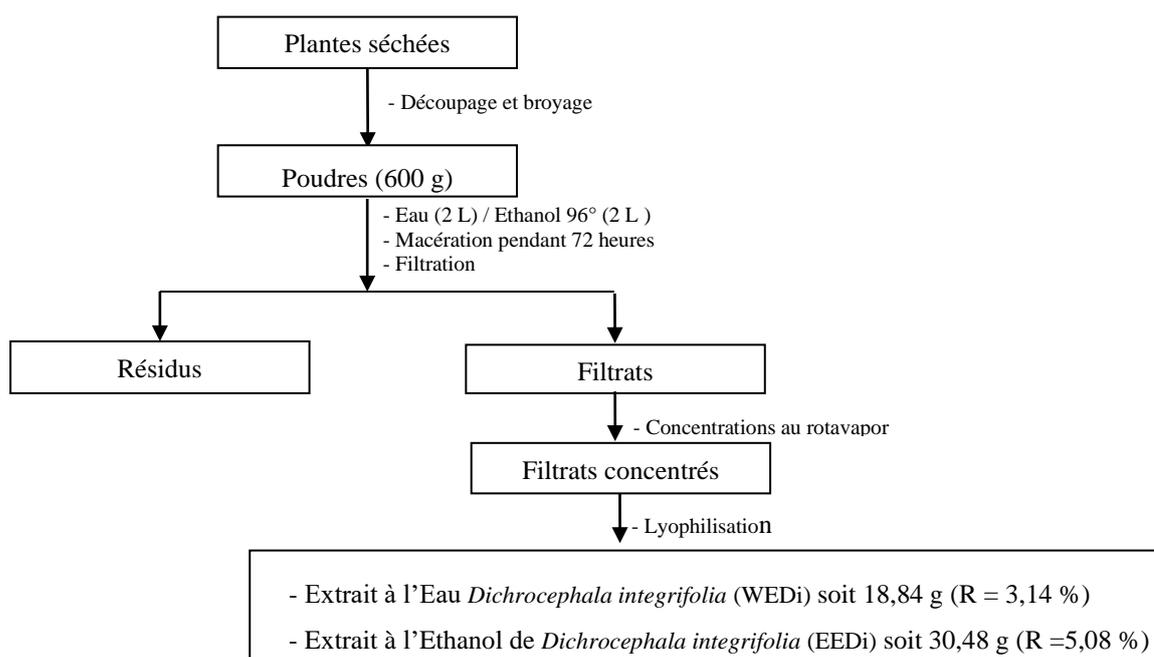


Figure 19 : Protocole de préparation des extraits de *Dichrocephala integrifolia*.

II.2.1.3. Fractionnement de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia*

➤ Choix des solvants de fractionnement

Le choix des solvants (dichlorométhane, acétate d'éthyle et éthanol) pour le fractionnement de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* a été effectué selon leur polarité de manière à produire des fractions de polarité croissante (Mtunzi *et al.*, 2017).

➤ Protocole de fractionnement de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia*

Cent soixante grammes (160 g) de poudre d'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* ont été macérés dans 1 litre de dichlorométhane puis le mélange a été placé dans un sonicateur pendant 12 heures. La solution obtenue a été filtrée et le filtrat a été concentré sous vide à l'évaporateur rotatif à une température de 40 °C et sous une pression réduite, ce qui a permis

d'obtenir 9,072 g de la fraction au dichlorométhane, soit un rendement d'extraction de 5,67 %. Le résidu obtenu a été macéré dans 1 litre d'acétate d'éthyle puis placé dans un sonicateur pendant 12 heures et le filtrat obtenu a été concentré à 55 °C pour donner 5,98 g de fraction à l'acétate d'éthyle correspondant à un rendement d'extraction de 3,74 %. Le résidu obtenu après cette deuxième phase a été macéré dans 0,5 litre d'éthanol 96 ° pendant 12 heures, le filtrat obtenu a été concentré à 45 °C et a donné 67,52 g de fraction à l'éthanol soit un rendement d'extraction de 42,20 % (Figure 20).

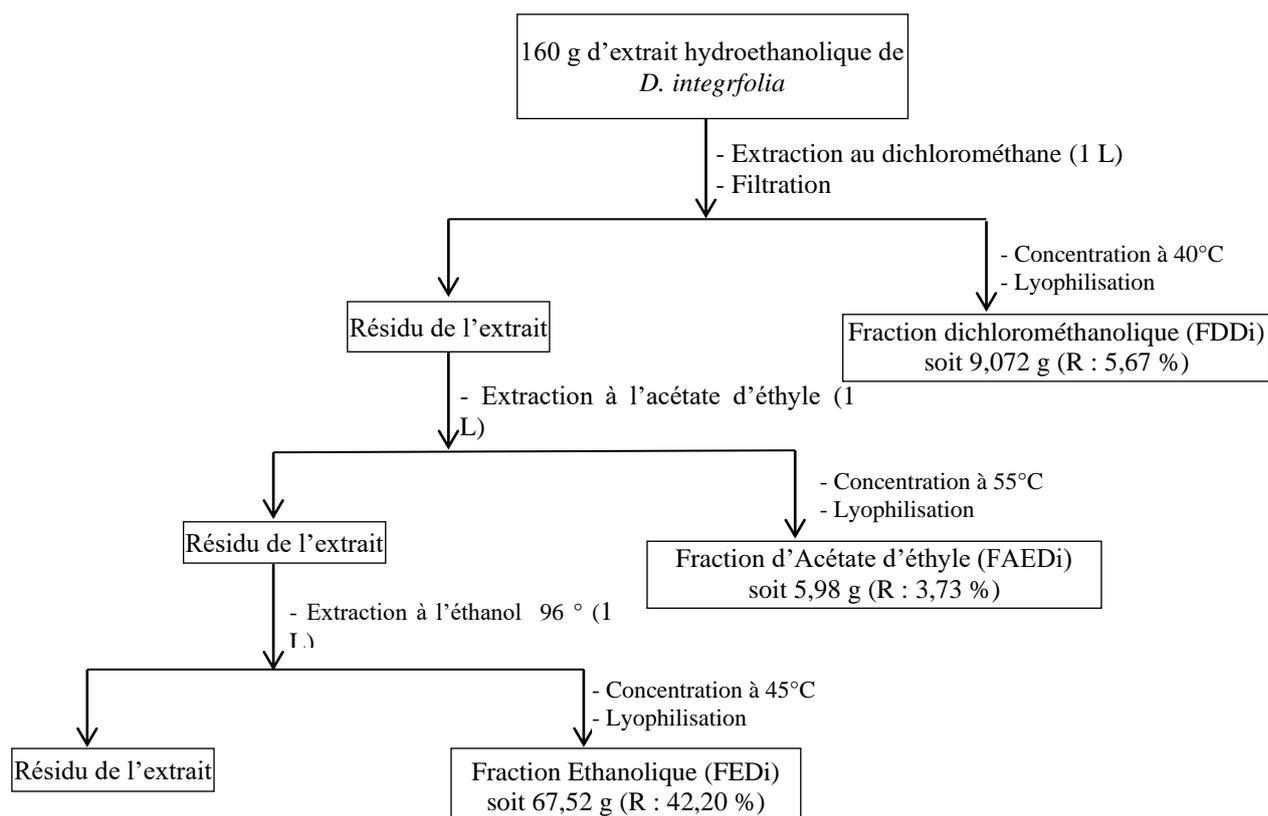


Figure 20 : Protocole de fractionnement de l'extrait hydroéthanolique (V/V) de *Dichrocephala integrifolia*

II.2.1.4. Solubilisation et préparation des solutions mères des extraits et des fractions

➤ Solubilisation et préparation des solutions mères des extraits

Les extraits hydroéthanoliques ont été solubilisés dans de l'eau distillée. Pour les tests *in vitro*, une solution mère de 200 mg/mL de chaque extrait hydroalcoolique a été préparée par dilution de 2 g de chaque extrait de plante dans un volume d'eau distillée stérile et complété à 10 mL. A partir de cette solution mère, des gammes de concentrations d'extraits ont été préparées dans des tubes à essais par dilution dans de l'eau distillée stérile.

➤ Solubilisation et préparation des solutions mères des fractions

Les fractions à l'acétate d'éthyle et à l'éthanol ont été solubilisées dans de l'eau distillée. La fraction dichlorométhanolique a été solubilisée dans une solution de DMSO (Diméthylsulfoxyde) à 3 % puis le volume a été complété à l'eau distillée

Pour les tests *in vivo*, le volume de solution d'extrait et ou de fraction d'extrait à administrer oralement aux animaux sans excéder 2 mL a été calculé par la formule ci-après :

$$V = \frac{D \times P}{C}$$

V : volume de solution à administrer (mL) ; D = dose (mg/kg) ; P = poids de l'animal (kg) ; C = concentration de la solution à administrer (mg/mL).

II.2.1.5. Choix des doses

A partir de la posologie donnée par le tradipraticien pour le traitement des diarrhées, les doses thérapeutiques (Dose Humaine Equivalente) des différents extraits hydroéthanoliques des plantes ont été déterminées. La dose à administrer à l'animal (Dose équivalente à l'animal) a été déterminée selon la formule :

$$\text{Dose animale} = \text{Dose Humaine Equivalente (DHE)} \times f$$

Soit $f = 6,20$ pour les rats et $12,3$ pour les souris (FDA, 2005).

II.2.2. Tests phytochimiques qualitatif et quantitatif

II.2.2.1. Tests phytochimiques qualitatifs

L'analyse qualitative phytochimique des extraits et des fractions a été menée suivant les méthodes colorimétriques (Trease & Evans, 1989).

➤ Huile volatile

L'extrait (1 mL) a été mélangé avec l'acide chlorhydrique dilué à 30 %. La présence d'huile volatile est indiquée par la formation d'un précipité blanc.

➤ Test des tanins

L'extrait (0,5 g) a été dissout dans 5 mL d'eau distillée et porté au Bain Marie à 70° C pendant 3 minutes. Le mélange a été ensuite filtré ; le filtrat a été additionné à 2 mL de FeCl₃ 3 %. La présence des tanins dans l'extrait est caractérisée par un précipité vert foncé.

➤ **Tests des alcaloïdes**

Cent milligrammes (100 mg) d'extrait ont été dissout dans 1 mL de solution aqueuse d'acide chlorhydrique 1 %. Après filtration de la solution, six gouttes de réactif du Dragendorff ont été ajoutées au filtrat. La présence des alcaloïdes est traduite par la coloration rouge brun.

➤ **Test des saponines**

Dans 5 mL d'eau distillée, 0,5 g d'extrait ont été dissout ; le mélange obtenu a été vigoureusement agité. La présence des saponines est indiquée par la formation d'une mousse persistante au-delà de 10 minutes.

➤ **Test des flavonoïdes**

Dans 5 mL d'une solution à 0,4 mg/mL d'extrait, 0,5 mL de HCl et de la tournure de magnésium ont été ajoutés. La présence des flavonoïdes est caractérisée par une coloration rouge.

➤ **Test des polyphénols**

Un volume de 2 mL d'une solution à 100 mg/mL d'extrait a été mélangé à 3 mL d'une solution de FeCl_3 5 %. Au mélange précédent, il a été ajouté 5 gouttes de cyanure ferrique potassique $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 5 %. La présence des polyphénols est traduite par la formation d'un précipité vert foncé.

➤ **Test des triterpènes**

Dans un tube à essai contenant 2 mL d'une solution à 10 g/mL d'extrait, nous avons également ajouté 2 mL de chloroforme, 3 mL d'anhydride acétique et 0,4 mL d'une solution d'acide sulfurique concentré. Après agitation, la présence des triterpènes dans l'extrait est caractérisée par une coloration violette.

➤ **Test des coumarines**

Dans un tube à essai contenant 10 mL d'extrait (10 g/mL), nous avons ajouté 4 mL d'éther puis 10 mL de potasse 10 %. La solution obtenue a été chauffée pendant 5 à 10 minutes puis refroidie et lavée successivement trois fois avec 2 mL d'éther. Cette solution (2 mL) est placée sous un rayonnement ultraviolet d'une lampe à UV. La présence des coumarines dans l'extrait est traduite par l'obtention d'une fluorescence.

➤ **Test des anthraquinones**

Dans un tube à essai contenant 1 mL d'extrait, ont été ajouté un volume de 3 mL d'éther puis 3 mL d'une solution d'ammoniaque 10 % ; la solution obtenue a été agitée puis laissée au repos. La présence des anthraquinones dans l'extrait est caractérisée par la présence d'une coloration rose.

➤ **Test des anthocyanidines**

L'acide chlorhydrique (15 mL) à 10 % est ajouté à 15 mg de poudre d'extrait. Après l'avoir laissé pendant 30 minutes, nous ajoutons 15 mL d'eau distillée ; la solution obtenue a été soumise à trois lavages successifs avec 6 mL d'éther chacun. La présence dans l'extrait des anthocyanidines a été caractérisée par la coloration rouge.

➤ **Test des sucres réducteurs**

Dans un tube à essai contenant 0,5 mg de poudre d'extrait, il a été ajouté 1 mL d'eau distillée puis quelques gouttes de liqueur de Fehling A et B. Après chauffage, la présence de polysaccharides est traduite par une coloration rouge brique.

➤ **Test des stérols**

Dans un tube à essai contenant 10 mg de poudre d'extrait, nous avons ajouté 4 mL d'éther puis 10 mL de potasse 10 %. La solution obtenue a été chauffée pendant 5 à 10 minutes puis refroidie et lavée trois fois successives avec 2 mL d'éther. Un demi-millilitre (0,5 mL) d'acide anhydride est ajouté à la solution obtenue après lavage puis le même volume de chloroforme a également été ajouté. La présence des stérols a été traduite par l'obtention d'une coloration rouge violette.

➤ **Test des Polysaccharides**

Nous avons introduit 5 mL d'extrait à 10 % dans un bécher de 100 mL et l'avons évaporé au bain-marie à sec. Au résidu, il a été ajouté 2 à 3 gouttes de H₂SO₄ concentré. Après 5 mn, nous avons ajouté 3 à 4 gouttes d'éthanol saturé avec du thymol. La présence de polysaccharides est révélée par le développement d'une coloration rouge.

➤ **Test des polyuronides**

Dans un tube contenant 2 mL d'acétone ont été introduits 2 mL d'extrait filtré. L'apparition d'un précipité caractérise la présence de polyuronides.

➤ **Test des acides gras**

L'extrait a été mélangé avec 5 mL d'éther. Le mélange déposé sur un papier filtre a été laissé à évaporation et séché. L'apparition d'une tache translucide sur le papier filtre indiquait la présence d'acides gras

➤ **Test des glycosides**

L'extrait a été traité avec une solution de chlorure ferrique et immergé dans de l'eau bouillante pendant environ 5 minutes. Le mélange a été refroidi et extrait avec des volumes égaux de benzène. La couche benzénique a été séparée et traitée avec une solution d'ammoniaque. La formation d'une couleur rose-rose dans la couche ammoniacale indique la présence de glycosides.

II.2.2.2. Tests phytochimiques quantitatifs

L'analyse phytochimique quantitative a été menée pour les polyphénols totaux, flavonoïdes, flavonols et tanins dans les extraits et les fractions

➤ **Polyphénols totaux**

La quantité des composés phénoliques totaux dans les extraits de *D. integrifolia* a été déterminée avec le test de Folin Ciocalteu (Deepa *et al.*, 2013). 400 µL de Na₂CO₃ 75 % (w/v) et 500 µL de Folin Ciocalteu 10 % ont été respectivement ajoutés à 100 µL de solution végétale (1 mg/mL). Le mélange a été par la suite incubé à 40°C avec agitation pendant 15 minutes. L'absorbance des échantillons a été mesurée à 765 nm par un spectrophotomètre. Les tests ont été réalisés en triplets et la teneur totale en composés phénoliques est exprimée en mg/g équivalent d'acide tannique.

➤ **Flavonoïdes totaux**

La teneur totale des extraits en flavonoïdes a été déterminée par le dosage colorimétrique en aluminium (Zintchem *et al.*, 2013). 1,5 L de méthanol, 0,1 mL de chlorure d'aluminium à 10 %, 0,1 mL de d'acétate de potassium (1 M) et 2,8 mL d'eau distillée ont été ajoutés dans un tube à essai contenant 0,5 mL d'extrait ou de fraction d'extrait (1 mg/mL). Le mélange réactionnel a été incubé à température ambiante pendant 30 minutes. Son absorbance a été mesurée à 420 nm par un spectrophotomètre. Les tests ont été réalisés en triplets et la teneur totale des extraits en flavonoïdes a été calculée en mg/g équivalent de quercétine.

➤ **Flavonols totaux**

La teneur totale des extraits en flavonols a été déterminée par un mélange réactionnel constitué de 200 µL d'extrait et 200 µL d'AlCl₃ 2 % dissous dans l'éthanol avec 300 µL de

solution d'acétate de sodium (50 g/L). Après 2 heures d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 440 nm par un spectrophotomètre (Igbinosa *et al.*, 2013). Les tests ont été réalisés en triplets et la teneur totale des extraits en flavonols a été calculée en mg/g équivalent de quercétine.

➤ **Tanins totaux**

Un volume de 20 mL de méthanol a été ajouté à 0,2 g d'extrait. L'ensemble a été énergiquement agité et placé dans un bain-marie à 80°C pendant 1 heure en vue de son uniformité. La fraction méthanolique a été filtrée dans une fiole jaugée à 100 mL suivie de l'addition de 20 mL d'eau distillée, de 2,5 mL de réactif de Folin-Denis et de 10 mL de Na₂CO₃ aqueux (17 %). Le mélange réactionnel a été ajusté à 100 mL avec de l'eau distillée et mis au repos pendant 20 minutes. La coloration bleue-verte développée à la fin de la réaction des différentes concentrations varie entre 0 et 10 ppm. Les absorbances des solutions d'acide tannique standard et de l'échantillon ont été mesurés après le développement de couleur à 720 nm par un spectrophotomètre (Tamilselvi *et al.*, 2012). Les tests ont été réalisés en triplets et les résultats sont exprimés en mg/g équivalent d'acide.

II.2.3. Détermination de l'activité antimicrobienne des différents extraits de plantes et des fractions de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia*

Pour déterminer l'activité antimicrobienne des extraits hydroéthanoliques de *D. integrifolia*, *D. preusii*, *M. munitiflora*, *T. okelensis* et des fractions de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia*, nous nous sommes proposés d'évaluer leur susceptibilité antimicrobienne sur *Escherichia coli*, *Salmonella thypi*, *Salmonella choleresuis*, *Shigella dysentériae*, *Shigella flexineri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* et *Candida albicans*. Les propriétés antibactériennes (CMI, CMB) et antifongiques (CMI, CMF) des extraits et des fractions de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* ont été déterminées grâce à la méthode de diffusion des disques, la méthode adaptée du Epsilometer-Test (AE-Test) et la méthode de la dilution en milieu gélosé.

II.2.3.1. Susceptibilité antimicrobienne des différents extraits de plantes et des fractions de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia*

Les activités antibactérienne et antifongique des extraits des plantes ont été mises en évidence séparément par la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé (Sheela & Ramani, 2011).

➤ **Repiquage des souches microbiennes**

Les souches fournies par le Centre Pasteur de Yaoundé ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à l'étuve de marque Memmert (37°C, 18 - 24 h pour les bactéries ; 25°C pendant 5 à 7 jours pour les champignons). Ceci a permis d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées pour la préparation des inocula et pour la conservation (NCCLS, 1999).

➤ **Conservation des souches**

Les différentes souches bactériennes et fongiques ont été repiquées dans des tubes de gélose de conservation en piquêre centrale et incubées à 37°C pendant 24 heures. Les tubes ont ensuite été conservés dans un réfrigérateur à $4 \pm 1^\circ \text{C}$. Les repiquages ont été réalisés tous les 15 jours (Angshumanjana *et al.*, 2016).

➤ **Préparation des inocula bactériens et fongiques**

Pour la préparation de l'inoculum, une solution étalon de 0,5 sur l'échelle de Mc Farland a été obtenue par mélange de BaCl_2 (1 %) et de $\text{H}_2 \text{SO}_4$ (1 %) : 1v/200v. L'étalon a été préparé en s'assurant que son absorbance à 625 nm était comprise entre 0,09 et 0,1. La turbidité de l'étalon a ensuite été lue à 450 nm (NCCLS, 1999).

Pour préparer l'inoculum standard bactérien, de jeunes colonies bactériennes de 24 h ont été prélevées de la surface de la gélose à l'aide d'une anse de platine et introduites dans un tube à hémolyse stérile contenant 5 mL d'eau physiologique (NaCl 9 ‰). Après homogénéisation, l'opacité de la suspension bactérienne a été ajustée au point 0,5 de l'échelle de Mc Farland par dilution et lecture de la densité optique à 450 nm, ce qui correspondait approximativement à $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. La suspension obtenue a été diluée par la suite au $1/1000^e$, pour obtenir l'inoculum standard de $1,5 \times 10^5$ UFC/mL.

Pour préparer l'inoculum standard fongique, des colonies de *Candida albicans* de 5 à 7 jours ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine et introduites dans un tube à hémolyse stérile contenant 5 mL d'eau physiologique (NaCl 9 ‰). La suspension a été ajustée à 0,5 sur l'échelle Mc Farland, puis diluée pour obtenir l'inoculum standard de $1,5 \times 10^5$ UFC/mL.

➤ **Préparation des disques et application des solutions**

Des disques ont été obtenus à partir du papier Whatman (\varnothing 6 mm ; épaisseur 1 mm), puis stérilisés à l'autoclave pendant 15 min à 121°C. Ces disques après avoir été imprégnés, chacun, de 10 μL des différentes concentrations d'extrait de plante (0,39 - 0,78 - 1,56 - 3,12 - 6,25 - 12,5 - 25 - 50 - 100 et 200 mg/mL) et des fractions de l'extrait hydroéthanolique de *D.*

integrifolia (0,05 - 0,1 - 0,2 - 0,25 - 0,5 - 1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 10 - 20 - 25 et 50 mg/mL), ont été séchés dans une étuve à 35°C pendant 24 h.

➤ Préparation des milieux et ensemencement

Les géloses Mueller Hinton (MH) et Sabouraud + chloramphénicol ont été préparées puis stérilisées à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes. Les milieux maintenus à 40°C ont été inoculés d'une suspension de microorganismes de $1,5 \times 10^5$ UFC/ mL, de manière à avoir 0,1 mL d'inoculum pour 10 mL de gélose Mueller Hinton et de gélose Sabouraud + chloramphénicol respectivement pour les bactéries et les champignons. Les mélanges bien homogénéisés ont été coulés dans les boîtes de Pétri stériles, puis laissés à solidifier à la température ambiante.

➤ Réalisation de la technique

Les disques stériles imprégnés d'extrait ont été déposés à équidistance à la surface de la gélose inoculée (Figure 21). Les boîtes de Pétri ont été retournées et pré-incubées sous la hotte pendant 1 heure, avant d'être incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 h et à 25°C pendant 48 h respectivement pour les bactéries et les champignons. Les tests ont été réalisés en triplets et l'activité antimicrobienne a été évaluée par la mesure du diamètre d'inhibition de la croissance microbienne. La mesure du diamètre d'inhibition de la croissance microbienne a été réalisée à l'aide d'un pied à coulisse électronique.

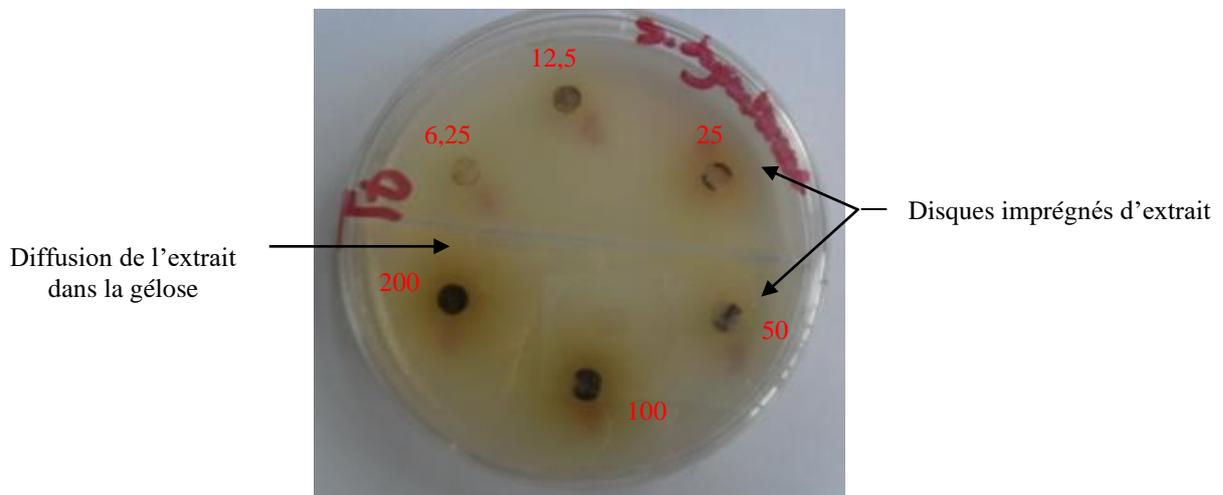


Figure 21 : Réalisation de la méthode de diffusion des disques imprégnés sur Mueller-Hinton inoculé par *Shigella dysenteriae* A1.

II.2.3.2. Détermination des propriétés antimicrobiennes : détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et de la concentration minimale bactéricide/ fongicide (CMB/CMF)

- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des différents extraits de plantes et des fractions de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia*

La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits des plantes et des fractions de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* a été réalisée suivant la méthode adaptée du Epsilometer-Test (AE-TEST) (Fokam, 2016) et celle de dilution en milieu gélosé (Akinyele *et al.*, 2011).

✓ Méthode Adaptée du Epsilometer-Test (AE-TEST)

❖ Réalisation de la technique

Dans une boîte de Petri, 0,2 mL l'inoculum bactérien ou fongique de $1,5 \times 10^5$ UFC/mL a été ensemencé dans de la gélose MH. Les différents disques de papier imprégnés sont déposés en chaîne linéaire suivant un gradient de concentration croissant à la surface de la gélose 15 minutes après ensemencement (Figure 22). Ces boîtes sont pré-incubées sous la hotte pendant 1 heure, puis incubées à l'étuve à (37°C, 18 - 24 h pour les bactéries ; 25°C, 48 h pour les champignons).

La CMI a été déterminée à partir de l'ellipse d'inhibition. La CMI étant la concentration d'extrait que contient le disque situé à la partie inférieure de l'ellipse d'inhibition.

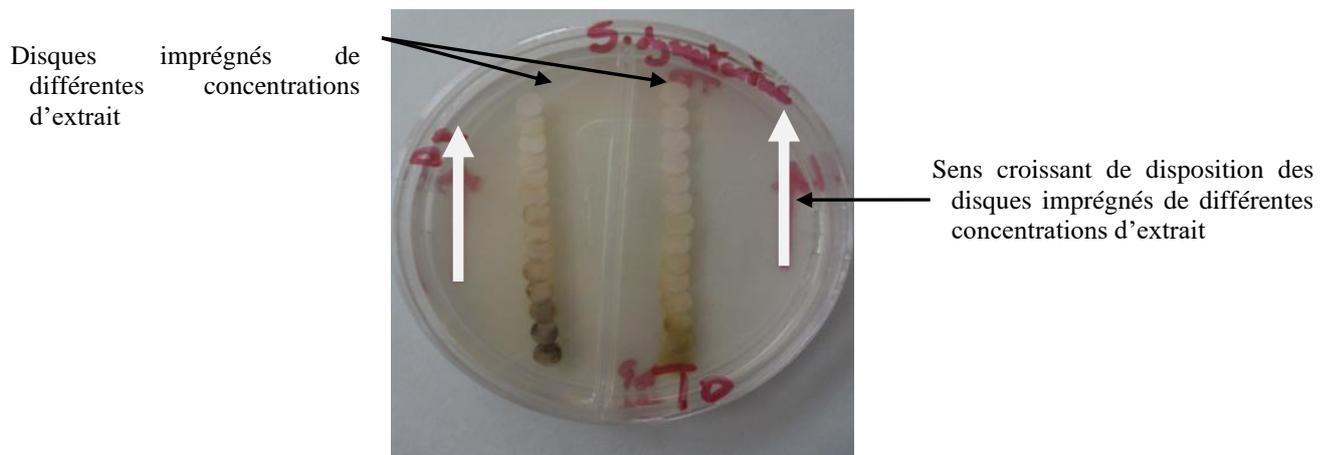


Figure 22 : Réalisation de la méthode adaptée du E-test (AE-test) avec l'extrait de *D. integrifolia* sur Mueller-Hinton inoculés de *Shigella dysentéris* A1

➤ **Méthode de dilution en milieu gélosé**

Les milieux Mueller-Hinton et Sabouraud + chloramphénicol respectivement pour les bactéries et les champignons ont été préparés et répartis dans des flacons à raison de 18 mL chacun. Ces milieux ont été stérilisés à l'autoclave pendant 15 min à 121°C. Après stérilisation des milieux, ils ont été maintenus liquide au bain marie (40°C). Une solution de 2 mL de milieu maintenue a été ajoutée dans chaque flacon, ce qui permet d'avoir une gamme de concentration finale allant de 50 mg/mL à 0,05 mg/mL (Tableau I).

Tableau I : Préparation de la gamme de concentrations des extraits de plante comprises entre 0,05 à 50,00 mg/mL pour chaque extrait par dilution de la solution mère (500 mg/mL) dans de la gélose stérile à 40°C.

Concentration de solution mère (mg/L)	0,5	1	2	2,5	5	10	20	30	40	50	100	200	250	500
Dilution	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10
Volume de la solution mère (mL)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Volume du milieu de culture (mL)	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
Volume final	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Concentration finale (mg/ L)	0,05	0,1	0,2	0,25	0,5	1	2	3	4	5	10	20	25	50

Les milieux sont coulés dans les boîtes de Pétri, laissés à solidifier sur la paille et incubés à 37°C pendant 24 heures et à 28°C pendant 48 heures respectivement pour le MH et pour Sabouraud + chloramphénicol, afin de contrôler la stérilité des préparations (Akinyele *et al.*, 2011).

Les boîtes ont étéensemencées par l'inoculum des cultures bactériennes et fongiques ajusté à $1,5 \times 10^5$ UFC/mL, ensuite incubées pendant 24 heures à 37 °C pour les bactéries et pendant 48 heures à 28 °C pour les champignons. Les boîtes de Pétri ont été ensuite examinées pour déceler la croissance des microbes. La CMI est la plus petite concentration de l'extrait ou de la fraction d'extrait qui inhibe la croissance des microorganismes testés (Akinyele *et al.*, 2011).

➤ **Détermination des Concentrations Minimales Bactéricide (CMB) et Fongicide (CMF) des différents extraits de plantes et des fractions de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia***

Des prélèvements effectués sur les boîtes n'ayant pas présentés de croissance microbienne lors de la détermination de la CMI par la méthode de dilution en milieu gélosé ont été ensemencés à la surface des milieux gélosés fraîchement préparés de Mueller-Hinton et de Sabouraud +Chloramphénicol respectivement pour les bactéries et les champignons. Ces boîtes sont incubées à 37° C pendant 24 heures pour les bactéries et à 28° C pendant 48 heures pour les champignons. La CMB est prise comme la plus petite concentration de l'extrait ou de la fraction d'extrait qui ne présente pas de croissance microbienne (Igbiosa *et al.*, 2009).

➤ **Détermination du pouvoir antimicrobien des différents extraits de plantes et des fractions de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia***

Les valeurs des CMI, CMB et des CMF ont permis de calculer les rapports CMB/CMI et CMF/CMI pour déterminer la bactériostase/bactéricidie ou la fongios-tase/fongicidie des extraits.

En effet, si $1 \leq \frac{CMB}{CMI}$ ou $\frac{CMF}{CMI} \leq 4$, l'effet est bactéricide/fongicide ; et si $\frac{CMB}{CMI}$ ou $\frac{CMF}{CMI} > 4$, l'effet est bactériostatique/fongios-tatique (Berche *et al.*, 1991 ; Loubaki *et al.*, 1999).

II.2.4. Détermination de l'activité des différents extraits de plantes et des fractions de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* sur les diarrhées motrices

II.2.4.1. Détermination de l'activité des différents extraits de plantes et des fractions de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* sur les contractions du duodénum isolé de rat

Dans l'optique d'évaluer *ex vivo* leurs effets sur l'activité contractile de l'intestin, les extraits de plantes et les fractions de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* ont été testés sur l'activité contractile du fragment isolé du duodénum de rat.

➤ **Dispositif d'enregistrement**

L'activité contractile du duodénum de rat a été mesurée à l'aide d'un appareil constitué de trois parties essentielles (Figure 23) :

- Une unité de commande de type Ugo BASILE, comprenant trois interrupteurs (1) qui servent respectivement à alimenter l'appareil en énergie, à chauffer et à régler la température

du bain marie (2) à 37 °C grâce à une enceinte thermostatée. L'unité de commande contient également une cuve à organe isolé (3) possédant sur sa paroi un crochet permettant de fixer la préparation. La cuve à volume constant (20 ml) est munie de deux ouvertures, l'une servant à la vidange et l'autre permettant de la ravitailler en solution de Tyrode par l'intermédiaire d'une turbine spiralée. La préparation est oxygénée constamment par un bulleur (4). L'air passe au préalable dans deux bocaux (5) de soude qui absorbent le CO₂.

- Un système d'enregistrement, constitué par un système d'acquisition (6), le BIOPAC de type MP 35, muni d'un transducteur isométrique (7). Il a pour rôle de transformer les contractions mécaniques du muscle lisse en signaux électriques.

- Un ordinateur (8) muni du logiciel Biopac Student Lab qui est connecté au système

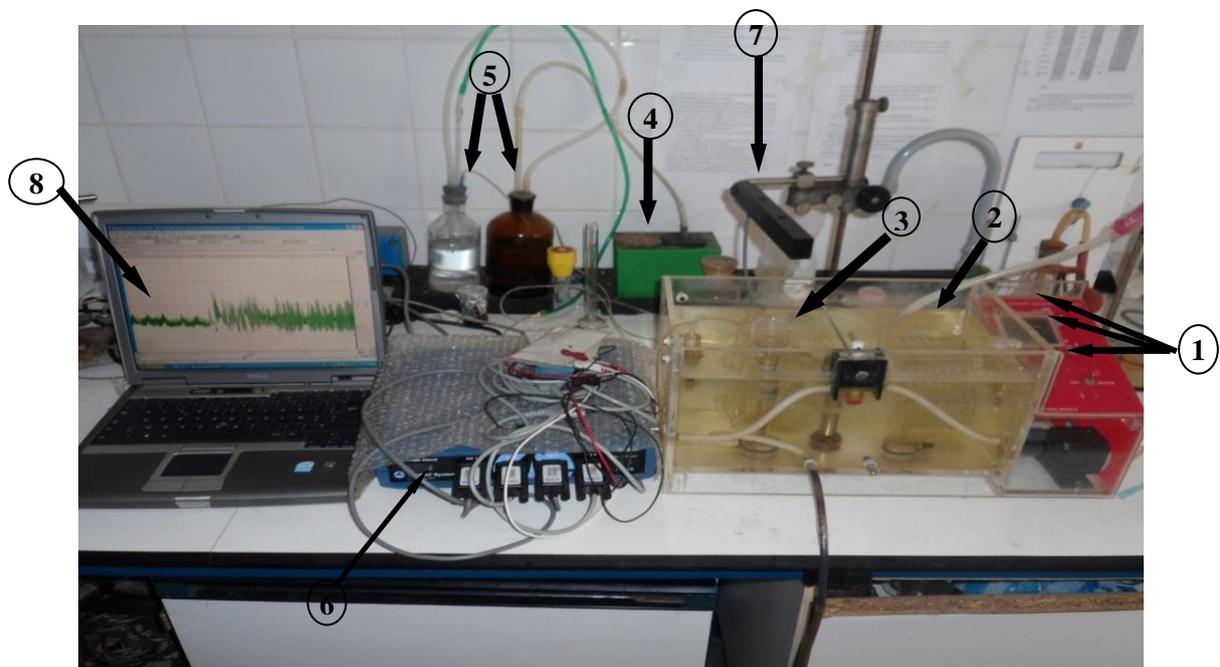


Figure 23 : Dispositif d'enregistrement des contractions.

1 : interrupteurs ; 2 : bain-marie ; 3 : cuve à organe ; 4 : pompe à air ; 5 : bocaux de soude ; 6 : système d'acquisition (BIOPAC MP 35) ; 7 : transducteur ; 8 : ordinateur.

➤ **Préparation et montage de l'organe**

Après 24 heures de jeun, l'animal a été sacrifié par dislocation cervicale. Une incision abdominale a été pratiquée afin de localiser le duodénum. Deux à trois fragments du duodénum de 2 cm de longueur ont été isolés, débarrassés du tissu conjonctif et mésentère et placés en attente dans la solution physiologique de Tyrode convenablement oxygénée (95 % O₂ ; 5 % CO₂). Cette solution physiologique est maintenue à 37 °C grâce à un bain thermostaté. Un fil noué en boucle est placé sur l'extrémité distale du fragment de duodénum et fixé à un support fixe (crochet) situé au fond de la cuve à organe isolé et l'autre sur l'extrémité proximale est fixé au transducteur isométrique connecté au système d'acquisition,

BIOPAC MP 35. La cuve à organe isolé contient une solution de Tyrode maintenue à 37 °C et convenablement oxygénée (95 % O₂ ; 5 % CO₂).

Une fois l'organe monté dans la cuve, chaque fragment d'organe a été équilibré pendant au moins 1 h et une tension initiale de 1 gramme force (g.F) a été appliquée à l'organe afin de permettre au transducteur de déceler les moindres variations de l'activité contractile du fragment. Pendant la période d'équilibration, la solution de Tyrode a été renouvelée toutes les 15 minutes.

➤ **Détermination de l'activité des différents extraits de plantes et des fractions de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* sur les contractions spontanées du duodénum isolé de rat**

A l'équilibre, les contractions spontanées des fragments du duodénum de rat ont été enregistrées. Ensuite des concentrations croissantes (0,005 - 0,01 - 0,05 - 0,1 - 0,5 et 1 mg/mL) des extraits et des fractions d'extrait ont été testées en administration cumulée et leurs effets sur les contractions spontanées du duodénum ont été enregistrés pendant une période de 5 minutes. Chaque série d'expériences était répétée 5 fois (Puspitasar *et al.*, 2012).

➤ **Détermination de l'activité de la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* sur les contractions du duodénum induites par l'acétylcholine, le KCl et le BaCl₂**

Après équilibration, les contractions du duodénum ont été induites par administration des concentrations uniques de KCl (50 mM), d'Acétylcholine (10⁻⁹ M) et de BaCl₂ (10⁻⁴ M). Les contractions ont été enregistrées. Dans un second temps, l'organe contracté a été traité avec des concentrations croissantes (0,005 - 0,01 - 0,05 - 0,1 et 0,5 mg/mL) de la FDDi. Les courbes concentration - réponse en présence de la fraction ont été enregistrées et comparées aux précédentes. Chaque série d'expériences était répétée 5 fois.

L'inhibition de l'amplitude de contraction a été calculée par la formule :

$$\% IA = \frac{AR - AI}{AR} \times 100 \text{ (Puspitasar } et al., 2012)$$

Où % IA : Pourcentage d'inhibition de l'amplitude, AR : Amplitude de référence ; AI : Amplitude après inhibition.

L'inhibition du tonus de contraction a été calculée par la formule :

$$\% IT = \frac{TR - TI}{TR} \times 100 \text{ (Puspitasar } et al., 2012)$$

Où % IT : Inhibition du tonus, TR : Tonus de référence, TI : Tonus après inhibition.

La Concentration Inhibitrice 50 (IC50) et la Concentration Excitatrice 50 (EC50)

$$Y = \text{min} + \left(\frac{\text{max} - \text{min}}{1 + 10^{((X - \log IC_{50}) \times \text{Hill slope})}} \right)$$

Dans l'équation GraphPad Prism®, les valeurs de concentration transformées en log et les données d'effet ont été ajustées à une équation logistique à quatre paramètres. Les données d'origine, % de contrôle ou % d'inhibition sont représentées par **Y** avec leurs valeurs minimales (min) et maximales (max). La concentration d'inhibiteur est représentée par **X** ; **IC50** est la concentration à 50 % de la valeur maximale et **Hill Slope** est le facteur de pente.

II.2.4.2. Détermination l'activité des différents extraits de plantes et des fractions de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* sur l'accélération du transit intestinal induite par l'huile de ricin

Dans l'optique de déterminer l'activité des différents extraits de plantes et des fractions de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* sur les diarrhées motrices, l'accélération du transit intestinal a été induite par l'huile de ricin chez les animaux (souris et rat) à jeun (18 heures) ayant accès *ad libitum* à l'eau (Ezeigbo *et al.*, 2012).

Ces animaux ont été répartis en 28 groupes de 5 animaux chacun et trente minutes (30 min) après administration de 1 mL d'huile de ricin, chaque animal a reçu *per os* :

- groupe 1 : 1 mL d'eau distillée (10 mL/kg) ;
- groupe 2 : 5 mg/kg de Lopéramide ;
- groupes 3 et 4 : 50 mg /kg et 100 mg /kg d'extrait à l'éthanol/eau de *D. integrifolia* ;
- groupes 5 et 6 : 50 mg /kg et 100 mg /kg d'extrait à l'éthanol/eau de *D. preussii* ;
- groupes 7 et 8 : 50 mg /kg et 100 mg /kg d'extrait à l'éthanol/eau de *T. okelensis* ;
- groupes 9 et 10 : 75 mg /kg et 150 mg /kg de P.C d'extrait de *M. minutiflora* ;
- groupes 11, 12 et 13 ont reçu respectivement 25 mg/kg (WEDi25), 50 mg/kg (WEDi50) et 100 mg/kg (WEDi100) de l'extrait aqueux de *D. integrifolia* ;
- groupes 14, 15 et 16 ont reçu respectivement 25 mg/kg (EWEDi25), 50 mg/kg (EWEDi50) et 100 mg/kg (EWEDi100) de l'extrait à l'éthanol/eau de *D. integrifolia* ;
- groupes 17, 18 et 19 ont reçu respectivement 25 mg/kg (EEDi25), 50 mg/kg (EEDi50) et 100 mg/kg (EEDi100) de l'extrait à l'éthanol de *D. integrifolia* ;
- groupes 20, 21 et 22 ont reçu respectivement 12,5 mg/kg (FEDi12), 25 mg/kg (FEDi25) et 50 mg/kg (FEDi50) de la fraction à l'éthanol de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* ;

- groupes 23, 24 et 25 ont reçu respectivement 12,5 mg/kg (FAEDi12), 25 mg/kg (FAEDi25) et 50 mg/kg (FAEDi50) de la fraction à l'acétate éthylique de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* ;

- groupes 26, 27 et 28 ont reçu respectivement 12,5 mg/kg (FDDi12), 25 mg/kg (FDDi25) et 50 mg/kg (FDDi50) de la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia*.

Trente minutes (30 min) après l'administration des différents traitements, chaque rat a reçu *per os* 1 mL de solution de charbon (10 % de charbon activé dans 5 % de gomme). Trente minutes (30 min) après administration la solution de charbon, les rats ont été sacrifiées par dislocation cervicale ; l'intestin a été retiré et allongé. La distance parcourue par le charbon a été mesurée. La propulsion intestinale a été calculée suivant la formule de Karim *et al.* (2010) :

$$\% \text{ Propulsion intestinale} = \frac{\text{LONGUEUR PARCOURUE PAR LE CHARBON}}{\text{LONGUEUR TOTALE DE L'INTESTIN GRELE}} \times 100$$

Le pourcentage d'inhibition (% Inhibition) comparé au groupe contrôle a été déterminé par la formule suivante de Karim *et al.* (2010) :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{propulsion intestinale (CONTROLE)} - \text{propulsion intestinale (TEST)}}{\text{propulsion intestinale (CONTROLE)}} \times 100$$

II.2.4.3. Détermination des effets de la yohimbine, du glibenclamide, de l'atropine et du naloxone sur l'activité de la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique *Dichrocephala integrifolia* de sur l'accélération du transit intestinal induite par l'huile de ricin

Afin de déterminer les mécanismes d'action de la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* sur les diarrhées motrices, l'accélération du transit intestinal a été induite par l'administration d'huile de ricin chez le rat (Paredes *et al.*, 2016).

Les rats ont été mis à jeun pendant 18 heures avec accès libre à l'eau, puis répartis en 10 groupes comportant 5 animaux chacun. Quinze minutes (15 min) avant l'administration de l'huile de ricin, les animaux à l'exception des groupes 1 (témoin normal) et 2 (témoin traitement) ont reçu par voie intrapéritonéale :

- Groupes 3 et 4 : 1 mg/kg yohimbine ;
- Groupes 5 et 6 : 10 mg/kg de Naloxone ;
- Groupes 7 et 8 : 0,25 mg/kg d'atropine ;
- Groupes 9 et 10 : 50 mg/kg de glibenclamide.

Quinze minutes (15 min) après l'administration de l'huile de ricin, les rats du groupe 1 ont reçu l'eau distillée 10 mL/kg et ceux des groupes 4, 6, 8 et 10 ont reçu 50 mg/kg (FDDi50) de la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia*. Trente minutes (30 min) après l'administration du traitement, chaque rat a reçu *per os* 1 mL de solution de charbon (10 % de charbon activé dans 5 % de gomme). Trente minutes (30 min) après le charbon, les rats ont été sacrifiés par dislocation cervicale ; l'intestin a été retiré et allongé. La distance parcourue par le charbon a été mesurée. La propulsion intestinale a été calculée suivant la formule de Karim *et al.* (2010) :

$$\% \text{ Propulsion intestinale} = \frac{\text{LONGUEUR PARCOURUE PAR LE CHARBON}}{\text{LONGUEUR TOTALE DE L'INTESTIN GRELE}} \times 100$$

Le pourcentage d'inhibition (% Inhibition) comparé au groupe control a été déterminé par la formule suivante (Bakare *et al.*, 2011) :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{propulsion intestinale (CONTROLE)} - \text{propulsion intestinale (TEST)}}{\text{propulsion intestinale (CONTROLE)}} \times 100$$

II.2.5. Détermination des effets des différents extraits de plantes et des fractions de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* sur les diarrhées sécrétoires

II.2.5.1. Détermination des effets des extraits de plantes et des fractions de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* sur la fréquence, la quantité, la masse en eau et le temps d'apparition des premières fèces diarrhéiques

Afin d'évaluer leurs effets sur certains paramètres des diarrhées sécrétoires, les extraits de plantes et des fractions de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* ont été testés sur un modèle de diarrhée sécrétoire induit par administration orale d'huile de ricin (Yakubu *et al.*, 2012).

Les rats ont été mis à jeun pendant 18 heures, avec accès libre à l'eau, puis répartis en 20 groupes de 5 animaux chacun. Chaque animal a été placé dans une cage dont le plancher a été garni de papier filtre préalablement pesé. Trente minutes (30 min) après l'administration de 1 mL d'huile de ricin, chaque rat a reçu *per os* :

- groupe 1 (Témoin négatif) : 1 mL d'eau distillée (10 mL/kg PC) ;
- groupe 2 : du Loperamide (5 mg/kg) ;
- groupes 3, 4 et 5 : respectivement 25 mg/kg (WEDi25), 50 mg/kg (WEDi50) et 100 mg/kg (WEDi100) de l'extrait aqueux de *D. integrifolia* ;

- groupes 6, 7 et 8 : respectivement 25 mg/kg (EWEDi25), 50 mg/kg (EWEDi50) et 100 mg/kg (EWEDi100) de l'extrait à l'éthanol/eau de *D. integrifolia* ;

- groupes 9, 10 et 11 : respectivement 25 mg/kg (EEDi25), 50 mg/kg (EEDi50) et 100 mg/kg (EEDi100) de l'extrait à l'éthanol.

- groupes 12, 13 et 14 : respectivement 12,5 mg/kg (FEDi12), 25 mg/kg (FEDi25) et 50 mg/kg (FEDi50) de la fraction à l'éthanol de *D. integrifolia* ;

- groupes 15, 16 et 17 : respectivement 12,5 mg/kg (FAEDi12), 25 mg/kg (FAEDi25) et 50 mg/kg (FAEDi50) de la fraction à l'acétate éthylique de *D. integrifolia* ;

- groupes 18, 19 et 20 : respectivement 12,5 mg/kg (FDDi12), 25 mg/kg (FDDi25) et 50 mg/kg (FDDi50) de la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia*.

La sévérité de la diarrhée a été évaluée chaque heure pendant une période de 4 heures ; le nombre de fèces totales, le nombre de fèces diarrhéiques, le poids total de fèces excrétés et le temps d'apparition des premières fèces diarrhéiques ont été estimés et comparés aux groupes témoins. Ces données ont permis de calculer :

- la fréquence des selles diarrhéiques (FSD) suivant la formule (Yakubu *et al.*, 2012) :

$$FSD = \frac{\text{Nombre de fèces totales}}{\text{Temps d'experimentation}}$$

D'où FSD : Fréquence des selles diarrhéiques ;

- la masse en eau des fèces diarrhéiques

$$ME = \text{Masse des fèces fraîches} - \text{Masse des fèces sèches} ;$$

- le pourcentage d'inhibition de la défécation diarrhéique dans chaque groupe suivant la formule (Yakubu *et al.*, 2012) :

$$\% I = \frac{NFDT - NFDE}{NFDT} \times 100$$

D'où % I : Pourcentage d'inhibition ; NFDT : fèces diarrhéiques du groupe témoin ; NFDE : fèces diarrhéiques du groupe Essai.

- le pourcentage des émissions fécales dans chaque groupe suivant la formule (Yakubu *et al.*, 2012):

$$\% EF = \frac{PFE}{PFT} \times 100$$

D'où % EF : pourcentage d'émission fécale ; PFE : Poids moyen des fèces de chaque groupe essai (g) ; PFT : Poids moyen des fèces du groupe témoin (g).

II.2.5.2. Détermination l'activité des différents extraits de plantes et des fractions de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* sur l'accumulation de liquide intraluminal

Dans l'optique de déterminer l'activité des différents extraits de plantes et des fractions de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* sur la masse et le volume du contenu intraluminal, la diarrhée sécrétoire a été induite par administration de l'huile de ricin (Islam *et al.*, 2013).

Les rats ont été mis à jeun pendant 18 heures avec accès à l'eau, puis répartis-en 11 groupes de 5 rats chacun. Trente minutes (30 min) après l'administration de 1 mL d'huile de ricin, chaque rat a reçu *per os* :

- groupe 1 (Témoin négatif) : 1 mL d'eau distillée (10 mL/kg) ;
- groupe 2 : du Lopéramide (5 mg/kg) ;
- groupes 3, 4 et 5 : respectivement 25 mg/kg (WEDi25), 50 mg/kg (WEDi50) et 100 mg/kg (WEDi100) de l'extrait aqueux de *D. integrifolia* ;
- groupes 6, 7 et 8 : respectivement 25 mg/kg (EWEDi25), 50 mg/kg (EWEDi50) et 100 mg/kg (EWEDi100) de l'extrait à l'éthanol/eau de *D. integrifolia* ;
- groupes 9, 10 et 11 : respectivement 25 mg/kg (EEDi25), 50 mg/kg (EEDi50) et 100 mg/kg (EEDi100) de l'extrait à l'éthanol de *D. integrifolia*.
- groupes 12, 13 et 14 : respectivement 12,5 mg/kg (FEDi12), 25 mg/kg (FEDi25) et 50 mg/kg (FEDi50) de la fraction à l'éthanol de *D. integrifolia* ;
- groupes 15, 16 et 17 : respectivement 12,5 mg/kg (FAEDi12), 25 mg/kg (FAEDi25) et 50 mg/kg (FAEDi50) de la fraction à l'acétate éthylique de *D. integrifolia* ;
- groupes 18, 19 et 20 : respectivement 12,5 mg/kg (FDDi12), 25 mg/kg (FDDi25) et 50 mg/kg (FDDi50) de la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia*.

Trente minutes (30 min) après l'administration de l'huile de ricin, les rats ont été sacrifiés par dislocation cervicale ; pour chaque rat l'intestin a été retiré, les extrémités pyloriques et de la jonction iléo-cæcale ont été ligaturées avec du fil puis l'intestin a été pesé. Le contenu intestinal a été vidé dans une éprouvette graduée et le volume de liquide intraluminal enregistré. L'intestin a été repesé et les différents pourcentages d'inhibition ont été calculés selon les formules suivantes (Islam *et al.*, 2013) :

$$\% \text{ IV} = \frac{\text{VMCIT} - \text{VMCIE}}{\text{VMCIT}} \times 100$$

D'où % IV : Pourcentage d'inhibition du volume du contenu intestinal ; VMCIT : Volume moyen du contenu intestinal du groupe témoin ; VMCIE : Volume moyen du contenu intestinal du groupe essai

$$\% \text{ IP} = \frac{\text{PMCIT} - \text{PMCIE}}{\text{PMCIT}} \times 100$$

D'où % IP : Pourcentage d'inhibition du poids du contenu intestinal ; PMCIT : Poids moyen du contenu intestinal du groupe témoin ; PMCIE : Poids moyen du contenu intestinal du groupe essai.

II.2.5.3. Evaluation des effets de la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* sur les diarrhées sécrétoires induites par la prostaglandine E2

Dans le but de déterminer le mécanisme d'action antisécrétoire de la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia*, la diarrhée sécrétoire a été induite par l'administration orale de prostaglandine E2 (Yakubu *et al.*, 2012).

Les rats ont été mis à jeun pendant 18 heures, avec accès à l'eau, avant le début de l'expérience puis répartis-en 5 groupes de 5 animaux chacun. Chaque animal a été placé dans une cage dont le plancher a été garni de papier filtre.

Chaque rat a reçu *per os* un traitement selon son groupe : groupe 1 (Témoin négatif) : 1 mL d'eau distillée (10 mL/kg) ; groupe 2 : du Lopéramide (5 mg/kg) ; groupes 3, 4 et 5 : respectivement 12,5 mg/kg (FDDi12), 25 mg/kg (FDDi25), 50 mg/kg (FDDi50) de la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia*. Trente minutes (30 min) après l'administration de la prostaglandine E2, les rats ont été sacrifiés par dislocation cervicale ; pour chaque rat l'intestin a été retiré, les extrémités pyloriques et de la jonction iléo-cæcale ont été ligaturées avec du fil. Le contenu intestinal a été vidé dans une éprouvette graduée et le volume de liquide intraluminal enregistré. Le pourcentage d'inhibition du volume du contenu intestinal a été calculé selon la formule suivante (Yakubu *et al.*, 2012) :

$$\% \text{ IV} = \frac{\text{VMCIT} - \text{VMCIE}}{\text{VMCIT}} \times 100$$

% IV : Pourcentage d'inhibition du volume du contenu intestinal ; VMCIT : Volume moyen du contenu intestinal du groupe témoin ; VMCIE : Volume moyen du contenu intestinal du groupe essai

II.2.6. Evaluation des effets de la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* sur la fièvre typhoïde induite chez le rat

Dans l'optique de confirmer les effets antisalmonelles obtenus *in vitro* et de déterminer les propriétés de la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* sur un modèle diarrhée infectieuse, la fièvre typhoïde a été induite chez le rat par inoculation de *Salmonella typhi* (Jang- Gi *et al.*, 2011).

II.2.6.1. Induction

Avant l'expérimentation, pour se rassurer de l'absence d'infection à salmonelle, 0,5 g de fèces a été prélevé chez les animaux par curetage rectal à l'aide d'un abaisse langue et a été dilué dans 4,5 mL d'eau physiologique stérile ensuite ensemencé sur milieu « SS », enfin incubé pendant 24 heures à 37°C à l'étuve. Les animaux présentant une culture des fèces positive ont été exclus de l'expérimentation.

Chaque rat, exceptés ceux du groupe témoin normal (TN) qui étaient non infectés et non traités, a reçu *per os*, à l'aide d'une sonde œsophagienne, 1 mL d'une suspension de $1,5 \times 10^8$ UFC de *S. typhi* diluée dans du NaCl 9 ‰.

II.2.6.2. Traitement

Cinq (05) jours après l'induction, les rats ont été subdivisés en six (6) groupes de cinq (5) rats chacun (isolés dans une cage métabolique) :

- les rats du groupe 1 ou témoin normal (TN) n'ont pas été infectés et ont reçu oralement 1 mL d'eau distillée (10 mL/kg) ;
- les rats du groupe 2 ou témoin salmonelle (TD) ont été infectés et ont reçu de l'eau distillée (10 mL/kg),
- les rats du groupe 3 ou témoin positif (Cip) ont été infectés et ont reçu de la ciprofloxacine (5 mg/kg),

Les rats des groupes 4, 5 et 6 ont été infectés et ont reçu respectivement 25 mg/kg (FDDi25), 50 mg/kg (FDDi50) et 100 mg/kg (FDDi100) de la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia*. Les rats ont ainsi été traités tous les jours à la même heure pendant seize jours.

Pour la détermination de la densité de *S. typhi*, des échantillons de fèces ont été collectés tous les jours après inoculation de *S. typhi*. Des aliquotes de 100 µL de suspension de fèces ont été dilués dans du NaCl 9 ‰ et ensemencés en doublets dans de la gélose SS (Salmonella-Shigella) qui a été incubée pendant 24 h à 37°C ; les colonies typiques ont été

comptées et le nombre de bactéries par gramme de fèces a été déterminé. La température rectale, la fréquence d'émission des fèces, la prise alimentaire et hydrique de chaque rat ont été enregistrées tous les jours.

Seize jours après le début du traitement, les rats ont été sacrifiés. Le sang, l'intestin, le foie, les reins et la rate ont été prélevés. Une partie du sang a été prélevée dans des tubes à EDTA pour les analyses hématologiques (Taux de globules blancs, de globules rouges, hématocrite, hémoglobine...) et l'autre partie a été prélevée dans des tubes à hémolyse secs pour le dosage des paramètres du stress oxydant. Les organes (foie, rein, cœur et rate) ont été prélevés, rincés dans une solution physiologique de NaCl 9 ‰ et pesés. Une partie des organes prélevés (intestin, foie et rein) a été utilisée pour les coupes histologiques et l'autre partie a été pesée et 0,20 g de chaque organe a été transféré dans un mortier dans lequel 1 mL de Tris-HCl 50 mM a été ajouté pour l'intestin, le foie et le rein. Après broyage dans ce mortier sur un bac de glace, les homogénats (20 %) obtenus ont été centrifugés à 3000 tours par minute pendant 20 minutes à 4 °C (Yakubu *et al.*, 2012). Le surnageant recueilli a été conservé au congélateur à - 20 °C pour la détermination de certains paramètres biochimiques. Le poids relatif des organes a été calculé selon la formule suivante (Jang- Gi *et al.*, 2011) :

$$\text{Poids relatif (\%)} = \frac{\text{Poids de l'organe (g)}}{\text{Poids de l'animal (g)}} \times 100$$

II.2.6.3. Analyses biochimiques et dosage de quelques marqueurs du stress oxydant

➤ Analyses biochimiques

Au terme du traitement, les fonctions rénale et hépatique ont été explorées par le dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT), de l'aspartate aminotransférase (ASAT) et de la créatinine sérique

✓ Dosage de l'Alanine Aminotransférase (ALAT) et de l'Aspartate Aminotransférase (ASAT)

L'alanine aminotransférase et Aspartate Aminotransférase sont dosées par la méthode cinétique à l'aide du kit « Fortress diagnostics, ALT (GPT) et ASAT (GOT) ».

- Principe

Les transaminases (Aspartate Aminotransférase (ASAT) et Alanine Aminotransférase (ALAT)) catalysent respectivement les réactions suivantes :



L'ALAT et l'ASAT catalysent le transfert du groupement aminé respectivement de l'alanine sur l' α -cétoglutarate pour former le pyruvate et le glutamate, et de l'aspartate vers l' α -cétoglutarate pour former l'oxaloacétate et le glutamate. Le pyruvate d'oxaloacétate formé réagit avec le 2,4-dinitrophenylhydrazil (DNPH) pour donner le complexe pyruvate hydrazone ou oxaloacétate hydrazone marron qui absorbe en présence du NaOH à 505 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de pyruvate ou de l'oxaloacétate dans le milieu, c'est-à-dire reliée à l'activité de l'ALAT ou de l'ASAT.

- Mode opératoire

La détermination de l'activité des transaminases a été réalisée en utilisant le kit Fortress, UK. Le dosage de l'ALAT et de l'ASAT dans les différents échantillons a respectivement été effectué en remplissant les tubes suivant le protocole décrit dans le tableau II. La soude 4 mol/L fournie dans le kit a été diluée en mélangeant 1 mL de cette solution avec 4 mL d'eau distillée. La solution de soude ainsi obtenue (0,8 mol/L) a été utilisée pour arrêter la réaction.

Tableau II : Protocole de dosage de l'ASAT et de l'ALAT

	Blanc	Volumes
Echantillon	-	100 μ L
Tampon (ASAT ou ALAT)	500 μ L	500 μ L
Eau distillée	100 μ L	-
Les tubes blancs et échantillons ont été bien homogénéisés et incubés pendant 30 minutes dans un bain-marie à 37 °C		
Réactif Dye (ASAT ou ALAT)	500 μ L	500 μ L
Une fois le réactif introduit, les différents tubes ont été homogénéisés et incubés pendant 20 minutes à température ambiante		
NaOH dilué	5000 μ L	5000 μ L
Les tubes ont été homogénéisés et l'absorbance a été lue au spectrophotomètre (de type Genesys 20) contre le blanc réactif à 500 nm après 5 minutes		

Les courbes d'étalonnage (Figure 24 A et B) pour déterminer l'activité de l'ASAT et celle de l'ALAT ont été obtenues en remplissant les tubes par des réactifs dans l'ordre indiqué dans le tableau III.

Tableau III : Technique de réalisation des courbes d'étalonnage pour le dosage de l'ASAT et de l'ALAT

Numéro des tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Unité ASAT (en U/L de sérum)	9	18	27	37	46	56	67	77	87	9
Unité ALAT (en U/L de sérum)	9	18	27	37	46	56	67	77	87	9

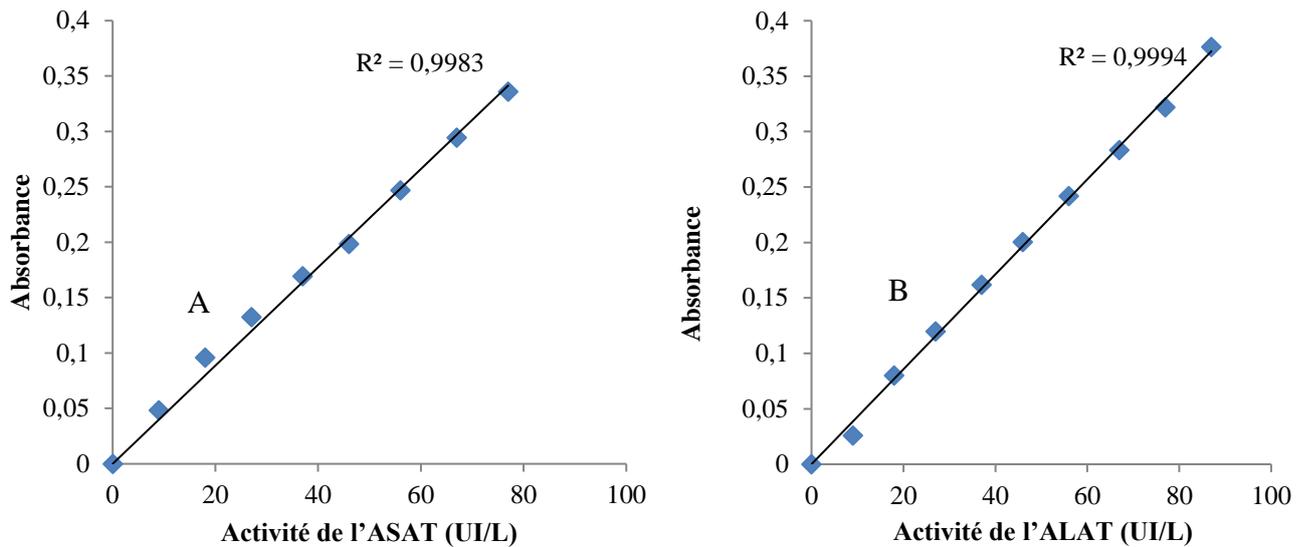


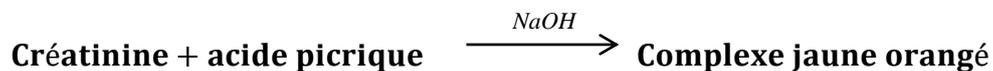
Figure 24 : Courbes d'étalonnage d'ASAT (A) et d'ALAT (B)

Les activités ont été déterminées à partir des équations de droite $Y = 0,0043x$ pour l'ASAT et $Y = 0,0044x$ pour l'ALAT.

✓ **Dosage de la créatinine sérique**

- **Principe**

En milieu alcalin, la créatinine réagit avec l'acide picrique pour former un complexe jaune-orangé dont l'intensité est proportionnelle à la concentration de la créatinine présente dans le milieu réactionnel : c'est la réaction de Jaffe (kit Fortress).



- **Mode opératoire**

Le protocole de dosage est celui proposé dans le kit Fortress diagnostic (Tableau IV).

Tableau IV : Protocole de dosage de la créatinine

Tubes	Echantillon/Standard
Echantillon/Standard	100 μL
Réactif de travail	1000 μL
Agitation, les D.O. ont été lues (à 492 nm) ; à 30 secondes et à 120 secondes	

La quantité de la créatinine a été déterminée à partir de la formule suivante :

$$[\text{Créatinine}](\mu\text{mol/L}) = \frac{\Delta \text{ Absorbance échantillon}}{\Delta \text{ Absorbance standard}} \times 177$$

Concentration standard = 177 $\mu\text{mol/L}$; Δ = variation d'absorbance entre 30 secondes et 120 secondes.

✓ **Dosage des protéines totales**

- **Principe**

En milieu basique, le tartrate de sodium et de potassium forme avec les ions cuivriques un complexe soluble. L'addition d'une protéine déplace le cuivre lié au tartrate pour former un complexe cuivro-protéique de couleur violette. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de protéines présente dans la solution (Gornall *et al.*, 1949).

- **Mode opératoire**

Le dosage des protéines totales a été réalisé suivant la méthode de Biuret, le protocole de dosage étant présenté dans le tableau V.

Tableau V : Protocole de dosage des protéines totales

Tubes	Blanc			Etalons			Echantillons		
	0	1	2	3	4	5	6	X ₁ X _n	
SAB (µL)	0	50	100	150	200	250	300	-	-
Eau distillée	600	550	500	450	400	350	300	590	590
Réactif de Biuret	400	400	400	400	400	400	400	400	400
Echantillons	-	-	-	-	-	-	-	10	10
Quantité de protéines (mg)	0	0,15	0,30	0,45	0,60	0,75	0,90	-	-

Homogénéisation et incubation 10 minutes, température ambiante. D.O. (absorbance) à 540 nm contre blanc.

Absorbances obtenues (nm)	0	0,02	0,04	0,06	0,08	0,10	0,12	-	-
---------------------------	---	------	------	------	------	------	------	---	---

SAB = Serum Albumin Bovin ; 0 = tube blanc ; 1 - 6 = tubes étalons ; X₁ - X_n = tubes échantillons.

La courbe d'étalonnage a été obtenue en faisant correspondre l'absorbance des tubes étalons à la quantité de protéines. La quantité de protéines contenue dans chaque échantillon a été déterminée à partir de l'équation de droite $y = 0,1491x$ (Figure 25).

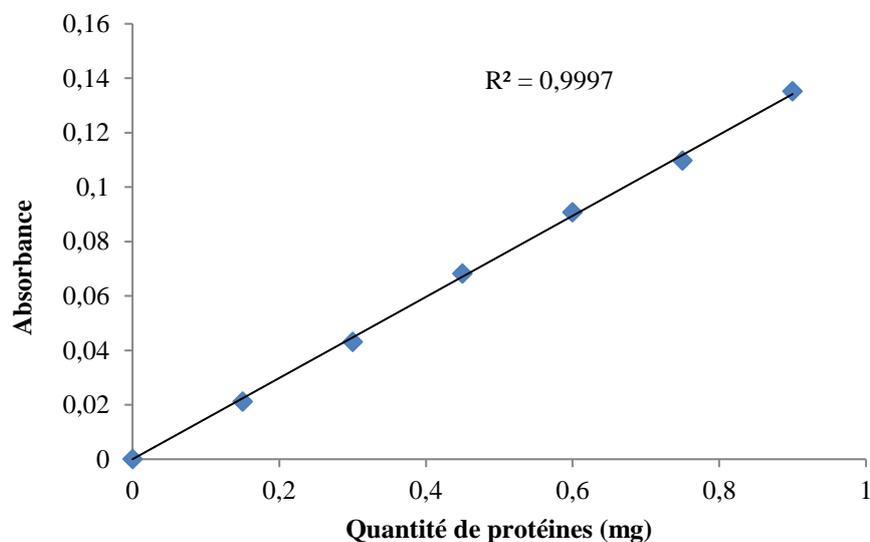


Figure 25 : Courbe d'étalonnage des protéines

➤ **Dosage de quelques marqueurs du stress oxydant**

✓ *Dosage de la superoxyde dismutase*

- **Principe**

L'oxydation de l'adrénaline en adrénochrome dans un milieu est inhibée en présence de la superoxyde dismutase (SOD). L'augmentation de l'absorbance, qui est proportionnelle à l'activité de la SOD, est notée entre 20 et 80 secondes à 480 nm (Misra & Fridovich, 1972).

- **Mode opératoire**

Dans les tubes tests ont été introduits 134 µL d'homogénat d'organes et dans le tube blanc, 134 µL de tampon carbonate (0,05 M, pH 10,2). Ensuite 1666 µL de tampon carbonate (0,05 M, pH 10,2) ont été introduits dans tous les tubes. La réaction a été déclenchée en ajoutant 200 µL d'adrénaline (0,3 mM) dans chaque tube. L'absorbance des tubes test à 480 nm a été mesurée à 20 et à 80 secondes contre celle du blanc. L'activité spécifique de la SOD est définie en unité de SOD nécessaire pour causer une inhibition de 50 % de l'oxydation de l'adrénaline en adrénochrome pendant une minute.

L'activité de la SOD a été déterminée comme suit :

- La variation de l'absorbance : $\Delta A (\text{min}) = A_{20 \text{ s}} - A_{80 \text{ s}}$
- % d'inhibition = $100 - (\Delta A_e \times 100 / \Delta A_b)$.

L'activité spécifique de la SOD (unité de SOD/g organe) = (nombre d'unité de SOD/mL/g organe X f) (Misra & Fridovich, 1972)

A 20 s = Absorbance mesurée à 20 secondes ; **A 80 s** = Absorbance mesurée à 80 secondes ; **ΔAe** = Variation de l'absorbance de l'échantillon ; **ΔAb** = Variation de l'absorbance du blanc ; **f** = facteur de dilution.

✓ *Dosage de la catalase*

- **Principe**

Le peroxyde d'hydrogène est rompu en présence de la catalase. Le résidu se lie au dichromate de potassium pour former un précipité bleu vert d'acide perchlorique instable qui va être décomposé par la chaleur et former un complexe vert (Sinha, 1972).

- **Mode opératoire**

À une solution aqueuse de dichromate de potassium 5 % sont ajoutés lentement 150 mL d'acide acétique glacial (solution corrosive et toxique). Les différents réactifs ont été mélangés comme l'indique le tableau VI afin d'établir la courbe d'étalonnage.

Tableau VI : Protocole de réalisation de la courbe d'étalonnage de la catalase

Tubes	1	2	3	4	5
Volume de H₂O₂ (50 mM) (μL)	0	20	40	80	160
Dichromate de potassium/acide acétique glacial (μL)	2000	2000	2000	2000	2000
Formation du précipité bleu, les tubes ont été chauffés à 100°C pendant 10 minutes (apparition de la couleur verte), refroidissement à température ambiante.					
Eau distillée (μL)	1000	980	960	920	840
Concentration de H₂O₂ (mM)	0	2	4	8	16
Absorbances obtenues	0	0,03	0,05	0,10	0,19

L'absorbance des tubes test à 240 nm a été mesurée contre celle du blanc. La courbe d'étalonnage a été tracée en faisant correspondre l'absorbance des tubes étalons aux concentrations de H₂O₂ comme l'indique la figure 26.

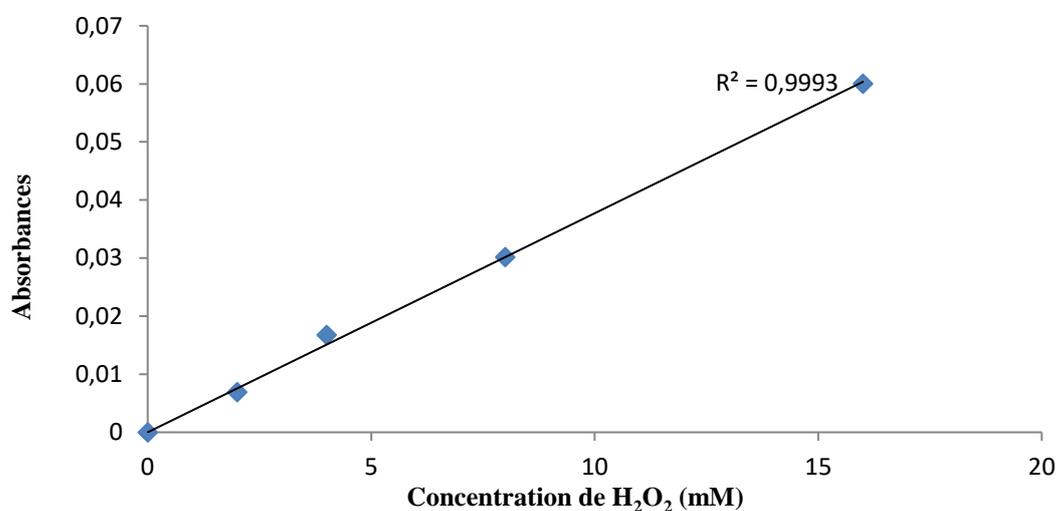


Figure 26 : Courbe d'étalonnage de la catalase

- Détermination de l'activité de la catalase dans les échantillons

Dans des tubes à essai ont été introduits 12,5 μL d'homogénat pour les tubes tests et 12,5 μL d'eau distillée pour le tube blanc. Ensuite, 187,5 μL de tampon phosphate (0,1 mM ; pH 7,5) y ont été ajoutés et le chronomètre a été déclenché après ajout de 50 μL de peroxyde d'hydrogène (50 mM). Après une minute, la réaction a été arrêtée par ajout de 500 μL de dichromate/acide acétique glacial. Les solutions ont été chauffées à 100°C pendant 10 minutes ; après refroidissement, l'absorbance a été lue contre le blanc à 570 nm. L'activité spécifique de la catalase a été déterminée à partir de la formule suivante (Sinha, 1972) :

$$\text{Act CAT} = \frac{\Delta \text{DO}}{a \times t \times m_i}$$

Act CAT = Activité de la catalase (mM de H₂O₂/min/g d'organes) ; **ΔDO** = DO essai - DO blanc ; **a** = Pente de la courbe d'étalonnage (0,0038) ; **t** = durée de la réaction (1 minute) ; **m_i** = Masse de l'organe (g).

✓ **Dosage du glutathion réduit (GSH)**

- **Principe**

L'acide dinitro-2,2'-dithio-5,5'- dibenzoïque (DTNB) réagit avec les groupements thiols (-SH) du glutathion et forme un complexe de coloration jaune dont l'absorption est maximale à 412 nm (Ellman, 1959).

- **Mode opératoire**

Dans les tubes à essai ont été introduits au préalable 100 µL d'homogénats (tubes échantillons) ou 100 µL de tampon Tris-HCl 50 mM ; pH = 7,4 (tube témoin). Ensuite, 1500 µL de réactif d'Ellman ont été ajoutés dans chaque tube. Les tubes ont été agités et incubés pendant 60 minutes à température ambiante et les absorbances ont été lues contre le blanc à 412 nm. La concentration de glutathion réduit a été déterminée par la formule suivante (Ellman, 1959) :

$$[\text{GSH}] = \frac{\Delta\text{DO}}{\epsilon \times \text{L} \times \text{m}}$$

[GSH] = Concentration de GSH (mol/g d'organes) ; ΔDO = DO essai - DO blanc ; **L** = Trajet optique (1 cm) ; ϵ = Coefficient d'extinction molaire (13600 mol⁻¹. cm⁻¹) ; **m** = Masse de l'organe (g).

✓ **Dosage du malondialdéhyde**

- **Principe**

Le malondialdéhyde (MDA) formé au cours de la peroxydation lipidique réagit avec l'acide thiobarbiturique en milieu acide et chaud, pour donner un complexe rose qui présente un maximum d'absorption à 530 nm (Wilbur *et al.*, 1949).

- **Mode opératoire**

Dans des tubes contenant 250 µL d'homogénat (tubes échantillons) ou 250 µL de tampon Tris- HCl 50 mM ; pH = 7,4 (tube blanc) ont été introduits 125 µL d'acide trichloro-acétique (TCA) 20 % et 250 µL d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 %. Les tubes ont été bouchés à l'aide de billes de verre, chauffés à 90°C au bain-marie pendant 10 minutes, refroidis à l'eau de robinet, et centrifugés à 3000 tours/min à température ambiante pendant 15 minutes. Le surnageant a été pipeté et l'absorbance lue au spectrophotomètre à 530 nm contre le blanc. La concentration en MDA a été déterminée par la formule ci-dessous (Wilbur *et al.*, 1949) :

$$[\text{MDA}] = \frac{\Delta\text{DO}}{\epsilon \times \text{L} \times \text{m}}$$

[MDA] = Concentration de MDA (mol/g d'organes) ; ΔDO = DO essai - DO blanc ; **L** = Trajet optique (1 cm) ; ϵ = Coefficient d'extinction molaire (15600 mol⁻¹. cm⁻¹) ; **m** = Masse de l'organe (g).

✓ Dosage du monoxyde d'azote

Le monoxyde d'azote (nitrites) est dosé par la méthode colorimétrique à l'aide du réactif de Griess.

- Principe

En présence d'un tampon carbonate acide, il y a formation des nitrites à partir de la solution à analyser, l'acide nitrique qui diazote l'acide sulfanilique. L'acide diazobenzène-sulfonique-4 qui en résulte se condense avec le N-naphthyl-1-éthylènediamine-dihydro-chlorure (NNEDDC) pour former un colorant azoïque rouge-violet.

- Protocole expérimental

Après distribution du sérum ou de l'homogénat du côlon et des réactifs (Tableau VII), le mélange est effectué par agitation des tubes à l'aide d'un agitateur (type Vortex), puis incubé pendant 5 minutes à température ambiante. La densité optique est lue au spectrophotomètre (Corming 259) à 543 nm contre le blanc (Guenane *et al.*, 2006). Le taux de nitrites dans les différents tubes échantillons est déterminé à partir de la courbe d'étalonnage (Figure 19).

Tableau VII : Protocole de dosage du monoxyde d'azote (NO) sérique et tissulaire

Réactifs	Blanc	Etalon						Echantillon				
Nitrite de sodium (mg/L) μ L	0	0	100	200	300	400	500					
Tampon carbonate (μ L)	1000	500	400	300	200	100	0					
Sérum ou homogénat du colon (μ L)								500	500	500	500	500
Ajouter à volume égal le Griess 1 et le Griess 2												
Griess 1 (μ L)	0	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250
Griess 2 (μ L)	0	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250
Agiter et laisser pendant 10 minutes												
Lire la densité optique (DO) à 543 nm												
DO		0	0,183	0,231	0,245	0,554	0,713					

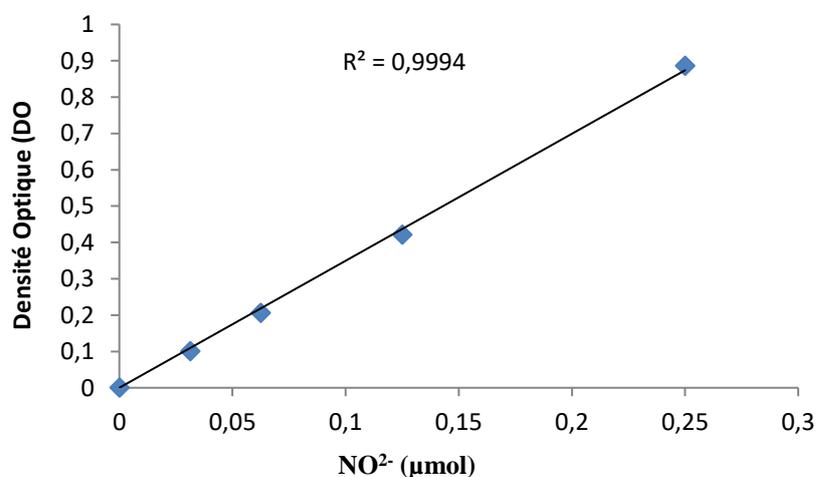


Figure 27 : Courbe d'étalonnage du monoxyde d'azote

II.2.6.4. Analyses hématologiques

Les numérations des globules blancs (GB), des globules rouges (GR) et les plaquettes (PC), la concentration en hémoglobine, l'hématocrite (HT), le volume globulaire moyen d'un érythrocyte (VGM), la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) ont été déterminées à l'aide de l'automate Sysmex XN - 1000.

II.2.6.5. Analyses histologiques

➤ Fixation

Dans des flacons de 5 mL, 1 fragment de 1 cm³ environ des différents organes prélevés a été immergé dans du formol (10 %). Les flacons ont été ensuite étiquetés et conservés à température ambiante. Chaque fragment a été ensuite coupé à faibles épaisseurs et introduit dans des cassettes pour subir le processus de déshydratation et d'inclusion.

➤ b. Inclusion

L'inclusion comporte quatre étapes : la déshydratation, l'éclaircissement, l'imprégnation et l'enrobage.

✓ Déshydratation

Les tissus ont été laissés dans des bains d'alcool de concentrations croissantes de 50 à 100 % : Ethanol à 50 %, 1 heure ; Ethanol à 70 % : 1 heure ; Ethanol à 95 % : 1 heure ; Ethanol à 95 % : 1½heure ; Ethanol à 100 % : 1 heure ; Ethanol à 100 % : 1½heure ; Ethanol à 100 % : 2 heures.

✓ Éclaircissement

Afin de remplacer la solution de déshydratation (alcool) par le solvant miscible dans le milieu d'inclusion, les organes ont séjourné successivement dans deux bains de xylène respectivement pendant 1 heure puis 1 heure et 30 minutes.

✓ Imprégnation

Une fois déshydratés et éclaircis, les organes sont infiltrés par la paraffine. en séjournant dans trois bains de paraffine en fusion pendant respectivement 1 heure, 1 heure et 30 minutes et 2 heures.

✓ Enrobage

Les tissus ont été placés dans des moules de paraffine en fusion. Après orientation appropriée du tissu, le bloc a été obtenu par refroidissement sur une plaque réfrigérante

✓ Coupes

Les coupes des blocs ont été réalisées avec un microtome (Reichert-jung 2030). L'épaisseur des coupes a été réglée à 5 µm. Les coupes obtenues ont été dépliées dans un bain-marie à 40°C ; les meilleures coupes ont été collées sur les lames porte-objets et conservées à l'étuve à 45°C pendant 12 heures environ.

✓ Coloration

Pour mettre en évidence et différencier les éléments tissulaires, nous avons procédé à la coloration à l'Hématoxyline et Eosine (H&E), après le déparaffinage des coupes, en passant les lames pendant 5 minutes dans différents bains successifs :

- Xylène (3 fois) ;
- Ethanol à 100 % (3 fois) ;
- Ethanol à 95 % ;
- Ethanol à 70 % ;
- Eau distillée

Les coupes ainsi déparaffinées et réhydratées ont été colorées selon le schéma ci-après :

- Hématoxyline de MAYER, 10 min ;
- Eau du robinet courante, 10 min ;
- Ethanol à 70 %, 5 min ;
- Ethanol à 95 %, 5 min ;
- Solution éosine alcoolique à 0,5 % + 40 µL d'acide acétique par 100 mL, 5 min ;
- Déshydratation : Ethanol à 100 %, 3 × 5 min ;
- Eclaircissement : Xylène, 3× 5min ;

✓ Montage

Les coupes colorées ont été recouvertes d'une lamelle couvre-objet après imprégnation à l'EUKitt. Les coupes colorées ont été ensuite observées au microscope photonique (Olympus CH-2), et microphotographiées.

II.2.7. Toxicité aiguë de la fraction active

La toxicité aiguë a été déterminée sur la fraction au dichlorométhane (FDDi) suivant la ligne directrice n° 423 de l'*Organization of Economic Corporation Development* (OCDE) pour l'évaluation de la toxicité orale aiguë.

Cinq groupes de 6 rats chacun (3 mâles et 3 femelles) ont été constitués. Après une période de jeûne non hydrique de 12 heures (OECD/OCDE, 2001), les animaux du groupe 1 (ou témoin) ont reçu de l'eau distillée (1 mL/100 g de poids corporel) tandis que ceux des groupes 2, 3, 4 et 5 ont reçu respectivement en prise unique 50, 300, 2000 et 5000 mg/kg de la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia*.

Le taux de mortalité dans chaque lot d'animaux était évalué après 48 heures. Le comportement des animaux (agressivité, l'aspect des fèces et la motilité) a été observé pendant les quatre (04) premières heures après le traitement et quotidiennement pendant 14 jours après l'administration de la substance.

II.2.8. Expression des résultats

II.2.8.1. Présentation

Les résultats ont été présentés sous forme de tableaux ou de figures et exprimés en moyennes arithmétiques (\bar{X}) affectées des erreurs standards sur la moyenne (ESM) : $\bar{X} \pm$ ESM,

$$\bar{X} = \frac{\sum x_i}{n} ; SD = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{X})^2}{n-1}} ; ESM = \frac{SD}{\sqrt{n}} \text{ (Cumming } et al., 2007)$$

x_i : valeur individuelle par animal ; SD : standard deviation (écart type) ; n : nombre d'animaux par groupe.

II.2.8.2. Analyses des résultats

Pour les diarrhées induites, les moyennes des groupes témoins et essais ont été comparées par l'analyse de la variance (ANOVA) suivie du post test de Dunnet en utilisant le logiciel Graph Pad InStat version 3.05.

Pour les effets sur la motilité duodénale, les variations d'amplitude et du tonus de base des contractions ont été évaluées et exprimées en pourcentages par rapport à la valeur initiale. Le logiciel Graph Pad Prism version 5.03 (GraphPad Software, San Diego, California, USA) a permis d'effectuer les analyses statistiques.

Les valeurs de probabilité $p < 0,05$ ont été considérées comme statistiquement significatives.

II.2.8.3. Résultats histologiques

Les résultats histologiques sont présentés sous forme de micrographies. La structure des organes des animaux traités est comparée à celle des organes des animaux témoins.

CHAPITRE III :

RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Résultats

III.1.1. Choix de la plante efficace

III.1.1.1. Analyse phytochimique préliminaire des extraits hydroéthanoliques des différentes plantes

L'analyse phytochimique qualitative des extraits hydroéthanoliques de *D. integrifolia*, *D. preussii*, *M. minutiflora* et *T. okelensis* a révélé la présence des coumarines, des saponines, des polysaccharides, des sucres réducteurs, des polyphénols, et des huiles volatiles. *Dichrocephala integrifolia* seule a révélé la présence des flavonoïdes et des stérols. L'absence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des stérols et des tanins a été observé dans l'extrait de *D. preussii* (Tableau VIII).

Tableau VIII : Classes des composés chimiques identifiés dans les extraits hydroéthanoliques de *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preussii*, *Melenis minutiflora* et *Tricalysia okelensis*

Métabolites secondaires	<i>Dichrocephala integrifolia</i>	<i>Dioscorea preussii</i>	<i>Melenis minutiflora</i>	<i>Tricalysia okelensis</i>
Alcaloïdes	+	-	+	+
Anthraquinones	+	+	+	-
Coumarines	+	+	+	+
Flavonoïdes	+	-	-	-
Phénols	+	+	+	+
Polysaccharides	+	+	+	+
Sucre réducteurs	+	+	+	+
Saponines	+	+	+	+
Stérols	+	-	-	-
Tanins	+	-	+	+
Triterpènes	-	+	+	+
Huile volatile	+	+	+	+

+ Présence ; - Absence.

III.1.1.2. Propriétés antimicrobiennes des extraits hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preussii*, *Melenis minutiflora* et de *Tricalysia okelensis*

➤ Sensibilité microbienne aux extraits hydroéthanoliques de *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preussii*, *Melenis minutiflora* et de *Tricalysia okelensis*

Le screening de l'activité antimicrobienne a montré que les quatre extraits de plantes présentent une activité dose dépendante sur une ou plusieurs souches microbiennes testées (*S. typhi*, *S. dysenteriae*, *E. coli* ATCC 35218, *C. albicans*). A 200 mg/mL l'extrait

hydroéthanolique de *D. integrifolia* a inhibé de 24 mm *S. typhi* et *C. albicans*, de 17 mm et 19 mm respectivement *E. coli* ATCC 35218 et *S. dysenteriae*.

À 200 mg/mL, les extraits hydroéthanoliques de *D. preussii* et *M. minutiflora* ont inhibé respectivement de 22 et 19 mm la croissance de *S. typhi*. Ces extraits agissent sur *C. albicans* avec respectivement des diamètres d'inhibition de 18 et 23 mm à la même concentration. *Candida albicans* a été la seule souche inhibée par l'extrait hydroéthanolique de *T. okelensis* avec un diamètre d'inhibition de 20 mm à 200 mg/mL (Tableau IX).

➤ **Concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits hydroéthanoliques de *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preussii*, *Melenis minutiflora* et de *Tricalysia okelensis***

La CMI a été déterminée par la méthode adaptée du E-Test (Figure 28) et par la méthode de dilution en milieu solide. Seuls les extraits ayant présenté une inhibition de la croissance des différentes souches durant le test de sensibilité ont été retenus pour la détermination de la CMI sur ces souches.

A l'issue des tests, des CMI de 0,5 ; 1 ; 2 et 3 mg/mL ont été obtenues respectivement sur *C. albicans*, *S. typhi*, *S. dysenteriae* et *E. coli* ATCC 35218 avec l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* (Tableau X). Avec l'extrait hydroéthanolique de *D. preussii* des CMI de 1 et 2 mg/mL ont été obtenues respectivement sur *C. albicans* et sur *S. typhi* alors qu'elles étaient de 2 et 3 mg/mL respectivement sur *C. albicans* et sur *S. typhi* avec l'extrait hydroéthanolique de *M. minutiflora*. Une CMI de 2 mg/mL a été obtenue pour l'extrait hydroéthanolique de *T. okelensis* sur *C. albicans*. La plus petite CMI a été de 0,5 mg/mL sur *C. albicans* avec l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia*.

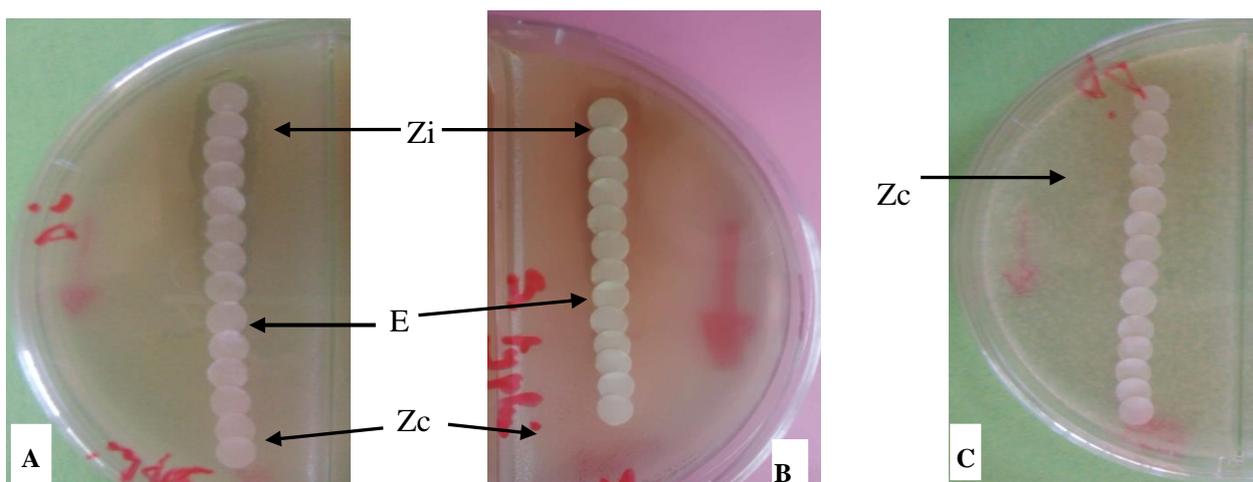


Figure 28 : Inhibition de la croissance de *S. typhi* (A) par l'extrait de *D. integrifolia*, (B) par l'extrait de *M. minutiflora* et l'absence d'inhibition de la croissance de *E. coli* (C) par l'extrait de *D. preussii*.
Z.i = zone d'inhibition, E= Zone d'intersection entre la zone de croissance et la zone d'inhibition,
Z.c= Zone de croissance.

Tableau IX : Sensibilité (\emptyset d'inhibition en mm) de *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* A1, *Escherichia coli* et *Candida albicans* aux extraits hydroéthanoliques de *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preussii*, *Melenis minutiflora* et *Tricalysia okelensis*

Extraits	Souches microbiennes	Concentrations des extraits (mg/mL)										
		0,19	0,3	0,78	1,56	3,12	6,25	12,5	25	50	100	200
<i>Dichrocephala integrifolia</i>	<i>Salmonella typhi</i>	-	8,00±0,06	9,00±0,21	10,00±0,35	12,00±0,20	14,00±0,58	16,00±0,26	17,00±0,11	20,00±0,94	22,00±0,41	24,00±0,51
	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	9,00±0,19	10,00±0,55	11,00±0,18	12,00±0,32	13,50±0,16	15,00±0,17	17,00±0,89
	<i>Shigella dysenteriae</i> A1	-	-	-	-	9,00±0,58	10,00±0,40	12,00±0,88	14,00±0,33	16,00±0,35	17,00±0,11	19,00±0,94
	<i>Candida albicans</i>	-	8,00±0,31	10,50±0,35	11,00±0,25	12,00±0,21	13,00±0,32	14,50±0,16	16,00±0,58	18,00±0,20	19,50±0,81	24,00±0,76
<i>Dioscorea preussii</i>	<i>Salmonella typhi</i>	-	-	-	9,00±0,03	10,00±0,29	11,00±0,25	13,00±0,19	14,00±0,25	16,00±0,11	19,00±0,51	22,00±0,17
	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Shigella dysenteriae</i> A1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Candida albicans</i>	-	-	-	8,00±0,10	9,00±0,05	10,00±0,21	12,00±0,66	13,50±0,14	14,50±0,31	16,00±0,49	18,00±85
<i>Melenis minutiflora</i>	<i>Salmonella typhi</i>	-	-	-	9,00±0,12	10,00±0,22	12,00±0,27	14,00±0,11	15,00±0,20	17,00±15	19,00±15	19,00±39
	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Shigella dysenteriae</i> A1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Candida albicans</i>	-	-	-	9,00±0,02	10,50±0,54	12,0±0,57	15,00±0,51	17,00±0,31	18,00±0,11	20,00±0,16	23,00±0,32
<i>Tricalysia okelensis</i>	<i>Salmonella typhi</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Shigella dysenteriae</i> A1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Candida albicans</i>	-	-	8,00±0,23	10,00±0,11	11,00±0,76	12,50±0,41	14,00±0,36	15,50±0,26	16,50±0,64	17,50±0,45	20,00±0,20

Les valeurs représentent les moyennes \pm E.S.M (n=3) ; (-) Absence de sensibilité

➤ **Concentrations minimales bactéricides (CMB) ou fongicide (CMF) des extraits hydroéthanoliques de *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preussii*, *Melenis minutiflora* et de *Tricalysia okelensis***

L'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* a présenté une CMF de 1 mg/mL sur *C. albicans* et des CMB de 2 ; 4 et 10 mg/mL respectivement sur *S. typhi*, *S. dysenteriae* et *E. coli* ATCC 35218. L'extrait hydroéthanolique de *D. preussii* a présenté une CMF de 4 mg/mL sur *C. albicans* et une CMB de 5 mg/mL sur *S. typhi*. Avec l'extrait hydroéthanolique de *M. minutiflora* la CMF et la CMB ont été de 4 et 5 mg/mL respectivement sur *C. albicans* et *S. typhi*. L'extrait hydroéthanolique de *T. okelensis* a donné une CMF de 10 mg/mL sur *C. albicans* (Tableau X). La plus petite concentration minimale bactéricide ou fongicide (CMB ou CMF) a été de 1 mg/mL obtenue avec l'extrait hydroéthanolique *D. integrifolia* sur *C. albicans*.

➤ **Susceptibilités microbiennes aux extraits hydroéthanoliques de *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preussii*, *Melenis minutiflora* et de *Tricalysia okelensis***

Grâce aux données de la CMI, CMB et de la CMF, nous avons calculé le rapport CMB/CMI ou CMF/CMI afin de déterminer les pouvoirs antimicrobiens des extraits (Tableau X).

L'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* a présenté une activité bactéricide sur les souches de *S. typhi*, *S. dysenteriae* A 1 (CMB/CMI = 2), sur *E. coli* (CMB/CMI = 3,33) et une activité fongicide sur *C. albicans* (CMF/CMI = 2). L'extrait hydroéthanolique de *D. preussii* a montré une activité bactéricide sur *S. typhi* (CMB/CMI = 2,5) et une activité fongicide sur *C. albicans* (CMF/CMI = 4). Les rapports respectifs CMB/CMI et CMF/CMI de l'extrait hydroéthanolique de *M. minutiflora* ont été de 1,66 sur *S. typhi* et de 2 sur *C. albicans*. Par ailleurs, une activité fongistatique (CMF/CMI = 5) a été observée sur *C. albicans* avec l'extrait hydroéthanolique de *T. okelensis*.

Tableau X : Concentration minimale inhibitrice (CMI), concentration minimale bactéricide (CMB) et concentration minimale fongicide (CMF) des extraits des plantes en mg/mL sur *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* A1 et *Candida albicans*

Extraits	Souches microbiennes											
	<i>S. typhi</i>			<i>E. coli</i>			<i>S. dysenteriae</i> A1			<i>C. albicans</i>		
	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMF	CMF/CMI
<i>Dichrocephala integrifolia</i>	1,0	2,0	2,0	3,0	10	3,33	2,0	4,0	2,0	0,5	1,0	2,0
<i>Dioscorea preussii</i>	2,0	5,0	2,5	-	-	-	-	-	-	1,0	4,0	4,0
<i>Melenis munitiflora</i>	3,0	5,0	1,66	-	-	-	-	-	-	2,0	4,0	2,0
<i>Tricalysia. okelensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,0	10	5,0

III.1.1.3. Effet des extraits hydroéthanoliques de *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preussii*, *Melenis minutiflora* et de *Tricalysia okelensis* sur le transit intestinal

Les extraits hydroéthanoliques de *D. integrifolia*, *D. preussii*, et de *T. okelensis* à 50 et 100 mg/kg P.C et de *M. minutiflora* à 75 et 150 mg/kg P.C ont significativement réduit le parcours du charbon dans l'intestin de souris. L'inhibition maximale a été de 70 % avec l'extrait de *D. integrifolia* à 100 mg/kg et l'inhibition minimale de 37,53 % avec l'extrait de *D. preussii* à 100 mg/kg de P.C.

D. integrifolia et *T. okelensis* ont de façon dose dépendante inhibé le transit, tandis que *D. preussii* et *M. minutiflora* ont inhibé le transit de façon dose inversement dépendante (Tableau XI).

Tableau XI : Effet des extraits hydroéthanoliques des plantes *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preussii*, *Melenis minutiflora* et *Tricalysia okelensis* sur l'accélération du transit intestinal induite par l'huile de ricin chez le rat

Groupes	Traitements	LTI (cm)	LPC (cm)	PC (%)	Inhibition (%)
TN	Eau Distillée 10 mL/kg	48,90 ± 2,56	43,8 ± 2,47	89,75 ± 3,80	-
<i>Dichrocephala integrifolia</i>	50 mg/kg	50,00 ± 1,58	26,70 ± 2,39**	53,40 ± 3,54 **	40,50
	100 mg/kg	48,08 ± 2,22	13,20 ± 2,39**	27,45 ± 3,73 **	69,95
<i>Tricalysia okelensis</i>	50 mg/kg	45,10 ± 1,10	22,80 ± 1,67 **	50,55 ± 4,54 **	43,39
	100 mg/kg	43,40 ± 1,74	18,90 ± 1,12**	43,56 ± 2,18 **	51,45
<i>Melenis minutiflora</i>	75 mg/kg	47,20 ± 1,60	19,60 ± 1,93**	41,52 ± 4,30 **	53,89
	150 mg/kg	45,68 ± 1,77	22,28 ± 1,47**	48,77 ± 2,30 **	45,84
<i>Dioscorea preussii</i>	50 mg/kg	48,30 ± 2,44	19,00 ± 3,53**	39,33 ± 8,22 **	55,20
	100 mg/kg	53,46 ± 1,95	30,00 ± 1,81**	56,11 ± 2,43 **	37,53

Les valeurs représentent les moyennes ± E.S.M. (n=5). TN : témoin normal. LTI : longueur totale de l'intestin. LPC : longueur parcourue par le charbon. % PC : pourcentage de progression du charbon.

Différence significative : ** P< 0,01 comparée au groupe témoin normal (TN).

III.1.2. Détermination de l'extrait efficace de *Dichrocephala integrifolia*

III.1.2.1. Analyses phytochimiques des extraits de *Dichrocephala integrifolia*

➤ Analyse phytochimique qualitative

L'analyse phytochimique qualitative des extraits à l'eau, à l'éthanol et à l'éthanol/eau de *D. integrifolia* a révélé la présence des tanins, des alcaloïdes, des saponines, des composés phénoliques, des huiles volatiles, des coumarines, des anthraquinones, des acides gras et des polysaccharides mais pas de glycosides anthracéniques. Les extraits à l'éthanol et à l'éthanol/eau de *D. integrifolia* contiennent des flavonoïdes mais pas des triterpènes, des polyuronides et des anthocyanes (Tableau XII).

Tableau XII : Classes des composés chimiques identifiés dans les extraits aqueux, éthanolique et hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia*

Groupes structuraux	Extrait aqueux	Extrait éthanolique	Extrait hydroéthanolique
Tanins	+	+	+
Composés phénoliques	+	+	+
Sucres réducteurs	+	+	+
Alcaloïdes	+	+	+
Anthocyanes	+	-	-
Glycosides anthracéniques	-	-	-
Anthraquinones	+	+	+
Coumarines	+	+	+
Flavonoïdes	-	+	+
Stérols	-	+	+
Triterpènes	+	-	-
Acides gras	+	+	+
Huiles volatiles	+	+	+
Saponines	+	+	+
Poly-uronides	+	-	-
Polysaccharides	+	+	+

+ Présence ; - Absence.

➤ Analyse phytochimique quantitative

L'extrait à l'éthanol/eau de *D. integrifolia* (EWEDi) a une quantité élevée en flavonols (69,49 mg/g d'équivalent quercétine), en flavonoïdes (7,35 mg/g d'équivalent quercétine), en tanins (3,08 mg/g d'équivalent acide gallique) et en composés phénoliques (2,88 mg/g d'équivalent acide tannique) (Tableau XIII).

L'extrait aqueux de *D. integrifolia* (WEDi) a une quantité élevée en flavonols (29,44 mg/g d'équivalent quercétine), suivie de flavonoïdes (14,57 mg/g d'équivalent quercétine), de

tanins (3,17 mg/g d'équivalent acide gallique) et de composés phénoliques (2,83 mg/g d'équivalent acide tannique) (Tableau XIII).

L'extrait à l'éthanol de *D. integrifolia* (EEDi) contient plus de flavonoïdes (37,45 mg/g d'équivalent quercétine), puis des flavonols (24,14 mg/g d'équivalent quercétine), des composés phénoliques (5,10 mg/g d'équivalent acide tannique) et des tanins (3,74 mg/g d'équivalent acide gallique) (Tableau XIII).

Tableau XIII : Quantification des composés chimiques identifiés dans les extraits aqueux, éthanolique et hydroéthanolique de *D. integrifolia*

Extraits	Polyphénols totaux (mg/g d'équivalent acide tannique)	Flavonoïdes (mg/g d'équivalent quercétine)	Flavonols (mg/g d'équivalent quercétine)	Tanins (mg/g d'équivalent acide gallique)
WEDi	2,83 ± 0,11	14,57 ± 0,20	29,44 ± 0,02	3,17 ± 0,12
EWEDi	2,88 ± 0,09	7,35 ± 0,25	69,49 ± 0,31	3,08 ± 0,05
EEDi	5,10 ± 0,19	37,45 ± 0,97	24,21 ± 0,23	3,74 ± 0,12

WEDi : extrait à l'eau de *D. integrifolia* ; EWEDi : extrait à l'éthanol/eau de *D. integrifolia* ; EEDi : extrait à l'éthanol de *D. integrifolia*.

III.1.2.2. Propriétés antimicrobiennes des extraits aqueux, éthanolique et hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia*

➤ Sensibilité des souches microbiennes

Les extraits aqueux, éthanolique et hydroéthanolique de *D. integrifolia* ont présenté des activités concentration-dépendante sur une ou plusieurs souches microbiennes testées (*E. coli*, *S. choleraesuis*, *S. typhi*, *S. dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. faecalis* et *C. albicans*). Ainsi, pour des concentrations allant de 0,19 à 200 mg/mL, l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* (EWEDi) a inhibé de façon dose dépendante la croissance des microbes. A la concentration de 200 mg/mL, l'inhibition a été de 24 mm sur *S. typhi* et *C. albicans* ; de 19 mm sur *S. dysenteriae*, 17,57 mm sur *S. choleraesuis*, 17 mm sur *E. coli* ; Puis de 16,05 mm et de 14 mm respectivement sur *S. flexneri* et *S. aureus*. Cet extrait n'a pas inhibé la croissance de *P. aeruginosa* et celle de *E. faecalis* (Tableau XIV).

L'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de *D. integrifolia* (EEDi) a été observée sur les souches de *E. faecalis*, *S. choleraesuis*, *P. aeruginosa*, *S. dysenteriae* type 1, *S. typhi* et *S. aureus*. 200 mg/mL d'extrait éthanolique ont inhibé la croissance de *E. faecalis* de 23 mm, *S. choleraesuis* de 20 mm, *P. aeruginosa* de 19 mm, *S. aureus* de 18,42 mm, *S. typhi* de 16,57 mm et *S. dysenteriae* de 16,50 mm. Cet extrait n'a pas inhibé la croissance de *S. flexneri*, *E. coli*, et de *C. albicans* (Tableau XIV).

L'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux de *D. integrifolia* (WEDi) a été dose dépendante pour des concentrations allant de 0,19 à 200 mg/mL ; les diamètres d'inhibition avec 200 mg/mL ont été de 19,55 mm sur *C. albicans* ; de 14,66 mm sur *S. choleraesuis* ; de 12,40 mm sur *Shigella flexneri* et de 12,40 mm sur *P. aeruginosa*. L'extrait aqueux n'a pas eu d'activité sur *S. typhi*, *E. coli*, *S. dysenteriae* type 1, *S. aureus* et sur *E. faecalis*.

➤ **Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) des extraits aqueux, éthanolique et hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia***

Les CMI ont été pour l'extrait à l'eau de 4 mg/mL sur *S. choleraesuis* et sur *S. flexneri*, de 2 et 3 mg/mL respectivement sur *C. albicans* et sur *P. aeruginosa*. Avec l'extrait éthanolique, les CMI ont été de 2 ; 2 ; 3 ; 5 ; 5 et 10mg/mL respectivement sur *S. typhi*, *S. choleraesuis*, *P. aeruginosa*, *S. dysenteriae* A 1, *E. faecalis* et *S. aureus*. Avec l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia*, les CMI obtenues ont été de 0,5 ; 1 ; 2 ; 2 ; 3 ; 5 et 5 mg/mL de respectivement sur *C. albicans*, *S. typhi*, *S. dysenteriae* A 1, *S. flexneri*, *E. coli*, *S. choleraesuis* et *S. aureus*. (Tableau XV). La plus petite CMI a été de 0,5 mg/mL sur *C. albicans* avec l'extrait hydroéthanolique.

➤ **Concentration minimale bactéricide ou fongicide (CMB ou CMF) des extraits aqueux, éthanolique et hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia***

Avec l'extrait aqueux, les CMB ont été de 3 ; 10 et 10 mg/mL respectivement sur *P. aeruginosa*, *S. choleraesuis* et *S. flexneri* et la CMF de 4 mg/mL sur *C. albicans*. Avec l'extrait éthanolique, les CMB ont été de 2 ; 5 ; 5 ; 10 ; 20 et 25 mg/mL respectivement sur *S. choleraesuis*, *S. typhi*, *P. aeruginosa*, *S. dysenteriae* A 1, *E. faecalis* et sur *S. aureus*. L'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* a présenté une CMF de 1 mg/mL sur *C. albicans* et des CMB de 2 mg/mL sur *S. typhi*, puis de 4 mg/mL sur *E. coli* et sur *S. flexneri* en fin une CMB de 10 mg/mL sur *S. choleraesuis*, *S. dysenteriae* A 1 et sur *S. aureus* et (Tableau XV). La plus petite CMF a été de 1 mg/mL avec l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* sur *C. albicans*.

Tableau XIV : Sensibilité (Ø d'inhibition en mm) de *Salmonella typhi*, *Salmonella choleraesuis*, *Shigella flexneri*, *Shigella dysenteriae A1*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans* aux extraits aqueux (WEDi), éthanolique (EEDi) et hydroéthanolique (EWEDi) de *D. integrifolia*.

Extraits	Souches	Concentrations des extraits (mg/mL)											
		0,19	0,3	0,78	1,56	3,12	6,25	12,5	25	50	100	200	
EWEDi	<i>S. typhi</i>	-	8,00±0,06	9,00±0,21	10,00±0,35	12,00±0,20	14,00±0,58	16,00±0,26	17,00±0,11	20,00±0,94	22,00±0,41	24,00±0,51	
	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	9,00±0,19	10,00±0,55	10,01±0,26	12,00±0,32	13,50±0,16	15,00±0,17	17,00±0,89	
	<i>S. dysenteriae A1</i>	-	-	-	-	9,00±0,58	10,00±0,40	12,00±0,88	14,00±0,33	16,00±0,35	17,00±0,11	19,00±0,94	
	<i>S. choleraesuis</i>	-	8,00±0,52	9,05±0,20	9,46±0,35	10,76±0,41	11,73±0,37	12,56±0,10	14,87±0,06	15,42±0,19	16,22±0,42	17,57±0,60	
	<i>S. flexneri</i>	-	8,68±0,56	9,25±0,20	10,08±0,43	11,68±0,48	12,25±0,24	13,00±0,16	13,68±0,57	14,50±0,72	15,14±0,16	16,05±0,14	
	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>S. aureus</i>	-	-	-	9,00±0,23	10,03±0,411	10,49±0,16	11,00±0,28	11,97±0,56	12,25±0,13	13,06±0,15	14,00±0,44	
	<i>E. faecalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>C. albicans</i>	-	8,00±0,10	10,50±0,06	11,00±0,29	12,00±0,37	13,00±0,10	14,50±0,77	16,00±0,36	18,00±0,51	19,50±0,11	24,00±0,88	
EEDi	<i>S. typhi</i>	9,18±0,38	10,07±0,32	10,78±0,39	11,84±0,38	12,30±0,35	12,84±0,17	13,55±0,27	14,43±0,19	14,95±0,36	15,85±0,26	16,57±0,43	
	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	<i>S. dysenteriae A1</i>	8,52±0,26	9,66±0,20	10,07±0,03	10,65±0,20	12,10±0,95	10,85±0,94	12,35±0,01	13,08±0,01	13,15±0,64	14,78±0,58	16,50±0,55	
	<i>S. choleraesuis</i>	8,71±0,36	9,00±0,58	9,23±0,62	9,67±0,67	10,33±0,88	11,33±0,33	12,50±0,29	13,90±0,10	16,00±0,58	17,67±0,88	20,00±0,58	
	<i>S. flexneri</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	<i>P. aeruginosa</i>	9,00±0,35	9,75±0,89	10,75±0,41	11,73±0,51	11,86±0,55	12,38±0,42	13,37±0,24	14,00±0,94	14,76±0,24	17,05±0,60	19,00±0,61	
	<i>S. aureus</i>	9,09±0,82	10,01±0,84	10,48±0,51	11,00±0,46	12,10±0,20	13,10±0,55	14,89±0,55	15,78±0,58	16,67±0,64	18,16±0,56	18,42±0,37	
	<i>E. faecalis</i>	10,40±0,77	11,05±0,60	12,63±0,41	13,64±0,40	14,38±0,35	15,99±0,11	17,28±0,06	18,21±0,10	19,22±0,11	21,22±0,40	23,06±0,49	
	<i>C. albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
WEDi	<i>S. typhi</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	<i>S. dysenteriae A1</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	<i>S. choleraesuis</i>	7,85±0,20	8,26±0,15	8,75±0,21	9,42±0,23	10,15±0,04	10,78±0,10	11,44±0,14	12,47±0,15	13,35±0,17	14,01±0,07	14,66±0,24	
	<i>S. flexneri</i>	-	-	-	7,22±0,06	8,53±0,16	9,19±0,13	9,74±0,17	10,42±0,26	11,28±0,41	11,83±0,40	12,40±0,41	
	<i>P. aeruginosa</i>	7,04±0,03	7,44±0,14	7,86±0,16	8,36±0,09	9,12±0,06	9,57±0,17	10,16±0,31	10,46±0,32	11,06±0,26	11,61±0,25	12,06±0,20	
	<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	<i>E. faecalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	<i>C. albicans</i>	9,71±0,17	10,37±0,25	10,99±0,20	12,40±0,37	13,11±0,16	14,64±0,32	15,65±0,55	16,41±0,35	17,57±0,69	18,43±0,47	19,55±0,29	

Les valeurs représentent les moyennes ± E.S.M (n=3). (-) : Absence de sensibilité. WEDi : extrait à l'eau de *D. integrifolia* ; EWEDi : extrait à l'éthanol/eau de *D. integrifolia* ; EEDi : extrait à l'éthanol/eau de *D. integrifolia*

➤ **Pouvoir antimicrobien des extraits**

L'extrait aqueux a une activité bactéricide sur *P. aeruginosa* avec un rapport CMB/CMI de 1 et de 2,5 sur *S. choleraesuis* et *S. flexneri*. Cet extrait a eu une activité fongicide sur *C. albicans* avec un rapport CMF/CMI de 2. L'extrait éthanolique a une activité bactéricide sur *S. choleraesuis*, *P. aeruginosa*, *S. dysenteriae* A 1, *S. typhi*, *S. aureus* et *E. faecalis* avec des rapports CMB/CMI respectifs de 1 ; 1,67 ; 2 ; 2,5 ; 2,5 et 4. L'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* a une activité bactéricide sur *E. coli* avec un rapport CMB/CMI = 1,33 puis sur *S. typhi*, *S. choleraesuis*, *S. aureus*, *S. flexneri* avec un rapport CMB/CMI = 2. Ce même extrait a eu une activité fongicide sur *C. albicans* avec un rapport CMF/CMI= 2. L'extrait hydroéthanolique a présenté une activité bactériostatique sur *S. dysenteriae* A 1 avec un rapport CMB/CMI = 5.

Tableau XV : Concentration minimale inhibitrice (CMI), concentration minimale bactéricide (CMB) et la concentration minimale fongicide (CMF) des extraits de *D. integrifolia* sur *E. coli*, *S. typhi*, *S. choleraesuis*, *S. aureus*, *S. flexneri*, *S. dysenteriae* A1, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* et sur *C. albicans*.

Extraits	Souches microbiennes								
	<i>S. typhi</i>			<i>S. choleraesuis</i>			<i>S. dysenteriae</i> A1		
	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI
EEDi	2	5	2,5	2	2	1	5	10	2
EWEDi	1	2	2	5	10	2	2	10	5
WEDi	-	-	-	4	10	2,5	-	-	-

Extraits	Souches microbiennes								
	<i>S. flexneri</i>			<i>E. coli</i>			<i>P. aeruginosa</i>		
	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI
EEDi	-	-	-	-	-	-	3	5	1,67
EWEDi	2	4	2	3	4	1,33	-	-	-
WEDi	4	10	2,5	-	-	-	3	3	1

Extraits	Souches microbiennes								
	<i>S. aureus</i>			<i>E. faecalis</i>			<i>C. albicans</i>		
	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMF	CMF/CMI
EEDi	10	25	2,5	5	20	4	-	-	-
EWEDi	5	10	2	-	-	-	0,5	1	2
WEDi	-	-	-	-	-	-	2	4	2

WEDi : extrait à l'eau de *D. integrifolia* ; EWEDi : extrait à l'éthanol/eau de *D. integrifolia* ; EEDi : extrait à l'éthanol/eau de *D. integrifolia*

III.1.2.3. Effets des extraits aqueux, éthanolique et hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* sur la contraction et la motilité intestinale

➤ Effets des extraits aqueux, éthanolique et hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* sur l'amplitude de contraction

Le fragment de duodénum sous une tension de 1 gF présente des contractions spontanées phasiques d'amplitude moyenne de $0,59 \pm 0,02$ gF (n = 5) et de tonus de base de $3 \pm 0,2$ gF (n = 5) (Figure 29).

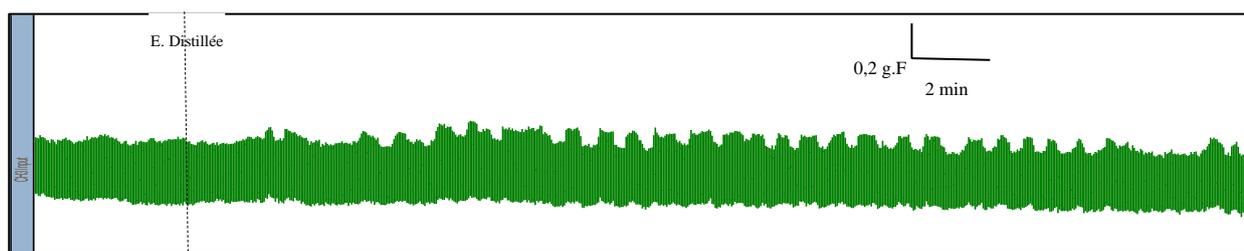


Figure 29 : Tracé original des contractions spontanées de duodénum de rat.

L'extrait aqueux de *D. integrifolia* a augmenté l'amplitude de contraction de $7,67 \pm 0,41$ %, $17,87 \pm 0,94$ % ; $34,81 \pm 1,25$ % ; $55,02 \pm 1,13$ % ; $62,55 \pm 6,58$ % et de $66,93 \pm 1,37$ % aux concentrations respectives de 0,005 ; 0,01 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,5 et 1 mg/mL. La concentration efficace 50 (CE₅₀) de l'extrait aqueux sur l'amplitude a été de 0,054 mg/mL (Intervalle de Confiance (IC) 95 % : 0,0001068 à 6,71 mg/mL) (Figure 30).

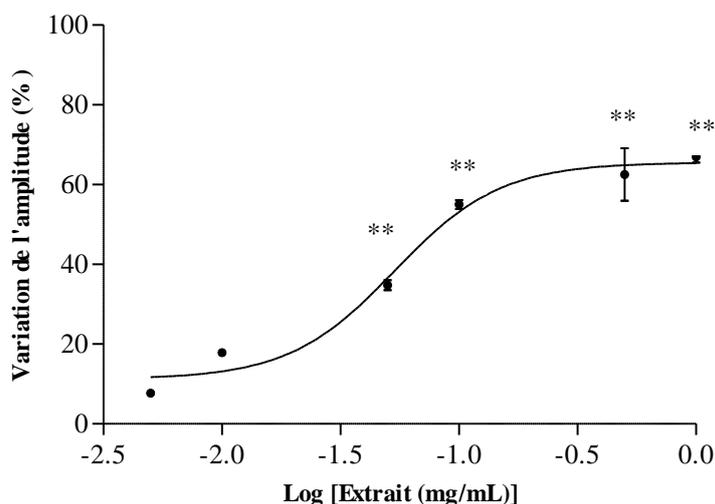


Figure 30 : Effet des concentrations cumulées de l'extrait aqueux de *D. integrifolia* sur l'amplitude de contraction

Différence significative : ** p < 0,01 comparée à la valeur de l'amplitude de base ; n = 5.

Avec l'extrait éthanolique de *D. integrifolia*, l'amplitude des contractions a augmenté de $6,03 \pm 2,13$ % ; $14,07 \pm 1,46$ % ; $27,48 \pm 2,60$ % ; $43,84 \pm 2,24$ % ; $55,56 \pm 3,76$ % et $54,95 \pm 0,58$ %

aux concentrations respectives de 0,005 ; 0,01 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,5 et 1 mg/mL. La concentration efficace 50 (CE₅₀) de l'extrait éthanolique sur l'amplitude a été de 0,059 mg/mL (IC 95 % : 0,046 à 0,075 mg/mL) (Figure 31).

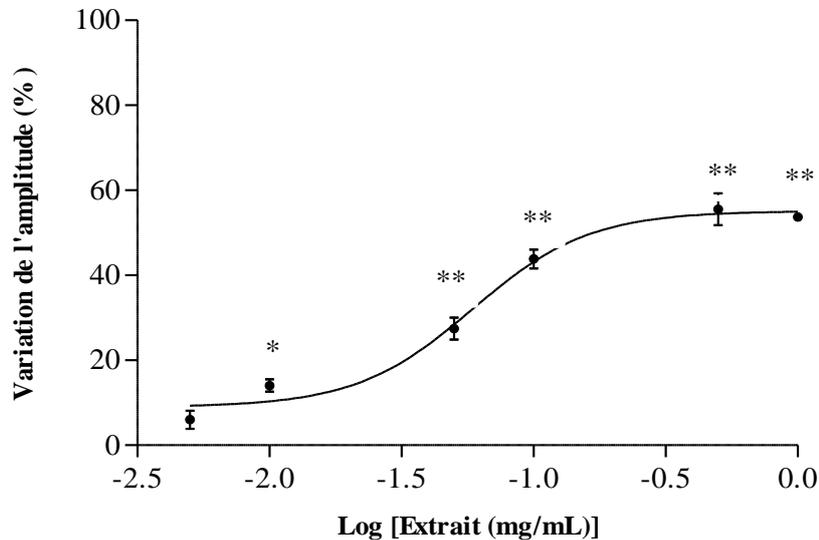


Figure 31 : Effet des concentrations cumulées de l'extrait éthanolique de *D. integrifolia* sur l'amplitude des contractions.

Différence significative : * $p < 0,05$ comparée à la valeur de l'amplitude de base ; ** $p < 0,01$ comparée à la valeur de l'amplitude de base ; $n = 5$.

L'administration des concentrations cumulées de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* (0,005 ; 0,01 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,5 et 1 mg/mL) a entraîné une réduction de façon concentration-dépendante de l'amplitude de contractions (Figure 32).

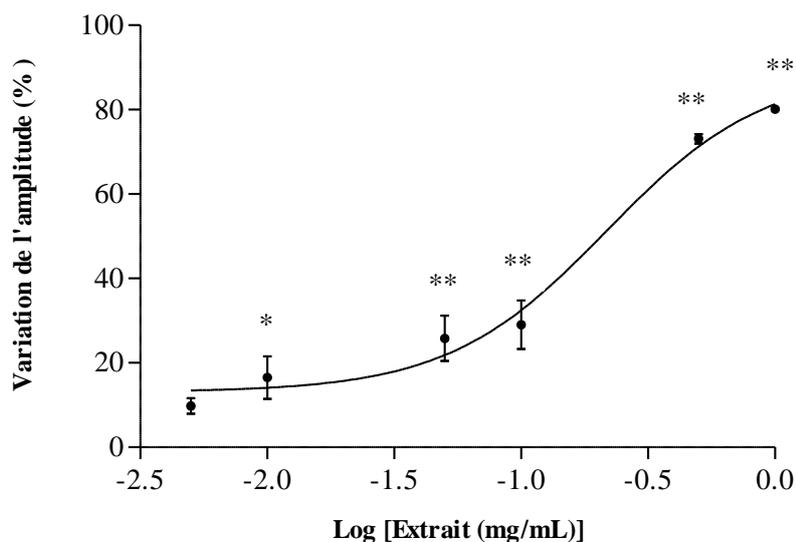


Figure 32 : Effet des concentrations cumulées de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* sur l'amplitude des contractions

Différence significative : * $p < 0,05$ comparée à la valeur de l'amplitude de base ; ** $p < 0,01$ comparée à la valeur de l'amplitude de base ; $n = 5$.

L'administration des concentrations cumulées (0,005 ; 0,01 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,5 et 1 mg/mL) de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* dans le milieu d'incubation a réduit l'amplitude de contractions respectivement de $9,79 \pm 1,86$ % ; $16,50 \pm 5,07$ % ; $25,82 \pm 5,35$ % ; $29,03 \pm 5,74$ % ; $73,11 \pm 1,12$ % et de $80,13 \pm 0,46$ %. La concentration inhibitrice 50 (CI₅₀) de l'extrait hydroéthanolique sur l'amplitude a été de 0,210 mg/mL (IC 95 % : 0,043 à 1,029 mg/mL).

➤ **Effets des extraits aqueux, éthanolique et hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* sur le tonus des contractions**

L'extrait aqueux a augmenté le tonus de base des contractions de $6,67 \pm 0,68$ % ; $17,99 \pm 1,21$ % ; $24,41 \pm 1,29$ % ; $41,40 \pm 3,36$ % ; $64,33 \pm 1,92$ % et de $68,19 \pm 1,15$ % aux concentrations respectives de 0,005 ; 0,01 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,5 et de 1 mg/mL. La concentration efficace 50 (CE₅₀) de l'extrait aqueux sur le tonus a été de 0,10 mg/mL (IC 95 % : 0,0751 à 0,1368 mg/mL) (Figure 33).

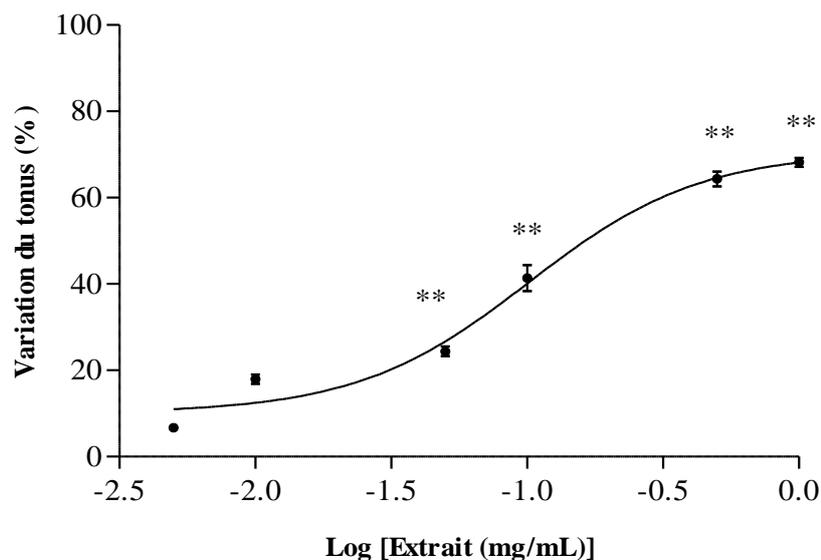


Figure 33 : Effet des concentrations cumulées de l'extrait aqueux de *D. integrifolia* sur le tonus de contraction.

Différence significative : ** $p < 0,01$ comparée à la valeur du tonus de base ; $n = 5$.

L'extrait éthanolique de *D. integrifolia* a augmenté le tonus des contractions avec des taux de $20,27 \pm 2,13$ % ; $27,95 \pm 1,46$ % ; $36,18 \pm 2,60$ % ; $52,76 \pm 2,24$ % ; $70,19 \pm 3,76$ % et $68,14 \pm 0,58$ % aux concentrations respectives de 0,005 ; 0,01 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,5 et de 1 mg/mL. La concentration efficace 50 (CE₅₀) de l'extrait éthanolique sur le tonus a été de 0,078 mg/mL (IC 95 % : 0,063 à 0,096 mg/mL) (Figure 34).

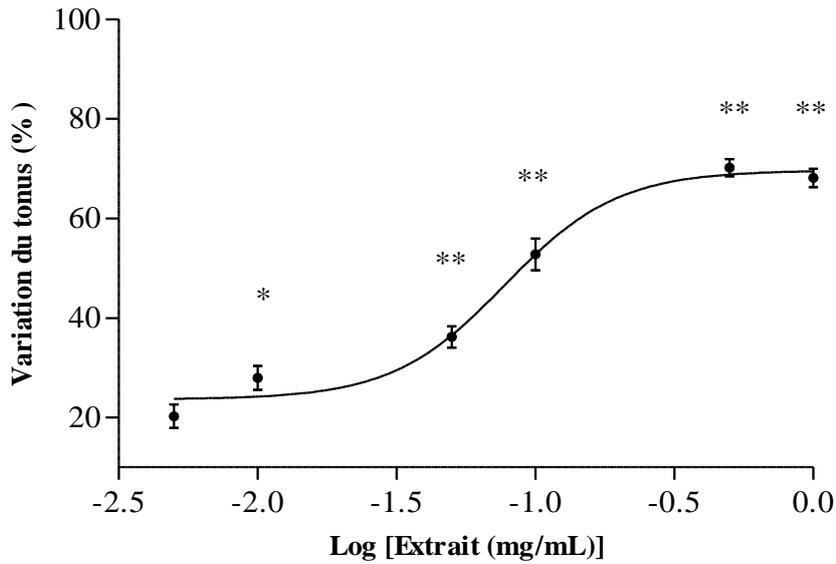


Figure 34 : Effet des concentrations cumulées de l'extrait éthanolique de *D. integrifolia* sur le tonus de contraction. Différence significative : * $p < 0,05$ comparée à la valeur du tonus de base ; ** $p < 0,01$ comparée à la valeur du tonus de base ; $n = 5$.

L'administration des concentrations cumulées (0,005 ; 0,01 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,5 et 1 mg/mL) de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* a réduit le tonus de contractions respectivement de $12,34 \pm 5,20$ % ; $22,23 \pm 4,41$ % ; $29,37 \pm 6,23$ % ; $40,85 \pm 4,07$ % ; $74,43 \pm 5,60$ % et $83,40 \pm 2,90$ %. La concentration inhibitrice 50 (CI₅₀) de l'extrait hydroéthanolique sur le tonus a été de 0,210 mg/mL (IC 95 % : 0,043 à 1,029 mg/mL) (Figure 35).

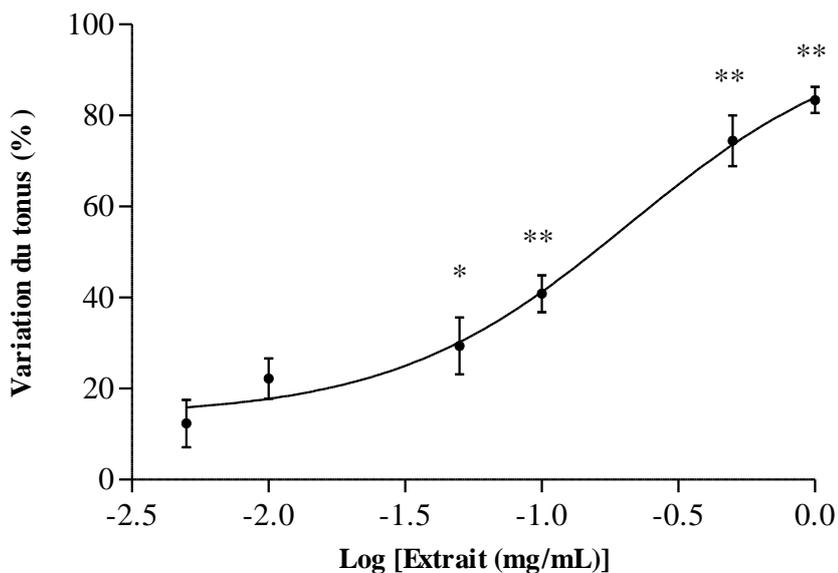


Figure 35 : Effet des concentrations cumulées de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* sur le tonus de contraction.

Différence significative : * $p < 0,05$ comparée à la valeur de l'amplitude de base ; ** $p < 0,01$ comparée à la valeur du tonus de base ; $n = 5$.

➤ Détermination de l'activité des différents extraits de *Dichrocephala integrifolia* sur l'accélération du transit intestinal induite par l'huile de ricin chez le rat

Chez les rats témoins diarrhéiques (TD), la progression du charbon a été de 81,24 % trente minutes après l'administration du charbon. Les extraits hydroéthanolique, éthanolique et aqueux de *D. integrifolia* ont significativement ($P < 0,01$) et de manière dose-dépendante réduit la distance parcourue par le charbon par rapport au groupe traité à l'eau distillée. L'inhibition du transit a été de 31,08 %, 43,52 % et de 65,36 % avec l'extrait hydroéthanolique ; de 32,89 %, 42,27% et de 49,27 % avec l'extrait éthanolique et de 32,65 %, 35,79 % et de 38,47 % avec l'extrait aqueux de *D. integrifolia* respectivement à 25, 50 et 100 mg/kg. L'inhibition du transit a été de 43,79 % pour le loperamide 5 mg/kg (Tableau XVI).

Tableau XVI : Effet des extraits aqueux (WEDi), hydroéthanolique (EWEDi) et éthanolique (EEDi) de *D. integrifolia* et du loperamide (Lop) sur l'accélération du transit intestinal induite par l'huile de ricin chez le rat ; TD : témoins diarrhéiques

Groupes	Traitements	LTI (cm)	LPC (cm)	PC (%)	Inhibition (%)
TD	Eau Distillée				-
	10 mL/kg	88,20 ± 7,55	71,58 ± 6,07	81,24 ± 1,17	
Lop	5 mg/kg	90,00 ± 3,45	41,10 ± 1,75	45,67 ± 0,78	43,79 ± 0,96
	25 mg/kg	78,60 ± 2,25	42,80 ± 2,82	54,52 ± 3,31**	32,89 ± 4,08
EEDi	50 mg/kg	78,60 ± 4,59	36,90 ± 2,30	46,90 ± 0,54**	42,27 ± 0,66
	100 mg/kg	82,50 ± 2,22	33,90 ± 1,22	41,21 ± 1,71**	49,27 ± 2,10
EWEDi	25 mg/kg	76,90 ± 1,38	43,10 ± 1,54	55,99 ± 1,15**	31,08 ± 1,42
	50 mg/kg	77,20 ± 1,38	35,40 ± 1,37	45,88 ± 1,78**	43,52 ± 2,19
	100 mg/kg	85,60 ± 1,98	24,00 ± 0,70	28,14 ± 1,29**	65,36 ± 1,58
	25 mg/kg	90,60 ± 7,61	49,50 ± 4,50	54,71 ± 1,67**	32,65 ± 2,05
WEDi	50 mg/kg	86,70 ± 6,88	45,30 ± 4,20	52,16 ± 2,33**	35,79 ± 2,86
	100 mg/kg	81,30 ± 1,20	40,68 ± 1,37	49,99 ± 1,03**	38,47 ± 1,26

LTI : Longueur totale de l'intestin ; LPC : Longueur parcourue par le charbon ; % PC : Pourcentage de progression du charbon. Lop : loperamide ; Les valeurs représentent les moyennes ± E.S.M. ($n = 5$).

Différence significative : ** $P < 0,01$ comparée au groupe témoin diarrhéique (TD).

III.1.2.4. Activité des différents extraits de *Dichrocephala integrifolia* sur la diarrhée sécrétoire induite par l'huile de ricin chez le rat

➤ Effets sur le nombre de fèces, la quantité d'eau et le temps de latence d'émission des fèces

Les rats témoins diarrhéiques (TD) ont émis 16,80 ± 1,16 fèces diarrhéiques (molles et liquides) d'une masse de 8,40 ± 0,27 g. Les extraits de *D. integrifolia* (25, 50 et 100 mg/kg) ont

significativement ($P < 0,01$) et de manière dose-dépendante inhibé le nombre de fèces diarrhéiques avec des taux d'inhibition de 70,24 % ; 79,76 et de 85,71 % avec l'extrait éthanolique ; de 52,38 % ; 59,52 % et de 67,86 % avec l'extrait hydroéthanolique puis de 33,33 % ; 44,05 et de 61,91 % avec l'extrait aqueux par rapport aux rats traités à l'eau distillée.

Le pourcentage d'émission fécale (EF) a de manière dose-dépendante ($P < 0,01$) diminué de 70,41 % ; 56,71 % et de 25,89 % respectivement aux doses de 12,5 ; 25 et 50 mg/kg avec l'extrait éthanolique, de 47,85 % ; 42,32 % et de 36,10 % respectivement aux doses de 12,5, 25 et 50 mg/kg avec l'extrait hydroéthanolique et de 85,29 %, 64,27 et de 46,73 % respectivement aux doses de 12,5, 25 et 50 mg/kg avec l'extrait aqueux par rapport aux rats traités avec l'eau distillée.

Les extraits de *D. integrifolia* (25, 50 et 100 mg/kg) ont augmenté de manière dose-dépendante le temps de latence (TL). A 100 mg/kg l'extrait hydroéthanolique a augmenté de $128,20 \pm 4,73$ min ($p < 0,01$), de $66,20 \pm 3,40$ min, ($p < 0,01$) pour l'extrait éthanolique et de $62,20 \pm 3,58$ min ($p < 0,01$) pour l'extrait aqueux de *D. integrifolia* par rapport au temps de latence du groupe traité à l'eau distillée ($35,40 \pm 0,51$ min).

Par ailleurs, la quantité d'eau dans les fèces a été significativement ($P < 0,01$) basse chez les rats traités aux extraits de *D. integrifolia* comparé aux rats traités avec l'eau distillée (Tableau XVII).

Tableau XVII : Effets des extraits à l'éthanol (EEDi), à l'éthanol/eau (EWEDi) et à l'eau (WEDi) de *Dichrocephala integrifolia* sur la diarrhée induite par l'huile de ricin chez le rat ; TD : témoins diarrhéiques.

Groupes	Traitements	TL (min)	FSD	MSD (g)	ME (g)	EF (%)	I (%)
TD	Eau Distillée 10 mL/kg	$35,40 \pm 0,51$	$16,80 \pm 1,16$	$8,40 \pm 0,27$	$5,21 \pm 0,47$	100	-
Lop	5 mg/kg	$204,20 \pm 2,42^{**}$	$7,20 \pm 0,80^{**}$	$3,98 \pm 0,31^{**}$	$1,41 \pm 0,14^{**}$	47,39	57,14
	25 mg/kg	$34,60 \pm 2,48$	$5,00 \pm 0,44^{**}$	$5,92 \pm 0,65^{**}$	$2,90 \pm 0,52^{**}$	70,41	70,24
EEDi	50 mg/kg	$42,00 \pm 2,47$	$3,40 \pm 0,40^{**}$	$4,76 \pm 0,51^{**}$	$2,26 \pm 0,15^{**}$	56,71	79,76
	100 mg/kg	$66,20 \pm 3,40^{**}$	$2,40 \pm 0,40^{**}$	$2,17 \pm 0,48^{**}$	$1,58 \pm 0,34^{**}$	25,89	85,71
	25 mg/kg	$85,00 \pm 3,11^{**}$	$8,00 \pm 1,34^{**}$	$4,02 \pm 0,17^{**}$	$2,66 \pm 0,44^{**}$	47,85	52,38
EWEDi	50 mg/kg	$94,40 \pm 2,73^{**}$	$6,80 \pm 0,58^{**}$	$3,55 \pm 0,24^{**}$	$2,02 \pm 0,26^{**}$	42,32	59,52
	100 mg/kg	$128,20 \pm 4,73^{**}$	$5,40 \pm 0,51^{**}$	$3,03 \pm 0,30^{**}$	$1,64 \pm 0,11^{**}$	36,10	67,86
	25 mg/kg	$42,75 \pm 2,92$	$11,20 \pm 0,37^{**}$	$7,16 \pm 0,26^*$	$5,06 \pm 0,18$	85,29	33,33
WEDi	50 mg/kg	$55,00 \pm 3,88^{**}$	$9,40 \pm 0,93^{**}$	$5,40 \pm 0,37^{**}$	$3,83 \pm 0,36^*$	64,27	44,05
	100 mg/kg	$62,20 \pm 3,58^{**}$	$6,40 \pm 0,40^{**}$	$3,92 \pm 0,30^{**}$	$2,47 \pm 0,18^{**}$	46,73	61,91

Lop : loperamide ; TL : Temps de latence ; FSD : Fréquence des selles diarrhéiques ; MSD : Masse des selles diarrhéiques ; ME : Masse d'eau dans les selles diarrhéiques ; EF : Pourcentage des émissions fécales ; I : Pourcentage d'inhibition. Moyennes \pm ESM. (n = 5).

Différence significative : * $p < 0,05$ par rapport au témoin diarrhéique (TD), ** $p < 0,01$ par rapport au témoin diarrhéique (TD).

➤ **Effets des différents extraits de *Dichrocephala integrifolia* sur les sécrétions intestinales induites par l'huile de ricin chez le rat**

Le volume du contenu luminal chez les animaux témoins diarrhéiques a été de $3,80 \pm 0,08$ mL. Les extraits de *D. integrifolia* (25, 50 et 100 mg/kg) ont significativement ($P < 0,01$) et de façon dose-dépendante inhibé le volume des sécrétions intestinales induites par l'huile de ricin avec des taux d'inhibition respectifs de 34,25 % ; 43,71 % et de 52,66 % avec l'extrait hydroéthanolique ; de 45,82 % ; 55,82 % et de 66,33 % avec l'extrait éthanolique puis de 23,20 % ; 35,30 % et de 41,08 % avec l'extrait aqueux (Figure 36).

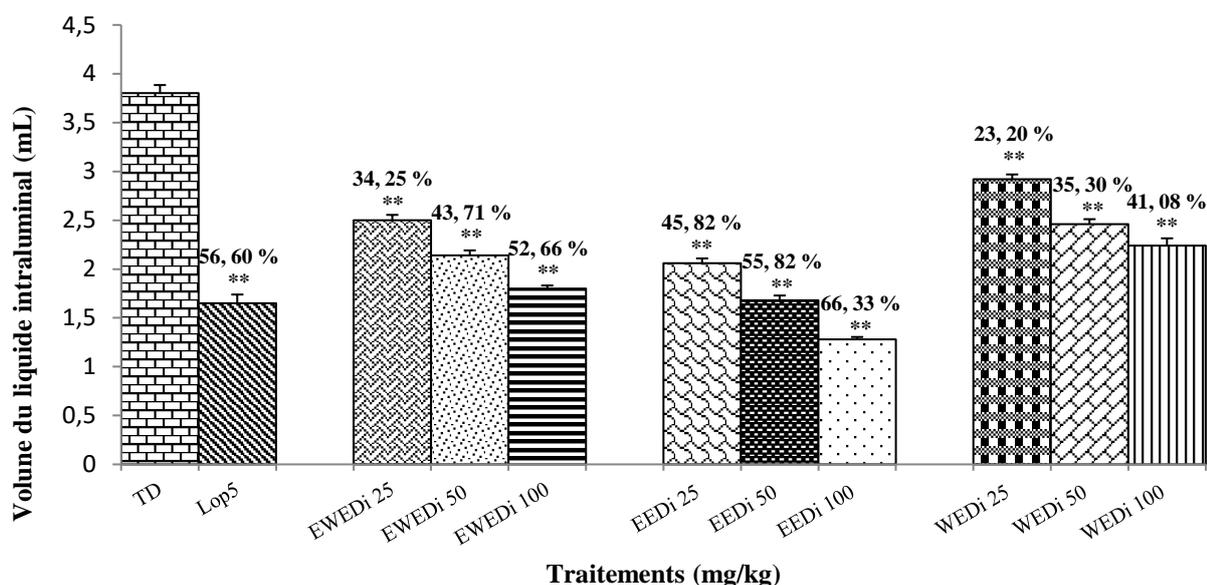


Figure 36 : Volume des sécrétions intestinales induites par l'huile de ricin chez les rats traités aux extraits de *Dichrocephala integrifolia*

Rats diarrhéiques traités à l'eau distillée (TD), Extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* 25 mg/kg (EWEDi25), 50 mg/kg (EWEDi50), 100 mg/kg (EWEDi100), Extrait éthanolique de *D. integrifolia* 25 mg/kg (EEDi25), 50 mg/kg (EEDi50), 100 mg/kg (EEDi100), Extrait aqueux 25 mg/kg (WEDi25), 50 mg/kg (WEDi50), 100 mg/kg (WEDi100) et au loperamide 5 mg/kg (Lop5). (%) : Taux d'inhibition. (n=5).

Différence significative : ** $p < 0,01$ comparé au témoin diarrhéique (TD).

La masse des sécrétions intestinales chez les rats témoins diarrhéiques a été de $3,3 \pm 0,17$ g. Les extraits aqueux, éthanolique et hydroéthanolique (25, 50 et 100 mg/kg) ont significativement ($P < 0,01$) et de façon dose-dépendante réduit la masse des sécrétions intestinales après induction par l'huile de ricin de 33,59 % ; 45,34 % et de 53,42 % avec l'extrait hydroéthanolique ; de 48,30 % ; 58,97 % et de 70,75 % avec l'extrait éthanolique puis de 21,75 % ; 37,63 % et de 44,24 % avec l'extrait aqueux (Figure 37).

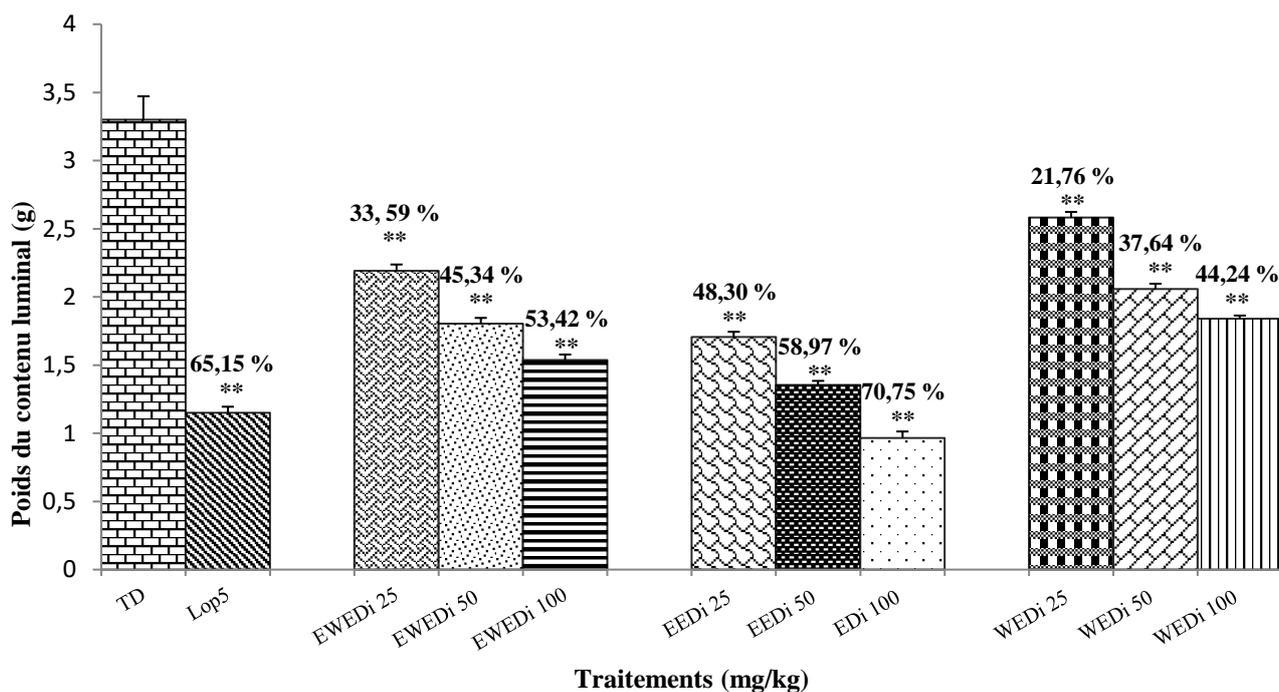


Figure 37 : Masse des sécrétions intestinales induites par l'huile de ricin chez les rats traités aux extraits de *Dichrocephala integrifolia*.

Rats diarrhéiques traités à l'eau distillée (TD), Extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* 25 mg/kg (EWEDi25), 50 mg/kg (EWEDi50), 100 mg/kg (EWEDi100), Extrait éthanolique de *D. integrifolia* aux doses de 25 mg/kg (EEDi25), 50 mg/kg (EEDi50), 100 mg/kg (EEDi100), Extrait aqueux de *D. integrifolia* aux doses de 25 mg/kg (WEDi25), 50 mg/kg (WEDi50), 100 mg/kg (WEDi100) et au lopéramide 5 mg/kg (Lop5). (%) : Taux d'inhibition. (n = 5).
Différence significative : **p<0,01 comparé au témoin diarrhéique (TD).

Le lopéramide (5 mg/kg) administré dans les mêmes conditions que les extraits a significativement ($P < 0,01$) réduit le volume (56,60 %) et le poids des sécrétions intestinales (65,15 %) par rapport au groupe traité à l'eau distillée (TD).

III.1.3. Détermination de la fraction efficace de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia*

III.1.3.1. Analyse phytochimique des différentes fractions de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia*

➤ Analyse phytochimique qualitative

L'analyse phytochimique des fractions à l'éthanol, à l'acétate d'éthyle et au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* a révélé la présence des tanins, des alcaloïdes, des saponines, des composés phénoliques, des coumarines, des polysaccharides, des anthraquinones et l'absence des triterpènes et sucres réducteurs (Tableau XVIII). La fraction au dichlorométhane ne contient pas de poly-uronides mais possède en plus des autres composés secondaires les stérols.

Tableau XVIII : Classes des composés chimiques identifiés dans les fractions à l'éthanol, à l'acétate d'éthyle et au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia*

Groupes structuraux	Fraction à l'éthanol	Fraction à l'acétate d'éthyle	Fraction au dichlorométhane
Tanins catéchiques	+	+	+
Tanins galliques	-	-	-
Composés phénoliques	+	+	+
Anthraquinones	+	+	+
Substances réductrices	-	-	-
Alcaloïdes	+	+	+
Anthocyanes	+	+	+
Coumarines	+	+	+
Flavonoïdes	+	+	+
Stérols	-	-	+
Triterpènes	-	-	-
Acides gras	+	+	+
Saponines	+	+	+
Poly-uronides	-	+	-
Polysaccharides	+	+	+

+ Présence ; - Absence ;

➤ Analyse phytochimique quantitative

La fraction à l'éthanol (FEDi) a une quantité élevée en flavonols (56,26 mg/g d'équivalent quercétine), suivie des flavonoïdes (8,56 mg/g d'équivalent quercétine), des tanins (5,24 mg/g d'équivalent acide gallique), des composés phénoliques (4,36 mg/g d'équivalent acide tannique) (Tableau XIX).

La fraction à l'acétate d'éthyle (FAEDi) a une quantité élevée en flavonoïdes (104,80 mg/g d'équivalent quercétine), suivie des (flavonols 93,53 mg/g d'équivalent quercétine), des composés phénoliques (12,19 mg/g d'équivalent acide tannique) et des tanins (4,41 mg/g d'équivalent acide gallique) (Tableau XIX).

La fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* (FDDi) a une quantité élevée en flavonoïdes (80,70 mg/g d'équivalent quercétine), suivie des flavonols (49,28 mg/g d'équivalent quercétine), des composés phénoliques (6,79 mg/g d'équivalent acide tannique) et des tanins (5,22 mg/g d'équivalent acide gallique) (Tableau XIX).

Tableau XIX : Quantification des composés chimiques identifiés dans les fractions au dichlorométhane, à l'acétate éthyle et à l'éthanol de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia*

Fractions	Polyphénols totaux (mg/g d'équivalent acide tannique)	Flavonoïdes (mg/g d'équivalent quercétine)	Flavonols (mg/g d'équivalent quercétine)	Tanins (mg/g d'équivalent acide gallique)
FEDi	4,36 ± 0,16	8,56 ± 0,38	56,26 ± 0,33	5,24 ± 0,09
FAEDi	12,19 ± 0,15	104,80 ± 0,01	93,53 ± 0,72	4,41 ± 0,08
FDDi	6,79 ± 0,03	80,70 ± 0,49	49,28 ± 0,65	5,22 ± 0,13

FEDi : fraction à l'éthanol de *D. integrifolia* ; FAEDi : fraction à l'acétate d'éthyle de *D. integrifolia* ; FDDi: fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* ; n = 3.

III.1.3.2. Propriétés antimicrobiennes des différentes fractions de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia*

➤ Sensibilité des souches microbiennes

Le screening de l'activité antimicrobienne a montré que les fractions à l'éthanol, à l'acétate d'éthyle et au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* présentent une activité dose dépendante sur les souches microbiennes testées (*Salmonella typhi*, *Salmonella choleraesuis*, *S. dysenteriae* A 1, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Shigella flexneri*) (Tableau XX). Pour des concentrations allant de 0,19 à 50 mg/mL, la fraction à l'éthanol de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* (FEDi) a inhibé de façon dose dépendante la croissance de *S. flexneri*, *S. choleraesuis*, *E. coli*, *S. typhi*, et *S. aureus*. À 50 mg/mL, l'inhibition a été de 15,44 mm sur *S. flexneri* ; 14,56 sur *Salmonella choleraesuis* ; 13,17 mm sur *Escherichia coli* ; 13,01 mm sur *S. typhi* et de 10,47 mm sur *S. aureus*. La FEDi n'a pas inhibé la croissance de *S. dysenteriae* A 1, de *P. aeruginosa*, de *E. faecalis* et celle de *C. albicans* (Tableau XX).

La fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'éthanol/eau de *D. integrifolia* (FAEDi) a inhibé la croissance de *S. flexneri*, *S. choleraesuis*, *S. typhi*, *E. coli*, et *S. aureus* de façon dose dépendante, pour des concentrations allant de 0,19 à 50 mg/mL. À 50 mg/mL, les diamètres d'inhibition avec la FAEDi ont été de 14,99 mm sur *S. flexneri* ; 14,08 mm *S. choleraesuis* ; 13,97 mm sur *S. typhi* ; 13,84 mm sur *E. coli* et de 10,16 mm sur *S. aureus*. La FAEDi n'a pas inhibé la croissance de *S. dysenteriae* type 1, *P. aeruginosa*, *E. faecalis* et *C. albicans* (Tableau XX).

L'activité antibactérienne de la fraction au dichlorométhane de l'extrait à l'éthanol/eau de *D. integrifolia* (FDDi) a été dose dépendante pour des concentrations allant de 0,19 à 50 mg/mL. Les diamètres d'inhibition à 50 mg/mL de la FDDi ont été de 17,52 mm sur *S. typhi* ; 15,83 mm sur *S. dysenteriae* A 1 ; 14,98 mm sur *S. choleraesuis* et de 13,56 mm sur *S. aureus*. La FDDi n'a pas inhibé la croissance de *P. aeruginosa*, de *C. albicans*, de *E. faecalis* et de *E. coli* (Tableau XX).

Tableau XX : Sensibilité (Ø d'inhibition en mm) de *S. typhi*, *S. choleraesuis*, *S. flexneri*, *S. dysenteriae A1*, *E. coli*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* et *C. albicans* aux fractions à l'éthanol, à l'acétate d'éthyle et au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia*.

		Concentrations des fractions (mg/mL)										
Fractions	Souches	0,095	0,19	0,3	0,78	1,56	3,12	6,25	12,5	25	50	
FEDi	<i>Salmonella typhi</i>	9,67 ± 0,22	9,97 ± 0,11	10,51 ± 0,09	10,93 ± 0,22	10,94 ± 0,18	11,33 ± 0,26	11,94 ± 0,13	12,20 ± 0,10	12,82 ± 0,13	13,01 ± 0,10	
	<i>Escherichia coli</i>	9,44 ± 0,18	9,50 ± 0,29	9,88 ± 0,35	10,06 ± 0,10	10,24 ± 0,15	12,14 ± 0,67	12,47 ± 0,93	11,80 ± 0,88	12,38 ± 0,11	13,17 ± 0,30	
	<i>Shigella dysenteriae A1</i>											
	<i>Salmonella choleraesuis</i>	9,35 ± 0,16	9,49 ± 0,55	9,71 ± 0,20	10,01 ± 0,22	11,21 ± 0,45	12,12 ± 2,12	12,44 ± 1,10	12,99 ± 0,11	13,51 ± 0,40	14,56 ± 0,19	
	<i>Shigella flexneri</i>	8,00 ± 0,45	8,22 ± 0,24	8,39 ± 0,11	8,40 ± 1,89	8,48 ± 1,32	10,33 ± 0,20	10,83 ± 0,11	11,62 ± 0,10	12,25 ± 0,30	15,44 ± 0,90	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	8,01 ± 0,10	10,14 ± 0,60	10,47 ± 0,88	
	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
FAEDi	<i>Salmonella typhi</i>	8,30 ± 0,13	9,27 ± 0,10	10,48 ± 0,18	10,57 ± 0,12	10,74 ± 0,10	11,43 ± 1,33	11,62 ± 0,97	11,95 ± 1,16	12,98 ± 0,16	13,97 ± 1,14	
	<i>Escherichia coli</i>	8,63 ± 0,18	9,00 ± 0,18	9,90 ± 0,10	10,69 ± 0,33	11,56 ± 0,19	12,11 ± 0,35	12,11 ± 0,90	12,75 ± 0,20	13,27 ± 0,99	13,84 ± 0,54	
	<i>Shigella dysenteriae A1</i>											
	<i>Salmonella choleraesuis</i>	9,40 ± 0,80	9,44 ± 0,45	9,87 ± 0,78	10,27 ± 0,08	11,40 ± 0,09	11,92 ± 0,34	12,29 ± 0,95	12,99 ± 0,15	13,91 ± 0,98	14,08 ± 0,11	
	<i>Shigella flexneri</i>	8,27 ± 0,34	9,02 ± 0,90	9,36 ± 0,55	10,72 ± 0,67	11,13 ± 0,98	11,29 ± 0,33	11,52 ± 1,10	13,79 ± 1,22	14,40 ± 0,44	14,99 ± 0,10	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	8,09 ± 1,10	8,25 ± 1,75	10,16 ± 2,10	
	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
FDDi	<i>Salmonella typhi</i>	8,15 ± 0,11	9,21 ± 0,20	10,18 ± 0,38	10,52 ± 0,12	11,40 ± 0,10	12,23 ± 0,33	13,12 ± 0,97	14,05 ± 0,86	15,18 ± 0,16	17,52 ± 0,44	
	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	<i>Shigella dysenteriae A1</i>	8,97 ± 0,34	9,37 ± 0,90	10,54 ± 0,55	11,00 ± 0,67	11,28 ± 0,98	12,02 ± 0,23	13,74 ± 0,20	14,10 ± 0,26	15,09 ± 0,44	15,83 ± 0,10	
	<i>Salmonella choleraesuis</i>	9,02 ± 0,30	9,31 ± 0,25	9,89 ± 0,61	10,45 ± 0,12	11,00 ± 0,19	11,40 ± 0,24	12,09 ± 0,35	12,74 ± 0,19	14,12 ± 0,28	14,98 ± 0,11	
	<i>Shigella flexneri</i>	-	8,27 ± 0,90	9,36 ± 0,55	9,72 ± 0,67	10,13 ± 0,98	10,59 ± 0,33	11,02 ± 0,30	11,79 ± 0,42	12,10 ± 0,44	12,80 ± 0,10	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	08,23 ± 0,13	09,03 ± 0,13	10,03 ± 0,21	10,43 ± 0,31	11,00 ± 0,21	11,59 ± 0,30	12,23 ± 1,75	13,56 ± 2,10	
	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Les valeurs représentent les moyennes ± E.S.M (n=3). (-) : Absence de sensibilité.

➤ **Concentration minimale inhibitrice (CMI) des fractions**

Les CMI ont été de 0,0075 ; 0,0075 ; 0,015 ; 0,03 et 0,25 mg/mL respectivement sur *S. typhi*, *E. coli*, *S. choleraesuis*, *S. flexneri* et sur *S. aureus* avec la fraction à l'acétate d'éthyle. La fraction au dichlorométhane a présenté des CMI de 0,0018 ; 0,0037 ; 0,015 ; 0,03 et 0,12 mg/mL respectivement sur *S. typhi*, *S. choleraesuis*, *S. flexneri*, *S. dysenteriae* A 1 et sur *S. aureus*. Avec la fraction à l'éthanol, les CMI de 0,0037 ; 0,0037 ; 0,015 ; 0,015 et 0,5 mg/mL ont été obtenues respectivement sur *S. choleraesuis*, *E. coli*, *S. typhi*, *S. flexneri* et sur *S. aureus* (Tableau XXI). La plus petite CMI a été de 0,0018 mg/mL sur *S. typhi* avec la fraction au dichlorométhane.

➤ **Concentration minimale bactéricide (CMB) des fractions**

La fraction à l'acétate d'éthyle a présenté des CMB de 0,03, 0,03, 0,06, 0,06 et 1 mg/mL respectivement sur *S. typhi*, *S. choleraesuis*, *E. coli*, *S. flexneri*, et sur *S. aureus*. Avec la fraction au dichlorométhane, les CMB ont de 0,0037 ; 0,0037 ; 0,03 ; 0,12 et 0,5 mg/mL respectivement sur *S. typhi*, *S. choleraesuis*, *S. flexneri*, *S. dysenteriae* A 1, et sur *S. aureus*. Des CMB de 0,0037 ; 0,0075 ; 0,06 ; 0,12 et 1 mg/mL ont été obtenues pour la fraction à l'éthanol respectivement sur *S. choleraesuis*, *E. coli*, *S. flexneri*, *S. typhi* et sur *S. aureus* (Tableau XXI). La plus petite CMB a été de 0,0037 mg/mL sur *typhi* et *S. choleraesuis* avec les fractions au dichlorométhane et à l'éthanol

➤ **Pouvoir antimicrobien des fractions**

La fraction à l'acétate d'éthyle a une activité bactéricide avec un rapport CMB/CMI de 2, 2, 4 et 4 respectivement sur *S. flexneri*, *S. choleraesuis*, *S. typhi* et *S. aureus* et une activité bactériostatique sur *E. coli* avec un rapport CMB/CMI de 8. La fraction au dichlorométhane a une activité bactéricide avec un rapport CMB/CMI de 1, 2, 2, 4 et 4 sur *S. choleraesuis*, *S. typhi*, *S. flexneri*, *S. dysenteriae* A 1 et *S. aureus*. La fraction à l'éthanol de *D. integrifolia* a présenté une activité bactéricide avec le rapport CMB/CMI de 1, 2, 2 et 4 sur *S. choleraesuis*, *E. coli*, *S. aureus* et sur *S. flexneri*. Une activité bactériostatique sur *S. typhi* avec le rapport CMB/CMI de 8 à été enregistrée.

Tableau XXI : Concentration minimale inhibitrice (CMI) et concentration minimale bactéricide (CMB) des fractions de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* sur *S. typhi*, *S. choleraesuis*, *S. flexneri*, *S. dysenteriae A1*, *E. coli*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* et sur *C. albicans*

Fractions	Souches microbiennes								
	<i>Salmonella typhi</i>			<i>Salmonella choleraesuis</i>			<i>Shigella dysenteriae A 1</i>		
	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI
FEDi	0,015	0,12	8	0,0037	0,0037	1	-	-	-
FAEDi	0,0075	0,03	4	0,015	0,03	2	-	-	-
FDDi	0,0018	0,0037	2	0,0037	0,0037	1	0,03	0,12	4

Fractions	Souches microbiennes								
	<i>Shigella flexneri</i>			<i>Escherichia coli</i>			<i>S. aureus</i>		
	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI
FEDi	0,015	0,06	4	0,0037	0,0075	2	0,5	1	2
FAEDi	0,03	0,06	2	0,0075	0,06	8	0,25	1	4
FDDi	0,015	0,03	2	-	-	-	0,12	0,5	4

FEDi : fraction à l'éthanol de *D. integrifolia* ; FAEDi : fraction à l'acétate d'éthyle de *D. integrifolia* ; FDDi : fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia*.

III.1.3.3. Activité des fractions de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* sur la contraction et la motilité intestinales

➤ Activité de la fraction à l'acétate d'éthyle, à l'éthanol et au dichlorométhane sur l'amplitude de contractions

Le fragment de duodénum sous une tension de 1 gF présente des contractions spontanées phasiques d'amplitude moyenne de $0,59 \pm 0,02$ gF (n = 5) et de tonus de base de $3 \pm 0,2$ gF (n = 5) (Figure 38).

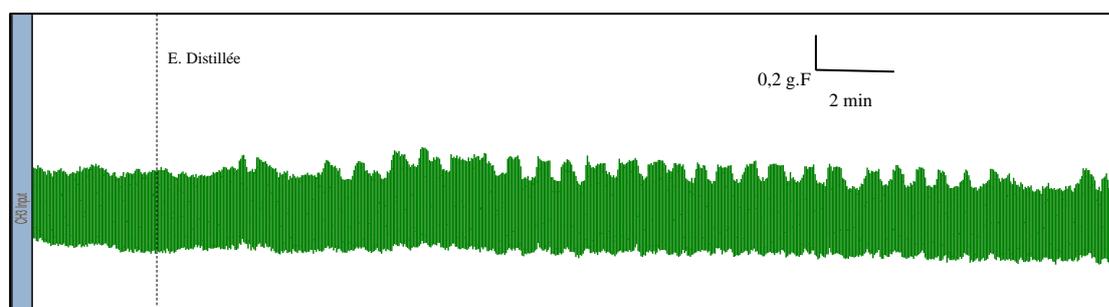


Figure 38 : Tracé original des contractions spontanées de duodénum de rat

Avec la fraction à l'acétate d'éthyle de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* (0,005 - 0,01 - 0,05 - 0,1 - 0,5 et 1 mg/mL), les hausses de l'amplitude des contractions ont été respectivement de $12,58 \pm 2,35$ % ; $14,00 \pm 4,85$ % ; $25,60 \pm 1,65$ % ; $52,43 \pm 3,07$ % ; $62,43 \pm 5,54$ % et de $64,42 \pm 4,54$ %. La concentration efficace 50 (CE₅₀) de la fraction à l'acétate sur l'amplitude a été de 0,069 mg/mL (IC 95 % : 0,056 à 0,086 mg/mL) (Figure 39).

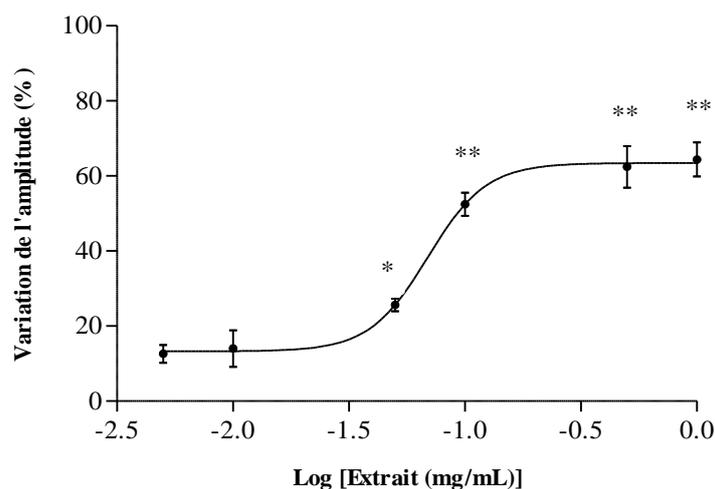


Figure 39 : Effet des concentrations cumulées de la fraction à l'acétate d'éthyle sur les contractions spontanées de duodénum de rat

Différence significative : * $p < 0,05$ comparée à la valeur de l'amplitude de base ; ** $p < 0,01$ comparée à la valeur de l'amplitude de base ; $n = 5$.

Avec la fraction à l'éthanol de l'extrait hydroéthanologique de *D. integrifolia* (0,005 ; 0,01 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,5 et 1 mg/mL), les hausses de l'amplitude des contractions ont été respectivement de $12,00 \pm 3,05$ % ; $14,65 \pm 2,48$ % ; $26,47 \pm 4,69$ % ; $40,56 \pm 8,47$ % ; $57,92 \pm 2,62$ % et de $49,55 \pm 6,63$ %. La concentration efficace 50 (CE₅₀) de la fraction à l'éthanol sur l'amplitude a été de 0,070 mg/mL (IC 95 % : 0,048 à 0,103 mg/mL) (Figure 40).

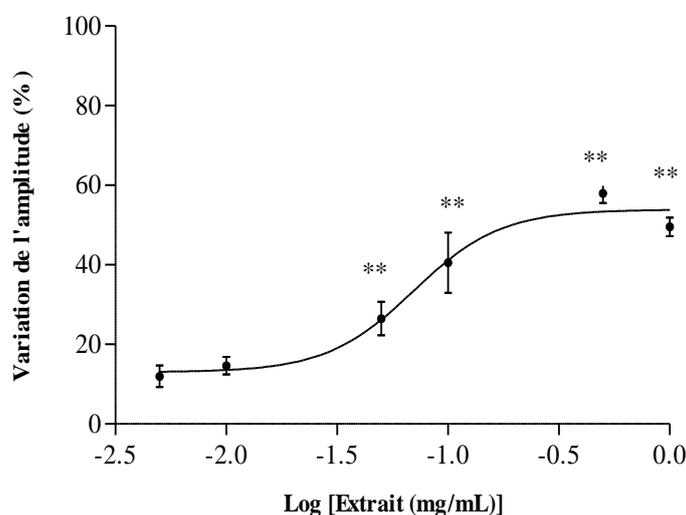


Figure 40 : Effet des concentrations cumulées de la fraction à l'éthanol sur l'amplitude de contraction

Différence significative : * $p < 0,05$ comparée à la valeur de l'amplitude de base ; ** $p < 0,01$ comparée à la valeur de l'amplitude de base ; $n = 5$.

La fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanologique de *D. integrifolia* (0,005 ; 0,01 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,5 et 1 mg/mL) a réduit l'amplitude de contractions respectivement de $11,39 \pm 0,98$ % ; $18,7 \pm 1,52$ % ; $25,82 \pm 2,50$ % ; $39,03 \pm 2,76$ % ; $63,11 \pm 1,12$ % et de $74,93 \pm 2,08$ %.

La concentration inhibitrice 50 (CI₅₀) de la fraction au dichlorométhane sur l'amplitude des contractions a été de 0,384 mg/mL (IC 95 % : 0,039 à 3,789 mg/mL) (Figure 41).

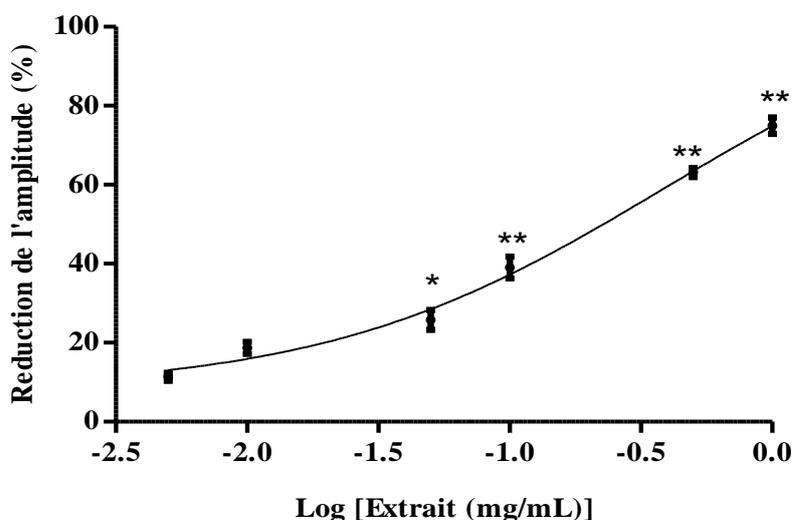


Figure 41 : Effet des concentrations cumulées de la fraction au dichlorométhane sur l'amplitude de contraction

Différence significative : * $p < 0,05$ comparée à la valeur de l'amplitude de base ; ** $p < 0,01$ comparée à la valeur de l'amplitude de base ; $n = 5$.

➤ **Effets des fractions à l'acétate d'éthyle, à l'éthanol et au dichlorométhane sur le tonus de contractions**

La fraction à l'acétate d'éthyle (0,005 ; 0,01 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,5 et 1 mg/mL) a provoqué des hausses du tonus des contractions respectivement de $12,27 \pm 1,73$ % ; $16,17 \pm 1,44$ % ; $18,74 \pm 2,02$ % ; $22,06 \pm 2,89$ % ; $53,83 \pm 3,46$ % et de $58,49 \pm 2,89$ %. La concentration efficace 50 (CE₅₀) de la fraction à l'acétate d'éthyle sur le tonus a été de 0,217 mg/mL (IC 95 % : 0,124 à 0,378 mg/mL) (Figure 42).

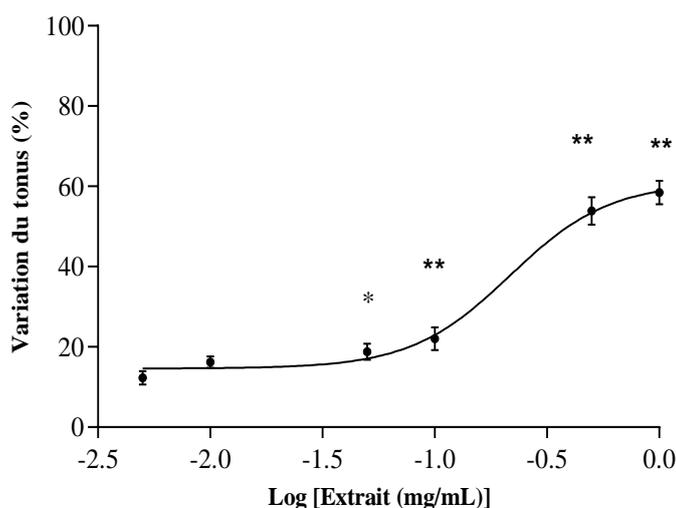


Figure 42 : Effet des concentrations cumulées de la fraction à l'acétate d'éthyle sur le tonus de contraction

Différence significative : * $p < 0,05$ comparée à la valeur du tonus de base ; ** $p < 0,01$ comparée à la valeur de l'amplitude de base ; $n = 5$.

Le tonus des contractions avec la fraction à l'éthanol de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* (0,005 ; 0,01 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,5 et 1 mg/mL) a été respectivement de $5,39 \pm 4,25$ % ; $15,62 \pm 4,41$ % ; $23,40 \pm 5,06$ % ; $35,29 \pm 7,92$ % ; $69,95 \pm 3,78$ % et de $79,19 \pm 7,78$ %. La concentration efficace 50 (CE₅₀) de la fraction à l'éthanol sur le tonus a été de 0,209 mg/mL (IC 95 % : 0,032 à 1,367 mg/mL) (Figure 43).

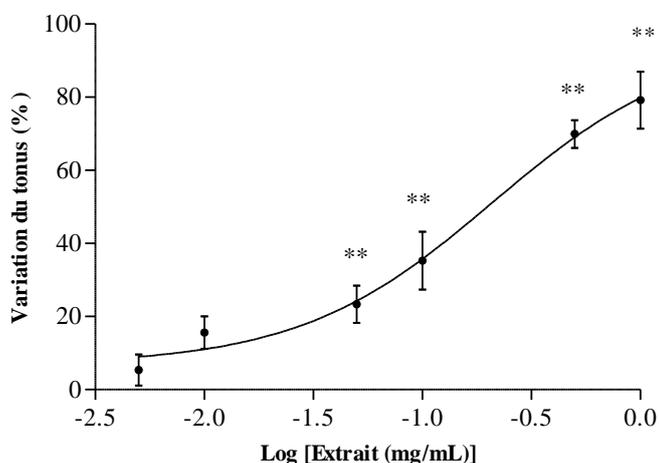


Figure 43 : Effet des concentrations cumulées de la fraction à l'éthanol sur le tonus de contraction
Différence significative : ** p < 0,01 comparée à la valeur du tonus de base ; n = 5.

La fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* (0,005, 0,01, 0,05, 0,1, 0,5 et 1 mg/mL) a réduit le tonus de contractions respectivement de $14,22 \pm 0,97$ % , $22,23 \pm 1,67$ % , $33,57 \pm 4,09$ % , $44,85 \pm 1,80$ % , $74,4 \pm 5,60$ % , $84,63 \pm 2,22$ % . La concentration inhibitrice 50 (CI₅₀) de la fraction au dichlorométhane sur le tonus des contractions a été de 0,217 mg/mL (IC 95 % = 0,098 to 0,481 mg/mL) (Figure 44).

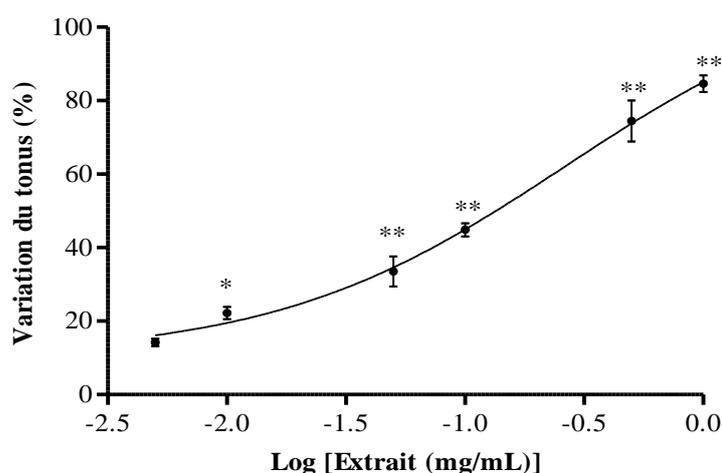


Figure 44 : Effet des concentrations cumulées de la fraction au dichlorométhane sur le tonus de contraction
Différence significative : * p < 0,05 comparée à la valeur de tonus de base ; ** p < 0,01 comparée à la valeur du tonus de base ; n = 5.

➤ **Activité des différentes fractions de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* sur le transit intestinal induit par l'huile de ricin chez le rat**

Chez les rats témoins diarrhéiques (TD), la progression intestinale a été de 81,24 % trente minutes après l'administration du charbon. La fraction à l'acétate d'éthyle et la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* (12,5 - 25 et 50 mg/kg) ont significativement ($P < 0,01$) et de manière dose-dépendante réduit la distance parcourue par le charbon par rapport aux rats traités à l'eau distillée. L'inhibition du transit a été de 29,43 %, 40,63 % et de 51,01 % avec la fraction à l'acétate d'éthyle et de 42,89 %, 57,95% et de 63,75 % avec la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* respectivement aux doses de 12,5, 25 et 50 mg/kg. L'inhibition du transit a été de 35,06 % et de 22,44 % avec la fraction à l'éthanol respectivement aux doses de 12,5 et 50 mg/kg.

Le loperamide 5 mg/kg a inhibé le transit de 43,79 % pour (Tableau XXII).

Tableau XXII : Effet des fractions à l'éthanol (FEDi), à l'acétate d'éthyle (FAEDi) et au dichlorométhane (FDDi) de *D. integrifolia* et du loperamide (Lop) sur l'accélération du transit intestinal induite par l'huile de ricin chez les rats

Groupes	Traitements	LTI (cm)	LPC (cm)	PC (%)	Inhibition (%)
TD	Eau Distillée 10 mL/kg	88,20 ± 7,55	71,58 ± 6,07	81,24 ± 1,17	-
Lop	5 mg/kg	90,00 ± 3,45	41,10 ± 1,75	45,67 ± 0,78	43,79 ± 0,96
FAEDi	12,5 mg/kg	76,60 ± 0,93	43,90 ± 0,71	57,33 ± 0,95**	29,43 ± 1,18
	25 mg/kg	80,20 ± 2,18	38,64 ± 1,27	48,23 ± 1,40**	40,63 ± 1,73
	50 mg/kg	78,00 ± 1,87	31,10 ± 1,38	39,79 ± 0,85**	51,01 ± 1,04
FEDi	12,5 mg/kg	78,20 ± 3,93	41,40 ± 3,11	52,75 ± 2,07**	35,06 ± 2,55
	25 mg/kg	80,80 ± 2,89	51,02 ± 2,70	63,01 ± 1,15**	22,44 ± 1,42
	50 mg/kg	76,80 ± 2,58	60,54 ± 2,20	78,83 ± 1,14	2,97 ± 1,40
FDDi	12,5 mg/kg	87,50 ± 2,30	40,60 ± 1,50	46,40 ± 1,07**	42,89 ± 1,31
	25 mg/kg	75,75 ± 0,86	25,875 ± 1,65	34,16 ± 1,87**	57,95 ± 2,30
	50 mg/kg	21,50 ± 1,12	73,00 ± 3,56	29,45 ± 0,36**	63,75 ± 0,45

LTI : Longueur totale de l'intestin. LPC : Longueur parcourue par le charbon. % PC : Pourcentage de progression du charbon. Les valeurs représentent les moyennes ± E.S.M. (n = 5). Différence significative ** $P < 0,01$ comparée au groupe témoin diarrhéique (TD).

III.1.3.4. Activité des différentes fractions de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* sur les diarrhées sécrétoires induite par l'huile de ricin chez les rats

➤ **Effets des fractions sur la fréquence d'émission, la quantité, la quantité d'eau et le temps de latence des fèces.**

Les rats témoins diarrhéiques (TD) ont émis 16,80 ± 1,16 fèces diarrhéiques (molles et liquides) d'une masse de 8,40 ± 0,27 g. La fraction à l'acétate d'éthyle et la fraction au

dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* (12,5, 25 et 50 mg/kg) ont significativement ($P < 0,01$) et de manière dose-dépendante inhibé le nombre de fèces diarrhéiques avec des taux d'inhibition de 65,48 % ; 72,62 % et de 83,33 % avec la fraction à l'acétate d'éthyle et de 89,29 % ; 91,67 %, et de 94,05 % avec la fraction au dichlorométhane par rapport aux rats diarrhéiques (TD).

Aux doses respectives de 12,5 ; 25 et 50 mg/kg la fraction à l'acétate d'éthyle a de façon dose-dépendante ($P < 0,01$) a réduit ces émissions fécales de 52,89 % ; 46,63 % et 32,03 % et la fraction au dichlorométhane de 20,01 % ; 12,58 % et de 10,26 %.

Le temps de latence a augmenté suivant les doses et était avec la dose 50 mg/kg 4 fois plus important ($164,4 \pm 6,46$ min, $p < 0,01$) avec la fraction au dichlorométhane, 2 fois plus important ($82,80 \pm 5,22$ min, $p < 0,01$) avec la fraction à l'acétate d'éthyle et de 2 fois moins important ($14,60 \pm 5,23$ min) avec la fraction éthanolique de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia*. Par ailleurs, les fractions de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* ont significativement ($P < 0,01$) diminué la quantité d'eau dans les fèces (Tableau XXIII).

Tableau XXIII : Effets des fractions à l'éthanol (FEDi), à l'acétate d'éthyle (FAEDi) et au dichlorométhane (FDDi) de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* sur la diarrhée induite par l'huile de ricin chez le rat.

Groupes	Traitements	TL (min)	FSD	MSD (g)	ME (g)	EF (%)	I (%)
TD	Eau Distillée 10 mL/kg	$35,40 \pm 0,51$	$16,80 \pm 1,16$	$8,40 \pm 0,27$	$5,21 \pm 0,47$	100	-
Lop 5	5 mg/kg	$204,20 \pm 2,42^{**}$	$7,20 \pm 0,80^{**}$	$3,98 \pm 0,31^{**}$	$1,41 \pm 0,14^{**}$	47,39	57,14
	12,5 mg/kg	$51,80 \pm 5,54^*$	$5,80 \pm 0,20^{**}$	$4,44 \pm 0,36^{**}$	$3,34 \pm 0,36^*$	52,89	65,48
FAEDi	25 mg/kg	$68,80 \pm 2,73^{**}$	$4,60 \pm 0,24^{**}$	$3,92 \pm 0,40^{**}$	$2,93 \pm 0,33^{**}$	46,63	72,62
	50 mg/kg	$82,80 \pm 5,22^{**}$	$2,80 \pm 0,20^{**}$	$2,69 \pm 0,21^{**}$	$2,14 \pm 0,45^{**}$	32,03	83,33
	12,5 mg/kg	$54,00 \pm 5,35^*$	$4,00 \pm 0,89^{**}$	$3,51 \pm 0,79^{**}$	$2,52 \pm 0,60^{**}$	41,91	76,19
FEDi	25 mg/kg	$32,00 \pm 6,32$	$8,20 \pm 0,58^{**}$	$4,48 \pm 0,74^{**}$	$3,35 \pm 0,59^*$	53,31	51,19
	50 mg/kg	$14,60 \pm 5,23^*$	$10,00 \pm 0,89^{**}$	$5,15 \pm 0,53^{**}$	$3,67 \pm 0,38^*$	61,26	40,48
	12,5 mg/kg	$108,80 \pm 3,31^{**}$	$1,80 \pm 0,48^{**}$	$1,68 \pm 0,61^{**}$	$0,84 \pm 0,31^{**}$	20,01	89,29
FDDi	25 mg/kg	$125,60 \pm 2,77^{**}$	$1,40 \pm 0,24^{**}$	$1,06 \pm 0,55^{**}$	$0,45 \pm 0,15^{**}$	12,58	91,67
	50 mg/kg	$164,40 \pm 6,46^{**}$	$1,00 \pm 0,54^{**}$	$0,86 \pm 0,49^{**}$	$0,33 \pm 0,19^{**}$	10,26	94,05

TL : Temps de latence. FSD : Fréquence des selles diarrhéiques. MSD : Masse des selles diarrhéiques. ME : Masse d'eau dans les selles diarrhéiques. EF : Pourcentage des émissions fécales. I : Inhibition. Moyennes \pm ESM. (n = 5).

Différence significative * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ par rapport au témoin diarrhéique (TD).

➤ **Effets antisécrétoires des différentes fractions de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* sur la diarrhée induite à l'huile de ricin chez le rat**

Chez les animaux témoins diarrhéiques, le volume du contenu luminal a été de $3,80 \pm 0,08$ mL. La fraction à l'acétate d'éthyle (FAEDi) et la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* (FDDi) à 12,5 ; 25 et 50 mg/kg ont significativement ($P < 0,01$) et de façon dose-dépendante inhibé le volume des sécrétions intestinales induites par l'huile de ricin avec des taux d'inhibition de 50,55 % ; 60,55 % et 67,81 % avec FAEDi ; et de 68,44 % ; 76,33 % et 80,01 % avec FDDi (Figure 45).

La fraction à l'éthanol aux doses de 12,5 et 25 mg/kg a significativement ($P < 0,01$) et de façon dose inversement dépendante, inhibé le volume des sécrétions intestinales induites, avec des taux d'inhibition respectifs de 24,25 et 16,99 %.

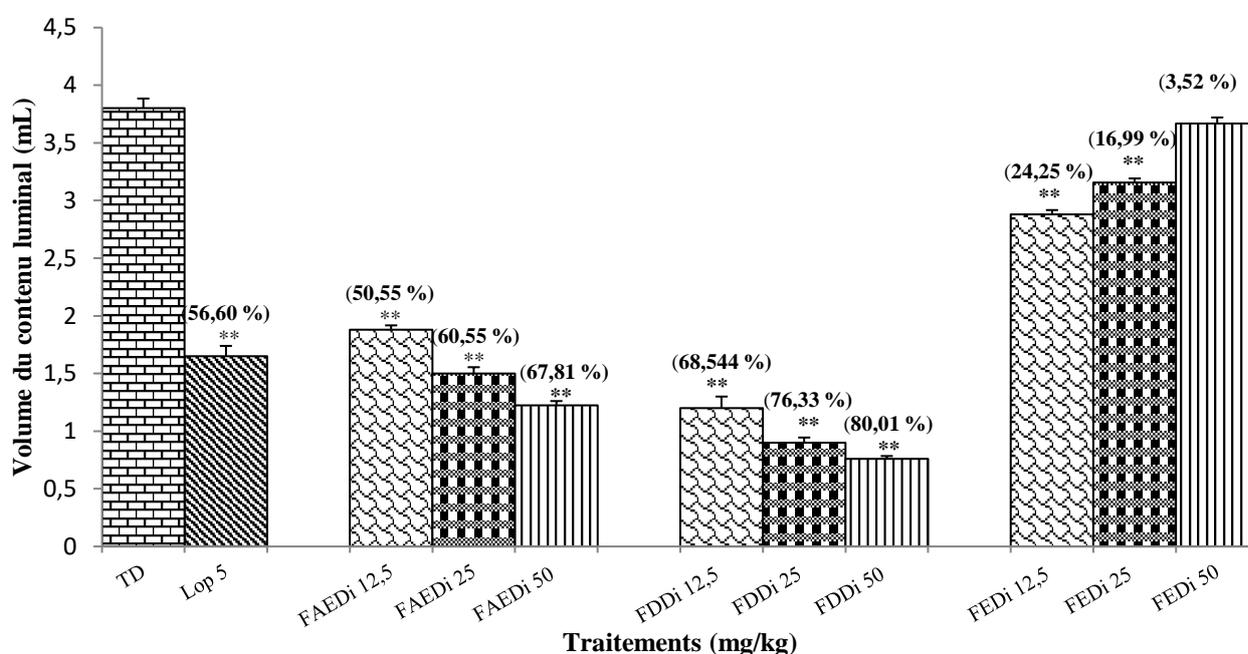


Figure 45 : Volume des sécrétions intestinales induites par l'huile de ricin chez les rats traités aux extraits de *Dichrocephala integrifolia*

Rats diarrhéiques traités à l'eau distillée (TD), Fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* aux doses de 25 (FDDi12,5), 25 (FDDi25), 50 mg/kg (FDDi50), Fraction éthanolique de *D. integrifolia* aux doses de 12,5 (FEDi25), 25 (FEDi25), 50 mg/kg (FEDi50), Fraction à l'acétate d'éthyle aux doses de 12,5 (FAEDi12,5), 25 (FAEDi25), 50 mg/kg (FAEDi50) et au lopéramide 5 mg/kg (Lop5). (n = 5).

Différence significative : **p<0,01 comparé au Témoin diarrhéique (TD) ; (%) : Taux d'inhibition.

La masse des sécrétions intestinales chez les animaux témoins diarrhéiques a été de $3,3 \pm 0,17$ g. La fraction à l'acétate d'éthyle (FAEDi) et la fraction au dichlorométhane (FDDi) (12,5, 25 et 50 mg/kg) ont significativement ($P < 0,01$) et de façon dose-dépendante réduit la masse des sécrétions intestinales induites par l'huile de ricin avec respectivement des taux de réduction de 51,18 % ; 64,91 % et 70,85 % avec la FAEDi ; et de 70,21 % ; 72,91 % et 78,24 % avec la FDDi (Figure 46).

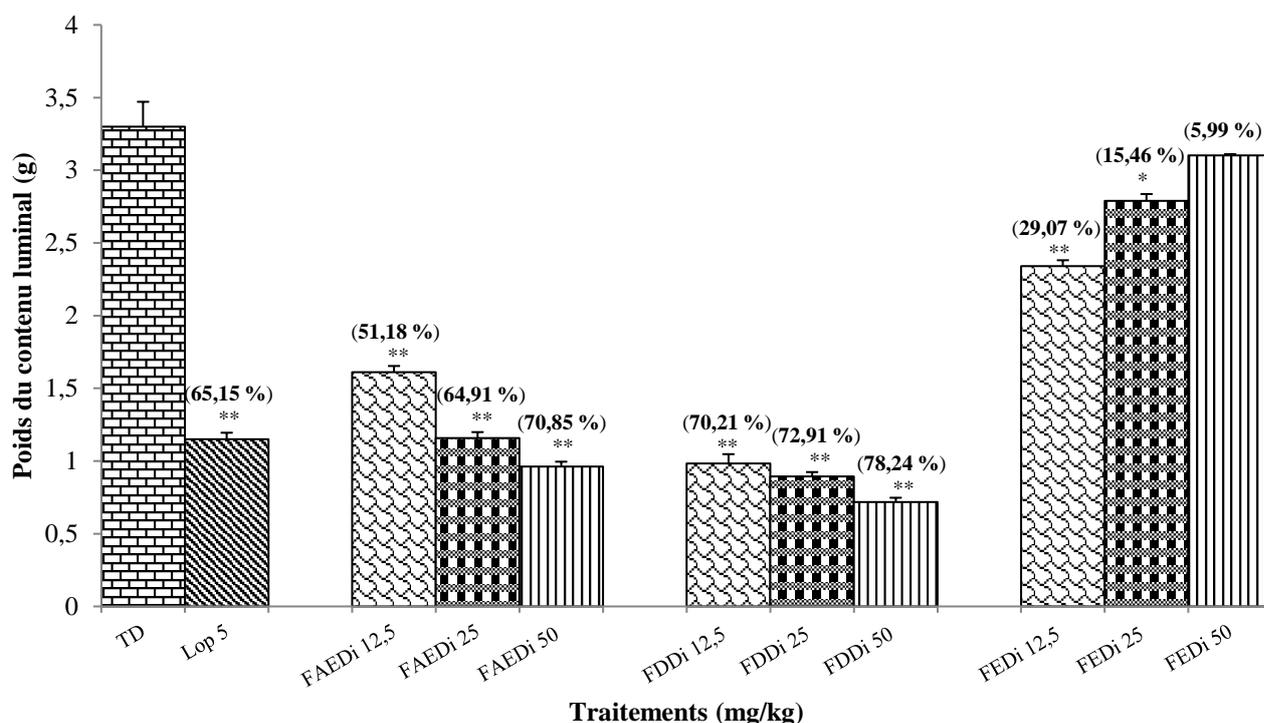


Figure 46 : Masse des sécrétions intestinales induites par l'huile de ricin chez les rats traités aux extraits de *Dichrocephala integrifolia*.

Rats diarrhéiques traités à l'eau distillée (TD), Rats diarrhéiques traités à la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* 25 (FDDi12,5), 50 mg/kg (FDDi50), la fraction éthanolique de *D. integrifolia* 12,5 (FEDi25), 25 (FEDi25), 50 mg/kg (FEDi50), la fraction à l'acétate d'éthyle 12,5 (FAEDi12,5), 25 (FAEDi25), 50 mg/kg (FAEDi50) et au lopéramide 5 mg/kg (Lop5). (n = 5).

Différence significative : * p<0,05 comparé au Témoin diarrhéique (TD) ; **p<0,01 comparé au Témoin diarrhéique (TD) ; (%) : Taux d'inhibition.

Le lopéramide (5 mg/kg) administré dans les mêmes conditions que les fractions a remarquablement (P< 0,01) réduit le volume (56,60 %) et le poids des sécrétions intestinales (65,15 %) par rapport au groupe traité à l'eau distillée.

III.1.4. Effets *in vitro* de la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* sur les contractions duodénales induites par l'acétylcholine, le KCl et le BaCl₂

III.1.4.1. Effets sur les contractions induites par l'acétylcholine

L'acétylcholine 10⁻⁷ M a entraîné une contraction biphasique du fragment de duodénum. La contraction phasique était suivie d'une contraction tonique du muscle lisse intestinal. Les doses cumulées de 0,005 ; 0,01 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,5 et 1 mg/mL de la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* a provoqué une réduction graduelle de la contraction. Cette réduction a été respectivement de 29,50 ± 6,45 % ; 37,14 ± 7,17 % ; 57,57 ± 6,59 % ; 81,92 ± 6,31% ; 96,23 ± 5,71 % et de 109,23 ± 4,73 %. La concentration inhibitrice 50 (CI₅₀) de la fraction au dichlorométhane sur les contractions induites par l'acétylcholine a été de 0,067 mg/mL (IC 95 % : 0,040 à 0,112 mg/mL) (Figures 47).

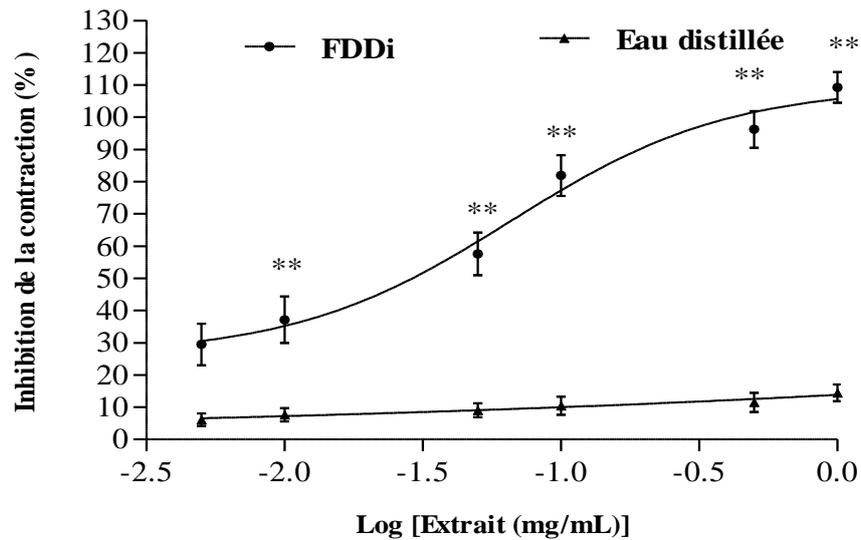


Figure 47 : Effet des concentrations cumulées de la fraction au dichlorométhane sur la contraction induite par l'acétylcholine.
Différence significative ** $p < 0,01$ comparée à la valeur du tonus de base ; $n = 5$.

III.1.4.2. Effets sur les contractions induites par KCl

La fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia*, administrée de manière cumulée (0,005 ; 0,01 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,5 et 1 mg/mL) dans le milieu d'incubation a provoqué une réduction concentration dépendante des contractions induites par le KCl 10 M respectivement de $15,00 \pm 2,61$ % ; $25,03 \pm 4,85$ % ; $49,08 \pm 5,54$ % ; $93,29 \pm 1,88$ % ; $116,11 \pm 5,41$ % et de $121,29 \pm 5,90$ %. La concentration inhibitrice 50 (CI₅₀) de la fraction au dichlorométhane sur les contractions induites par le KCl a été de 0,068 mg/mL (IC 95 % : 0,06 à 0,079 mg/mL) (Figure 48).

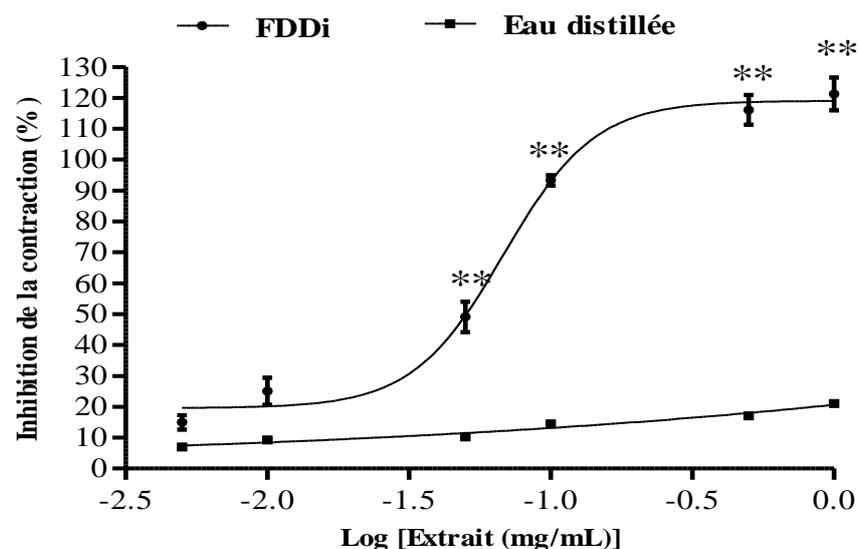


Figure 48 : Effet des concentrations cumulées de la fraction au dichlorométhane sur la contraction induite par le KCl.

Différence significative ** $p < 0,01$ comparée à la valeur du tonus de base ; $n = 5$.

III.1.4.3. Effets sur contractions induites par le BaCl₂

La fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia*, administrée de manière cumulée (0,005 ; 0,01 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,5 et 1 mg/mL) a réduit graduellement les contractions induites par le BaCl₂ 10 M respectivement de $3,35 \pm 0,32$ % ; $6,79 \pm 1,21$ % ; $27,62 \pm 3,84$ % ; $57,86 \pm 4,64$ % ; $79,89 \pm 4,15$ % et de $102,21 \pm 2,20$ %. La concentration inhibitrice 50 (CI₅₀) de la fraction au dichlorométhane sur les contractions induites par le BaCl₂ a été de 0,145 mg/mL (IC 95 % : 0,048 à 0,433 mg/mL) (Figures 49).

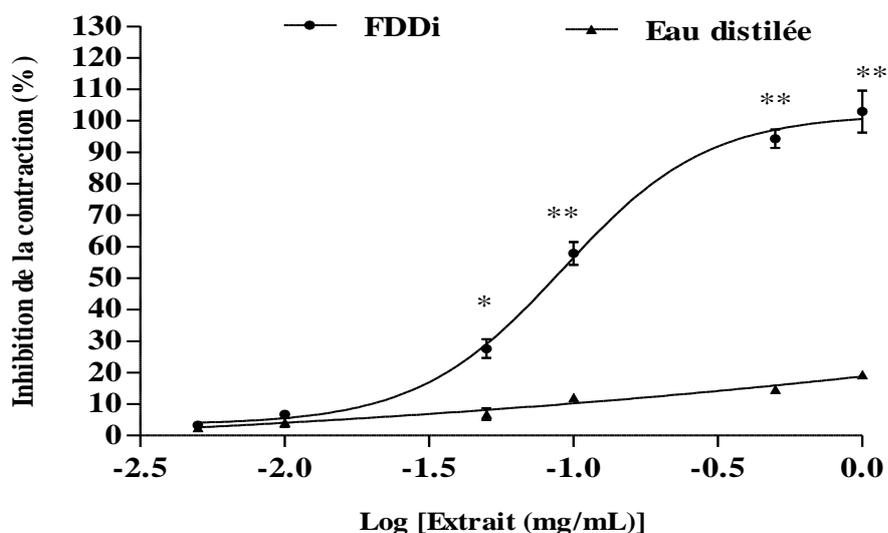


Figure 49 : Effet des concentrations cumulées de la fraction au dichlorométhane sur la contraction induite par le BaCl₂.

Différence significative * $p < 0,05$ comparée à la valeur du tonus de base ; ** $p < 0,01$ comparée à la valeur du tonus de base ; $n = 5$.

III.1.5. Evaluation des effets de la yohimbine, du glibenclamide, de l'atropine et du naloxone sur l'activité de la fraction au dichlorométhane sur le transit induit par l'huile de ricin

L'administration de l'huile de ricin a causé une progression du charbon de 81,24 % dans l'intestin des rats traités avec l'eau distillée. Administré à 50 mg/kg la fraction au dichlorométhane a entraîné une progression du charbon de 29,45 % dans l'intestin de rat. Chez les animaux prétraités à la yohimbine (1 mg/kg) ou au Naloxone (10 mg/kg) et ayant reçu la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* (50 mg/kg) aucune modification significative sur l'activité spasmolytique n'a été enregistrée. Par contre, l'atropine a augmenté ($p < 0,05$) l'activité spasmolytique de la fraction d'extrait en réduisant le taux de progression du charbon à 10,84 % (soit une réduction de 18,61 %). Alors que, le glibenclamide a

réduit ($p < 0,01$) l'activité spasmodique de la fraction d'extrait en augmentant la progression du charbon dans le tractus gastro-intestinal à 57,31 % (soit une hausse de 27,86 %) (Figure 50).

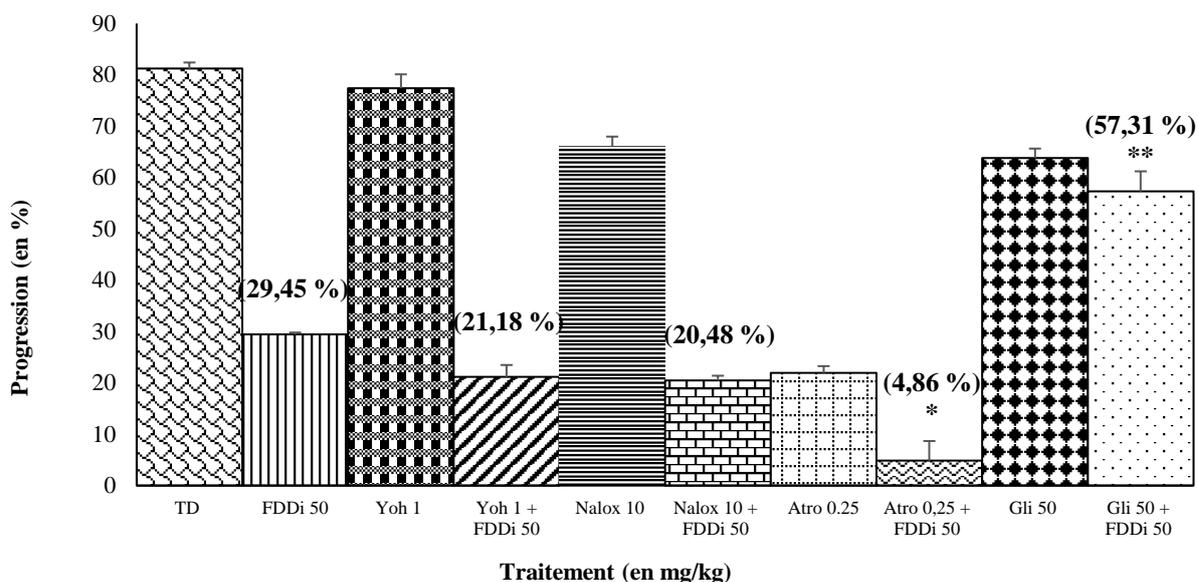


Figure 50 : Effet de la Yohimbine (Yoh 1), du Naloxone (Nalox 10), Glibenclamide (Gli 50) et Atropine (Atro 0,25) sur l'activité spasmodique *in vivo* de la fraction au dichlorométhane de *Dichrocephala integrifolia*.

Différence significative : * $p < 0,05$ comparé au Témoin diarrhéique (TD) ; ** $p < 0,01$ comparé au Témoin diarrhéique (TD) ; (%) : Taux d'inhibition ; $n = 5$.

III.1.6. Effets de la fraction au dichlorométhane de *Dichrocephala integrifolia* sur les sécrétions intestinales induites par la prostaglandine E₂

L'administration de la prostaglandine E₂ (PGE₂) a provoqué un appel d'eau au niveau intestinal de $3,19 \pm 0,04$ mL. La fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* à 12,5 ; 25 et 50 mg/kg a significativement réduit ($p < 0,01$) et de manière dose-dépendante les sécrétions intestinales : - 46,74 % ; - 71,80 % et - 76,19 % respectivement comparée au témoin PGE₂ (Figure 51).

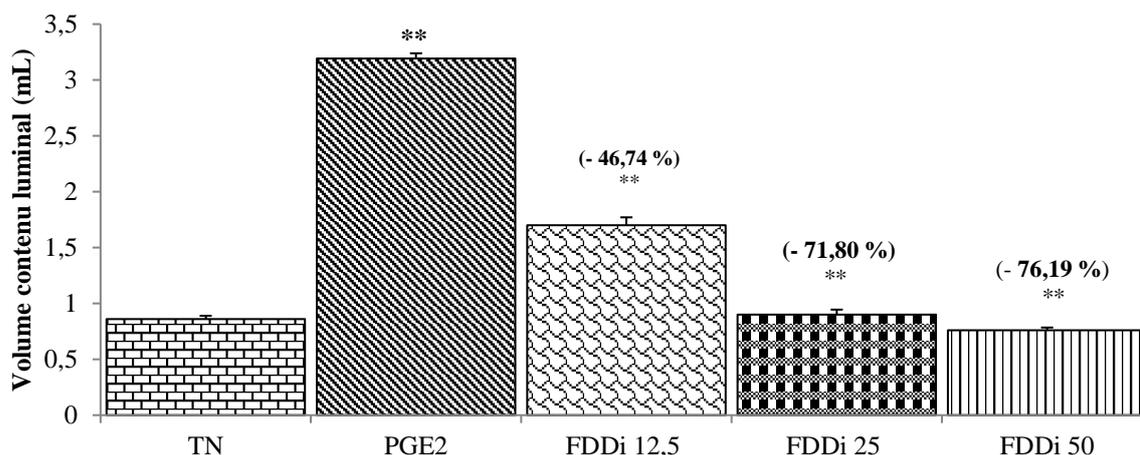


Figure 51 : Sécrétion intestinale induite par la PGE2 chez les rats traités à la fraction au dichlorométhane de *Dichrocephala integrifolia*.

Témoin normaux (TN), Fraction au dichlorométhane de *D. intégrifolié* aux doses de 12,5 (FDDi12,5), 25 (FDDi25), 50 mg/kg (FDDi50).

Différence significative : **p<0,01 comparé au Témoin normal (TN) ; ^βP<0,01 comparé au Témoin diarrhéique (PGE₂) ; (%) : Taux d'inhibition ; (n = 5).

III.1.7. Effets de la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* (FDDI) sur la fièvre typhoïde (*S. typhi*) induite chez le rat

III.1.7.1. Effets sur le comportement des animaux diarrhéiques

Quatre jours après administration de $1,5 \times 10^8$ UFC de *S. typhi*, les rats se sont repliés sur eux, les poils étaient dressés et la mobilité est devenue de plus en plus réduite. Les premières selles diarrhéiques sont apparues 8 jours après administration de *S. typhi*. Ces selles diarrhéiques étaient pâteuses, non moulées contenant de la glaire. Chez les rats témoins diarrhéiques, aucun décès n'a été enregistré pendant les 21 jours d'expérimentation.

III.1.7.2. Effets des traitements sur les selles et la densité des *Salmonella typhi* chez le rat

La charge de *S. typhi* a augmenté dans les fèces des rats infectés, dès les premiers 24 h qui ont suivi l'infection pour atteindre respectivement $1,23 \times 10^{10}$ (TD), $1,05 \times 10^{10}$ (Cip), $0,95 \times 10^{10}$ (FDDi25), $0,978 \times 10^{10}$ (FDDi50) et $1,22 \times 10^{10}$ (FDDi 100) UFC/g de fèces le sixième jour (Figure 52).

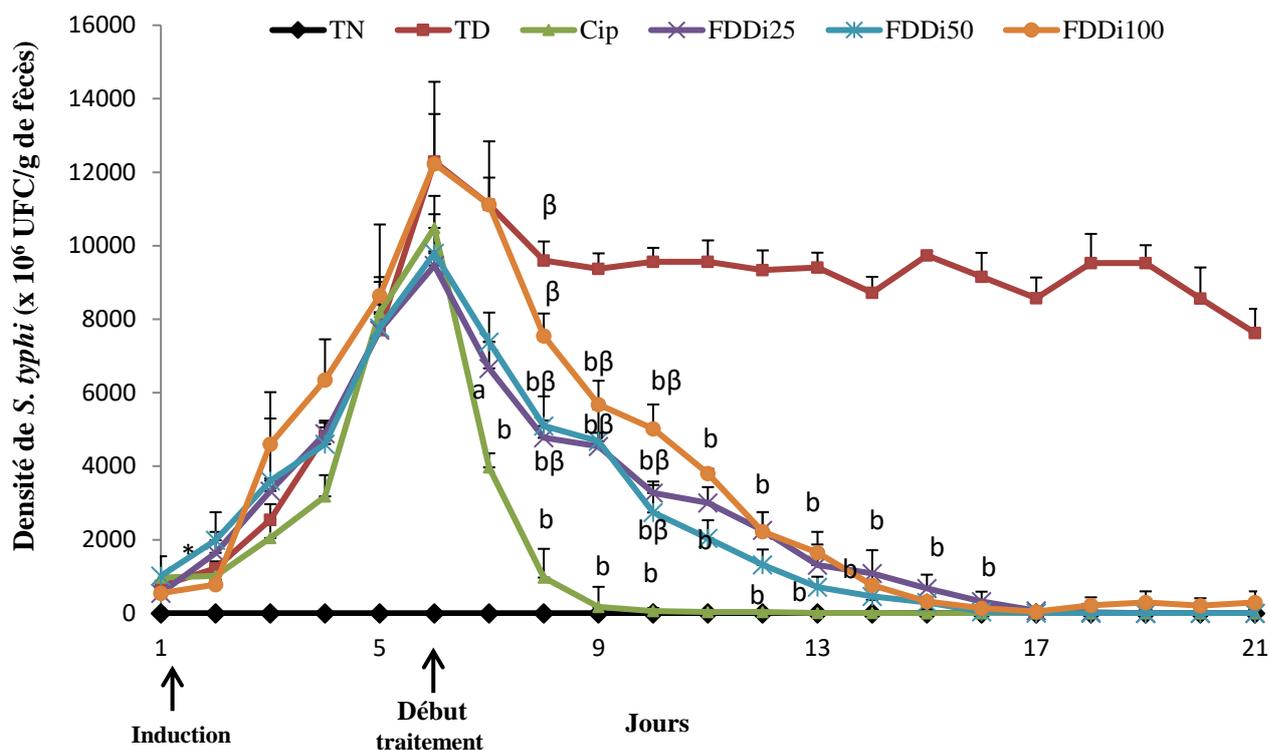


Figure 52 : Densité de *S. typhi* dans les selles pendant le traitement à la fraction dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* chez les rats infectés. Témoin normaux (TN) ; Témoins diarrhéiques (TD) ; FDDi25 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 25 mg/kg ; FDDi50 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 50 mg/kg ; FDDi100 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 100 mg/kg ; Cip5 : Ciprofloxacine 5 mg/kg (n =5). Différence significative : ^ap<0,01 par rapport au témoin infectés et non traités (TD) ; ^bp<0,05 par rapport au témoin infectés et non traités (TD) ; ^βp<0,01 ; par rapport à la charge bactérienne des rats traités à la ciprofloxacine.

La charge en *S. typhi* dans les fèces des témoins infectés est restée significativement élevée ($p < 0,01$) durant l'expérimentation : $7,62 \times 10^9$ UFC/g de fèces le dernier jour de l'expérimentation. Après administration de la fraction 25, 50 et 100 mg/kg et de la ciprofloxacine (5 mg/kg), les animaux infectés ont progressivement retrouvé leur mobilité et la charge bactérienne a notablement baissé. La FDDi à 25 mg/kg a entraîné une importante réduction de la charge de *S. typhi* dès le 2^{ème} jour du traitement ($6,67 \times 10^9$ UFC/g ; $P < 0,05$). L'extrait à 50 et 100 mg/kg a significativement ($P < 0,01$) réduit le nombre de *S. typhi* dès le 3^{ème} jour du traitement. La charge en *S. typhi* dans les fèces des animaux traités a été non perceptible respectivement le 11^{ème} jour avec 50 mg/kg et 100 mg/kg de la fraction et le 12^{ème} jour de traitement pour la fraction à 25 mg/kg. Chez les rats infectés et traités avec la ciprofloxacine 5 mg/kg (Cip), la charge en *S. typhi* a significativement baissé ($p < 0,01$) dès le 2^{ème} jour et annulée le 5^{ème} jour du traitement.

III.1.7.3. Effets des traitements sur l'émission des selles chez les rats

Cinq jours après administration de l'inoculum, la fréquence d'émission des fèces a augmenté chez les rats infectés : + 16,38 %, + 24,57 %, + 14,30 %, + 19,26 % et + 16,80 % respectivement

chez TD, Cip, FDDi25, FDDi50 et FDDi100 comparés aux animaux non infectés (TN). La fraction d'extrait (25 ; 50 et 100 mg/kg) a diminué la fréquence des émissions fécales respectivement de -14,25 %, - 16,15 % et de - 3,09 % au cinquième jour du traitement ; et de - 22,15 %, - 18,52 % et - 10,10 % le seizième jour du traitement. Chez les animaux traités avec ciprofloxacine, la fréquence des émissions fécales a diminué de 6,65 % le cinquième jour et de - 10,62 % le seizième jour (Figure 53).

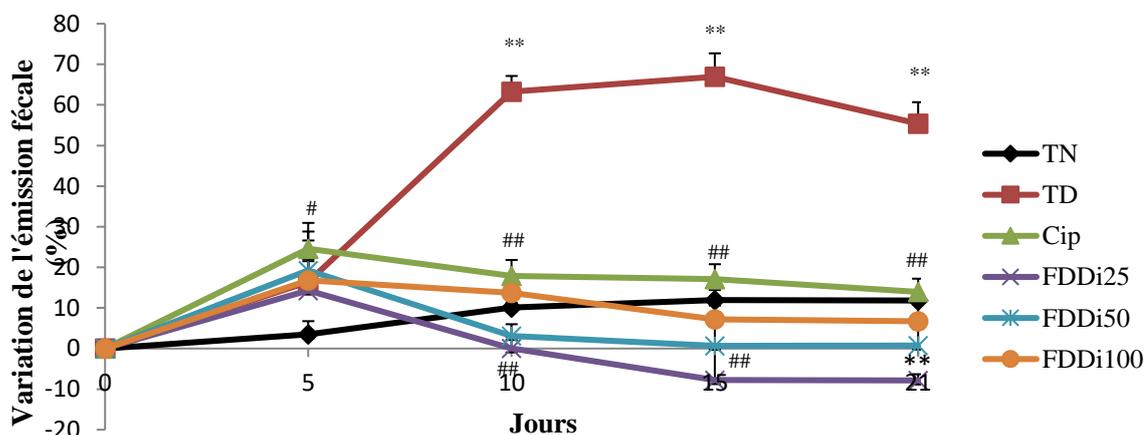


Figure 53 : Variation de l'émission fécale pendant le traitement à la fraction de *Dichrocephala integrifolia* chez les rats infectés à *S. typhi* (exprimé en pourcentage par rapport à la valeur initiale exprimée à 100 %). Témoin normaux (TN) ; Témoins diarrhéiques (TD) ; FDDi25 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 25 mg/kg ; FDDi50 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 50 mg/kg ; FDDi100 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 100 mg/kg ; Cip5 : Ciprofloxacine 5 mg/kg, (n =5). Différence significative : **p<0,01 par rapport au témoin normal (TN), ##p<0,01 par rapport à l'émission fécale de départ.

III.1.7.4. Effets des traitements sur la prise alimentaire

La consommation alimentaire a significativement baissé chez tous les rats cinq jour après l'administration de l'inoculum : - 16,26 %, - 11,84 %, - 15,19 %, - 11,20 % et - 11,28 % respectivement chez TD, Cip, FDDi25, FDDi50, FDDi100 par rapport aux animaux témoins normaux (TN) (Figure 54).

Le traitement à 25, 50 et 100 mg/kg de la fraction d'extrait a amélioré la consommation alimentaire respectivement de 12,45 % ; 5,82 % et 26,65 % au dixième jour et de 18,80 % ; 22,06 % et 21,53 % au quinzième jour de traitement par rapport aux animaux témoins infectés et non traités (TD). La ciprofloxacine a amélioré la consommation alimentaire de 13 % au dixième jour et de 19,93 % au quinzième jour de traitement par rapport aux animaux témoins infectés et non traités (TD).

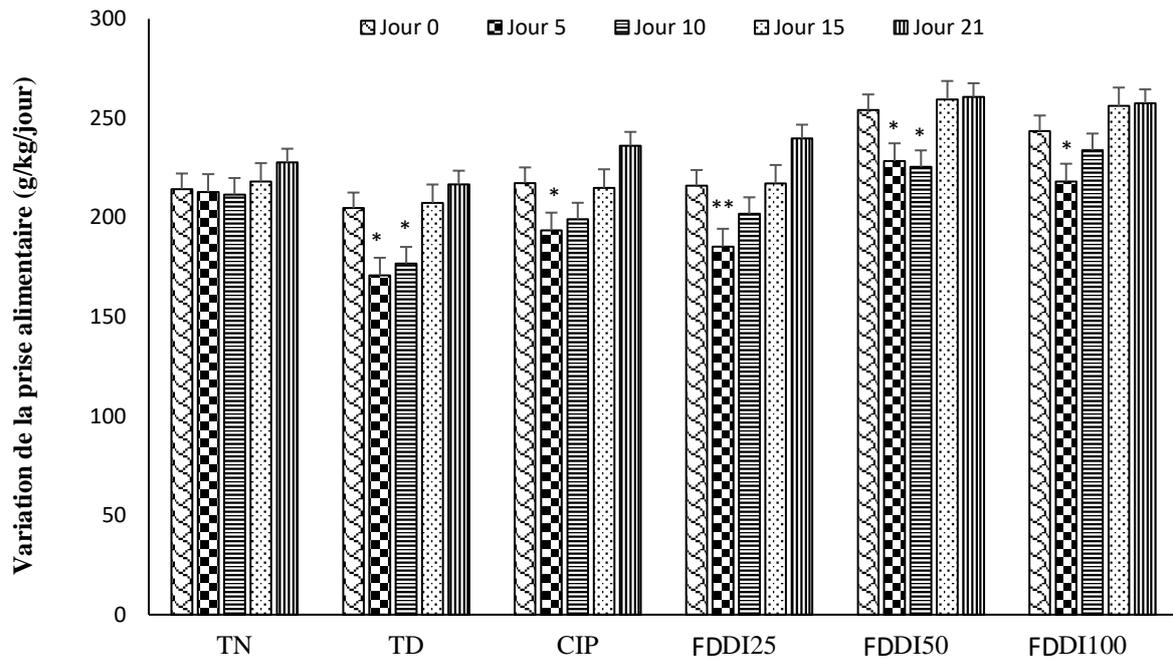


Figure 54 : Variation de la prise alimentaire pendant le traitement à la fraction de *Dichrocephala integrifolia* chez les rats infectés à *S. typhi* (exprimé en pourcentage/par rapport à la valeur initiale exprimée à 100%). Témoin normaux (TN); Témoins diarrhéiques (TD); FDDi25 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 25 mg/kg ; FDDi50 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 50 mg/kg ; FDDi100 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 100 mg/kg ; Cip5 : Ciprofloxacin 5 mg/kg ; (n =5). Différence significative : * p<0,05 par rapport au témoin normal (TN), ** p<0,01 par rapport au témoin normal (TN).

III.1.7.5. Effets des traitements sur la prise hydrique

Cinq jours après l'administration de l'inoculum, la prise hydrique a subi une baisse significative chez les animaux respectivement de - 21,78 % ; - 21,5 % ; - 20,17 % ; - 25,11 % et - 19,78 % chez TD, Cip, FDDi25, FDDi50 et FDDi100 rapport aux animaux témoins normaux (TN) (Figure 55).

Le traitement à 25, 50 et 100 mg/kg de la fraction d'extrait a amélioré la consommation hydrique respectivement de 13,75 %, 20,06 %, et 10,85 % au quinzième jour de traitement par rapport aux animaux témoins infectés et non traités (TD). La ciprofloxacin a amélioré la consommation hydrique de 26,44 % au seizième jour de traitement par rapport aux animaux témoins infectés et non traités.

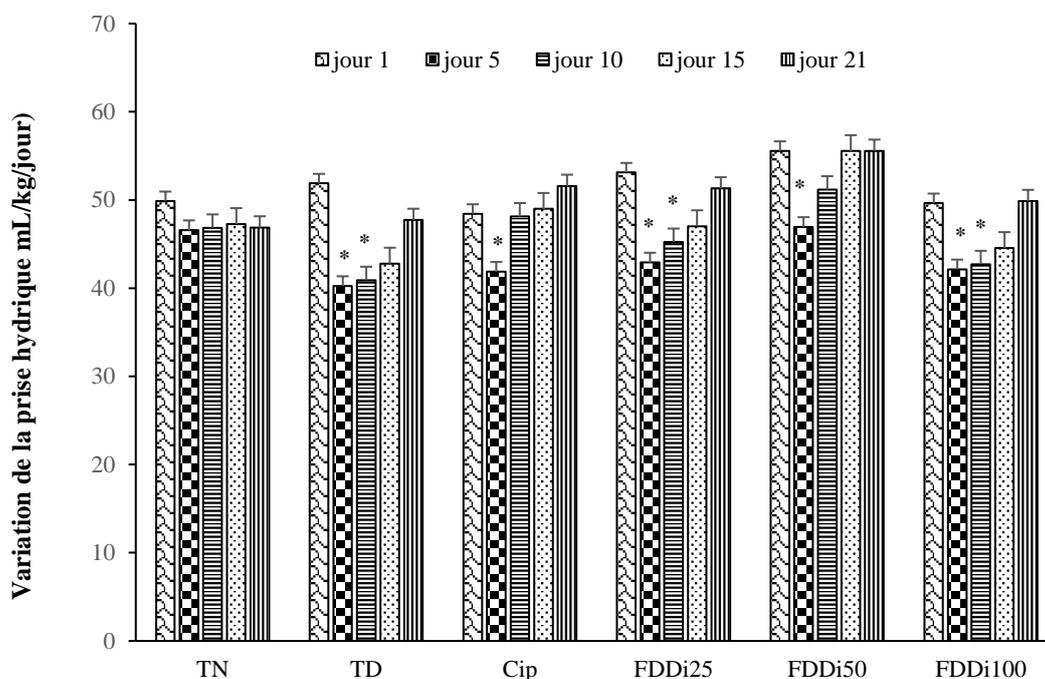


Figure 55 : Variation de la prise hydrique pendant le traitement à la fraction de *Dichrocephala integrifolia* chez les rats infectés à *S. typhi* (exprimé en variation prise hydrique/par rapport à la prise hydrique initiale exprimée à 100%).

Témoin normaux (TN); Témoins diarrhéiques (TD); FDDi25 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 25 mg/kg ; FDDi50 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 50 mg/kg ; FDDi100 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 100 mg/kg ; Cip5 : Ciprofloxacine 5 mg/kg (n =5).

Différence significative : * p<0,05 par rapport au témoin normal (TN).

III.1.7.6. Effets des traitements sur l'évolution pondérale

L'infection a entraîné au cinquième jour une baisse ($P < 0,01$) de la masse pondérale chez tous les animaux respectivement : - 37,55 ; - 38,59 % ; - 37,50 % - 38,88 % et - 38,79 % chez TD, Cip, FDDi25, FDDi50 et FDDi100 rapport aux animaux témoins normaux (TN).

La fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* à 25, 50 et 100 mg/kg, a permis un gain pondéral significatif ($p < 0,01$) dès le jour 5 du traitement respectivement de 1,87 %, 2,67 %, 3,63 % ; puis de 16,54 % ; 23,52 % et 23,51 % au jour 16 du traitement comparé au groupe témoin infecté et non traité (TD). La ciprofloxacine a permis une augmentation de poids corporel de 4,52 % au cinquième jour et de 18,30 % au seizième jour de traitement par rapport aux animaux témoins infectés et non traités (TD).

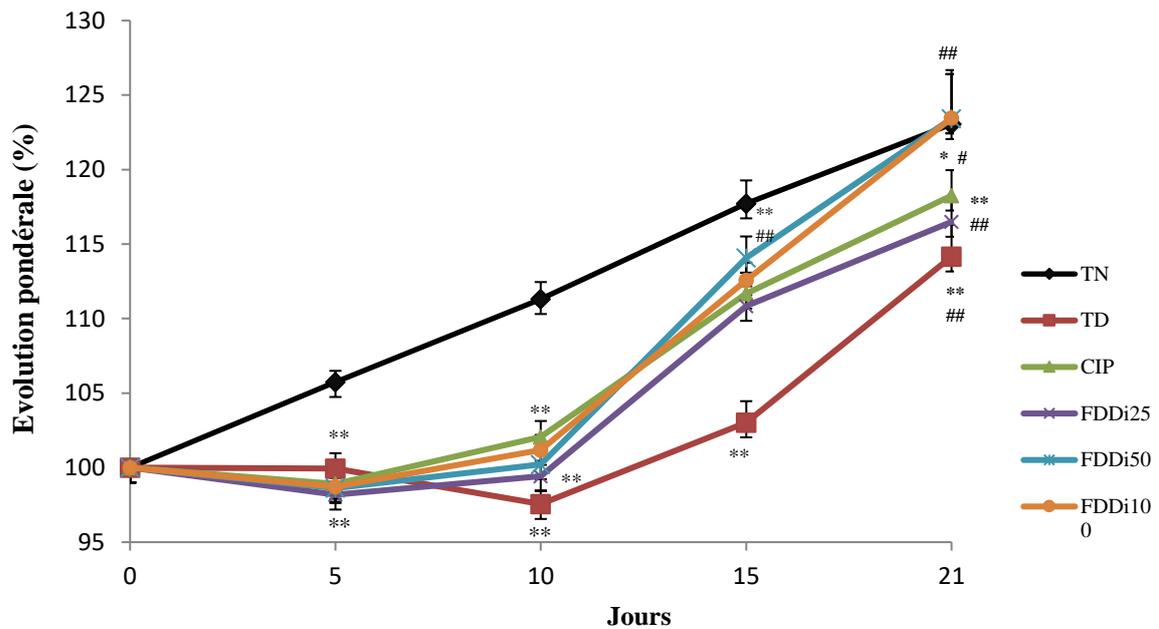


Figure 56 : Evolution du poids corporel des rats infectés à *S. typhi* pendant le traitement à la fraction de *Dichrocephala integrifolia* (exprimée en % par rapport au poids initial).
Témoin normaux (TN); Témoins diarrhéiques (TD); FDDi25 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 25 mg/kg ; FDDi50 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 50 mg/kg ; FDDi100 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 100 mg/kg ; Cip5 : Ciprofloxacine 5 mg/kg (n =5).
Différence significative : * p<0,05 par rapport au témoin normal (TN) ; **p<0,01 par rapport au témoin normal (TN) ; #p<0,05 ; ## p<0,01 par rapport au poids corporel de départ.

III.1.7.7. Effets des traitements sur la température rectale

L'infestation des rats par des salmonelles a entraîné une augmentation significative (p < 0,01) de la température rectale cinq jours après : + 0,8°C (TD) ; + 0,70 °C (Cip) ; + 0,72°C (FDDi25) ; +0,62°C (FDDi50) et + 0,98°C (FDDi100) par rapport aux rats témoins normaux (Figure 57).

Cette hausse de la température corporelle a été réduite avec la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* à 25, 50 et 100 mg/kg respectivement : - 72,06 %, - 17,29 % et - 81,63 % le cinquième jour du traitement ; - 88,89 %, - 86,56 % et - 102,04 le dixième jour de traitement et - 105,56 %, - 106,45 % et - 116,67 % le quinzième jour du traitement par rapport à la température rectale de départ. La ciprofloxacine (5 mg/kg) a baissé la température rectale de 26,29 % le cinquième jour, de 80 %, le dixième jour et de 97,14 % le quinzième jour.

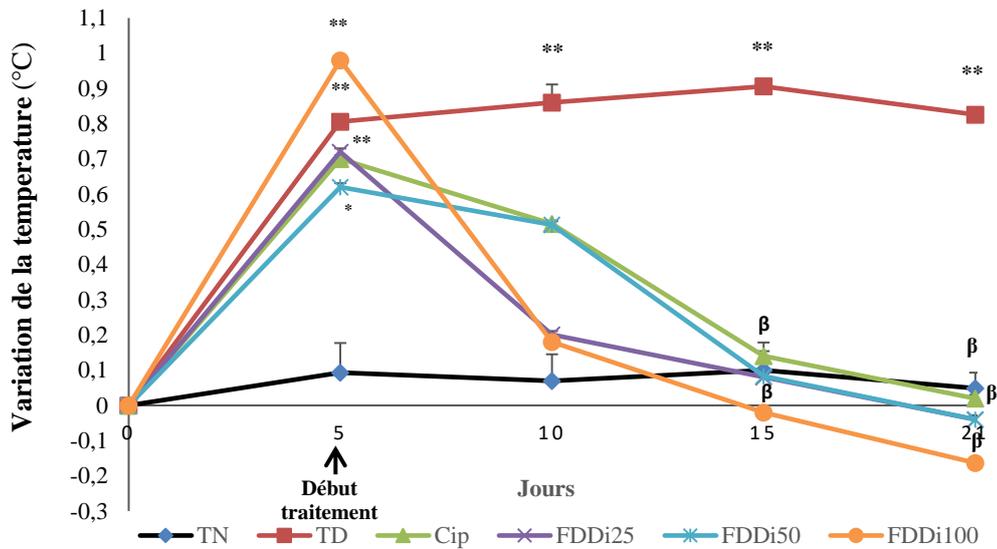


Figure 57 : Variation de la température corporelle pendant le traitement à la fraction de *Dichrocephala integrifolia* chez les rats infectés à *S. typhi* (exprimé en variation de la température par rapport à la température initiale).

Témoin normaux (TN) ; Témoins diarrhéiques (TD) ; FDDi25 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 25 mg/kg ; FDDi50 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 50 mg/kg ; FDDi100 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 100 mg/kg ; Cip5 : Ciprofloxacine 5 mg/kg, (n = 5).

Différence significative : *p<0,01 ; **p<0,01 par rapport au témoin normal (TN) ; β p<0,01 par rapport au témoin infectés et non traités (TD) ; #p<0,05 ; ##p<0,01 par rapport à la température corporelle de départ.

III.1.7.8. Effets des traitements sur le poids relatif des organes

Au bout de 16 jours de traitement avec la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* à 25 mg/kg (FDDi25), 50 mg/kg (FDDi50) et de 100 mg/kg (FDDi100), il n'y a pas eu de variation significative au niveau du poids relatif des reins du foie, du cœur, de la rate et des poumons chez tous les animaux (Tableau XXIV).

Tableau XXIV : Poids relatif des organes (reins, foie, cœur, rate et poumons)

	Reins	Foie	Poumons	Cœur	Rate
TN	0,31 ± 0,04	2,35 ± 0,19	0,75 ± 0,06	0,34 ± 0,04	0,41 ± 0,10
TD	0,28 ± 0,01	2,25 ± 0,08	0,72 ± 0,06	0,27 ± 0,01	0,33 ± 0,04
Cip	0,24 ± 0,01	2,04 ± 0,11	0,62 ± 0,05	0,25 ± 0,01	0,35 ± 0,04
FDDi25	0,25 ± 0,02	2,03 ± 0,06	0,78 ± 0,03	0,27 ± 0,01	0,27 ± 0,03
FDDi50	0,29 ± 0,02	2,26 ± 0,13	0,78 ± 0,09	0,27 ± 0,03	0,26 ± 0,03
FDDi100	0,25 ± 0,01	2,19 ± 0,18	0,78 ± 0,11	0,24 ± 0,01	0,22 ± 0,03

Témoin normaux (TN) ; Témoins diarrhéiques (TD) ; FDDi25 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 25 mg/kg ; FDDi50 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 50 mg/kg ; FDDi100 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 100 mg/kg ; Cip5 : Ciprofloxacine 5 mg/kg, (n = 5).

III.1.7.9. Effets des traitements sur les paramètres hématologiques

Le nombre de globules rouges (GR), des plaquettes (Plt) et la concentration en hémoglobine (Hb) ont été respectivement de $8,70 \pm 0,21 \times 10^6/\mu\text{L}$, $228,60 \pm 18,90 \times 10^6/\mu\text{L}$ et de $14,04 \pm 0,49 \text{ g/dL}$ chez les témoins normaux (TN). Chez les rats infectés (TD), le nombre de GR a été de $8,78 \pm 0,38 \times 10^6/\mu\text{L}$, la concentration en Hb de $14,08 \pm 0,48 \text{ g/dL}$ et le nombre de plaquettes ($185,40 \pm 5,61 \times 10^6/\mu\text{L}$). Chez les animaux diarrhéiques traités à 25, 50 et 100 mg/kg de la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia*, une hausse significative des Plt respectivement de $489,5 \pm 32,93 \times 10^6/\mu\text{L}$, $341,80 \pm 16,33 \times 10^6/\mu\text{L}$ et $513 \pm 13,68 \times 10^6/\mu\text{L}$ ($P < 0,01$) a été observée.

L'hématocrite (Ht), le volume globulaire moyen (VGM), la quantité globulaire moyenne en hémoglobine (TGMH) et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) ont été respectivement de $49,48 \pm 2,01 \%$; $56,80 \pm 1,46 \text{ fL}$; $16,12 \pm 0,21 \mu\text{g}$ et $28,44 \pm 0,49 \text{ g/dL}$ chez les TN. Chez les TD, l'hématocrite et le volume globulaire moyen ont légèrement baissé respectivement de $47,16 \pm 1,63 \%$ et de $54,90 \pm 0,96 \%$; la quantité globulaire moyenne en hémoglobine et de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine ont légèrement augmenté respectivement de $16,40 \pm 0,33 \%$ et de $31,50 \pm 0,12 \%$ par rapport au TN. Chez les animaux traités aux différentes doses de la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia*, aucune différence significative n'a été observée par rapport au TD (Tableau XXV).

Le nombre des globules blancs totaux (GB), les lymphocytes, des monocytes, des éosinophiles, des basophiles et des neutrophiles ont été respectivement de $4,34 \pm 1,07 \times 10^3/\mu\text{L}$; $3,23 \pm 0,73 \times 10^6/\mu\text{L}$; $0,62 \pm 0,03 \text{ g/dL}$; $0,05 \pm 0,01 \times 10^3/\mu\text{L}$; $0,03 \pm 0,01 \times 10^3/\mu\text{L}$ et de $0,41 \pm 0,08 \times 10^3/\mu\text{L}$ chez les témoins normaux (TN). Chez les rats diarrhéiques (TD), les taux des GB ($7,56 \pm 0,15 \times 10^3/\mu\text{L}$; $P < 0,05$), des lymphocytes, ($5,21 \pm 0,27 \times 10^6/\mu\text{L}$; $P < 0,01$), de monocytes ($1,10 \pm 0,17 \text{ g/dL}$; $P < 0,05$), des éosinophiles ($0,14 \pm 0,01 \times 10^3/\mu\text{L}$; $P < 0,01$), des basophiles ($0,07 \pm 0,01 \times 10^3/\mu\text{L}$) et des neutrophiles ($1,04 \pm 0,09 \times 10^3/\mu\text{L}$; $P < 0,01$) ont été élevés par rapport aux rats normaux. Chez les animaux traités aux doses de 50 et 100 mg/kg de la fraction d'extrait, les taux de GB ($6,93 \pm 0,32 \times 10^3/\mu\text{L}$; $P < 0,05$ et $7,31 \pm 0,24 \times 10^3/\mu\text{L}$; $P < 0,05$), lymphocytes ($5,80 \pm 0,11 \times 10^3/\mu\text{L}$; $P < 0,01$ et $5,45 \pm 0,24 \times 10^3/\mu\text{L}$; $P < 0,01$), de monocytes ($0,60 \pm 0,07 \text{ g/dL}$ et $0,93 \pm 0,14 \text{ g/dL}$), de éosinophiles ($0,07 \pm 0,00 \times 10^3/\mu\text{L}$ et $0,11 \pm 0,03 \times 10^3/\mu\text{L}$; $P < 0,05$), de basophiles ($0,05 \pm 0,01 \times 10^3/\mu\text{L}$ et $0,07 \pm 0,03 \times 10^3/\mu\text{L}$) et de neutrophiles ($0,41 \pm 0,03 \times 10^3/\mu\text{L}$ et $0,75 \pm 0,04 \times 10^3/\mu\text{L}$; $P < 0,01$) ont diminué par rapport au TD mais sont restés élevés par rapport au TN (Tableau XXV).

Tableau XXV : Valeurs des paramètres hématologiques des rats infectés avec *S. typhi* après le traitement

	GR (x 10 ⁶ /μL)	Plt (x 10 ⁶ /μL)	Hb (g/dL)	Ht (%)	VGM (fL)	TCMH (pg)	CCMH (g/dL)	GB (x 10 ³ /μL)	Lymphocytes (x 10 ⁶ /μL)	Monocytes (g/dL)	Eosinophiles (x 10 ³ /μL)	Basophiles (x 10 ³ /μL)	Neutrophiles (x 10 ³ /μL)
TN	8,70 ± 0,21	228,6 ± 18,90	14,04 ± 0,49	49,48 ± 2,01	56,80 ± 1,46	16,12 ± 0,21	28,44 ± 0,49	4,34 ± 1,07	3,23 ± 0,73	0,62 ± 0,03	0,05 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,41 ± 0,08
TD	8,78 ± 0,38	185,40 ± 5,61	14,08 ± 0,48	47,16 ± 1,63	54,90 ± 0,96	16,40 ± 0,33	31,50 ± 0,12	7,56 ± 0,15*	5,21 ± 0,27**	1,10 ± 0,17*	0,14 ± 0,01**	0,07 ± 0,01	1,04 ± 0,09**
Cip	8,62 ± 0,36	286,20 ± 11,43 a α	14,22 ± 0,41	47,82 ± 1,78	54,56 ± 0,86	16,24 ± 0,26	29,76 ± 1,74	4,82 ± 0,31	3,762 ± 0,82	0,53 ± 0,11 ^b	0,06 ± 0,02 ^b	0,02 ± 0,01	0,44 ± 0,06 ^b
FDDi25	9,19 ± 0,16	489,50 ± 32,93** b β	14,72 ± 0,35	48,88 ± 1,05	53,20 ± 0,96	14,02 ± 1,69	30,10 ± 0,26	4,18 ± 0,47	3,18 ± 0,24 ^a	0,53 ± 0,06 ^b	0,06 ± 0,01 ^b	0,02 ± 0,01	0,39 ± 0,03 ^b
FDDi50	9,08 ± 0,23	341,8 ± 16,33 ** b	14,18 ± 0,30	47,46 ± 0,97	53,80 ± 0,94	16,06 ± 0,26	29,86 ± 0,37	6,93 ± 0,32*	5,80 ± 0,11**	0,60 ± 0,07 ^a	0,07 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,01	0,41 ± 0,03 ^b
FDDi100	9,34 ± 0,24	513 ± 13,78 ** b β	15,44 ± 0,40	50,94 ± 0,95	54,58 ± 0,83	16,54 ± 0,35	30,30 ± 0,31	7,31 ± 0,24*	5,45 ± 0,24**	0,93 ± 0,14	0,11 ± 0,03*	0,07 ± 0,03	0,75 ± 0,04**β

Témoin normaux (TN) ; Témoins diarrhéiques (TD) ; FDDi25 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 25 mg/kg ; FDDi50 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 50 mg/kg ; FDDi100 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 100 mg/kg ; Cip5 : Ciprofloxacine 5 mg/kg, GR : globules rouges, GB : globules blancs, Hb : hémoglobine, Ht : hématocrite, PLT : plaquettes sanguines, VGM : volume globulaire moyen, TCMH : teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine, CCMH : concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine, (n =5).
Différence significative : * p<0,05 par rapport au témoin normal (TN) ; ** p<0,01 par rapport au témoin normal (TN) ; a p<0,05 par rapport au témoin diarrhéique (TD) ; b p<0,01 par rapport au témoin diarrhéique (TD) ; α p<0,05 par rapport au médicament de référence (Cip) ; β p<0,01 par rapport au médicament de référence (Cip).

III.1.7.10. Effets du traitement sur des marqueurs des fonctions hépatique et rénale

➤ Effets ur des marqueurs de la fonction hépatique

Le taux d'alanine aminotransférase (ALAT) a significativement augmenté chez les rats infectés non traités de +130 % ($p < 0,01$) par rapport aux rats témoins normaux (Figure 58). La fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* (FDDi) aux doses respectives de 25, 50 et 100 mg/kg, a entraîné une réduction significative ($p < 0,01$) du taux sérique d'ALAT : - 51,55 %, - 61,15 % et - 70,24 %, par rapport aux rats TD. Administrée dans les mêmes conditions que l'extrait, la ciprofloxacine (5 mg/kg) a également entraîné une baisse significative ($p < 0,01$) du taux d'ALAT de 46,80 %.

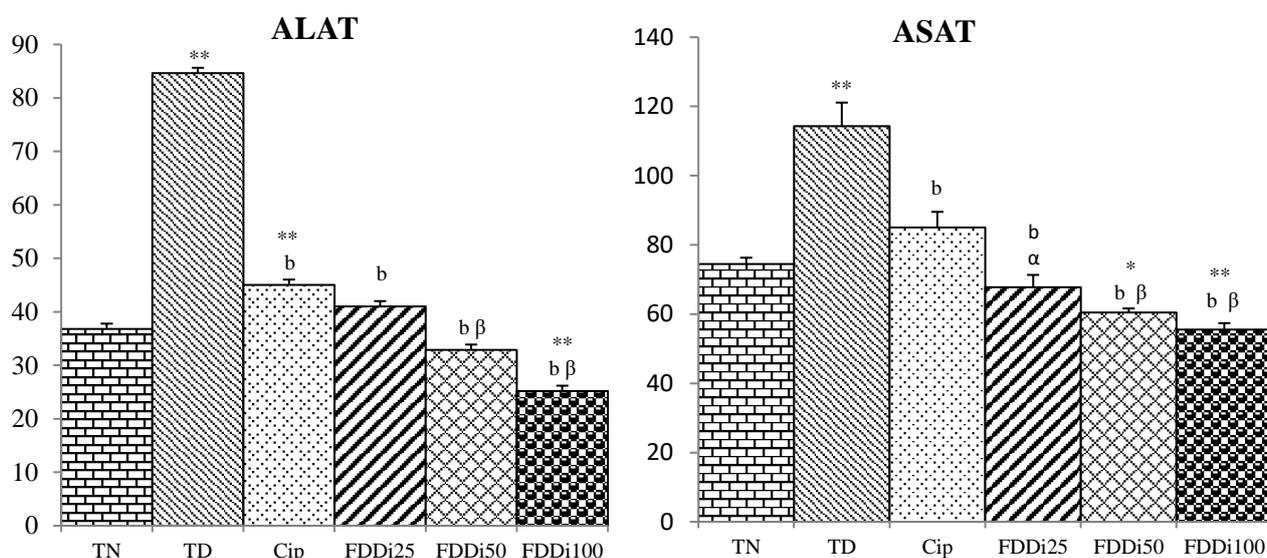


Figure 58 : Taux d'ALAT et d'ASAT pendant le traitement avec la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* chez les rats infectés par *S. typhi*.

Témoin normaux (TN), Témoins diarrhéiques (TD), FDDi25 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 25 mg/kg, FDDi50 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 50 mg/kg, FDDi100 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 100 mg/kg ; Cip : Ciprofloxacine 5 mg/kg. (n = 5).

Différences significatives : * $p < 0,05$ par rapport au témoin normal (TN), ** $p < 0,01$ par rapport au témoin normal (TN). b $p < 0,01$ par rapport aux témoins diarrhéiques (TD). α $p < 0,05$ par rapport au témoin traité à la ciprofloxacine (Cip) ; β $p < 0,01$ par rapport au témoin traité à la ciprofloxacine (Cip).

L'administration de l'inoculum de *S. typhi* ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) a conduit à une augmentation significative du taux d'aspartate aminotransférase (ASAT) de + 44,66 % ($p < 0,01$) par rapport aux rats non infectés recevant uniquement de l'eau distillée. La fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* à 25, 50 et 100 mg/kg a significativement réduit ($p < 0,01$) le taux sérique d'ASAT de - 40,71 % ; - 36,08 % et de - 19,30 %. Administrée dans les mêmes conditions que la fraction, la ciprofloxacine a entraîné une diminution significative ($p < 0,01$) du taux d'ASAT de - 25,61 % (Figure 61).

➤ Effets sur la quantité de protéines tissulaires

Dans le sérum, la rate, le foie et les reins, la quantité de protéines est considérablement élevée de + 23,06 % et de + 38,91 % ($p < 0,01$) respectivement dans le sérum et dans la rate ; et réduit ($p < 0,05$) de -55,09 % dans le foie, et de - 46,91 % chez les rats ayant été infectés et non traité par rapport aux rats témoins recevant de l'eau distillée (Figure 59). La fraction au dichlorométhane 25, 50 et 100 mg/kg, et la ciprofloxacine (5 mg/kg) ont augmenté remarquablement la quantité de protéines de 23,72 % ; 63,63 % ; 72,08 % ($p < 0,05$) et de 61,73 % dans le foie et une hausse significative de 31,34 % ; 11,63 % et 8,12 % ($p < 0,01$) dans les reins par rapport au témoin infecté et non traité. Des baisses significatives de - 10,745 %, - 26,56 %, - 31,28 % et de - 24,32 % ($p < 0,01$) dans le sérum ; puis de - 24,19 % ; - 44,12 % ; - 41,21 % et de - 45,75 % ($p < 0,01$) dans la rate.

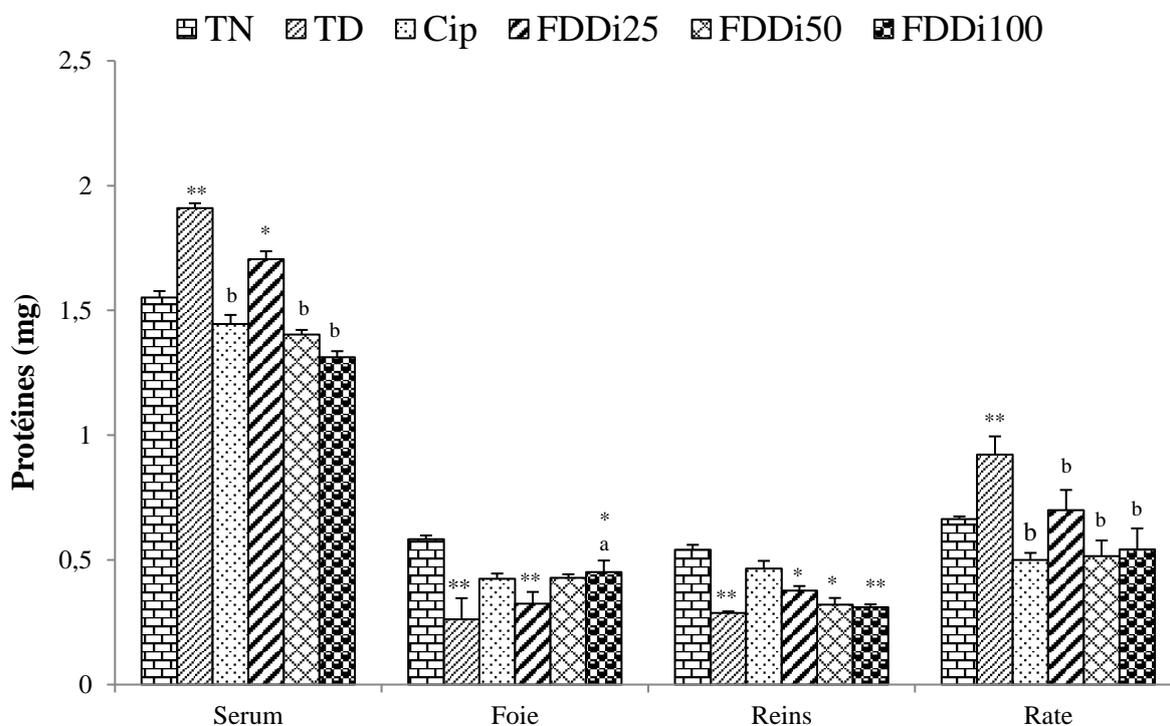


Figure 59 : Taux de protéines pendant le traitement avec la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* chez les rats infectés par *S. typhi*.

Témoin normaux (TN), Témoins diarrhéiques (TD), FDDi25 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 25 mg/kg, FDDi50 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 50 mg/kg, FDDi100 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 100 mg/kg ; Cip : Ciprofloxacine 5 mg/kg. (n = 5).

Différences significatives : * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ par rapport au témoin normal (TN). bp < 0,01 par rapport aux témoins diarrhéiques (TD).

➤ Effets du traitement sur la fonction rénale

La concentration de créatinine a significativement ($p < 0,01$) augmenté de + 22,83 % chez les rats infectés par rapport aux rats normaux (Figure 60). La fraction au dichlorométhane de

l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* (25, 50 et 100 mg/kg) a baissé la concentration sérique de créatinine de - 14,36 %, ($p < 0,01$) ; -13,05 % et de - 13,36 % ($p < 0,05$), respectivement par rapport aux rats infectés et non traités. Alors que la ciprofloxacine (5 mg/kg) a baissé cette créatininémie de - 22,52 % ($p < 0,01$).

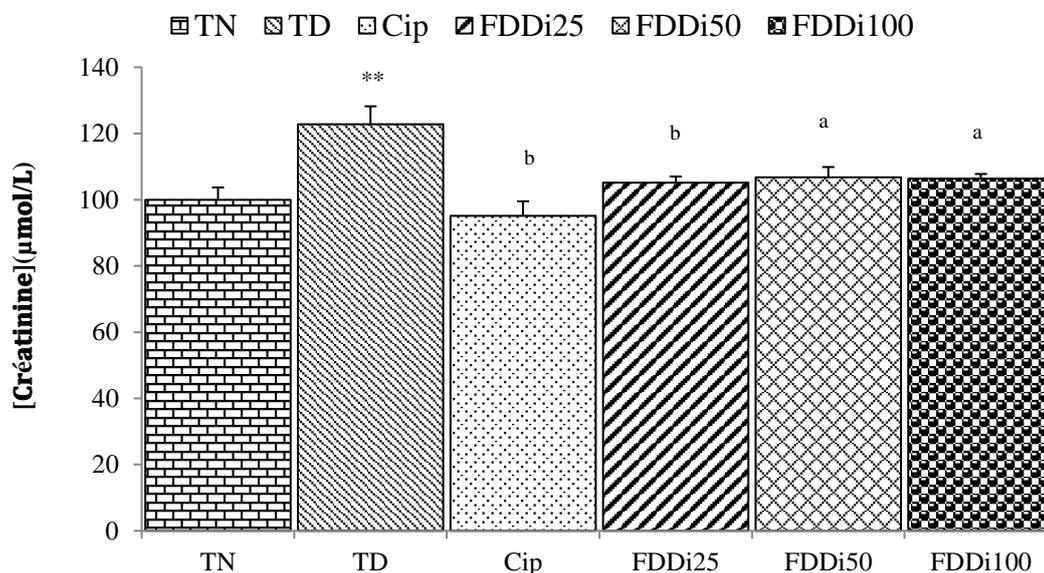


Figure 60 : Créatininémie pendant le traitement avec la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* chez les rats infectés par *S. typhi*.

Témoin normaux (TN), Témoins diarrhéiques (TD), FDDi25 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 25 mg/kg, FDDi50 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 50 mg/kg, FDDi100 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 100 mg/kg ; Cip : Ciprofloxacine 5 mg/kg. (n = 5).

Différences significatives : ** $p < 0,01$ par rapport au témoin normal (TN). a $p < 0,05$, b $p < 0,01$ par rapport aux témoins diarrhéiques (TD).

III.1.7.11. Effets du traitement sur le stress oxydant

➤ Effets sur l'activité de la superoxyde dismutase

L'activité de la superoxyde dismutase (SOD) est significativement basse dans le foie, le rein et la rate des rats infectés : - 66,05% ; - 64,11% et - 54,60 % ($p < 0,01$) respectivement par rapport aux rats normaux (Figure 61).

L'administration de la fraction au dichlorométhane (25, 50 et 100 mg/kg), chez les rats infectés a entraîné une hausse de l'activité de la superoxyde dismutase respectivement de 135,62 % ; 148,33 % et de 273,35 % ($p < 0,01$) dans le foie ; de 70,53 % ; 100,77 % et de 203,94 % ($p < 0,01$) dans les reins puis de 67,43 % ; 100,29 % et 173,21 % ($p < 0,01$) dans la rate par rapport aux rats ayant été infectés et non traités. Alors que, la ciprofloxacine (5 mg/kg) a augmenté de l'activité de la SOD de 77,28 % ; 146,74 % et 121,81 % ($p < 0,01$) respectivement dans le foie, les reins et la rate.

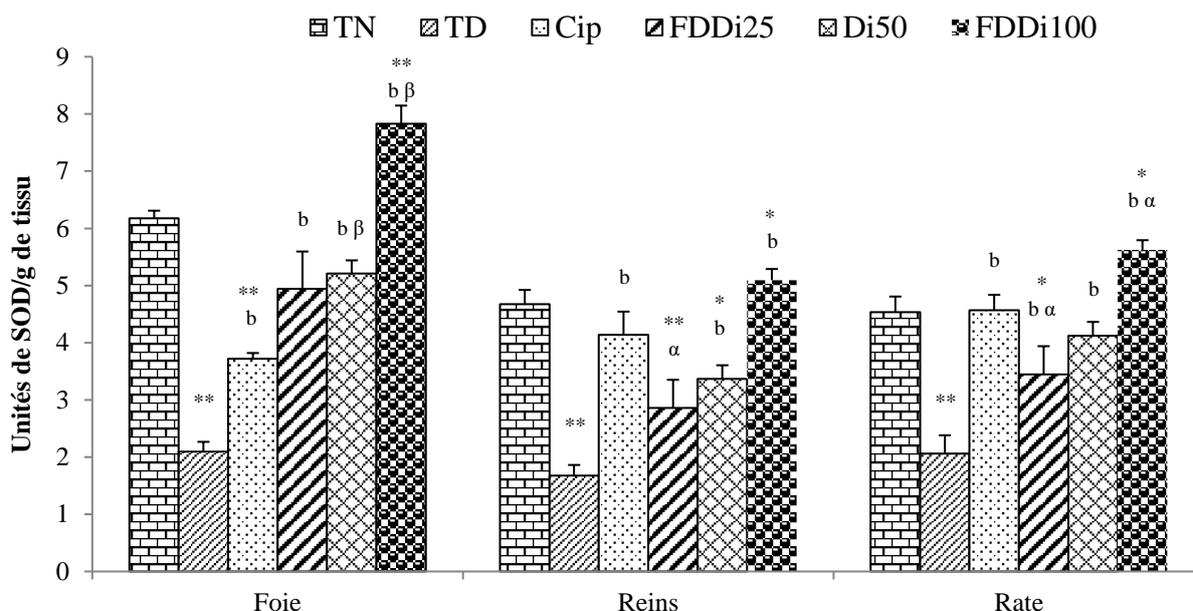


Figure 61 : Activité de la superoxyde dismutase pendant le traitement avec la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* chez les rats infectés par *S. typhi*.

Témoin normaux (TN), Témoins diarrhéiques (TD), FDDi25 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 25 mg/kg, FDDi50 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 50 mg/kg, FDDi100 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 100 mg/kg ; Cip : Ciprofloxacine 5 mg/kg. (n = 5).

Différences significatives : * p<0,05 par rapport au témoin normal (TN) ; ** p<0,01 par rapport au témoin normal (TN) ; b p<0,01 par rapport aux témoins diarrhéiques (TD) ; α p<0,05 par rapport au témoin traité à la ciprofloxacine (Cip) ; β p<0,01 par rapport au témoin traité à la ciprofloxacine (Cip).

➤ Effets sur l'activité de la catalase

Par rapport aux rats normaux, l'activité de la catalase a baissé dans les organes (foie, reins et rate) des rats infectés respectivement de - 47,66 % ; - 44,47 % et de - 79,87 % (p< 0,01) (Figure 62).

La fraction de l'extrait (25, 50 et 100 mg/kg), a entraîné de façon dose-dépendante, la hausse de l'activité de la catalase respectivement de + 46,55 % ; + 88,83 % et de + 115,44 % (p< 0,001) dans les reins ; de + 14,40 % (p< 0,005) ; + 26,15 % et de + 53,64 % (p< 0,001) dans le foie puis de + 49,72 % ; + 156,67% et de + 269,17 % (p< 0,01) dans la rate comparée aux rats infectés aux salmonelles et non traités. La hausse a été de + 93,91 % (p< 0,01) dans les reins, + 26,38 % (p< 0,01) dans le foie et de + 225,63 % (p< 0,01) dans la rate avec le traitement à la ciprofloxacine.

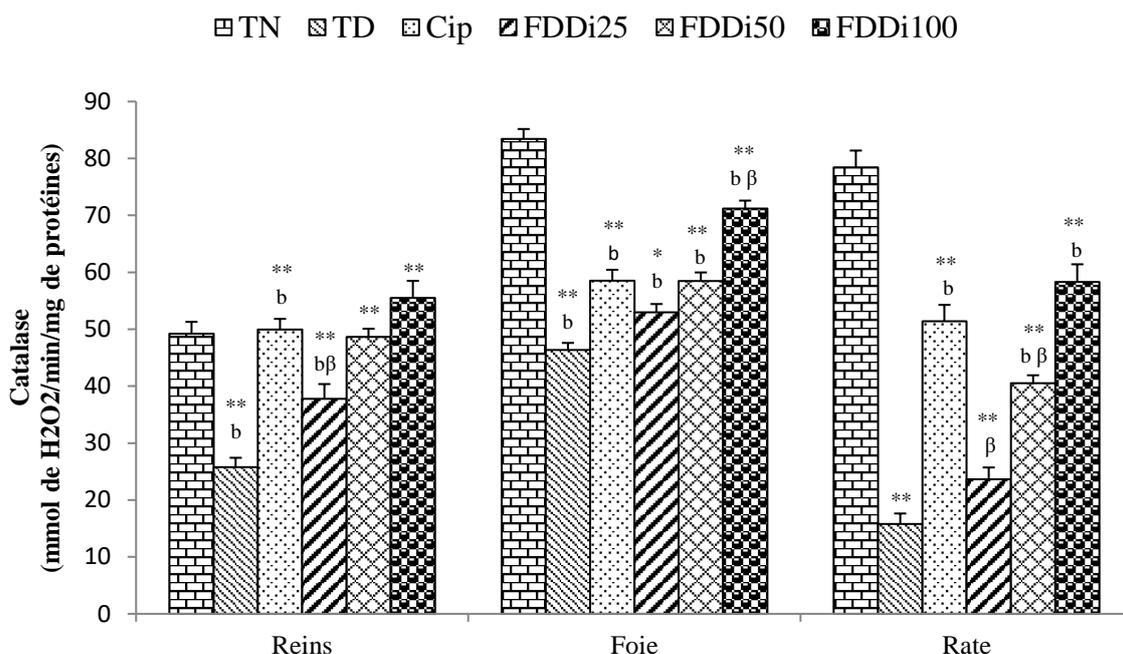


Figure 62 : Activité de la catalase pendant le traitement avec la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* chez les rats infectés par *S. typhi*.

Témoin normaux (TN), Témoins diarrhéiques (TD), FDDi25 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 25 mg/kg, FDDi50 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 50 mg/kg, FDDi100 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 100 mg/kg ; Cip : Ciprofloxacine 5 mg/kg. (n = 5).

Différences significatives : * p<0,05 par rapport au témoin normal (TN) ; ** p<0,01 par rapport au témoin normal (TN). b p<0,01 par rapport aux témoins diarrhéiques (TD) ; α p<0,05 par rapport au témoin traité à la ciprofloxacine (Cip), β p<0,01 par rapport au témoin traité à la ciprofloxacine (Cip).

➤ Effets sur la concentration en glutathion réduit

La concentration de glutathion réduit exprimée en $\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissu a, comparativement aux rats normaux, significativement ($p < 0,01$) diminué chez les rats infectés : - 60,87 % dans le rein, -71,54 % dans le foie et - 70,50 % dans la rate (Figure 63).

Chez les rats infectés, la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* à 25, 50 et 100 mg/kg, a induit une hausse de la concentration taux de glutathion réduit respectivement de + 36,55 % ; + 80,82 % et de + 119,89 % ($p < 0,01$) dans le rein ; de + 97,16 % ; + 145,02 % et de + 220 % ($p < 0,01$) dans le foie ; puis de + 29,49 %, + 87,80 % et + 131,62 % dans la rate par rapport aux rats infectés et non traités. La ciprofloxacine a entraîné une hausse de la concentration de glutathion de + 145,70 % ; + 159,54 % et de + 170,13 % ($p < 0,01$) respectivement dans le rein, le foie et la rate.

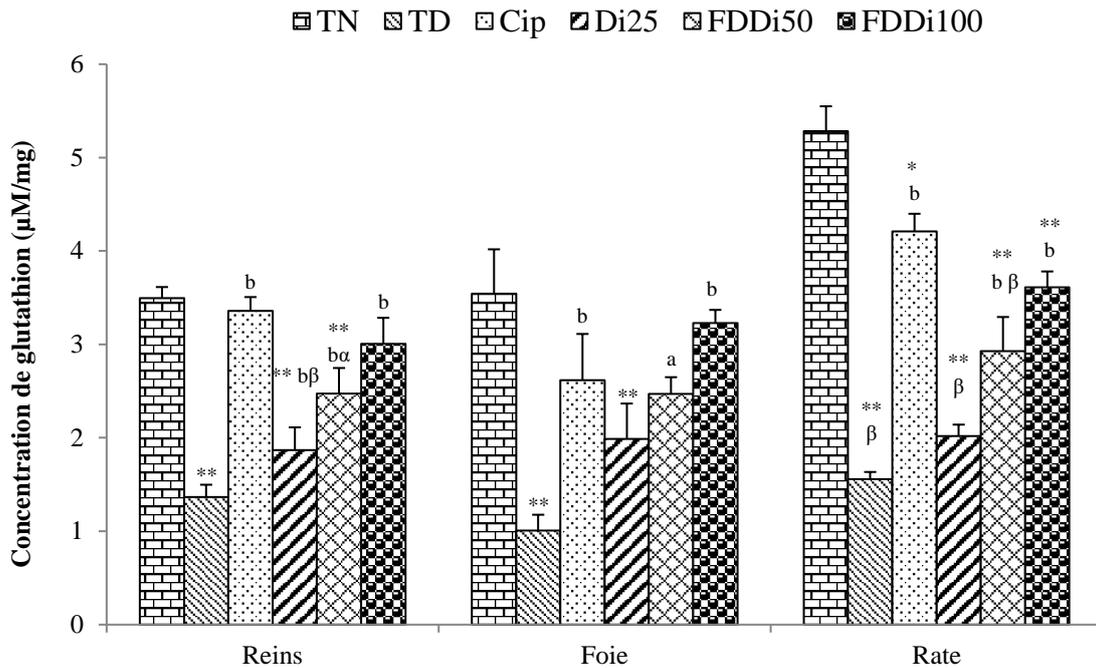


Figure 63 : Concentration de glutathion réduit pendant le traitement avec la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* chez les rats infectés par *S. typhi*.

Témoin normaux (TN), Témoins diarrhéiques (TD), FDDi25 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 25 mg/kg, FDDi50 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 50 mg/kg, FDDi100 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 100 mg/kg ; Cip : Ciprofloxacine 5 mg/kg. (n = 5).

Différences significatives : * p<0,05 par rapport au témoin normal (TN) ; ** p<0,01 par rapport au témoin normal (TN) ; b p<0,01 par rapport aux témoins diarrhéiques (TD) ; α p<0,05 par rapport au témoin traité à la ciprofloxacine (Cip) ; β p<0,01 par rapport au témoin traité à la ciprofloxacine (Cip).

➤ Effets sur la concentration de malondialdéhyde (MDA)

Chez les rats témoins infectés (TD), la concentration de MDA a remarquablement ($p < 0,01$) augmenté dans les reins (153,04 %), le foie (33,87 %) et la rate (102,10%) comparé aux rats normaux (TN) (Figure 64). Chez les rats infectés, la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* 25, 50 et 100 mg/kg, a entraîné une baisse de la concentration du taux de MDA respectivement de - 56,24 % ; - 54,54 % et - 41,71 % ($p < 0,01$) dans les reins ; de - 33,27 %, - 26,85 % et de - 9,82 % dans le foie ; puis de - 54,22 % ; - 43,76 % et de - 36,08 % dans la rate.

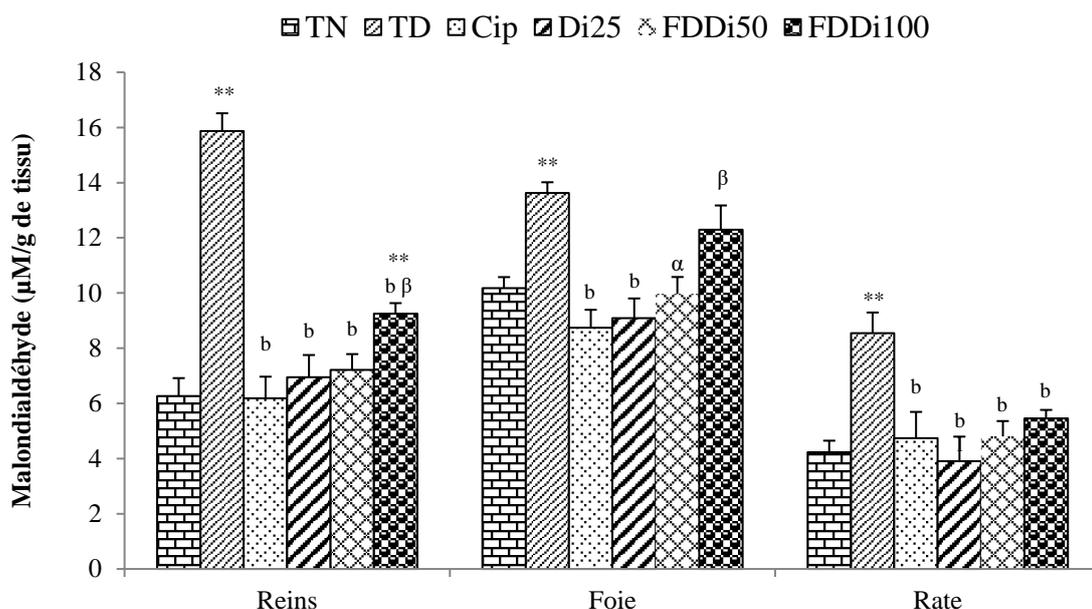


Figure 64 : Concentration de malondialdéhyde (MDA) pendant le traitement avec la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* chez les rats infectés par *S. typhi*.

Témoin normaux (TN), Témoins diarrhéiques (TD), FDDi25 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 25 mg/kg, FDDi50 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 50 mg/kg, FDDi100 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 100 mg/kg ; Cip : Ciprofloxacine 5 mg/kg. (n = 5).

Différences significatives : **p<0,01 par rapport au témoin normal (TN). bp<0,01 par rapport aux témoins diarrhéiques (TD) αp<0,05, βp<0,01 par rapport au témoin traité à la ciprofloxacine (Cip).

La ciprofloxacine a été sujet d'une réduction significative du taux de MDA ($p < 0,01$) par rapport aux rats infectés et non traités.

➤ Effets sur les concentrations du monoxyde d'azote (NO) sérique et tissulaire

Chez les rats infectés, la concentration du NO a remarquablement ($p < 0,01$) augmenté dans le sérum (195,67 %), le foie (79,14 %), les reins (102,86 %) et la rate (61,88 %) par rapport aux rats normaux (TN) (Figure 65). Chez les rats infectés, la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* 25, 50 et 100 mg/kg, a entraîné une baisse de la concentration du NO : - 28,35 % ; - 66,54 % et - 66,12 % ($p < 0,01$) dans le sérum ; - 26,20 % ; - 30,86 % et - 47,28 % ($p < 0,01$) dans les reins ; - 31,42 % ; - 64,54 % ; - 69,26 % et - 37,91 % ($p < 0,01$) dans le foie ; puis de - 36,03 % et - 57,10 % ($p < 0,01$) dans la rate par rapport au témoin normal. La ciprofloxacine (5 mg/kg) a entraîné une baisse notable de la concentration du NO - 59,24 % ; -51,37 % ; - 36,47 % et - 72,51 % ($p < 0,01$) respectivement dans le sérum, foie, les reins et la rate.

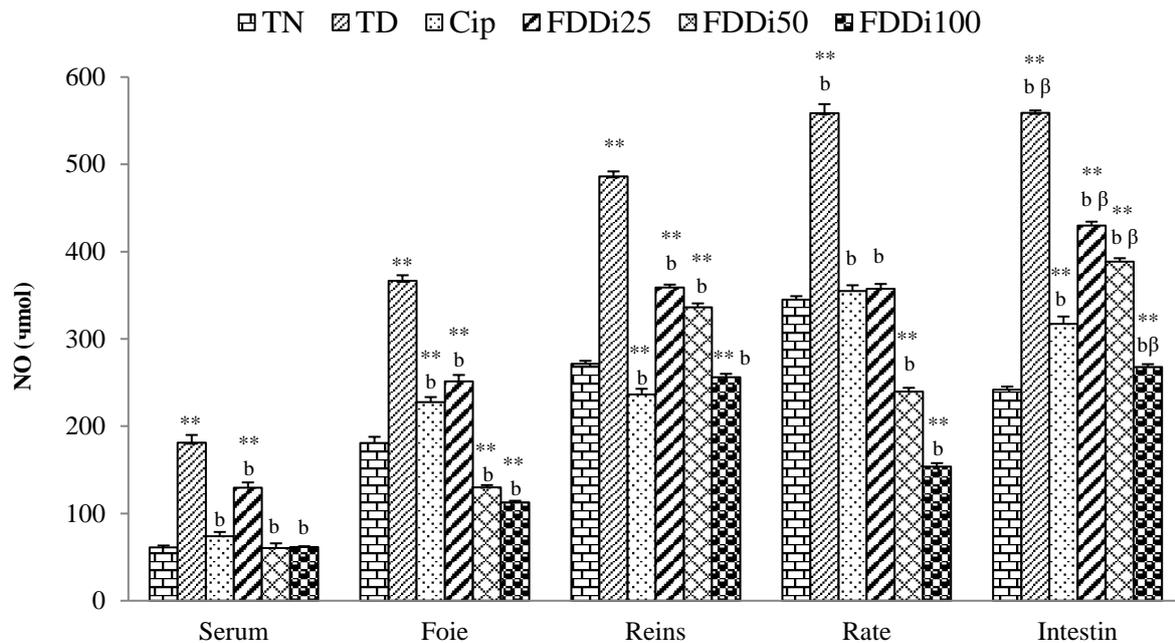


Figure 65 : Concentration sérique et tissulaire du monoxyde d'azote pendant le traitement avec la fraction de *Dichrocephala integrifolia* chez les rats infectés par *S. typhi*.

Témoin normaux (TN), Témoins diarrhéiques (TD), FDDi25 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 25 mg/kg, FDDi50 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 50 mg/kg, FDDi100 : fraction dichlorométhane de *D. integrifolia* 100 mg/kg ; Cip : Ciprofloxacine 5 mg/kg. (n = 5).

Différences significatives : ** p<0,01 par rapport au témoin normal (TN). b p< 0,01 par rapport aux témoins diarrhéiques (TD). β p<0,01 par rapport au témoin traité à la ciprofloxacine (Cip).

III.1.7.12. Effets des différents traitements sur la morphologie de l'intestin, du foie et des reins chez les rats.

➤ Effets sur le foie

Le foie de rat témoin (Figure 66A) présente un parenchyme avec des travées hépatocytaires bien constituées et séparées par des capillaires sinusoides. Dans l'espace porte on distingue un canal biliaire et une artère hépatique. Chez les rats infectés aux salmonelles (Figures 66B) on observe des infiltrations leucocytaires, la dégénérescence des tissus hépatocytaires et des congestions vasculaires. Le traitement à la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* et à la ciprofloxacine (Figure 66C-D-E) n'a pas amélioré l'architecture des tissus hépatiques des rats infectés aux salmonelles. Les différentes coupes histologiques montrent une fibrose périvasculaire foyer inflammatoire (Figure 66B-D-E) et une congestion vasculaire au niveau de l'espace porte (Figure 66B-C-D-E-F).

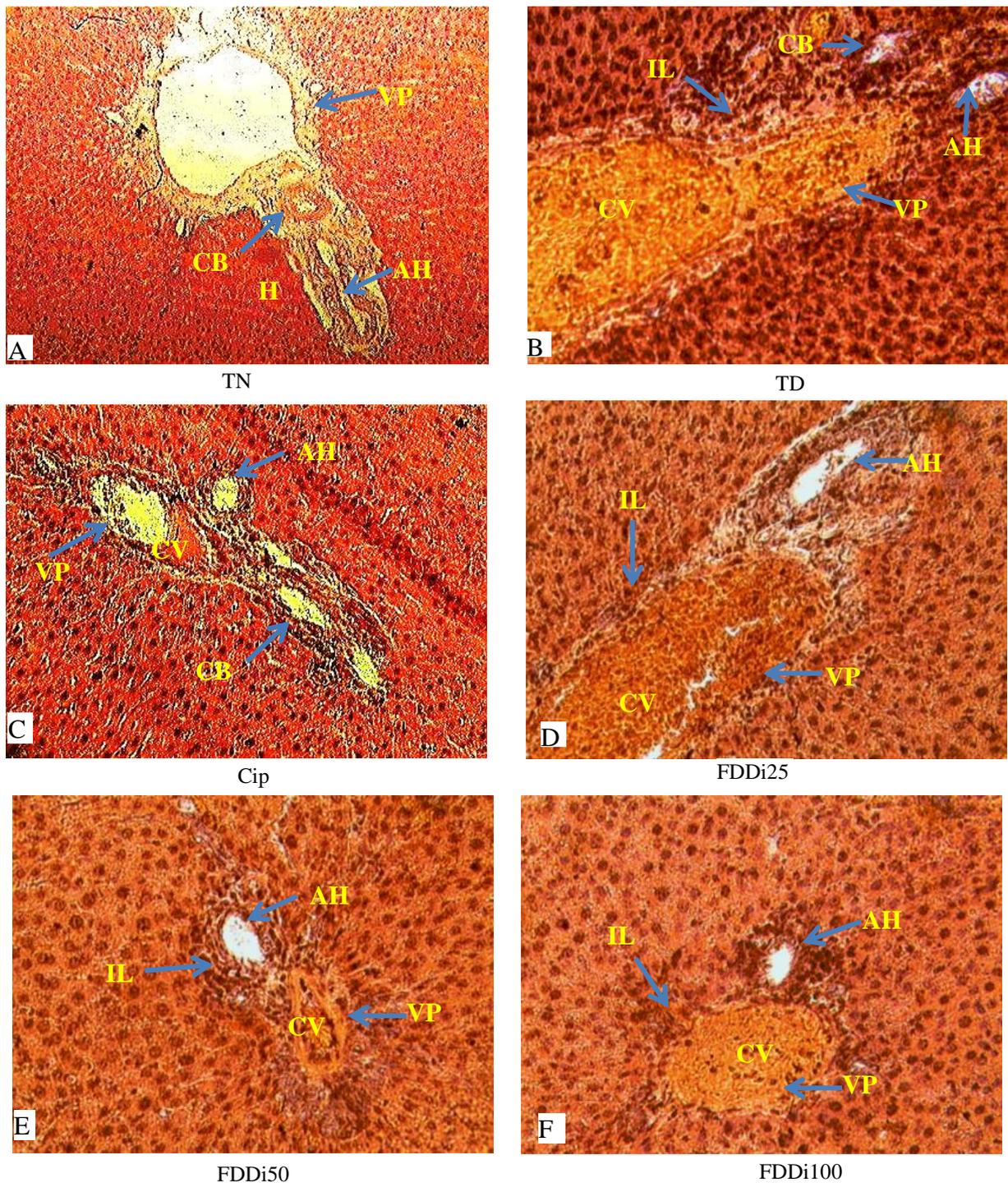


Figure 66 : Micrographies montrant l'aspect histologique du foie de rat (HE x 400).

A : rat normal (TN), B : rat infectés et non traités (TD), C : rat traité à la ciprofloxacine 5 mg/kg (Cip), D : infectés et traités par la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* 25 mg/kg (FDDi25), E : infectés et traités par la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* 50 mg/kg (FDDi50) F : infectés et traités par la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* 100 mg/kg. Congestion vasculaire (CV), désorganisation des hépatocytes. Veine porte (VP), hépatocyte (H), canalicule biliaire (CB), artère hépatique (AH), infiltration leucocytaire (IL).

➤ Effets sur les reins

Le rein de rat témoin normal (Figure 67A) présente un glomérule contenu dans la capsule de Bowman délimitant l'espace de Bowman. Les tubes proximaux (sombres) sont bien distincts et les tubes distaux sont plus clairs.

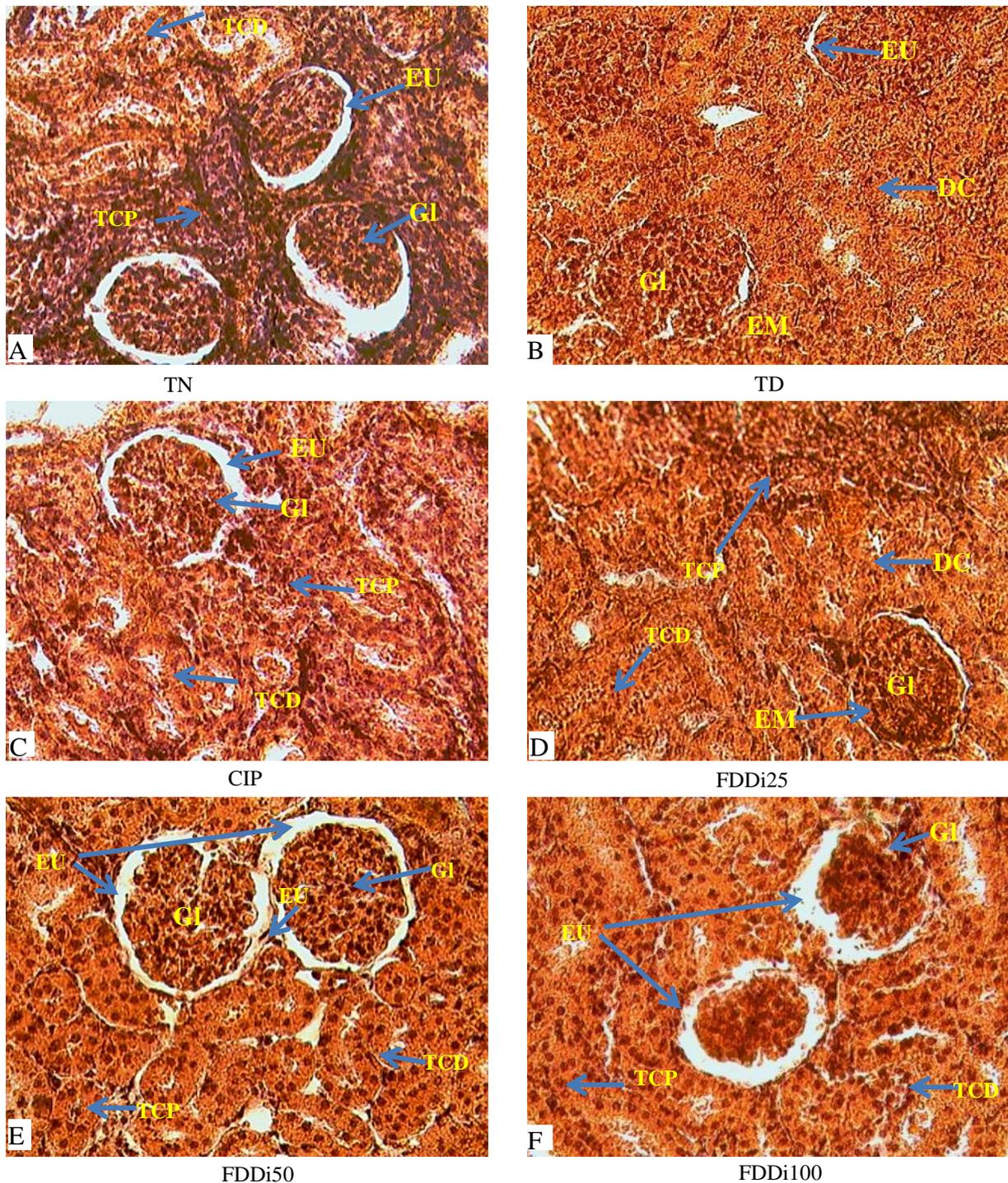


Figure 67 : Micrographies montrant l'aspect histologique du rein de rat (HE x 400).

A : rat normal (TN), B : rat infectés et non traités (TD), C : rat traité à la ciprofloxacine 5 mg/kg (Cip), D : infectés et traités par la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* 25 mg/kg (FDDi25), E : infectés et traités par la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* 50 mg/kg (FDDi50) F : infectés et traités par la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* 100 mg/kg. Glomérule (Gl), espace urinaire (EU), tubes

Contournés proximaux (TCP) et distaux (TCD), Expansion mésangiale (EM), dégenescence cellulaire (DC).

Chez les rats infectés et non traités, il y a expansion mésangiale avec disparition de l'espace de Bowman ou chambre glomérulaire (Figure 67B), et dégénérescence des cellules tubulaires (Figure 67B). Chez les rats infectés et traités avec la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* 50 et 100 mg/kg (Figure 67E-F) le glomérule, les tubes proximaux et distaux sont normaux et présentent des clarifications tubulaires négligeables.

III.1.8. Toxicité aiguë

Une heure après administration de la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* (5000 mg/kg), les rats ont commencé à manifester une diminution de la motilité et quelques contractions abdominales. Ces signes ont disparu au bout d'une trentaine de minutes et les animaux durant toute l'expérimentation n'ont plus présenté de signe de trouble comportemental (sensibilité au bruit, au toucher et au pincement, agressivité locomotion). Les selles étaient d'aspect normal et bien moulées. Aucun décès n'a été enregistré durant les 14 jours d'observation. La dose létale médiane DL_{50} de cet extrait serait supérieure à 5000 mg/kg de poids corporel.

III.2. Discussion

La pharmacopée camerounaise et en particulier celle de l'Ouest Cameroun regorge de plantes utilisées dans le traitement des troubles gastro-intestinaux. *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preussii*, *Melenis minutiflora*, et *Tricalysia okelensis* sont empiriquement utilisées dans cette région dans le traitement des troubles et intoxications gastro-intestinaux. Dans l'optique de permettre la production d'une MTA efficace dans le traitement des affections diarrhéiques, nous nous sommes proposés dans un premier temps, de comparer les activités antimicrobienne et spasmolytique de ces quatre plantes. Ensuite, l'extrait le plus efficace de la plante sélectionnée et la fraction la plus efficace de l'extrait retenu ont été étudiés pour leurs activités antimicrobiennes, spasmolytiques et antisécrétoires. Notre étude a été complétée par l'évaluation de la toxicité aiguë et la détermination de la composition phytochimique qualitative et quantitative des extraits et fractions utilisés.

L'étude des propriétés antimicrobiennes des extraits hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preussii*, *Melenis minutiflora* et *Tricalysia okelensis* sur différentes souches microbiennes responsables des diarrhées fait ressortir que l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia*, bien plus que les autres extraits, est susceptible d'inhiber la croissance des souches microbiennes testées. Plus encore, il a des propriétés bactéricides et fongicides (CMB/CMI < 4) sur toutes les souches testées. L'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* serait, par rapport aux extraits hydroéthanoliques de *Dioscorea preussii*, *Melenis minutiflora* et de *Tricalysia okelensis* la plus efficace contre les souches microbiennes responsables des diarrhées. Cette activité serait due aux métabolites secondaires dont certains auteurs ont démontré les activités antimicrobiennes tels que les anthraquinones (Lacmata *et al.*, 2012), les tanins (Sridhar *et al.*, 2012), les polysaccharides (Šiljegović *et al.*, 2011), les alcaloïdes (Rahman *et al.*, 2010), les saponines (Doss *et al.*, 2010) et les phénols (Murugesan *et al.*, 2011) que posséderaient l'extrait de *D. integrifolia*, ainsi que les extraits de *M. minutiflora* et de *D. preussii*. L'importance de l'activité antimicrobienne de l'extrait à hydroéthanolique de *D. integrifolia* pourrait s'expliquer par la présence des flavonoïdes. En effet, les flavonoïdes agiraient par différents mécanismes antimicrobiens qui sont l'inhibition de : la synthèse d'acide nucléique, la fonction de la membrane cytoplasmique, du métabolisme de l'énergie, la formation de fixation et de biofilm, la porine sur la membrane cellulaire, la modification de la perméabilité de la membrane, et l'atténuation de la pathogénicité. Il est connu que les flavonoïdes possèdent des propriétés antibactériennes (Cushnie & Lamb, 2005 ; Xie *et al.*, 2014). *Tricalysia okelensis* a montré une faible activité antimicrobienne probablement du fait de l'absence de certains composés antimicrobiens que posséderaient les autres extraits tels que

les anthraquinones et les stérols. En outre, la nature antimicrobienne des extraits de ces plantes peut être attribuée non seulement à un composé particulier mais également à l'action synergique de diverses substances bioactives au sein de l'extrait (Anand *et al.*, 2012).

L'étude des propriétés des extraits de plantes sur l'accélération du transit intestinal induite par l'huile de ricin fait ressortir que les extraits hydroéthanoliques de *D. integrifolia* et de *T. okelensis* ont, de façon dose-dépendante, inhibé cette accélération du transit intestinal induit par l'huile de ricin, alors que *M. minutiflora* et *D. preussii* ont inhibé le transit de façon dose inversement dépendante. Ces extraits auraient probablement des propriétés laxatives aux fortes doses ; les extraits de *D. integrifolia* et *T. okelensis* auraient une activité spasmodique. L'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* mieux que l'extrait hydroéthanolique de *T. okelensis*, a inhibé l'accélération du transit intestinal induite par l'huile de ricin et serait l'extrait le plus efficace sur les diarrhées motrices. Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer les effets cathartiques de l'huile de ricin incluant la réduction de l'absorption normale des fluides intestinaux par la réduction ou l'inhibition de l'activité de la pompe Na^+/K^+ -ATPase (Gaginella & Bass, 1978), la stimulation de la formation de la prostaglandine E_2 (Galvez *et al.*, 1993), du *platelet activating factor* (PAF) et du monoxyde d'azote (Mascolo *et al.*, 1996). Il est bien évident que l'huile de ricin cause des diarrhées dues à son composant le plus actif, l'acide ricinoléique, qui cause l'irritation et l'inflammation de la muqueuse intestinale entraînant la libération des prostaglandines qui stimulent la motilité et la sécrétion diminuant de ce fait l'absorption des ions sodium et potassium (Bakare *et al.*, 2011). L'effet de frein exercé par les extraits hydroéthanoliques des plantes sur le transit serait dû à la présence des tanins, qui agiraient en se fixant sur les protéines luminales formant des complexes protéiques qui précipitent pour former une membrane enveloppant la muqueuse intestinale, la rendant plus résistante à l'altération chimique, réduisant ainsi les sécrétions intestinales (Mamoon & Azam, 2012). De plus, elles diminuent la contractilité musculaire intestinale (Puspitasari *et al.*, 2012) et neutralisent les activités oxydasiques (Peronny, 2005). A l'issue de cette première phase, toutes les plantes ont présenté un potentiel antidiarrhéique qui justifierait leur utilisation à l'Ouest Cameroun dans le traitement des troubles digestifs. Toutefois, l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* qui a présenté des propriétés antidiarrhéiques supérieures a été retenu en vue de la détermination de ses probables mécanismes d'action antidiarrhéiques.

Divers microorganismes induisent les diarrhées, généralement en inhibant l'absorption intestinale ou en augmentant la sécrétion et la motilité intestinales (Ramig, 2004). Les meilleurs médicaments antidiarrhéiques sont dès lors appelés à réduire la motilité et/ou la sécrétion intestinale tout en exprimant des potentialités antimicrobiennes afin d'éviter une prolifération

microbienne (Demetrio *et al.*, 2015). C'est sur la base de ces critères que le choix de l'extrait et de la fraction efficace de *D. integrifolia* a été effectué. L'étude des propriétés antimicrobiennes des extraits éthanolique, aqueux et hydroéthanolique de *D. integrifolia* ont montré leur activité antimicrobienne concentration-dépendante sur les différentes souches microbiennes utilisées. Les rapports CMB/CMI obtenus indiquent que les extraits de *D. integrifolia* ont une action bactéricide et fongicide sur *E. coli*, *S. choleraesuis*, *S. typhi*, *S. dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. faecalis* et *C. albicans*. L'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* mieux que les autres extraits, a une activité antimicrobienne sur presque toutes les souches testées exceptées les souches de *P. aeruginosa* et *E. faecalis*. L'extrait aqueux quant à lui présente la plus faible activité bactérienne mais avec une très bonne activité antifongique. L'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia*, comparé aux extraits aqueux et éthanolique serait le plus efficace contre les souches microbiennes testées, responsables des diarrhées. Cette activité antimicrobienne des extraits hydroéthanolique et éthanolique de *D. integrifolia* serait liée à la présence dans ces extraits des stérols qui agiraient par perturbation membranaire en inhibant la protéine de surface des cellules bactériennes «sortase», empêchant ainsi la transpeptidation (Yusuf *et al.*, 2018).

Sur les contractions intestinales, les extraits hydroéthanolique, éthanolique et aqueux entre 0,005 et 1 mg/mL, en milieu physiologique normal, ont provoqué deux types d'effets au niveau du fragment de duodénum du rat. Les extraits éthanolique et aqueux augmenteraient l'amplitude et le tonus de contraction, alors que l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* réduirait l'amplitude et le tonus de contraction. Cet effet spasmolytique de l'extrait à l'éthanol/eau de *D. integrifolia* a également été enregistré *in vivo* sur l'accélération du transit induit par l'huile de ricin. Par contre, les extraits éthanolique et aqueux de *D. integrifolia* ont présenté *in vivo* une activité spasmolytique en réduisant la progression du charbon dans l'intestin. Cette différence d'activités des extraits éthanolique et aqueux de *D. integrifolia* serait due à la biotransformation survenant après l'administration, provoquée par un pH gastrique bas, la présence d'enzymes digestives et les micro-organismes formant la flore intestinale (Khadhri *et al.*, 2017). L'effet stimulateur *in vitro* des extraits éthanolique et aqueux de *D. integrifolia* sur l'activité motrice de duodénum évoque des propriétés spasmogènes de ces extraits, ce qui ne serait pas souhaitable dans le traitement des diarrhées. L'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* a une activité inhibitrice sur les contractions intestinales et serait l'extrait le plus efficace sur les diarrhées motrices. Sur les sécrétions intestinales, l'extrait éthanolique, mieux que les extraits hydroéthanolique et aqueux a présenté une activité antisécrétoire plus marquée. Ces extraits ont une activité spasmolytique et une activité antisécrétoire et agiraient en inhibant

la sécrétion de l'eau et des électrolytes dans le grêle et le côlon soit par inhibition de la production de la prostaglandine E₂, soit par activation de la pompe Na⁺/K⁺ ATPase, soit en inhibant le péristaltisme intestinal et en modifiant la qualité de selles (Press *et al.*, 1991 ; Faure, 2013). Par ailleurs, l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* contient des terpènes qui ont une activité antiphlogistique via l'inhibition d'enzymes intervenant dans la voie de l'acide arachidonique (Rhourri-Frih, 2009) et une activité inhibitrice de la biosynthèse des leucotriènes et de la 5-lipoxygénase (Sharma *et al.*, 2009) responsables de l'inflammation intestinale et de l'inhibition de la pompe Na⁺/K⁺ ATPase.

Avec une activité antimicrobienne sur la majorité des souches microbiennes testées, une activité spasmolytique *in vitro* et *in vivo* plus marquée et une activité antisécrétoire ; l'extrait à hydroéthanolique de *D. integrifolia* se présente comme l'extrait le plus efficace d'où son fractionnement dans la suite de notre travail.

L'étude des propriétés antimicrobiennes des fractions de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* a montré une inhibition, dose-dépendante, de la croissance des souches microbiennes utilisées. La fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* a présenté une grande inhibition sur les souches testées par rapport aux fractions à l'acétate d'éthyle et à l'éthanol. Plus encore, les rapports CMB/CMI obtenus indiquent que la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* présente une action bactéricide sur la plupart des souches bactériennes testées : *Escherichia coli*, *Salmonella thypi*, *Salmonella choleresuis*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexineri*, et *Staphylococcus aureus*. Les souches de *P. aeruginosa*, *E. faecalis* et *C. albicans* ont été résistantes à l'action des fractions de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia*. La fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* serait, comparée aux autres fractions plus efficaces contre les souches microbiennes testées responsables des diarrhées. Ces propriétés antimicrobiennes des fractions de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* seraient dues aux composés secondaires tels que les flavonoïdes qu'on y retrouve en grande proportion, et dont certains auteurs ont démontré les activités antimicrobiennes (Zakaria *et al.*, 2010). En effet, les flavonoïdes possèdent des propriétés antimicrobiennes soit par l'inhibition de la synthèse des protéines bactériennes, soit par le blocage des effets inhibiteurs des enzymes bactériennes (Kumar & Pandey, 2013). L'importance de l'activité antimicrobienne de chaque fraction pourrait s'expliquer par leur différence probable de teneur en flavonoïdes.

De l'étude des propriétés spasmolytiques des fractions de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia*, il ressort que les fractions à l'acétate d'éthyle, à l'éthanol et au dichlorométhane aux concentrations comprises entre 0,005 et 1 mg/mL, en milieu physiologique normal, ont provoqué deux types d'effets au niveau du fragment de duodénum du rat : les fractions à l'acétate d'éthyle

et à l'éthanol ont augmenté de façon concentration-dépendante l'amplitude et le tonus des contractions. Cet effet spasmogène de la fraction à l'éthanol a été confirmé *in vivo* par la faible inhibition de l'accélération du transit induite par l'huile de ricin. Par contre, la fraction à l'acétate d'éthyle a présenté *in vivo* une activité spasmolytique en réduisant la progression du charbon dans l'intestin. L'effet stimulateur des fractions à l'acétate d'éthyle et à l'éthanol de l'extrait hydroéthanolique de *Dichrocephala integrifolia* sur l'activité motrice du duodénum évoque leurs propriétés spasmogènes et ne serait pas souhaitable dans le traitement des diarrhées. La fraction au dichlorométhane quant à elle a baissé de manière concentration-dépendante l'amplitude et le tonus de contractions *in vitro*, et une inhibition dose dépendante de l'accélération du transit induite par l'huile de ricin *in vivo*. Aussi, la fraction au dichlorométhane a inhibé les sécrétions intestinales induites par l'huile de ricin mieux que les autres fractions. Ce qui montre que cette fraction possède des propriétés spasmolytiques et antisécrétoires. Par ailleurs, elle contient des tanins, des alcaloïdes, des stérols, des flavonoïdes, des coumarines, des anthocyanidines, des polyphénols et des saponines dont les propriétés spasmolytique et antisécrétoire ont été démontrées. Les tanins, par exemple, par leur réaction avec les protéines conduisent à la production des tanates de protéines qui rendent la muqueuse intestinale plus résistante réduisant la sécrétion (Prasad *et al.*, 2014). Aussi, les tanins agiraient en réduisant le courant intracellulaire de Ca^{2+} entrant ou activant le système de pompage du calcium, ce qui induit la relaxation musculaire (Haque *et al.*, 2014).

La fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* posséderait des propriétés antimicrobiennes, spasmolytiques et antisécrétoires supérieures à celles des fractions à l'acétate d'éthyle et à l'éthanol et se présenterait comme la fraction la plus active de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia*. Compte tenu de ses activités spasmolytiques, antisécrétoires et antimicrobiennes, nous avons étudié les mécanismes d'action de la fraction au dichlorométhane.

La fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* a inhibé significativement les contractions phasiques induites par le KCl. Toute substance pouvant inhiber les contractions induites par les fortes doses de K^+ est considérée comme un bloqueur de canaux calciques voltage-dépendants (Godfraind *et al.*, 1986). En effet, la contraction induite par une forte concentration de KCl est due à la dépolarisation membranaire due à l'entrée de Ca^{2+} par les canaux calciques voltage-dépendant (Kirschstein *et al.*, 2009), par l'activation de la *myosin light chain* kinase (MLCK) Ca^{2+} dépendant et une augmentation de la phosphorylation de la MLC. La contraction phasique est due à l'influx direct de Ca^{2+} à travers les canaux Ca^{2+} dépendants de type L (Ratz *et al.*, 2005 ; Godfraind, 2017). La fraction au dichlorométhane de

l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* a un effet inhibiteur sur les canaux Ca^{2+} voltage-dépendants de type L ou bien pourrait réduire la sensibilité du système contractile au Ca^{2+} en inhibant l'activité des enzymes telle que MLC phosphatase et MLC kinase.

Sur les contractions induites par l'acétylcholine, la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* a considérablement inhibé les contractions du duodénum. En effet, au niveau de l'intestin les contractions induites par l'acétylcholine font intervenir deux mécanismes différents impliquant des récepteurs muscariniques (Borgi & Chouchane, 2009). L'acétylcholine induit la contraction du muscle lisse gastro-intestinal par stimulation des récepteurs muscariniques M2 et M3 dépolarisant ainsi la membrane. Les canaux calciques sensibles au potentiel s'ouvrent et permettent le flux entrant calcique (Iorizzi *et al.*, 2002). L'acétylcholine induit aussi la libération du calcium des sites de réserve intracellulaire tels que mitochondries et réticulum sarcoplasmique (Shi & Sarna, 2000 ; Nadir *et al.*, 2009). En effet, la stimulation du récepteur M2 est couplés via la protéine Gi à l'enzyme adénylyl cyclase. Le clivage de la sous-unité α liée au GTP de la protéine G entraîne une inhibition de l'adénylyl cyclase et une baisse des niveaux de production d'adénosine cyclique 3', 5'-monophosphate (AMPc) à partir de l'ATP. La formation de l'AMPc entraînant l'activation de la protéine kinase dépendante de l'AMPc (PKC) qui inhibe l'activité MLCP par phosphorylation de la protéine régulatrice MLCP produit une augmentation du Calcium intracellulaire. Par contre, la stimulation du récepteur M3 provoque la dissociation des sous unités α , β et γ de ladite protéine ; ce qui entraîne l'activation de la phospholipase C (PLC). La PLC hydrolyse le phosphatidylinositol 4,5 bisphosphate (PIP2) en inositol 1,4,5 triphosphates (IP3) et le 1,2 diacylglycérol (DAG). Le diacylglycérol (DAG) active la protéine kinase C qui influencerait la sensibilité du muscle lisse au Calcium. Le phosphatidyl-1,4,5-triphosphate (IP3) se fixe aux récepteurs IP3 des canaux calciques provoquant ainsi la libération du calcium, et par conséquent la contraction du muscle intestinal (Broadley & Kelly, 2001 ; Unno *et al.*, 2005). L'effet spasmolytique de la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* pourrait être attribué à une action sur les mouvements calciques transmembranaires, ceci par inhibition des récepteurs muscariniques M2 et M3. La fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* a ainsi une action anticholinergique.

La fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* a inhibé les contractions induites par le BaCl_2 . Des concentrations élevées d'ions baryum dans le liquide extracellulaire dépolarisent la membrane de la cellule musculaire lisse et ouvrent des canaux calciques voltage-dépendants, entraînant une augmentation du calcium intracellulaire de la

cellule (Miladinovic *et al.*, 2018). L'inhibition des contractions du duodénum induit par le BaCl₂ est également attribuée à une action sur les mouvements calciques transmembranaires.

Les effets spasmolytiques de la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* ont été également étudiés *in vivo* chez les rats prétraités au Glibenclamide (un antagoniste des canaux potassiques), à la yohimbine (un antagoniste des récepteurs α_2 adrénergiques), à l'atropine et au naloxone. Le Glibenclamide a significativement réduit l'effet spasmolytique de la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* (50 mg/kg). Par ailleurs, le prétraitement des animaux à la Yohimbine n'a entraîné aucun changement significatif sur l'effet spasmolytique de la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia*. Le glibenclamide est un antagoniste spécifique des canaux potassiques dépendants de l'ATP (K_{ATP}). Le blocage de ces canaux entraîne une dépolarisation des cellules musculaires lisses intestinales avec ouverture des canaux calciques voltage-dépendants et entrée du calcium (Khan *et al.*, 2016). Par contre, l'ouverture de ces canaux par un agoniste entraîne l'entrée d'ions K^+ suivie d'une hyperpolarisation, et donc d'une fermeture des canaux calciques voltage-dépendants et une relaxation musculaire. Ce prétraitement au glibenclamide, un K_{ATP} bloquant, a levé l'inhibition exercée par la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* qui contiendrait des substances qui agiraient via ces canaux. Les agonistes des récepteurs α_2 adrénergiques entraînent la stimulation de l'absorption ; l'inhibition de la sécrétion des fluides et des électrolytes, ainsi qu'une augmentation du temps de transit. La Yohimbine, un antagoniste de ces récepteurs entraîne plutôt les effets inverses (Khan *et al.*, 2016). Le prétraitement des animaux à la Yohimbine n'a pas affecté l'effet spasmolytique de la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia*. Les substances bioactives de cette fraction ne seraient donc pas des agonistes des récepteurs α_2 adrénergiques.

Le prétraitement des animaux à l'atropine a augmenté l'effet spasmolytique de la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia*. L'atropine est un antagoniste spécifique des récepteurs muscariniques. Au niveau du muscle lisse intestinal de rat, l'atropine se fixe sur les récepteurs de type M_3 et empêche ainsi à l'acétylcholine, ligand naturel, d'exercer ses effets pharmacologiques (Jing *et al.*, 2010). Cette augmentation de l'effet spasmolytique de la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* montre qu'elle agirait aussi via d'autres mécanismes d'actions différents de la voie utilisée par l'atropine, à savoir les récepteurs muscariniques de type M_3 et aurait une action synergique ou potentialisatrice co-administrée avec de l'atropine.

Chez des animaux prétraités au naloxone, aucun changement significatif n'a été observé sur l'effet spasmolytique de la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia*. Le naloxone est un antagoniste compétitif des récepteurs μ opioïdes (Reed, 2016). L'activation de ces récepteurs par

un agoniste (le loperamide) inhibe la libération de l'acétylcholine et donc entraîne une relaxation du muscle lisse dans la paroi intestinale. Ceci a pour conséquence physiologique un accroissement de la segmentation du côlon et une inhibition du péristaltisme, augmentant ainsi le temps de transit intestinal (Faure, 2013). Les substances bioactives de cette fraction de *D. integrifolia* ne seraient donc pas des agonistes des récepteurs μ opioïdes et cette fraction n'agirait pas comme une opiacée.

L'activité antisécrétoire de la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* par un mécanisme impliquant la prostaglandine a été mieux étayée par l'étude du modèle de sécrétion intestinale induite par la PGE₂. La PGE₂ stimule la sécrétion d'eau, d'électrolytes et de mucine (Wansi, *et al.*, 2014). Ses différentes fonctions biologiques sont exercées à travers ses récepteurs membranaires couplés à la protéine G (Dey *et al.*, 2006). Les récepteurs EP2 et EP4 sont tous deux couplés à une protéine Gs. Suite à leur activation, suivant la dissociation des sous-unités α et $\beta\gamma$ de la protéine G hétérodimérique, une augmentation de la concentration de l'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) est observée suite à l'activation de l'adénylate cyclase qui catalyse la conversion de l'ATP cytoplasmique en AMPc. L'AMPc peut ensuite activer la PKA entraînant l'augmentation de la production d'oxyde nitrique (NO) par régulation de l'expression du iNOS. De plus, la production d'AMPc, suite à la stimulation d'EP4, peut aussi mener à une exocytose de mucine AMPc dépendante (Karaki et Kuwahara, 2004 ; Takeuchi & Amagase, 2017). La fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* en réduisant la sécrétion intestinale induite par la PGE₂ traduirait une diminution du taux de l'AMPc via le blocage des récepteurs EP₂ et EP₄ de la prostaglandine. La fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* a ainsi une action antiprostaglandique.

Pour essayer d'élucider le mécanisme d'action antimicrobien de la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia*, nous l'avons utilisée *in vivo* contre la fièvre typhoïde induite chez les rats par administration de $1,50 \times 10^6$ UFC de *S. typhi*. Cinq jours après l'administration de *S. typhi* chez les rats, l'installation de l'infection s'est reflétée par un certain nombre de changements au niveau du comportement et de la physiologie des animaux avec, entre autres des poils lâches et dressés, une réduction de la mobilité, une élévation de la température corporelle (signe de la fièvre), une augmentation de la quantité de selles molles ou liquides et avec de la glaire, et de la densité des salmonelles dans les selles. Ces changements suggèrent que les salmonelles ont proliféré dans l'intestin après avoir envahi le système immunitaire et ont combattu les mécanismes de défenses non spécifiques. En effet, la première ligne de défense est l'immunité innée, qui consiste en des barrières physiques telles que la peau, les muqueuses et les

sécrétions, qui agissent de concert avec les cellules phagocytaires peuplant la zone d'entrée de l'antigène (Hansson, 2012).

La fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* a provoqué une diminution de la densité des salmonelles dans les selles des animaux traités. Cette diminution pourrait être tributaire à une action bactéricide directe des composés phénoliques isolés de plante. Ces composés ont une capacité antibactérienne notamment par l'augmentation de la perméabilité membranaire à certains cations, tels que le K^+ , dont l'entrée massive entraîne une hyperpolarisation voire une désorganisation de la polarité membranaire et, *in fine*, une rupture de la membrane plasmique (Sanchez *et al.*, 2013). L'atteinte de l'intégrité de la membrane bactérienne a des conséquences physiologiques telles que la baisse du pH et de la concentration en ATP du cytoplasme bactérien, et donc d'un déséquilibre de l'homéostasie de la cellule bactérienne. Cette action directe peut également être due : à une perte de la turgescence cellulaire, l'inhibition de l'activité de certaines enzymes ou de certains facteurs de transcription (Sanchez *et al.*, 2010). La baisse observée de la densité des salmonelles peut aussi faire suite à une activation du système défensif de l'organisme. En effet, le traitement avec la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* a entraîné une augmentation significative des taux sanguins des globules blancs et donc des lymphocytes chez les animaux traités par rapport à ceux infectés et non traités. Cette augmentation du taux des globules blancs, des lymphocytes et des plaquettes sanguines chez les animaux traités montre que la fraction de *D. integrifolia* aurait un effet immunostimulateur. Par ailleurs, l'activité *in vivo* de cette fraction sur *S. typhi* a été par ailleurs soutenue par la morphologie de l'épithélium iléal. En effet, les rats diarrhéiques traités avec la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* et avec la ciprofloxacine ont présenté un épithélium iléal dont l'aspect était normal avec des microvillosités de grande taille ayant des digitations bien reconstituées.

La typhoïde est une maladie systémique dont la phase de bactériémie est caractérisée par la dissémination de *S. typhi* et par des températures élevées. Cinq jours après l'infection des rats, une augmentation de la température rectale a été observée. La fièvre résulte de l'augmentation de la température du thermostat hypothalamique sous l'effet de substances dites pyrogènes (Prajitha *et al.*, 2018). La colonisation de la muqueuse digestive par les bactéries notamment *Shigella dysenteriae* A1, *Shigella flexneri*, *Salmonella typhimurium* et beaucoup d'autres microorganismes s'accompagne généralement d'une activation du système lymphoïde et donc des plaques de Payer et des GALT à l'origine de la production importante des pyrogènes endogènes et des prostaglandines (Bao *et al.*, 2000 ; Kaur & Jain, 2012). Le traitement avec la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia*, a réduit la

température rectale des rats traités comparés à celle de ceux infectés et non traités. Ces propriétés antipyrétiques de la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* seraient dues soit à des interférences sur la biosynthèse des prostaglandines, soit à la présence des composés comme les saponosides qui sont de puissants inhibiteurs des prostaglandines (Soro *et al.*, 2009).

L'administration des salmonelles chez les rats normaux a provoqué, une altération des fonctions hépatiques par augmentation de l'activité des transaminases (ALAT, ASAT) ; ceci indiquerait des pathologies hépatiques ou de l'hépatotoxicité tant chez l'humain que chez les rats. En effet, lorsque la membrane plasmique des hépatocytes est lésée par peroxydation de ses lipides membranaires, les enzymes présentes dans le cytosol de ces cellules se déversent dans la circulation sanguine (EASL, 2019). Par contre, la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* et le médicament de référence bien qu'ils ont entraîné une réduction significative du taux sérique d'ALAT et ASAT, mais n'ont pas amélioré la morphologie du foie. Ce résultat indique que la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* entraîne un effet hépatoprotecteur sans toutefois réparer les dégâts causés au niveau de la structure hépatique par l'infection à *S. typhi*. Par ailleurs, une augmentation des protéines sériques a été observée chez les animaux traités avec la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia*, ce qui suggère que ces extraits auraient effectivement amélioré la fonction de synthèse des cellules hépatiques. L'augmentation des protéines sériques totales indique une altération de la fonction de synthèse des cellules du foie (Borini & Guimarães, 1999) .

Le rein joue un rôle important dans l'élimination des déchets de la circulation sanguine. Son état fonctionnel par conséquent peut être évalué en mesurant la concentration sérique de certains métabolites éliminés dans l'urine notamment la créatinine qui est un bon indicateur fonctionnel du rein (Martin, 2019). L'infection à *S. typhi* a entraîné une expansion mésangiale avec diminution de l'espace urinaire, conduisant à une altération de la fonction glomérulaire, ce qui expliquerait l'élévation du taux sérique de créatinine. La fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* et la ciprofloxacine induisent une correction des lésions rénales et entraînent un effet protecteur sur les cellules rénales.

L'infection à *S. typhi* a baissé l'activité de la catalase, de la superoxyde dismutase et du glutathion réduit ; elle a augmenté la concentration de malondialdéhyde (marqueur de la peroxydation lipidique) dans les tissus hépatique, splénique et rénal. En effet, les infections microbiennes peuvent entraîner une libération de toxines dont les résultats métaboliques peuvent conduire à une augmentation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) telles que l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et le radical hydroxyle (OH) celles - ci sont

responsables du stress oxydant et peuvent endommager l'ADN, les protéines et les lipides (Slauch, 2011 ; Hurst, 2012). Le traitement avec les différentes doses de la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* a entraîné, en plus de l'augmentation des concentrations tissulaires de CAT et de SOD, une augmentation significative du taux de GSH et une diminution significative du taux de MDA dans les différents tissus investigués. L'augmentation de l'activité de la SOD serait indicatrice de celle de la production de l'anion superoxyde (O_2^-). La défense antioxydante nécessite des actions concertées des SOD qui limitent l'accumulation de O_2^- mais génèrent le H_2O_2 impliqué dans la formation de HO^\cdot à partir des réactions de Fenton et d'Haber-Weiss et de la CAT qui catalyse la transformation de H_2O_2 en O_2 et H_2O . L'activité de glutathion réduit a diminué significativement dans les différents tissus des rats infectés et non traités. Le glutathion réduit est un antioxydant qui peut interagir avec les espèces réactives oxygénées, ce qui a pour conséquence d'empêcher l'oxydation des substrats biologiques tels que protéines, l'ADN et les acides gras (Tirkey *et al.*, 2005). La MDA est l'un des produits finaux dans le processus de peroxydation lipidique. L'augmentation des taux de MDA dans les tissus suggère une augmentation de la peroxydation lipidique conduisant à des lésions tissulaires (Ayala *et al.*, 2014). La perturbation de ces paramètres biochimiques s'est traduite au niveau histologique par des lésions tissulaires de types infiltration leucocytaire et fibrose des cellules hépatiques et rénales. Ces résultats signifieraient que la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* a une activité antioxydante dans l'organisme. Sa capacité antioxydante serait liée au fait qu'elle contient des composés antioxydants tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les anthocyanidines, les tanins catéchiques (Chew *et al.*, 2012).

Au cours de l'infection entérique par les bactéries invasives, les endotoxines contribuent à l'apparition de lésions intestinales par la surproduction de monoxyde d'azote (NO), celui-ci est un radical peu réactif produit par la L-arginine *via* l'enzyme *Nitric Oxide Synthase* (NOS) des cellules épithéliales (Witthöft *et al.*, 2019). L'expression de la NOS est stimulée par plusieurs cytokines comme le TNF alpha, l'interféron gamma, l'interleukine-1 ou les lipopolysaccharides bactériens LPS (Droy-Lefaix & Bueno, 2003). Selon ses propriétés physiologiques multiples, le NO, à des concentrations élevées, exerce une toxicité grâce à sa combinaison avec un anion superoxyde pour former du peroxy-nitrite ; ce dernier induit la nitration des lipides, des acides nucléiques et des protéines, et déforme leurs structures et altère leur fonction. (Droy-Lefaix & Bueno, 2003 ; Boyer *et al.*, 2011). Par rapport au témoin négatif, une diminution significative du taux de NO a été observée chez les animaux traités avec la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* conduisant ainsi à un niveau normalisé de NO. Ces

résultats montrent que cette fraction préviendrait l'altération de certaines biomolécules et de maladies dégénératives chroniques.

A l'issue de l'étude de la toxicité aiguë, jusqu'à 5000 mg/kg la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* n'a entraîné, ni décès, ni modification de comportement chez les rats. Sa dose létale 50 (DL50) serait donc supérieure à 5000 mg/kg. Ces résultats montrent que cette fraction serait peu ou faiblement toxique (OECD/OCDE, 2008a).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion

Ce travail avait pour but d'évaluer les activités antidiarrhéiques de certaines plantes utilisées dans la Région de l'Ouest Cameroun dans le traitement des troubles et d'intoxications gastro-intestinaux. A cet effet, les activités antimicrobiennes et spasmolytiques de *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preussii*, *Melenis minutiflora* et de *Tricalysia okelensis* ont été évaluées afin de sélectionner une de ces quatre plantes. Ensuite différents extraits totaux (aqueux, éthanolique et hydroéthanolique) et fractions (éthanol, acétate d'éthyle et dichlorométhane) ont été préparés et leur efficacité évaluée sur les paramètres impliqués dans les manifestations des diarrhées tels que la sécrétion et la motilité intestinales et sur la croissance microbienne. Par la suite, les mécanismes d'action spasmolytiques, antisécrétoires et antimicrobiennes de la fraction la plus efficace de cette plante ont été déterminés. *Dichrocephala integrifolia* mieux que les autres plantes a montré une importante activité sur la croissance microbienne et sur les diarrhées induites par l'huile de ricin chez les rats. Des différents extraits obtenus de cette plante, l'extrait hydroéthanolique aurait des propriétés bactéricides sur *S. typhi*, *S. choleresuis*, *S. aureus* et *S. flexneri* et des propriétés fongicides sur *C. albicans* (car rapport CMB/CMI < 4 ou CMF/CMI < 4). Cet extrait a été également plus efficace sur le ralentissement du transit ainsi que sur la baisse de la sécrétion intestinale ; il aurait ainsi des propriétés spasmolytiques et antisécrétoire. La fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* s'est révélée la plus efficace sur la croissance microbienne ; elle a des propriétés bactéricides sur *S. typhi*, *S. choleresuis*, *S. aureus* et *S. flexneri* ; elle intervient aussi sur la baisse de la sécrétion intestinale et sur le ralentissement du transit.

La fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* aurait une activité spasmolytique soit par inhibition des canaux Ca^{2+} , soit par inhibition des récepteurs muscariniques M_2 et M_3 , soit par activation des canaux potassiques dépendants de l'ATP (K_{ATP}). Elle possède des propriétés antisécrétoires par le blocage des récepteurs EP_2 et EP_4 de la prostaglandine.

Chez les rats infectés par *S. typhi*, la fraction au dichlorométhane de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* aurait des propriétés antibactériennes par activité bactéricide. Aussi, elle pourrait prévenir l'altération des fonctions hépatique et rénale, et elle aurait des propriétés antioxydantes par normalisation de l'activité des enzymes antioxydantes. Cette fraction serait très peu toxique et sans danger majeur aux doses thérapeutiques. *Dichrocephala integrifolia* par son extrait hydroéthanolique et par sa fraction au dichlorométhane serait efficace sur les diarrhées motrices, sécrétoires et infectieuses. Les

activités pharmacologiques observées peuvent être attribuées à une synergie d'action des différents composés phytochimiques contenus dans les extraits et les fractions de *D. integrifolia*. Ces résultats justifieraient l'utilisation de *D. integrifolia* dans la médecine traditionnelle et cette plante serait un bon candidat pour la production d'un médicament traditionnel amélioré (MTA) dans la prise en charge des diarrhées et de la fièvre typhoïde après des études complémentaires.

Perspectives

A la lumière de nos résultats, ce travail nécessiterait un complément d'étude portant sur un certain nombre de phénomènes physiologiques précis. Pour cela, nous envisageons de :

- étudier *in vivo* l'activité antisalmonella de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* ;
- évaluer l'activité de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* en co-administration avec des faibles doses d'un médicament conventionnel ;
- évaluer l'activité immunomodulatrice de la fraction au dichlorométhane et de l'extrait hydroéthanolique de *D. integrifolia* chez les rats infectés par *S. typhi* ;
- déterminer les mécanismes d'action spasmolytique de la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia* ;
- déterminer le mécanisme antimicrobien de l'extrait hydroéthanolique ou de la fraction sur *S. typhi* et d'effectuer leur étude pharmacocinétique ;
- évaluer la toxicité subaiguë de la fraction au dichlorométhane de *D. integrifolia*.

Ces compléments d'étude sur *D. integrifolia* pourraient permettre d'envisager la mise à disposition des galénistes, des supports pour la production de médicaments traditionnels améliorés (MTA).

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- Adler, M., Carpentier, Y., Salmon, I., & Hoube, N. (2008). *Gastro-entérologie médico-chirurgicale*. Librairie Cours.
- Aegerter, A., & Bally, F. (2012). Prévention et traitement des diarrhées dues aux antibiotiques : Rôle des probiotiques. *Revue Medicale Suisse*, 8(357), 1907–1910.
- Afssaps, (Agence Française de sécurité sanitaire des Produits de Santé). (2004). *La toxicologie*.
- Agbor, A., Sudeshni, N., & Awono, M. (2011). The role of traditional healers in tooth extractions in Lekie Division Cameroon. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 15(7), 1–8.
- Akhtar, A., & Sutjita, M. (2006). Infectious diarrhea. In *Infection management for geriatrics in long-term care facilities* (2nd ed., pp. 297–310). CRC Press.
- Akinyele, T., Okoh, O., Akinpelu, D., & Okoh, A. (2011). *In-vitro* antibacterial properties of crude aqueous and n-hexane extracts of the husk of *Cocos nucifera*. *Molecules*, 3(16), 2135–2145.
- Alam, N., & Ashraf, H. (2003). Treatment of infectious diarrhea in children. In *Pediatric Drugs* (Vol. 5, Issue 3, pp. 151–165). Adis International Ltd. <https://doi.org/10.2165/00128072-200305030-00002>
- Ali, M., Ashraf, A., Biswas, N., Karmakar, U., & Afroz, S. (2011). Antinociceptive, anti-inflammatory and antidiarrheal activities of ethanolic calyx extract of *Hibiscus sabdariffa* Linn. (Malvaceae) in mice. *Journal of Chinese Integrative Medicine*, 6(9), 626–631.
- Allain, P. (2000). *Les médicaments* (3ème édit). CdM.
- Allen, S., Martinez, E., Gregorio, G., & Dans, L. (2010). Probiotics for treating acute infectious diarrhea. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 11, 1–124.
- Amicizia, D., Arata, L., Zangrillo, F., Panatto, D., & Gasparini, R. (2017). Overview of the impact of typhoid and paratyphoid fever. Utility of Ty21a vaccine (Vivotif®). *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*, 58(1), E1–E8. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28515625>
- Anand, S., Doss, A., & Jeyachandran, R. (2012). Antagonistic microbial screening of shoot extracts of *Zenaria scabra* (LF) sonder. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*, 1(3), 109–111.
- André, J., Catala, M., Escudier, E., Kujas, M., Morère, J., & Poirier, J. (1999). *Histologie moléculaire : Texte et atlas*. Masson.
- Angshumanjana, Anirbanjana, Dipjitdey, Arijitmajumdar, Jayantabikashdey, & Tudu, N. (2016). Selection of storage methods for maintenance of different stock Cultures. *International Journal of Current Microbiology Applied Science*, 5(10), 1097–1104.
- Arbonnier, M. (2009). Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d’Afrique de l’Ouest. In Quae (Ed.), *Quae*.
- Avril, J., Dabernat, H., Denis, F., & Monteil, H. (1992). *Bactériologie Clinique* (2nd ed.). Ellipse.
- Ayala, A., Muñoz, M., & Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. In *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* (Vol. 2014, pp. 1–31). Landes Bioscience. <https://doi.org/10.1155/2014/360438>
- Bakare, R., Magbagbeola, O., Akinwande, A., Okunowo, O., & Green, M. (2011).

- Antidiarrhoeal activity of aqueous leaf extract of *Momordica charantia* in rats. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 3(1), 1–7.
- Bal, S., & Czarnowski, C. (2004). Clinical vistas: A man with fever, cough, diarrhea and a coated tongue. *Canadian Medical Association Journal*, 7(170), 1095. <https://doi.org/10.1503/cmaj.1031079>
- Bao, S., Beagley, K., France, M., & Shen, J. (2000). Interferon- γ plays a critical role in intestinal immunity against *Salmonella typhimurium* infection. *Immunology*, 3(99), 464–472.
- Bashir, M., Louie, S., Shi, H., & Al, E. (2004). Toll-like receptor 4 signaling by intestinal microbes influences susceptibility to food allergy. *Journal of Immunology*, 12, 6978–6987.
- Beaugerie, L. (2011). La diarrhée médicamenteuse. *Post'U*, 2011(1), 153–162.
- Berche, P., Gaillard, J., & Simonet, M. (1988). *Bactériologie: Bactéries des infections humaines* (3rd ed.). Flammarion Médecine & science.
- Berche, P., Gaillard, J., & Simonet, M. (1991). Bactériologie: Bactéries des infections humaines. In *Flammarion Médecine & Science* (4th ed.). Flammarion Médecine & science.
- Beyer, P. (2004). Medical nutrition: Therapy for lower gastrointestinal tract. *Food Nutrition and Diet Therapy*, 1, 709–711.
- Blackshaw, L., & Gebhart, G. (2002). The pharmacology of gastrointestinal nociceptive pathways. *Current Opinion in Pharmacology*, 2(6), 642–648.
- Borgi, W., & Chouchane, N. (2009). Anti-spasmodic effects of *Zizyphus lotus* (L.) Desf. extracts on isolated rat duodenum. *Journal of Ethnopharmacology*, 3(126), 571–573.
- Borini, P., & Guimarães, R. (1999). Liver synthesis function in chronic asymptomatic or oligosymptomatic alcoholics: correlation with other liver tests. *Revista Do Hospital Das Clínicas*, 54(3), 97–102. <https://doi.org/10.1590/S0041-87811999000300006>
- Bouchet, P., Guignard, J., & Pouchus, Y. (2005). *Les champignons: mycologie fondamentale et appliquée* (Elsevier (ed.); 2nd ed.). Masson.
- Bourlioux, P., Koletzko, B., Guarner, F., & Braesco, V. (2003). The intestine and its microflora are partners for the protection of the host: report on the Danone symposium. The intelligent intestine," held in Paris, June 14, 2002. *American Journal of Clinical Nutrition*, 4(78), 4271–4277.
- Boyer, L., Plantier, L., Dagouassat, M., Lanone, S., Goven, D., Caramelle, P., Berrehar, F., Kerbrat, S., Dinh-Xuan, A. T., Crestani, B., Le Gouvello, S., & Boczkowski, J. (2011). Role of nitric oxide synthases in elastase-induced emphysema. *Laboratory Investigation*, 91(3), 353–362. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2010.169>
- Broadley, K., & Kelly, D. (2001). Review muscarinic receptor agonists and antagonists. *Molecules*, 6(3), 142–193.
- Browning, K. N., & Travagli, R. A. (2014). Central nervous system control of gastrointestinal motility and secretion and modulation of gastrointestinal functions. *Comprehensive Physiology*, 4(4), 1339–1368. <https://doi.org/10.1002/cphy.c130055>
- Bugaev, N., Bhattacharya, B., Chiu, W. C., Como, J. J., Cripps, M. W., Ferrada, P., Gelbard, R. B., Gondek, S., Kasotakis, G., Kim, D., Mentzer, C., Robinson, B. R. H., Salcedo, E. S., & Yeh, D. D. (2019). Antimotility agents for the treatment of acute noninfectious diarrhea in critically ill patients: A practice management guideline from the Eastern Association for

- the Surgery of Trauma. *Journal of Trauma Acute CareS Urgency*, 87(4), 915–921. <https://doi.org/10.1097/TA.0000000000002449>
- Carré, D., Coton, T., Delpy, R., Guisset, M., & Debonne, J. (2001). Diarrhées aiguës infectieuses : traitement actuel et perspectives. *Médecine Tropicale*, 6(61), 521–528.
- Catala, M., André, J., & Poirier, J. (2008). L'appareil digestif. In *Histologie : organes, systèmes et appareils* (pp. 23–26). Université Pierre et Marie Curie.
- CDER (Center for Drug Evaluation and Research). (1996). Single dose acute toxicity testing for pharmaceuticals. *Guidance for Industry, August*, 3.
- CDU-HGE, (Collégiale des universitaires en Hépatogastro-entérologie). (2014). Motricité digestive. In Elsevier-Masson (Ed.), *Les fondamentaux de la pathologie digestive*.
- Chang, E., & Leung, P. (2014). The gastrointestinal system: gastrointestinal, nutritional and hepatobiliary physiology. In *Springer, Dordrecht*. Springer, Dordrecht.
- Chassany, O., Michaux, A., & Bergmann, J. (2000). Drug-induced diarrhoea. *Drug Safety*, 1(22), 53–72.
- Chew, A., Jessica, J., & Sasidharan, S. (2012). Antioxidant and antibacterial activity of different parts of *Leucas aspera*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(3), 176–180. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60037-9](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60037-9)
- Clark, B., & McKendrick, M. (2004). A review of viral gastroenteritis. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 5(17), 461 – 469.
- Cohn, S., Birnbaum, E., & Friel, C. (2009). Colon: anatomy and structural anomalies. In *Textbook of Gastroenterology*, (5th ed.). Blackwell Publishing.
- Contini, S. (2017). Typhoid intestinal perforation in developing countries: Still unavoidable deaths? *World Journal of Gastroenterology*, 23(11), 1925–1931. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i11.1925>
- Cooke, M. (2010). Invited communication: Causes and management of diarrhoea in children in a clinical setting. *South African Journal of Clinical Nutrition*, 1(23), S42–S46.
- Corthier, G., & Raibaud, P. (1993). *Ecologie intestinale, flore de barrière, flore en transit et translocation bactérienne*. In : *Diarrhées aiguës infectieuses*. Doin, Paris.
- Cossart, P., & Ansonetti, P. (2004). Bacterial invasion: the paradigms of enteroinvasive pathogens. *Science*, 304, 242–248.
- Crosnier, C., Stamatakis, D., & Lewis, J. (2006). Organizing cell renewal in the intestine: stem cells, signals and combinatorial control. *Nature Review of Genetics*, 7, 349–359.
- Cumming, G., Fidler, F., & Vaux, D. L. (2007). Error bars in experimental biology. *The Journal of Cell Biology*, 177(1), 7–11.
- Cushnie, T., & Lamb, A. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobials Agents*, 26(5), 343–356. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002>
- Dadoune, J., Hadjiisky, P., Siffroi, J., & Vendrely, E. (2000). *Histologie* (Flammarion (ed.); 2nd ed.). Médecine & science.
- De Andrade, J., & Fagundes-Neto, U. (2011). Persistent diarrhea: still an important challenge for the pediatrician. *Jornal de Pediatria*, 87(3), 199–205. <https://doi.org/10.1590/s0021-75572011000300004>
- Deepa, G., Ayesha, S., Nishtha, K., & Thankamani, M. (2013). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phytochemical compounds of Indian

- culinary spices. *International Food Research Journal*, 20(4), 1711–1716.
- Delarras, C. (1998). *Microbiologie : 90 heures de travaux pratiques* (G. Morin (ed.)).
- Demetrio, V., Andrade, I., Puzon, J., Cabrera, E., & Rivera, W. (2015). Antibacterial activities of ethanol extracts of Philippine medicinal plants against multidrug-resistant bacteria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(7), 532–540. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.04.005>
- Denise, M., Anne, M., & Stanley, F. (2004). Persistent bacterial infections: the interface of the pathogen and the host immune system. *Nature Review of Microbiology*, 2, 747–765.
- Desjeux, J. (1996). Digestion et absorption. In *Endocrinology - nutrition* (Encycl Med). Elsevier.
- Devor, C., & Duffey, M. (1992). Carbochol induces K⁺, Cl⁻ and non-selective cations conductance in T84 cells: a perforated patch-clamp study. *American Journal of Physiology*, 32(263), 780–787.
- Dey, I., Lejeune, M., & Chadee, K. (2006). Prostaglandin E 2 receptor distribution and function in the gastrointestinal tract. *British Journal of Pharmacology*, 149, 611–623. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706923>
- Di Genova, B., & Tonelli, R. (2016). Infection strategies of intestinal parasite pathogens and host cell responses. *Frontiers in Microbiology*, 7(256), 1–16.
- Diezi, J. (1992). Principe de base et répercussion clinique. In Schorderet (Ed.), *Pharmacologie. Des concepts fondamentaux aux applications théoriques* (2^{ème} édit, pp. 33–35). Frison-Roche.
- Döller, P. (1993). Vaccination of adults against travel-related infections diseases, and new developments in vaccines. *Infection*, 1(21), 1–17.
- Doss, A., Mubarak, H., & Dhanabalan, R. (2010). Pharmacological importance of *Solanum trilobatum*. *Indian Journal of Science and Technology*, 2(2), 41–43.
- Droy-Lefaix, M., & Bueno, L. (2003). Diarrhée et cascade inflammatoire : une nouvelle approche. *Acta Endoscopica*, 33(5), 773–780.
- Dunant, Y. (2002). *Principes de pharmacologie et de toxicologie. Etudes de médecine (première année)*.
- EASL, (European Association for the Study of the Liver). (2019). Clinical practice guidelines: drug-induced liver injury. *Journal of Hepatology*, 70(1), 1222–1261.
- Edler, L. (2001). Biometry : The role of the biostatistician. Introduction to clinical drug research. *Vienna School of Clinical Drug Research*, 15, 22 – 26.
- Ellman, G. (1959). Tissue sulfhydryl group. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82(1), 70–77.
- Etebu, E., & Arikekpar, I. (2016). Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research*, 2016(4), 90–101. https://www.researchgate.net/publication/319881509_Antibiotics_Classification_and_mechanisms_of_action_with_emphasis_on_molecular_perspectives
- Ezeigbo, I., Ezeja, M., Madubuiké, K., Ifenkwe, D., Ukwéni, I., Udeh, N., & Akomas, S. (2012). Antidiarrhoeal activity of leaf methanolic extract of *Rauwolfia serpentina*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2012, 430–432.

- Fantry, G., Fantry, L., & James, S. (2009). Small intestine : Chronic infections of the small intestine. In *Textbook of gastroenterology* (5th ed., pp. 1225 – 1244). Blackwell Publishing.
- Fattorusso, V., & Ritter, O. (2004). *Vadémécum Clinique : Du diagnostic au traitement* (17ie ed.). Masson.
- Faure, C. (2013). Role of antidiarrhoeal drugs as adjunctive therapies for acute diarrhoea in children. *International Journal of Pediatrics*, 2013(1), 1–14.
- FDA, (Food and Drug Administration). (2005). Guidance for industry: estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers. *Pharmacology and Toxicology*, 25(6), 1–30. <https://doi.org/10.1089/blr.2006.25.697>
- Field, M. (2003). Intestinal ions transport and the pathophysiology of diarrhea. *Journal of Clinical Investigation*, 111(1), 931–943.
- Figuroa-Quintanilla, D., Salazar-Lindo, E., & Sack, R. (1993). A controlled trial of bismuth subsalicylate in infants with acute watery diarrheal disease. *New England Journal of Medicine*, 328, 1653–1658.
- Fokam, T. (2016). *Activités des extraits de Oxalis barrelieri (Oxalidaceae) et de Euphorbia scordifolia (Euphorbiaceae) sur les diarrhées motrices, sécrétoires et à Shigella dysenteriae type 1 induites chez les rats*. Université de Yaoundé 1.
- Fokam, T., Kamgang, R., Noubissi, P., & Essame, O. (2015). Activity of *Oxalis barrelieri* aqueous extract on rat secretory diarrhea and intestine transit. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1(5), 058–062.
- Forrester, A. (2002). Gastrointestinal conditions: diarrhea. *Patient Self-Care*, 1, 238–251.
- Frank-Briggs, A. (2012). *Introduction and classification of childhood diarrhoea, current concepts in colonic disorders* (1st ed.). Dr. Godfrey Lule.
- Gadewar, S., & Fasano, A. (2005). Current concepts in the evaluation, diagnosis and management of acute infectious diarrhea. *Current Opinion in Pharmacology*, 6(5), 559–565.
- Gaginella, T., & Bass, P. (1978). Laxatives: an update on mechanism of action. *Life Sciences*, 23, 1001–1010.
- Galvez, A., Zarzuelo, M., Crespo, Lorente, M., Ocete, A., & Jimenez, J. (1993). Antidiarrhoeic activity of *Euphorbia hirta* extract and isolation of active flavonoid constituent. *Planta Medica*, 59, 333–336.
- Garrett, W., & Gordon, J. (2010). Homeostasis and inflammation in intestine. *Cell*, 140, 859–870.
- Genetet, N. (2005). *Immunologie* (Lavoisier (ed.); 4th ed.).
- Gibson, G., & Roberfroid, M. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125, 1401–1412.
- Giguère, S. (2013). Therapy antimicrobial drug action and interaction : An introduction. In *Antimicrobial therapy in veterinary medicine* (pp. 3–10). John Wiley & Sons, Inc.
- Godfraind, T. (2017). Discovery and development of calcium channel blockers. *Frontiers in Pharmacology*, 8(286), 1–25. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00286>
- Godfraind, T., Miller, R., & Wibo, M. (1986). Calcium antagonism and calcium entry

blockade. *Pharmacological Reviews*, 38(4), 321–416.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2432624>

- Gornall, Bardawill, & David. (1949). Mise au point d'une méthode quantitative pour doser les protéines avec le biuret. *Journal of Biological Chemistry*, 1, 177–751.
- Gosa, G. (2015). Prevalence, antibiogram and growth potential of Salmonella and Shigella in Ethiopia: Implications for public health. *Research Journal of Microbiology*, 7(10), 288–307.
- Goulet, O. (2009). La flore intestinale : un monde vivant à préserver. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*, 22, 102–106.
- Graziani, C., Losasso, C., Luzzi, I., Ricci, A., Scavia, G., & Pasquali, P. (2017). Salmonella. In *Foodborne diseases* (pp. 133–169). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385007-2.00005-X>
- Guenane, H., Hartani, D., Chachoua, L., Lahlou-Boukoffa, O. ., Mazari, F., & Touil-Boukoffa, C. (2006). Production des cytokines Th1/Th2 et du monoxyde d'azote au cours de l'uvéïte « Behçet » et de l'uvéïte « idiopathique ». *Journal Français d'Ophthalmologie*, 29(2), 146–152.
- Guyton, A. (2003). *Précis de physiologie médicale*. Padoue: Piccin.
- Hall, V. (2012). Acute uncomplicated diarrhoea managemen. *Practice Nursing*, 21(3), 118–122.
- Hansson, G. (2012). Role of mucus layers in gut infection and inflammation. *Current Opinion in Microbiology*, 15(1), 57–62.
- Haque, A., Zaman, A., Hossain, M., Sarker, I., & Islam, S. (2014). Evaluation of antidiarrhoeal and insecticidal activities of ethanol extract and its fractions of *Dendrophthoe falcata* (L.) leaves. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(9), 3653–3663.
- Harnett, K., Cao, W., & Biancani, P. (2005). Signal-transduction pathways that regulate smooth muscle function I. Signal transduction in phasic (oesophageal) and tonic (gastroesophageal sphincter) smooth. *American Journal of Physiology- Gastrointestinal and Liver Physiology*, 288, 407–416.
- Haton, C. (2005). *Effets des rayonnements ionisants sur la structure et la fonction de la cellule épithéliale intestinale*. 'Université de Paris VI.
- Hooper, L., & Gordon, J. (2001). Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science*, 292(5519), 1115–1118.
- Hornick, R., Greisman, S., Woodward, T., Dupont, H., Dawkins, A., & Snyder, M. (1970). Typhoid fever: pathogenesis and immunologic control. *New England Journal of Medicine*, 283, 686–691.
- Hossain, S., Alam, B, A., Sadujjaman, Zahan, R., Islam, M., Mazumder, E., & Haque, E. (2011). Antidiarrheal, antioxidant and antimicrobial activities of the *Musa sapientum* seed. *Avicenna Journal of Medical Biotechnology*, 2(3), 95–105.
- House, D., Bishop, A., Parry, C., Dougan, G., & Wain, J. (2001). Typhoid fever: pathogenesis and disease. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 14, 573–538.
- Hurst, J. K. (2012). What really happens in the neutrophil phagosome? *Free Radical Biology & Medicine*, 53(3), 508–520. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.05.008>.What
- Hutchinson, J., & Dalziel, J. (1972). *Flora of west tropical Africa* (Millbank (ed.)). Grown agents for oversea government and administration.

- Igbinosa, E., Uzunuigbe, E., Igbinosa, I., Odjadjare, E., Igiehon, N., & Emuedo, O. (2013). *In vitro* assessment of antioxidant, phytochemical and nutritional properties of extracts from the leaves of *Ocimum gratissimum* (Linn). *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicine*, *10*(5), 292–298. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v10i5.11>
- Igbinosa, O., Igbinosa, E., & Aiyegoro, O. (2009). Antimicrobial activity and phytochemical screening of stem bark extracts from *Jatropha curcas* (Linn). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *2*(3), 58–62.
- Iorizzi, M., Lanzotti, V., Ranalli, G., De Marino, S., & Zollo, F. (2002). Antimicrobial furostanol saponins from the seeds of *Capsicum annuum* L. Var. *acuminatum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*, 4310–4316.
- Islam, M., Pia, R., Sifath-E-Jahan, K, Chowdhury, J., Akter, F., Parvin, N., & Akter, S. (2013). Antidiarrheal activity of *Dillenia indica* bark extract. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, *2*(4), 682–688.
- Jajere, S. M. (2019). A review of *Salmonella enterica* with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance including multidrug resistance. *Veterinary World*, *12*(4), 504–521. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.504-521>
- Jang- Gi, C., Ok-Hwa, K., Young -Seob, L., Hee -Sung, C., You-Chang, & Obiang-Obounou, B. (2011). *In vitro* and *in vivo* antibacterial activity of *Punica granatum* peel ethanol extract against Salmonella. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2011*, 1–8.
- Jing, H., Wen-Yuan, G., Ying, G., Ning-Sheng, L., Lu-Qi, H., & Chang, X. (2010). M3 muscarinic receptor and calcium influx- mediated muscle contractions induced by croton oil in isolated rabbit jejunum. *Journal of Ethnopharmacology*, *129*, 377–380.
- Jiofack, T., Fokunang, C., Guedje, N., Kemeuze, V., Fongnzossie, E., Nkongmeneck, B., Mapongmetsem, P., & Tsabang, N. (2010). Ethnobotanical uses of medicinal plants of two ethnoecological regions of Cameroon. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *3*(2), 60–79.
- Kamgang, R. (1989). *Stress et diarrhée chez les lapereaux. Etude comparative endocrinologique, biochimique et morphologique: Rôle de l'ACTH*. Université de Limoge.
- Kamgang, R., Fokam, T., Gonsu, K., Noubissi, Pa., Fonkoua, M., & Essame, O. (2015). Activity of aqueous ethanol extract of *Euphorbia scordifolia* on *Shigella dysenteriae* type 1-induced diarrhea in rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, *7*(1), 40–45.
- Kamgang, R., Gonsu, K., Wafo, P., Mbungni, N., Pouokam, E., Fokam, T., & Fonkoua, M. (2007). Activity of aqueous ethanol extract of *Euphorbia prostata* ait on *Shigella dysenteriae* type 1- induced diarrhea in rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 240–244.
- Kamgang, R., Pouokam, E., Fonkoua, M., Penlap, N., & Biwolé, S. (2006). Activities of aqueous extracts of *Mallotus opposifolium* on *Shigella dysenteriae* A1-induced diarrhea in rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, *33*, 89–94.
- Kamgang, R., Youmbi, M., Foyet, F., Fokam, T., Mengue, N., & Ngogang, Y. (2008). Antihyperglycaemic potential of the water–ethanol extract of *Kalanchoe crenata* (Crassulaceae). *Journal Natural Medicines*, *62*, 34 – 40.
- Karaki, S., & Kuwahara, A. (2004). Regulation of intestinal secretion involved in the

- interaction between neurotransmitters and prostaglandin E 2. *Neurogastroenterology & Motility*, 16, 96–99.
- Karim, A., Mekhfi, H., Ziyat, A., Legssyer, A., Bnouham, M., Amrani, S., Atmani, F., Melhaoui, A., & Aziz, M. (2010). Anti-diarrhoeal activity of crude aqueous extract of *Rubia tinctorum* L. roots in rodents. *Journal Smooth Muscle Research*, 2(46), 119–123.
- Kaur, J., & Jain, S. (2012). Role of antigens and virulence factors of *Salmonella enterica* serovar *typhi* in its pathogenesis. *Microbiological Research*, 167(4), 199–210. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2011.08.001>
- Khadhri, A., Bouali, I., Belkhir, S., Mokded, R., Smiti, S., Falé, P., Araújo, M., & Serralheiro, M. (2017). *In vitro* digestion, antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of two species of Ruta: *Ruta chalepensis* and *Ruta montana*. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 101–107. <https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1230634>
- Khan, H., Saeed, M., Gilani, A., Muhammad, N., Rehman, N., Mehmood, M., & Ashraf, N. (2016). Antispasmodic and antidiarrheal activities of rhizomes of *Polygonatum verticillatum* maneuvered predominately through activation of K_β channels: Components identification through TLC. *Toxicology and Industrial Health*, 32(4), 677–685. <https://doi.org/10.1177/0748233713506956>
- Kiela, P., & Ghishan, F. (2016). Physiology of intestinal absorption and secretion. *Best Practice & Research: Clinical Gastroenterology*, 30(2), 145–159. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2016.02.007>
- Kioui, D., Karapetsas, A., Karolidou, K., Panayiotidis, M., Pappa, A., & Galanis, A. (2019). Probiotics in extraintestinal diseases: current trends and new directions. *Nutrients*, 11(4), 1–26. <https://doi.org/10.3390/nu11040788>
- Kirschstein, T., Rehberg, M., Bajorat, R., Tokay, T., Porath, K., & Köhling, R. (2009). High K⁺-induced contraction requires depolarization-induced Ca²⁺ release from internal stores in rat gut smooth muscle. *Acta Pharmacologica Sinica*, 30(8), 1123–1131. <https://doi.org/10.1038/aps.2009.98>
- Kumar, S., & Pandey, A. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *The Scientific World Journal*, 2 013(1), 1–16.
- Kusamba, C. (1998). Livestock diseases and the traditional medicine in the bushi area, kivu province, Democratic Republic of Congo. *African Study Monographs*, 1(19), 13–33.
- La Hoz, R. M., & Morris, M. I. (2019). Intestinal parasites including *Cryptosporidium*, *Cyclospora*, *Giardia*, and *Microsporidia*, *Entamoeba histolytica*, *Strongyloides*, *Schistosomiasis*, and *Echinococcus*: Guidelines. *Clinical Transplantation*, 33(9), 1–16. <https://doi.org/10.1111/ctr.13618>
- Lacmata, S., Kuete, V., Dzoyem, J., Tankeo, S., Ngo Teke, G., Kuate, J., & Pages, J. (2012). Antibacterial activities of selected cameroonian plants and their synergistic effects with antibiotics against bacteria expressing MDR phenotypes. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1, 1–11.
- Lakshminarayana, M., Shivkumar, H., Rimaben, P., & Bhargava, V. (2011). Antidiarrhoeal activity of leaf extract of *Moringa oleifera* in experimentally induced diarrhoea in rats. *International Journal of Phytomedicine*, 3(2011), 68–74.
- Larpen, J., & Larpen, G. (1997). *Mémento technique de microbiologie* (3rd ed.). Lavoisier.
- Le Minor, L., Sansonetti, P., Richard, C., Grimont, F., Mollaret, H., & Bercovier, H. (1989). *Bactériologie médicale*. Flammarion.

- Leclerc, H., Gaillard, J., & Simonet, M. (1995). *Microbiologie générale. La bactérie et le monde bactérien* (1st ed.). Doin.
- Lima, T., Silva, O., Silva, L., Rocha, T., Grossi-de-Sá, M., Franco, O., & Leonardecz, E. (2011). *In vivo* effects of Cagaita (*Eugenia dysenterica*, DC.) leaf extracts on diarrhea treatment. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *1*(1), 1–10.
- Litou, C., Effinger, A., Kostewicz, E., Box, K., Fotaki, N., & Dressman, J. (2019). Effects of medicines used to treat gastrointestinal diseases on the pharmacokinetics of coadministered drugs: a PEARRL Review. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *71*(4), 643–673. <https://doi.org/10.1111/jphp.12983>
- Loosli, B. (1998). Livestock diseases and the traditional medicine in the bush area, kivu Province, Democratic Republic of Congo. *African Study Monographs*, *1*(19), 13–33.
- Lorrot, M., & Vasseur, M. (2007). erotoxins lead differently to diarrhea? *Virology Journal*, *4*, 30–31.
- Loubaki, B., Ouattara, A., Ouattara, C., Ouedraogo/Traore, R., & Traore, A. (1999). Activités antimicrobiennes des extraits aqueux totaux de *Detarium microcarpum* [Cesalpinaceae (Guill et Perr)] sur huit espèces bactériennes impliquées dans certaines maladies infectieuses au Burkina Faso. *Sciences et Médecine*, *1*, 66–73.
- Lullmann-Rauch, R. (2008). *Histologie*. De Boeck Supérieur.
- Mader, S. (2004). *Understanding human anatomy and physiology* (5th ed.). The McGraw–Hill Companies.
- Mamoon, A., & Azam, G. (2012). Preliminary phytochemical screening and antidiarrhoeal activity of *Derris trifoliata* Lour. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, *1*(3), 97–100.
- Marieb, E. (1999). *Anatomie et physiologie humaines* (4th ed.). DeBoeck Université.
- Marieb, E., & Hoehn, K. (2006). *Human anatomy & physiology* (P. E. Inc (ed.); 7th ed.). Pearson Education Inc.
- Martin, P. (2019). Renal function testing. *Physician Assistant Clinics*, *4*(3), 561–578. <https://doi.org/10.1016/j.cpha.2019.02.007>
- Mascolo, N., Izzo, A., Gagarella, T., & Capasso, F. (1996). Relationship between nitric oxide and platelet activating factor in castor oil-induced mucosal injury in the rat duodenum. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, *353*, 680–684.
- McCracken, V., & Lorenz, R. (2001). The gastrointestinal ecosystem: a precarious alliance among epithelium, immunity and microbiota. *Cell-Microbiology*, *3*(1), 1–11.
- Meite, S., N'guessan, J., Bahi, C., Yapi, H., Djaman, A., & Guede, G. (2009). Antidiarrheal activity of the ethyl acetate extract of *Morinda morindoides* in rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, *3*(8), 201–207.
- Miladinovic, B., Brankovic, S., Kostic, M., Milutinovic, M., Kitic, N., Šavikin, K., & Kitic, D. (2018). Antispasmodic effect of blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) juice and its potential use as functional food in gastrointestinal disorders. *Medical Principles and Practice*, *27*, 179 – 185.
- Misra, H., & Fridovich, I. (1972). The role of superoxide anion in the autooxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *Journal of Biological Chemistry*, *247*, 3170–3175.
- Molle, J. (1986). Limites de tolérance et toxicité de quelques aminoacides (forme L et DL). In

- A.E.C (Ed.), *Aminoacides protéiques, cahier N° 4* (pp. 207-22–32).
- Morard, I., & Hadengue, A. (2008). Diarrhée médicamenteuse. *Rev Med Suisse*, 4, 1867–1872.
- Moreau, M. (2005). *Bactéries lactiques probiotiques et immunité. Bactéries lactiques et probiotiques*. Lavoisier.
- Mtunzi, F., Ejidike, I., Ledwaba, I., Ahmed, A., Pakade, V., Klink, M., & Modise, S. (2017). Solvent–solvent fractionations of *Combretum erythrophyllum* (Burch.) leave extract: Studies of their antibacterial, antifungal, antioxidant and cytotoxicity potentials. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10(7), 670–679. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.07.007>
- Murugesan, S., Pannerselvam, A., & Tangavelou, A. (2011). Phytochemical screening and antimicrobial activity of the leaves of *Memecylon umbellatum* burm. F. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1(1), 42–45.
- Nadir, M., Saadi, M., & Kawa, D. (2009). Effects of some purines and their antagonistic compounds on rabbit intestinal smooth muscle contraction induced by KCl and Ach. *Middle East Journal of Internal Medicine*, 2(2), 19–29.
- Nathan, P. (2004). Flore intestinale: Les probiotiques et les prébiotiques. *Nutrition & Facteurs de Risque*, 2, 41–44.
- NCCLS, (National Committee for Clinical Laboratory Standards). (1999). Antimicrobial methods for determining bactericidal activity of agents: Approved guideline M26-A. In Wayne PA.
- Ngo Teke, G., Kuate, J., Kueté, V., Teponno, R., Tapondjou, A., & Vilarem, G. (2010). Antidiarrheal activity of extracts and compound from *Trilepisium madagascariense* stem bark. *Indian Journal of Pharmacology*, 3(42), 157–163.
- Nguendo, Y. (2009). Aspects étiologiques et cliniques des diarrhées infantiles au Cameroun. *Médecine d’Afrique Noire*, 12(56), 633–639.
- Nitinkumar, U., Roshan, P., Naheed, W., & Naveen, K. (2010). Evaluation of antidiarrhoeal activity of the root of *Clitoria ternatea* Linn. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 5(20), 131–134.
- Noubissi, A., Mvongo, C., Fokam, A., Manfo, T., Fankem, G., & Kamgang, R. (2016). Antidiarrheal, antimicrobial and cytotoxic activities of *Crinum Jagus* extracts. *Journal of Physiology and Pharmacology Advances*, 6(11), 938. <https://doi.org/10.5455/jppa.1969123104000010>
- Oben, J., Sheila, Assi, E., Agbor, A., & Musoro, D. (2006). Effect of *Eremomastax speciosa* on experimental diarrhea. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 1(3), 95–100.
- OECD/OCDE. (2001). Lignes directrices de l’OCDE n° 423 pour les essais de produits chimiques : Acute oral toxicity – acute toxic class method. In *Chronic Toxicity Studies* (pp. 1-14.).
- OECD/OCDE. (2008a). OECD/OCDE Test guideline 452. In *Chronic Toxicity Studies* (pp. 1–15).
- OECD/OCDE. (2008b). Test Guideline 452 : Chronic Toxicity Studies. In *Chronic Toxicity Studies* (Vol. 8, Issue 5, pp. 1–15).
- OECD/OCDE. (2009). Ligne directrice de l’OCDE pour les essais de produits chimiques Toxicité subaiguë par inhalation: étude sur 28 jours. In *Chronic Toxicity Studies*.

- Olives, J., & Ghisolfi, J. (2000). Diarrhées aiguës. In *Gastro-entérologie Pédiatrique* (2nd ed., pp. 273–285). Flammarion Médecine-Sciences.
- OMS. (2003). *Médecine traditionnelle. Aide mémoire N°134*.
- Otimenyin, O., Uguru, O., & Akanbi, B. (2008). Anti-diarrhea effect of aqueous extracts of *Momordica balsamina* and *Stachytarpheta indica* in rats. *Journal of Natural Products*, *1*, 36–45.
- Oubre, A., Carlson, T., King, S., & Reaven, G. (1997). From plant to patient: an ethnobotanical approach to the identification of new drugs for treatment of NIDDM. *Diabetologia*, *40*, 614–617.
- Paredes, J., Sosa, Á., Fusco, M., Teves, M., Wendel, G., & Pelzer, L. (2016). Antidiarrhoeal activity of *Aristolochia argentina* Gris. (Aristolochiaceae) in rodents. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, *2*(6), 146–152.
- Pennec, Y., & Garré, M. (2003). Salmonelloses de l'adulte. *EMC*. <https://doi.org/8-018-A-15>
- Peronny, S. (2005). *La perception gustative et la consommation des tanins chez le maki (Lemur catta)*. Museum national d'histoire naturelle - MNHN.
- Prajitha, N., Athira, S., & Mohanan, P. (2018). Pyrogens, a polypeptide produces fever by metabolic changes in hypothalamus: Mechanisms and detections. *Immunology Letters*, *204*(Dec), 38–46.
- Prasad, S. K., Laloo, D., Kumar, R., Sahu, A. N., & Hemalatha, S. (2014). Antidiarrhoeal evaluation of rhizomes of *Cryptocoryne spiralis* Fisch . ex Wydler: antimotility and antisecretory effects. *Indian Journal of Experimental Biology*, *52*(February), 139–146.
- Press, A., Ewe, K., Schmidt, J., & Junge, H. (1991). Effect of loperamide on jejunal electrolyte and water transport, prostaglandin E₂-induced secretion and intestinal transit time in man. *European Journal of Clinical Pharmacology*, *41*, 239–243.
- Pruski, J. (2011). Studies of Neotropical Compositae—III. *Dichrocephala integrifolia* (Astereae: Grangeinae) in Guatemala, an exotic genus and species new to the Americas. *Phytoneuron*, *2011*(65), 1–9.
- Puspitasar, Y., Hartiati, A., & Suprayitno, E. (2012). The potency of *Rhizophora mucronata* leaf extract as antidiarrhea. *Journal of Applied Sciences Research*, *2*(8), 1180–1185.
- Rahman, M., Ahsna, T., & Islam, S. (2010). Antibacterial and antifungal properties of methanol extract from the stem of *Argyreia argentea*. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, *5*(1), 41–44.
- Rambaud, J. (2001). Traité de gastroentérologie. In *Progrès en hépato-gastro entérologie* (Paris, pp. 186–194). Doin.
- Ramig, R. (2004). Pathogenesis of intestinal and systemic Rotavirus infection. *Journal of Virology*, *78*(9), 10213–10220.
- Ratz, P., Berg, K., Urban, N., & Miner, A. (2005). Regulation of smooth muscle calcium sensitivity: KCl as a calcium-sensitizing stimulus. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, *288*(4 57-4), 769–783. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00529.2004>
- Reed, K. (2016). Preventing opioid overdose deaths with take-home naloxone. In J. Strang & R. McDonald (Eds.), *Emergency naloxone in regular clinical practice*. (pp. 29–36). European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction.
- Rhoades, R., & Tanner, G. (2004). *Medical physiology* (2nd ed.). Lippincott Williams & Wilkins.

- Rhourri-Frih, B. (2009). *Analyse , classification et caractérisation de résines d'origine végétale par chromatographie et spectrométrie de masse*. Université D'Oréans.
- Roman, S., & Mion, F. (2009). *gasto-étérologie* (p. 8). Elsevier Masson SAS, Paris.
- Salminen, S., Bouley, C., Boutron-Ruault, Cummings, M., Franck, H., Gibson, G., Isolauri, E., Moreau, M., Roberfroid, M., & Rowland, I. (1998). Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *British Journal of Nutrition*, 80(Suppl 1), S147–71.
- Sanchez, E., García, S., & Heredia, N. (2010). Extracts of edible and medicinal plants damage membranes of *Vibrio cholerae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(20), 6888–6894. <https://doi.org/10.1128/AEM.03052-09>
- Sanchez, E., Heredia, N., Camacho-corona, M. R., & Garcia, S. (2013). Isolation , characterization and mode of antimicrobial action against *Vibrio cholerae* of methyl gallate isolated from *Acacia farnesiana*. *Journal of Applied Microbiology*, 115, 1307–1316. <https://doi.org/10.1111/jam.12328>
- Schiffirin, E., & Blum, S. (2002). Interactions between the microbiota and the intestinal mucosa. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56 Suppl(3), S60-4.
- Schmelzer, M. (2011). Troubles du tractus gastrointestinal inférieur. In *Soins infirmiers : Médecine-chirurgie* (1st ed., Vol. 3, Issue 57, pp. 416–432). Cheneliere Education.
- Schmit, T. (1978). Les récepteurs muscariniques. In *Actualité pharmacologique* (30th ed., pp. 113–158).
- Seow, C. (2005). Myosin filament assembly in an ever-changing myofilament lattice of smooth muscle. *American Journal of Physiology*, 289, 1363–1368.
- Shank, R. C. (2004). General toxicology. In Hamadeh HK & C. Afshari (Eds.), *Toxicogenomics: Principles and applications*. (pp. 1–16). John Wiley & Sons, Inc.
- Sharma, R., Singh, S., Singh, G., Khajuria, A., Sidiq, T., Singh, S., Chashoo, G., Pagoch, S., Kaul, A., Saxena, A., Johri, R., & Taneja, S. (2009). *In vivo* genotoxicity evaluation of a plant based antiarthritic and anticancer therapeutic agent Boswellic acids in rodents. *Phytomedicine*, 16, 1112–1118.
- Sheela, X., & Ramani, V. (2011). Antimicrobial screening of *polygonum barbatum* leaf extract. *Journal of Current Pharmaceutical Research*, 3(3), 117–118.
- Sherman, P., & Madsen, K. (2009). *Textbook of gastroenterology, small intestine: Bacterial overgrowth* (5th ed.). Blackwell Publishing.
- Shi, X., & Sarna, S. (2000). Impairment of Ca²⁺ mobilization in circular muscle cells of the inflamed colon. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 278, G234–G242.
- Silbernagl, S., & Despopoulos, A. (2001). *Atlas de poche de physiologie* (3rd ed.). Flammarion Médecine-Sciences.
- Šiljegović, J., Stojković, D., Nikolić, M., Glamočlija, J., & Soković, M. (2011). Antimicrobial activity of aqueous extract of *Laetiporus sulphureus* (bull.: fr.) murill. *Nature and Science*, 120, 297–303.
- Silverthorn, D. (2007). *Physiologie humaine : une approche intégrée* (4th ed.). Pearson.
- Singleton, P. (1999). *Bactériologie* (4th ed.). Dunod.
- Sinha, A. (1972). Colorimetric assay of catalase. *Analytical Biochemistry*, 47, 389–394.

- Slauch, J. (2011). How does the oxidative burst of macrophages kill bacteria? Still an open question. *Molecular Microbiology*, 80(3), 580-583.
- Sonnenburg, J., Xu, J., Leip, D., Chen, C.-H., Westover, B., Weatherford, J., Buhler, J., & Gordon, J. (2005). Glycan foraging *in vivo* by an intestine-adapted bacterial symbiont. *Science*, 307(5717), 1955–1959.
- Soro, T., Traoré, F., Datte, J., & Nene-Bi, A. (2009). Activité antipyrétique de l'extrait aqueux de *Ximenia americana*. *Phytothérapie*, 7, 297–303. <https://doi.org/10.1007/s10298-009-0507-3>
- Sridhar, S., Deepa, T., Elamathi, R., Kavitha, R., Kamalakannan, & Suresh Kumar, J. (2012). Antimicrobial activities of leaf extracts of *Sapindus emarginatus* Vahl. *International Journal of Pharmaceutical and Technical Research*, 1(1), 392–397.
- Steurer, M., & Spalinger, J. (2008). La gastroentérite aiguë chez l'enfant une urgence fréquente au cabinet médical. *Forum Médical Suisse*, 23(8), 432–435.
- Takeuchi, K., & Amagase, K. (2017). Roles of prostaglandin E and EP receptors in mucosal protection and ulcer healing in the gastrointestinal tract. *Archives of Digestive Disorders*, 1(2), 8–16. <http://www.alliedacademies.org/archives-of-digestive-disorders/editors.php>
- Tamilselvi, N., Krishnamoorthy, P., Dhamocharan, R., Arumugam, P., & Sagadevan, E. (2012). Analysis of total phenols, total tannins and screening of phytocomponents in *Indigofera aspalathoides* (Shivanar Vembu) Vahl EX DC. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 4, 3259–3262.
- Tesfaye, M., & Chalachew, T. (2012). Preliminary phytochemical screening and evaluation of antibacterial activity of *Dichrocephala integrifolia* (L.f) O.kuntze. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 1(1), 30–34.
- Thielman, N., & Guerrant, R. (2004). Acute infectious diarrhea. *New England Journal of Medicine*, 350, 38–47.
- Thomson, A., Shaffer, Paré, Ménard, D., & Bovin, M. (2005). *Principes fondamentaux de gastro-entérologie état pathologiques et démarches thérapeutique* (5^{ie} ed.). Canadian Association of Gastroenterology.
- Tirkey, N., Pilkhwai, S., Kuhad, A., & Chopra, K. (2005). Hesperidin, a citrus bioflavonoid, decreases the oxidative stress produced by carbon tetrachloride in rat liver and kidney. *BMC Pharmacology*, 5, 1–2.
- Trease, G., & Evans, W. (1989). *Textbook of Pharmacognosy* (15th ed.). Bailliere Tindal.
- Turnbaugh, P., Ley, R., Mahowald, M., Magrini, V., Mardis, E., & Gordon, J. (2006). “An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest.” *Nature*, 7122(444), 1027–1031.
- Unno, T., Matsuyama, H., Sakamoto, T., Uchiyama, M., Izumi, Y., Okamoto, H., Yamada, M., Wess, J., & Komori, S. (2005). M 2 and M 3 muscarinic receptor-mediated contractions in longitudinal smooth muscle of the ileum studied with receptor knockout mice. *British Journal of Pharmacology*, 146(1), 98–108. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706300>
- Vaishnava, S., Behrendt, C., & Hooper, L. (2008). Innate immune responses to commensal bacteria in the gut epithelium. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 46(1), 10–11.
- Van der Zon. (1992). Graminées du Cameroun Volume II: Flore. *Wageningen Agricultural University Papers*, 2(92), 304–306.

- Wansi, S., Kamtchouing, I., Kuate, J., Nguelefack, T., Wabo, H., & Kamanyi, A. (2014). Antidiarrhoeal and antimicrobial activities of the *Pentadesma butyracea* stem bark methanolic extract. *International Journal of Pharmaceutics*, 4(2), 147–154. <https://www.semanticscholar.org/paper/Antidiarrhoeal-and-antimicrobial-activities-of-the-Wansi-Kamtchouing/d7659afa8e86003bab5873b0fd837ffae3f27ea9>
- Wansi, S., Nguelefack-mbuyo, E., Nchouwet, M., Miaffo, D., Nyadjeu, P., Wabo, J., Mbiantha, M., Nkeng-Efouet, P., Nguelefack, T., & Kamanyi, A. (2014). Antidiarrheal activity of aqueous extract of the stem bark of *Sapium ellipticum* (Euphorbiaceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 6(13), 929–935.
- Watt, J., & Breyer-Brandwijk, M. (1962). *The medicinal and poisonous plants of southern and eastern Africa* (2nd ed.). E&S.
- Wheater, P., Young, B., & Heath, J. (2004). *Histologie fonctionnelle* (1st ed.). De Boeck Supérieur.
- WHO, (World Health Organisation). (2003). Background document: The diagnosis, treatment and prevention of typhoid fever. Communicable disease surveillance and response vaccines and biologicals. *WHO, WHO/V&B/03*, 38.
- WHO, (World Health Organization). (1993). The management and prevention of diarrhoea : Practical guidelines. In *World Health Organization Report*.
- Wilbur, K., Bernheim, F., & Shapiro, O. (1949). Determination of lipid peroxidation. *Archives of Biochemistry*, 24(1), 305–310.
- Wilkin, P. (2001). Dioscoreaceae of south central Africa. *Kew Bulletin*, 56, 316–404.
- Witthöft, T., Eckmann, L., Kim, M., & Kagnoff, M. (2019). Enteroinvasive bacteria directly activate expression of iNOS and NO production in human colon epithelial cells. *American Physiological Society*, 1(7), 564–571.
- Xie, Y., Yang, W., Tang, F., Chen, X., & Ren, L. (2014). Antibacterial activities of flavonoids: Structure-activity relationship and mechanism. *Current Medicinal Chemistry*, 22(1), 132–149. <https://doi.org/10.2174/0929867321666140916113443>
- Yakubu, M., Opakunle, F., Salimon, S., Ajiboye, T., Bamisaye, F., & Quadri, A. (2012). Antidiarrheal activity of aqueous leaf extract of *Ceratotherca sesamoides* in rats. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 7, 14–20.
- Yongsi, N., Salem, G., & Bruneau, J. (2008). Épidémiologie géographique des maladies diarrhéiques à Yaoundé (Cameroun). *Mappemonde*, 89(1), 1–17.
- Yusuf, A., Abdullahi, M., Aleku, G., Ibrahim, I., Alebiosu, C., Yahaya, M., Adamu, H., Sanusi, A., Mailafia, M., & Abubakar, H. (2018). Antimicrobial activity of stigmasterol from the stem bark of *Neocarya macrophylla*. *Journal of Medicinal Plants for Economic Development*, 2(1), 1–5.
- Zakaria, Z., Desa, A., Ramasamy, K., Ahmat, N., Mohamad, A., Israf, D., & Sulaiman, M. (2010). Lack of antimicrobial activities of *Dicranopteris linearis* extracts and fractions. *African Journal of Microbiology Research*, 4(1), 71–75.
- Zhang, S., Adams, L., Nunes, J., Khare, S., Tsohis, R., & Baumler, A. (2003). Secreted effector proteins of *Salmonella enterica* serotype *typhimurium* elicit host-specific chemokine profiles in animal models of typhoid fever and enterocolitis. *Infection and Immunity*, 71, 4795–4803.
- Zintchem, R., Njinkio, B., Kamgang, R., Fokunang, C., Emery, D., & Biwole, M. (2013).

Antioxidative properties of *Mallotus oppositifolium* decoction leaves extract using *in vitro* models. *International Journal Biology Chemistry Science*, 7(6), 2396–2408.

ARTICLES TIRÉS DE LA THÈSE

Original Article

ANTIMICROBIAL AND ANTIDIARRHEAL EFFECTS OF FOUR CAMEROON MEDICINAL PLANTS:
DICHROCEPHALA INTEGRIFOLIA, *DIOSCOREA PREUSII*, *MELANIS MINUTIFLORA*, AND
TRICALYSIA OKELENSIS

KAMGANG RENE^{1,2*}, FANKEM GAËTAN OLIVIER², NGO TETKA JACQUELINE², GONSU KAMGA HORTENSE³,
FONKOUA MARIE CHRISTINE⁴

¹Laboratory of Endocrinology and Radio-Isotopes, Institute of Medical Research and Medicinal Plants Studies (IMPM), Yaoundé, Cameroon, ²Animal Physiology Laboratory, Faculty of Science, University of Yaoundé I, Cameroon, ³Laboratory of Bacteriology of YUHC, Cameroon, ⁴Laboratory of Bacteriology, Centre Pasteur of Cameroon.
Email: gemskrui@yahoo.fr

Received: 16 Oct 2014, Revised and Accepted: 20 Nov 2014

ABSTRACT

Objective: In order to verify the antidiarrheal activities of *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preusii*, *Melenis minutiflora*, *Tricalysia okelensis*, the *in vitro* antimicrobial effect on *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* A₁ and *Candida albicans*, and the *in vivo* antidiarrheal activities on the intestine transit of the hydro/ethanol (v/v) plants extracts were studied.

Methods: The antimicrobial effect of the extracts was assayed *in vitro* by the disc diffusion and the agar dilution methods. For *in vivo* study, male and female mice received *per os* castor oil and one hour later different doses of the extracts.

Results: *In vitro*, *D. integrifolia*, *D. preusii*, *M. minutiflora*, and *T. okelensis* extract showed concentration-dependent activity against all the tested microbial strains with the inhibition zone ranged from 08 to 24 mm. *D. integrifolia* 0.5 mg/mL showed the lowest MIC on *Candida albicans*. The *M. minutiflora* and *D. integrifolia* MIC was 3 mg/mL on *Escherichia coli* and *Shigella dysenteriae* A₁. *In vivo*, *D. integrifolia*, *D. preusii*, *T. okelensis* extract at 50 and 100 mg/kg bw and *M. minutiflora* 75 and 150 mg/kg bw significantly (P < 0.01) inhibited the intestinal charcoal transit. *D. integrifolia* 100 mg/kg bw exhibited the highest inhibition rate, 70%.

Conclusion: These results suggest that *D. integrifolia*, *D. preusii*, *M. minutiflora* and *T. okelensis* extracts possesses antimicrobial and antidiarrheal properties, could be effective for diarrhea treating, and could thus justify their use in traditional medicine to treat diarrhea. *D. integrifolia* could have the most efficiency antimicrobial properties.

Keywords: *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preusii*, *Melenis minutiflora*, *Tricalysia okelensis*, Antidiarrheal effects, Antimicrobial activity.

INTRODUCTION

Diarrhea is characterized as rapid movement of faecal matter through an intestine resulting in poor absorption of water, nutritive elements and electrolytes producing abnormal frequent evacuation of watery stools. Diarrhea is one of the main causes of the high mortality rate. According to the World Health Organization (WHO), 3 - 5 billion cases occur annually and approximately 5 million deaths are accountable to diarrhea. Over 2.5 million children under the age of five die annually from severe diarrheal diseases [1].

The disease may be caused by a wide array of agents such as enteropathogenic microorganisms (*Shigella flexneri* and *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* and *Candida albicans*), alcohol, irritable bowel syndrome, bile salts, hormones, secretory tumors and intoxication [2,3]. Plants have been a valuable source of natural products for maintaining human health for many years. The use of herbal drugs in the treatment of diarrhea is a common practice in many African countries. About 80 % of individuals from developed countries receive traditional medicines including compounds derived from medicinal plants.

Hence, medicinal plants can be exploited since it has been shown that they are important sources of new chemical substances with potential therapeutic effects [4].

However, there is limited scientific evidence supporting the potential use of these plants as antidiarrheal agents. The WHO suggested that medicinal plants would be the best source from which could be developed a variety of medications. We have therefore investigated the scientific basis for the efficacy of *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preusii*, *Melenis minutiflora*, and *Tricalysia okelensis* selected basing on their ethnomedicinal importance in diarrhea treatment.

MATERIALS AND METHODS

Test organisms

Three gram negative bacteria: *Escherichia coli* ATCC 35218, *Shigella dysenteriae* A₁, *Salmonella typhi*, and the fungus *Candida albicans* were collected from Centre Pasteur of Cameroon. Their pure cultures were maintained in Muller-Hinton agar and stored at 4°C.

Animals

Young healthy Swiss albino mice (20-30 g) of either sex were bred in the University of Yaoundé I animal house. Animal housing and *in vivo* experiments was done according to the guidelines of the European Union on Animal Care (CEE Council 86/609) [5] that were adopted by the Institutional Committee of the Ministry of Scientific Research and Innovation of Cameroon. They were housed under laboratory natural temperature and day/light cycle. The animals were fed with standard diet and received water *ad libitum*.

Plant extracts

Fresh plants of *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preusii*, *Melenis minutiflora*, and *Tricalysia okelensis* were collected in June, 2011, from Batié subdivision, West Region of Cameroon. Botanic identification was performed at the Cameroon National Herbarium, Yaoundé, Cameroon, by comparison with the voucher kept under No. 5603/SRFcam, 16394/SRFcam, 34330/HNC, and 23930/SRFcam respectively.

The collected plants were shade dried and then grounded into powder. 600 g of the powder of each plant was macerated in water/ethanol (v/v) for 3 days. Then each macerate was filtered. The resulting filtrates were concentrated using a rotary evaporator and further dried in an oven at 40°C. The dried extracts obtained

were 27.80 g (4.63%), 21.30 g (3.55%), 26.20 g (4.36%) and 22.60 g (3.76%) respectively for *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preussii*, *Melenis minutiflora*, and *Tricalysia okelensis*.

Preliminary phytochemical analysis

The extract of each plant was subjected to qualitative chemical investigation for the identification of different phytochemical constituents [6].

Antimicrobial susceptibility

The susceptibility screenings of the extracts were done with the methods of dilution [7]. The sterilized medium (autoclaved at 121 °C for 15 min) maintained at 40°C was inoculated (1 mL/100 mL of medium) with the microorganism suspensions of 10⁵CFU/mL (matched to McFarland barium sulphate standard) and poured into sterile petri dishes to give a depth of 3-4 mm.

Every discs (6 mm in diameter) were impregnated with 10 µL of each plant extracts dilution (0.39, 0.78, 1.56, 3.12, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 and 200 mg/mL) and placed on the surface of the inoculated Muller-Hinton agar. The inoculated plates were pre-incubated for 1 h at room temperature and then incubated at 37 °C for 18-24 h for antibacterial, and at 25°C for 48 h for antifungal activities. Ciprofloxacin (30 µg/disc) and Nystatin (100 µg/disc) were used as standard for antibacterial and antifungal activities respectively. Antimicrobial activity was evaluated by measuring the inhibition zone of the tested microorganism growth. All inhibition assays were made in triplicate.

Determination of minimal inhibitory concentration (MIC)

The determination of the minimal inhibitory concentration (MIC) of the hydro ethanolic plants extracts was carried out using the agar dilution method [8]. Two-fold dilutions of the extracts were prepared and 2 mL aliquot of different concentrations of the solution were added to 18 mL of pre-sterilized molten Muller-Hinton agar at 40 °C to give final concentration regimes of 50 to 0.05 mg/mL. The medium was then poured into sterile Petri dishes and allowed to solidify. The surfaces of the media were streaking with 18 h old microorganisms cultures. The plates were later incubated at 37 °C for 18-24 h for bacteria and at 25°C for 48 h fungi, after which they were examined for the microbial growth. The MICs were taken as the lowest concentration of extracts that prevent the visible growth of the tested microorganisms.

Minimum bactericidal concentration (MBC) and minimum fungicidal concentration (MFC) assessment

To determine the minimal bactericidal concentration (MBC) and minimal fungicidal concentration (MFC) of the plant extracts against the microbes, the plates of the MIC that showed no growth of the microbes were sub-cultured by streaking using wire loop on sterile Muller Hinton agar plates. The plates were incubated at 37°C for 18-24 h and at 25°C for 48 h respectively for bacteria and fungi. The MBCs and MFC were taken as the lowest concentration of the extract that showed not microbial growth on the agar plates [9].

All the antimicrobial assays were performed under strict aseptic conditions to ensure consistency of all findings.

Antidiarrheal activity: castor oil-induced gastrointestinal motility

Ten groups of five mice each were fasted for 18 hours with free access to water. Each mouse orally received 0.5 mL of castor oil. One hour later, group I received 10 mL/kg bw distilled water; group III and group IV respectively received 50 and 100 mg/kg bw of *D. integrifolia* extract; group V and group VI respectively received 50 and 100 mg/kg bw of *D. preussii* extract; group VII and group VIII respectively received 50 and 100 mg/kg bw of *T. okelensis* extract; group IX and group X respectively received 75 and 150 mg/kg bw of *M. minutiflora* extract; After one hour all treated animals orally received 0.5 mL of charcoal meal (activated carbon 10 % in gum 5 %). 30 min after charcoal meal administration, the mice were sacrificed by cervical dislocation, and intestine was removed without stretching and placed length wise on moist filter paper and

its total length measured. The distance moved by the charcoal from the pyloric sphincter to the caecum was measured. This distance was expressed as percentage of the small intestine total length [10].

Statistical analysis

The results were expressed as mean ± SEM. Statistical significance was determined by the one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnett's test using the software Graph Pad In Stat.

RESULTS

Preliminary phytochemical analysis

The preliminary phytochemical analysis of ethanol/water extracts of *D. integrifolia*, *D. preussii*, *M. minutiflora*, and *T. okelensis* revealed that these plants content saponins, phenolic compounds, coumarins, reduce sugar, polysaccharides and volatile oil, and no flavonoids. Tannins and alkaloids were present in *D. integrifolia*, *M. minutiflora*, and *T. okelensis* extract but not in *D. preussii* extract. *D. integrifolia* extract contents sterols which is absent in other extracts, whereas terpenoids are absent in *D. integrifolia* extract (Table 1).

Table 1: Preliminary phytochemical screening of ethanol/water extracts of *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preussii*, *Melenis minutiflora*, and *Tricalysia okelensis*

Secondary metabolites	<i>D. integrifolia</i>	<i>D. preussii</i>	<i>M. minutiflora</i>	<i>T. Okelensis</i>
Alkaloids	+	-	+	+
Antraquinones	+	+	+	-
Coumarins	+	+	+	+
Flavonoids	-	-	-	-
Phenols	+	+	+	+
Polysaccharides	+	+	+	+
Reduce sugar	+	+	+	+
Saponins	+	+	+	+
Sterols	+	-	-	-
Tannins	+	-	+	+
Triterpens	-	+	+	+
Volatile oil	+	+	+	+

Key: +: present; -: absent.

Antimicrobial susceptibility

The results obtained from the disc diffusion assay showed that the plant extracts possess antimicrobial activities against the tested microorganisms (*S. typhi*, *S. dysenteriae*, *E. coli*, *C. albicans*) in dose-dependent manner. The highest inhibition activities were observed with the highest extract test dose 200 mg/mL (Table 2).

The inhibition diameter with *D. integrifolia* extract was 24 mm on both *S. typhi* and *C. albicans*, 19 and 17 mm respectively on *E. coli*, and *S. dysenteriae* A₁. *D. preussii* and *M. minutiflora* inhibition activities were respectively 22 and 19 mm against *S. typhi*. *D. preussii* and *M. minutiflora* extracts activities on *C. albicans* were 18 and 23 mm respectively. *T. okelensis* extract showed 20 mm inhibition activity only on *C. albicans*.

Minimal inhibitory concentration (MIC)

The minimal inhibitory concentration (MIC) obtained with *D. integrifolia* was 0.5, 1, 2 and 3 mg/mL respectively on *C. albicans*, *S. typhi*, *S. dysenteriae* and *E. coli*, 1 and 2 mg/mL with *D. preussii* respectively on *C. albicans* and *S. typhi*, 2 and 3 mg/mL with *M. minutiflora* respectively on *C. albicans* and *S. typhi* and 2 mg/mL with *T. okelensis* on *C. albicans* (Table 3).

Minimal bactericidal concentration (MBC) and minimal fungicidal concentration (MFC)

The Minimal Bactericidal Concentration (MBC) values were ranges from 1-10 mg/mL. The lowest MFC value, 1 mg/mL was obtained on *C. albicans* with *D. integrifolia* extract. The highest MBC and MFC values, 10 mg/mL were recorded for *S. dysenteriae* and *C. albicans* with respectively *D. integrifolia* and *T. okelensis* (Table 3).

Intestinal transit time

The different extracts (50, 75, 100 and 150 mg/kg) significantly ($p < 0.01$) inhibited the intestinal transit of the charcoal meal in mice (Table 4). *D. integrifolia*, *D. preussii*, *T. okelensis* extracts at 50 and 100 mg/kg and *M. minutiflora* extract at 75 and 150 mg/kg significantly ($p < 0.01$) inhibited the charcoal intestinal transit.

The highest inhibition rate (70 %) was observed with 100 mg/kg of *D. integrifolia* extract and lowest inhibition rate (37.50 %) was obtained 100 mg/kg of *D. preussii* extract. The inhibition rate of the intestinal normal propulsion by the most tested extracts were comparable to (or more important than) the reference drug Loperamide.

Table 2: Antimicrobial susceptibilities (Inhibition diameter in mm) of *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preussii*, *Melenis minutiflora*, and *Tricalysia okelensis* extracts and standard drugs (Ciprofloxacin and Nystatin)

A Plant extracts	Microbial strains	Concentration of the extracts (mg/mL)										
		0.19	0.30	0.78	1.56	3.12	6.25	12.50	25	50	100	200
<i>D. integrifolia</i>	<i>S. typhi</i>	-	8.00	9.00	10.00	12.00	14.00	16.00	17.00	20.00	22.00	24.00
	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	9.00	10.00	11.00	12.00	13.50	15.00	17.00
	<i>S. dysenteriae</i>	-	-	-	-	9.00	10.00	12.00	14.00	16.00	17.00	19.00
	<i>C. albicans</i>	-	8.00	10.50	11.00	12.00	13.00	14.50	16.00	18.00	19.50	24.00
<i>M. minutiflora</i>	<i>S. typhi</i>	-	-	-	9.00	10.00	12.00	14.00	15.00	17.00	19.00	19.00
	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>S. dysenteriae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>C. albicans</i>	-	-	-	9.00	10.50	12.00	15.00	17.00	18.00	20.00	23.00
<i>D. preussii</i>	<i>S. typhi</i>	-	-	-	9.00	10.00	11.00	13.00	14.00	16.00	19.00	22.00
	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>S. dysenteriae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>C. albicans</i>	-	-	-	8.00	9.00	10.00	12.00	13.50	14.50	16.00	18.00
<i>T. okelensis</i>	<i>S. typhi</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>S. dysenteriae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>C. albicans</i>	-	-	8.00	10.00	11.00	12.50	14.00	15.50	16.50	17.50	20.00
B												
Standard drugs												
Ciprofloxacin	<i>S. typhi</i>	36										
30 µg/mL	<i>E. coli</i>	38										
	<i>S. dysenteriae</i>	35										
Nystatin	<i>C. albicans</i>	32										
100 µg/mL												

E. coli: *Escherichia coli* *S. typhi*: *Salmonella typhi*, *S. dysenteriae*: *Shigella dysenteriae* A₁ *C. albicans*: *Candida albicans*

Table 3: Minimal Inhibitory (MIC) and bactericidal (MBC) or fungicidal (MFC) concentrations (mg/mL) of the ethanol/water extract of *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preussii*, *Melenis minutiflora*, and *Tricalysia okelensis* on *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* A₁, *Escherichia coli* and *Candida albicans*

Plant extract	<i>Salmonella typhi</i>			<i>Escherichia coli</i>			<i>Shigella dysenteriae</i> A ₁			<i>Candida albicans</i>		
	MIC	MBC	MBC/MIC	MIC	MBC	MBC/MIC	MIC	MBC	MBC/MIC	MIC	MFC	MFC/MIC
<i>D. integrifolia</i>	1.00	2.00	2.00	3.00	4.00	1.30	2.00	10.00	5.00	0.50	1.00	2.00
<i>D. preussii</i>	2.00	5.00	2.50	-	-	-	-	-	-	1.00	4.00	4.00
<i>M. munitiflora</i>	3.00	5.00	1.70	-	-	-	-	-	-	2.00	4.00	2.00
<i>T. okelensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.00	10.00	5.00

Table 4: Effect of ethanol/water extract of *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preussii*, *Melenis minutiflora*, and *Tricalysia okelensis* on castor oil-induced intestinal transit

Traitements	LSI (cm)	LCM (cm)	PI	% inhibition
Distilled water	48.90 ± 2.56	43.80 ± 2.47	89.75 ± 3.80	-
<i>Di</i> 50	50.00 ± 1.58	26.70 ± 2.39**	53.40 ± 3.54 **	40.50
<i>Di</i> 100	48.08 ± 2.22	13.20 ± 2.39**	27.45 ± 3.73 **	70.00
<i>Dp</i> 50	48.30 ± 2.44	19.00 ± 3.53**	39.33 ± 8.22 **	55.00
<i>Dp</i> 100	53.46 ± 1.95	30.00 ± 1.81**	56.11 ± 2.43 **	37.50
<i>Mm</i> 75	47.20 ± 1.60	19.60 ± 1.93**	41.52 ± 4.30 **	54.00
<i>Mm</i> 150	45.68 ± 1.77	22.28 ± 1.47**	48.77 ± 2.30 **	46.00
<i>To</i> 50	45.10 ± 1.10	22.80 ± 1.67 **	50.55 ± 4.54 **	43.40
<i>To</i> 100	43.40 ± 1.74	18.90 ± 1.12**	43.56 ± 2.18 **	51.50
<i>Lop</i> 5	30.00 ± 1.15	13.70 ± 0.58**	45.67 ± 0.78**	43.73

LSI = Length of Small Intestine; LCM = Length of Charcoal Meal; PI = Peristaltic Index; Values are means ± SEM (n=5);

significant difference: ** $P < 0.01$ compared to control. *Dichrocephala integrifolia* extract 50 mg/kg bw (*Di*50) and 100 mg/kg bw (*Di*100); *Dioscorea preussii* extract 50 mg/kg bw (*Dp*50) and 100 mg/kg bw (*Dp*100); *Melenis minutiflora* extract 75 mg/kg bw (*Mm*75) and 100 mg/kg bw (*Mm*150); *Tricalysia okelensis* extract 50 mg/kg bw (*To*50) and 100 mg/kg bw (*To*100); Loperamide 5 mg/kg (*Lop*5).

DISCUSSION

Dichrocephala integrifolia, *Dioscorea preusii*, *Melenis minutiflora*, and *Tricalysia okelensis* are some medicinal plants used in folk medicine in West Cameroon to treat diarrhea. In order to verify their antidiarrheal activities, the *in vitro* antimicrobial effect on *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* A₁ and *Candida albicans*, and the *in vivo* activities on castor oil-induced small intestinal motility were studied.

The ethanol-water extract of *D. integrifolia*, *D. preusii*, *M. minutiflora*, and *T. okelensis* showed dose-dependent activity against all the tested microbial strains with inhibition activity varied from one plant to another. *D. integrifolia* extract was the most active drug against all the tested microbial strains. *D. integrifolia*, *D. preusii*, *M. minutiflora*, and *T. okelensis* extract showed significant activity against *C. albicans*; whereas *D. preusii*, and *M. minutiflora* extracts showed significant antibacterial activity against *Salmonella typhi* but were found to be ineffective against *Shigella dysenteriae* type 1 and *Escherichia coli*. *T. okelensis* extract was inactive on *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* A₁, and *Escherichia coli*.

Various phytochemicals compounds like alkaloids, saponins, tannins, reducing sugar, phenols, polysaccharides, anthraquinones, coumarins, triterpens and sterols were present in *D. integrifolia*, *D. preusii*, *M. minutiflora*, and *T. okelensis*. The antimicrobial susceptibility of these medicinal plants could be attributed to some phytochemicals compounds which possess antimicrobial activities, such as anthraquinones [11], tannins [12], polysaccharides [13], alkaloids [14], saponins, phenols [15], and sterols [16]. The antibacterial activity of the plant extracts can be attributed to single bioactive compound or combined action of many compounds contained in the extracts [17].

Castor oil induced diarrhea in mice probably through its most active metabolite, ricinoleic acid by irritating the gastrointestinal tract mucosa and reducing sodium ion and chloride ion permeability, resulting in increased intestinal motility followed by diarrhea [18]. It also activates adenylate cyclase or mucosal cAMP mediated active secretion, endogenous prostaglandin E and F and nitric oxide formation [19,20].

In this study, the loperamide was adopted as the standard drug, which is at present one of the most efficient and widely employed antidiarrheal drugs [21]. The loperamide slows down transit in the intestine, reduces colon flow rate, and possesses antimotility and antisecretory properties [22]. The ethanol/water extracts of *D. integrifolia*, *D. preusii*, *M. minutiflora*, and *T. okelensis* inhibited gastrointestinal propulsion in the castor oil-induced transit. The antidiarrheal properties of the ethanol/water extracts may be due to the presence of secondary metabolites such as tannins which could denature proteins in the intestinal mucosa by forming protein tannates complex. The protein tannates make the intestinal mucosa more resistance and hence, reduce the peristaltic movements and intestinal secretion [18].

CONCLUSION

In conclusion, the results of this investigation revealed that ethanol-water extracts of *D. integrifolia*, *D. preusii*, *M. minutiflora*, and *T. okelensis* were effective antimicrobial agents against certain microorganisms implicated in either typhoid fever and/or other gastrointestinal infectious diseases such as diarrhea and dysentery. *D. integrifolia* extract has shown the best bactericidal, fungicidal and antidiarrheal activity. The results provide the rationale for the use of these extracts by traditional healers as antidiarrheal drug

REFERENCES

1. Semwal BC, Goyal A, Varshney V. Antidiarrheal activity of *Rhododendron arborium* leaves in wistar rats. Int J Pharm Res Bio-Sci 2014;3(3):591-600.
2. Brijesh S, Tetali P, Birdi TJ. Study of effect of anti-diarrheal medicinal plants on enteropathogenic *Escherichia coli* induced

- interleukin-8 secretion by intestinal epithelial cells. Altern Med Stud 2011;(1)e16:64-9.
3. Yakubu MT, Opakunle FK, Salimon SS, Ajiboye TO, Bamisaye FA, Quadri AL. Antidiarrheal activity of aqueous leaf extract of *Ceratothera sesamoides* in rats. Bangladesh J Pharmacol 2012;7:14-20.
4. Akuodor GC, Muazzam I, Usman-Idris M, Megwas UA, Akpan JL. Evaluation of the antidiarrheal activity of methanol leaf extract of *Bombax Buonopozense* in rats. Ibmovina J Med Biomed Sci 2011;3(1):15-20.
5. Smith JA, van den Broek FAR, Martorel JCL, Hackbarth H, Ruksenas O, Zeller W. FELASA working grp and "principles and practice in ethical review of animal experiments across Europe: summary of the report of a FELASA Working Group on ethical evaluation of animal experiments." Lab Anim 2007;41(2):143-60.
6. Trease GE, Evans WC: Pharmacognosy, 12th ed. London: Baillere Tindall; 1983.
7. Sheela XQR, Ramani VA. Antimicrobial screening of *polygonum barbatum* leaf extract. J Curr Pharm Res 2011;3(3):117-8.
8. Akinyele TA, Okoh OO, Akinpelu DA, Okoh AI. *In-Vitro* antibacterial properties of crude aqueous and n-hexane extracts of the husk of *Cocos nucifera*. Mol 2011;16(3):2135-45.
9. Spencer ALR, Spencer JFT. Public Health Microbiology: Methods and protocols. New Jersey; Human Press Inc; 2004. p. 325-7.
10. Lakshminarayana M, Shivkumar H, Rimaben P, Bhargava VK. Antidiarrhoeal activity of leaf extract of *Moringa Oleifera* in experimentally induced diarrhoea in rats. Int J Phytomed 2011;3(2011):68-74.
11. Irimpan MT, Jolly CI, Sheela D. A Study of the phytochemical composition and antibacterial activity of *Holostemma adakodien* schultes. Int J Pharm Tech Res 2011;2(3):1208-10.
12. Lacmata ST, Kuete V, Dzoyem JP, Tankeo SB, Ngo Teke G, Kuate JR, et al. Antibacterial activities of selected Cameroonian plants and their synergistic effects with antibiotics against bacteria expressing MDR phenotypes. Evidence-Based Complementary Altern Med 2012;1-11.
13. Murugesan S, Pannerselvam A, Tangavelou AC. Phytochemical screening and antimicrobial activity of the leaves of *Memecylon umbellatum* burm. F J Appl Pharm Sci 2011;01(01):42-5.
14. Rahman MA, Ahsna T, Islam S. Antibacterial and antifungal properties of methanol extract from the stem of *Argyrea argentea*. Bangladesh J Pharmacol 2010;5:41-4.
15. Šiljegović JD, Stojković DS, Nikolić MM, Glamočlija JM, Soković MD. Antimicrobial activity of aqueous extract of *Laetiporus sulphureus* (bull.: fr.) murill. Nat Sci 2011;120:297-303.
16. Sridhar S, Deepa T, Elamathi R, Kavitha R, Kamalakannan, Suresh Kumar J. Antimicrobial activities of leaf extracts of *Sapindus emarginatus* Vahl. Int J Pharm Tech Res 2012;4(1):392-7.
17. Sunayana V, Vadivukkarasi A, Rajendran T, Francis X, Natarajan E. Antibacterial potential of *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng. A study *in vitro*. J Swamy Bot Club 2003;20:55-8.
18. Haque A, Abdullah CS, Romana B, Rafique B, Zia-ul-Huda, Hossain SF, et al. Evaluation of anti-diarrheal and anti-diabetic activities of the stem, barks and leaves of the plant *Vernonia cinerea* (Family: Asteraceae). J Appl Pharm Sci 2013;3(01):069-072.
19. Capasso F, Mascolo N, Izzo AA, Gaginella TS. Dissociation of castor oil-induced diarrhea and intestinal mucosal injury in rat: effect of NGnitro-L-arginine methyl ester. Br J Pharmacol 1994;113(4):1127-30.
20. Anup M, Saikat D, Subhash CM. *In vivo* evaluation of antidiarrhoeal activity of the seed of *Swietenia macrophylla* King (Meliaceae). Trop J Pharm Res 2007;6(2):711-6.
21. Balogun SO, Tanayan JK, Ajayi AM, Ibrahim A, Ezeonwumelu JOC, Oyewale AA, et al. Preliminary evaluation of anti-diarrheal, ulcer-protective and acute toxicity of aqueous ethanolic stem bark extract of *Ficus trichopoda* in experimental rodents. Asian J Med Sci 2011;3(1):37-42.
22. Theoderau V, Floramont J, Hachet T, Bueno L. Absorptive and motor components of anti-diarrhoeal action of loperamide: an *in vivo* study in pigs. Gut 1991;32:1355-9.



Science Press

Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Integrative Medicine

journal homepage: www.jcimjournal.com/jim
www.journals.elsevier.com/journal-of-integrative-medicine

Original Research Article

Antioxidant activity of dichloromethane fraction of *Dichrocephala integrifolia* in *Salmonella typhi*-infected ratsGaëtan Olivier Fankem^a, Michel Archange Fokam Tagne^{b,*}, Paul Aimé Noubissi^c, Angèle Foyet Fondjo^d, Idrice Kamtchouing^a, Adela Ngwewondo^e, Henri Wambe^f, Joseph Ngakou Mukam^a, René Kamgang^{a,e}^a Animal Physiology Laboratory, Faculty of Science, University of Yaoundé I, 237, Cameroon^b Department of Biological Science, Faculty of Science, University of Ngaoundéré, 237, Cameroon^c Department of Zoology and Animal Physiology, Faculty of Science, University of Buea, 237, Cameroon^d Department of Applied Sciences for Health, Higher Institute of Applied Sciences, University Institute of Gulf of Guinea, 237, Cameroon^e Laboratory of Endocrinology and Radioisotopes, Institute of Medical Research and Medicinal Plants Studies (IMPM), Yaoundé 237, Cameroon^f Department of Biological Science, Faculty of Science, University of Dschang, 237, Cameroon

ARTICLE INFO

Article history:

Received 4 March 2019

Accepted 7 July 2019

Available online 30 September 2019

Keywords:

Typhoid fever

*Salmonella typhi**Dichrocephala integrifolia*

Antioxidant stress

Hematology

ABSTRACT

Objective: Infectious diseases such as typhoid fever lead to the formation of free radicals which can damage the body. Many medicinal plants have antioxidant molecules that neutralize free radicals. The present work evaluated the antioxidant activity and histopathological effects of the dichloromethane fraction of *Dichrocephala integrifolia* in *Salmonella typhi*-infected rats.**Methods:** The *S. typhi*-infected rats concurrently received daily doses of *D. integrifolia* extract at doses of 25, 50 and 100 mg/kg body weight or ciprofloxacin (5 mg/kg body weight) for 15 days. Body temperature was measured daily during infection and treatment periods. At the end of treatment period, the animals were sacrificed and biological responses including hematological parameters, superoxide dismutase and catalase activities, and glutathione, malondialdehyde and nitric oxide concentrations were evaluated.**Results:** The elevated body temperature induced by infection was significantly decreased in animals treated with 25, 50 or 100 mg/kg of the extract. Platelet levels decreased slightly in infected rats, while treatment with the dichloromethane fraction of *D. integrifolia* significantly increased platelet levels; this response was greater than that elicited by ciprofloxacin. The doses of 50 and 100 mg/kg of the dichloromethane fraction of *D. integrifolia* notably decreased monocyte and neutrophil values. Activity of superoxide dismutase and catalase and levels of glutathione in the tissues of treated animals were increased significantly ($P < 0.01$), while malondialdehyde and nitric oxide levels were significantly decreased ($P < 0.01$), following treatment with the dichloromethane fraction of *D. integrifolia*.**Conclusion:** The results of this study show that the dichloromethane fraction of *D. integrifolia* has protective effects against a series of pathological conditions initiated by oxidation and tissue damage in the course of a *S. typhi* infection.Please cite this article as: Fankem GO, Fokam Tagne MA, Noubissi PA, Foyet Fondjo A, Kamtchouing I, Ngwewondo A, Wambe H, Ngakou Mukam J, Kamgang R. Antioxidant activity of dichloromethane fraction of *Dichrocephala integrifolia* in *Salmonella typhi*-infected rats. *J Integr Med*. 2019; 17(6): 438–445.

© 2019 Shanghai Changhai Hospital. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Typhoid fever, also called enteric fever, is caused by *Salmonella enterica* serotype *typhi* (*S. typhi*) and *Salmonella paratyphi* [1]. Humans become infected through ingestion of feces-

contaminated food, milk or water. Typhoid fever is clinically characterized by continual high fever of 40 °C (30–100%), headache (43–90%), gastrointestinal symptoms (8–79%), relative bradycardia (17–50%), splenomegaly (23–65%) and leucopenia [2]. The incubation period is normally two weeks and in the second or third week, the microorganism spreads in the body and can be found in urine and feces [3]. Typhoid fever is a global health problem [4]. Its real impact is difficult to estimate because the clinical picture is confused with other febrile infections. Worldwide, the prevalence of

* Corresponding author.

E-mail address: fm_archange@yahoo.fr (M.A. Fokam Tagne).

typhoid fever is estimated at 26 million cases with 215,000 deaths occurring annually [5]. One to five percent of infected people become chronic carriers, harboring *S. typhi* in the gall bladder, despite antibiotic therapy [6]. Presence of *S. typhi* in the body causes specialized phagocytic immune cells to produce reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species [7]. These molecules cause oxidative damage that initiates a series of pathological conditions in the body, leading to some symptoms of the diseases [8]. Also, bacterial pathogens, especially those that reside in intracellular niches to survive and to disseminate themselves throughout the body, can overcome the antimicrobial oxidative and nitrosating antimicrobial by producing enzymes such as catalase (CAT), peroxidases, superoxide dismutase (SOD) and DNA repair enzymes [9,10]. Thus, there is a need to search for new substances with interesting anti-*Salmonella* properties and which can prevent the generation of reactive oxygen compounds. Several plants used as a major source of health care by people in various traditional systems show immense medicinal potential [11,12]. The Cameroonian flora includes many plants with pharmacological activities, including antimicrobial activity. Among these, *Dichrocephala integrifolia* [13] is used in the Western Region of Cameroon for the treatment of gastrointestinal disorders, diarrhea, hepatitis worm infections and amebiasis. It is also used in other parts of the country during tooth extraction and to treat schizophrenia, wounds, epilepsy, dementia, headache, infections, asthma, inflammation and malaria [14–16]. In addition, it is an antioxidant [15] and is used to treat eye diseases in Democratic Republic of Congo and leishmaniasis and trypanosomiasis in Saudi Arabia [17]. Several other plants of the Asteraceae possess antibacterial activities [18,19]. It was therefore necessary for us to verify whether this plant, belonging to the aster family could correct the damage caused by *S. typhi* in the body. The present study was undertaken to evaluate the antioxidant potential of the dichloromethane fraction of the hydroethanolic extract of *D. integrifolia* in rats with induced typhoid disease.

2. Materials and methods

2.1. Plant material

D. integrifolia Linn plants were collected in May 2013 from Batié, in the West Region of Cameroon. Botanic identification was done by comparison with the voucher kept under No. 5603/SRFcam at the Cameroon National Herbarium, Yaoundé, Cameroon.

2.2. Preparation of fraction

The *D. integrifolia* plants were shade-dried and then ground into powder. Six hundred grams of the powder were macerated in 2 L of water/ethanol (v/v 1:1) for 72 h. The macerate was then filtered and concentrated in a rotary evaporator at 45 °C (Büch, 461) and then freeze-dried at the Institute of Medical Research and Study of Medicinal Plants, yielding 27.80 g (4.63%) of dry extract. A 16 g mass of *D. integrifolia* hydroethanolic extract was dissolved in dichloromethane (1 L) for 12 h using a sonicator. This solution was filtered and concentrated on a rotary evaporator at 70 °C under vacuum. The concentrate was then lyophilized, yielding 5.67% of dichloromethane fraction.

2.3. Phytochemical investigation

Using the methods described by Trease and Evans [20], phytochemical assays were carried out to test for the presence of some secondary metabolites such as alkaloids, steroids, polyphenols, fla-

vonoids, tannins, saponins, anthraquinones and anthocyanins in the extract.

2.4. Bacteria strain

Stock cultures of *S. typhi* used in this study were collected from Centre Pasteur of Cameroon. Their pure cultures were maintained in Muller-Hinton agar and stored at 4 °C.

2.5. Experimental animals

Young, healthy Wistar albino rats (150–200 g) of either sex were bred at the University of Yaoundé I animal house. Animal housing and *in vivo* experiments were carried out following the guidelines of the European Union on Animal Care (CEE Council 86/609) [21] that were adopted by the Institutional Committee of the Ministry of Scientific Research and Innovation of Cameroon. They were housed in the laboratory under a natural temperature and light cycle. The animals were fed with standard diet and received water *ad libitum*.

2.5.1. Typhoid fever induction and treatment

Throughout the experiment, in order to reduce the level of facultative anaerobic bacteria that normally colonizing in rat intestine, animal were given azithromycin solution (5 mg/mL) [22]. A *S. typhi* suspension was prepared to 0.5 on the McFarland turbidity scale. Saline solution (1 mL of 0.9% NaCl), containing about 1.5×10^8 colony-forming units was given orally to each animal [23].

Animals were distributed into six groups of five animals each. Each animal in each group was housed in its own cage and these animals were treated as follows: group one (normal control group: NC) received distilled water; group two (typhoid control group: TC) received distilled water; group three (positive control group: Cip5) received ciprofloxacin at 5 mg/kg body weight; groups four through six (test groups) received doses of the dichloromethane fraction of *D. integrifolia* at 25 (DFDi25), 50 (DFDi50) or 100 mg/kg body weight (DFDi100).

The dichloromethane fraction of *D. integrifolia* was given orally once per day during the 15-day experimental period. The body temperatures of rats were measured before infection and daily during infection and treatment periods using a rectal thermometer.

At the end of the experiment, the animals were fasted for 12 h and then anesthetized with chloroform. Blood samples were collected into 2 separate tubes: (1) ethylene diamine tetraacetic acid tubes used for hematological analysis using a Sysmex XN-1000 analyzer; and (2) dry sterile tubes. This second tube was centrifuged at $3000 \times g$ for 15 min to obtain serum that was used for biochemical assays.

Animals were further dissected and the ileum, liver, kidney and spleen were removed. A sample (0.20 g) of each organ was ground in a mortar containing ice and then centrifuged. Homogenates (20% organ in 80% buffer) of these organs were prepared in Tris-KCl buffer (pH 7.4), and then centrifuged at $3000 \times g$ for 25 min. The supernatant (organ homogenate) was stored at -20 °C for assays of oxidative stress parameters. The remaining liver and kidney portions were stored in buffered formalin (10%) for histological examination.

The effects of the different doses of the fraction on lipid peroxidation parameters, including malondialdehyde (MDA), [24] and on some antioxidant parameters, including CAT, reduced glutathione (GSH) [9] and SOD, were assessed in organ homogenates.

Nitric oxide (NO) levels [25] were assessed in serum and in organ homogenates. To determine the nitrite concentration, 0.5 mL of serum or tissue homogenate was added to 0.5 mL of Griess solution, and the mixture was left at room temperature

for 20 min. Next, the optical density (OD) of each mixture was read with a spectrophotometer (T60-1611ESW) at 553 nm. The nitrite concentration was determined from the concentration calibration curve [26] ranging from 0 to 1 μmol with the equation: $\text{OD} = 3.4955 [\text{NO}^{-2}]$, where 3.4955 is slope of the calibration curve and $[\text{NO}^{-2}]$ is nitrite concentration.

2.5.2. Histopathological examination

Using the formalin-fixed liver and kidney samples, histological sections (5 μm) were prepared, stained with hematoxylin and examined under a light microscope (Olympus, Japan) for histopathological changes, and photographed [27].

2.6. Statistical analysis

Results are expressed as mean \pm standard error of the mean. Statistical significance was determined by the one-way analysis of variance followed by Dunnett's test using the software GraphPad InStat 3.05 version (Graph Pad software, USA). Differences were considered significant at $P < 0.05$.

3. Results

3.1. Phytochemical components of the dichloromethane fraction of *D. integrifolia* extract

Phytochemical analysis of the dichloromethane fraction of the hydroethanolic extract of *D. integrifolia* showed the presence of flavonoids, sterols, tannins, alkaloids, saponins, phenolic compounds and coumarins and the absence of triterpenes and reducing sugars (Table 1).

3.2. Animal behavior and stool appearance

Four days after *S. typhi* administration, the rats became calm, curled up and showed erect hairs. Mobility became increasingly reduced. The first diarrheal stools appeared 8 d after *S. typhi* administration. These diarrheal stools were pasty and unmolded and contained mucus. In TC rats, no deaths were recorded throughout the 21 d of experimentation.

3.3. Effects of the dichloromethane fraction of *D. integrifolia* on body temperature in *S. typhi*-infected rats

Five days after *Salmonella* administration, the change in body temperature had significantly increased relative to normal control

rats ($P < 0.01$) in all infected rats: $+0.81^\circ\text{C}$ in TC, $+0.70^\circ\text{C}$ in Cip5, $+0.72^\circ\text{C}$ in DFDi25, $+0.62^\circ\text{C}$ in DFDi50 and $+0.98^\circ\text{C}$ in DFDi100. The dichloromethane fraction of *D. integrifolia*, at doses of 25, 50 and 100 mg/kg, significantly ($P < 0.01$) reduced body temperature after 10th day of treatment, compared to TC (Fig. 1).

3.4. Effects of the dichloromethane fraction of *D. integrifolia* on hematological parameters in *S. typhi*-infected rats

The red blood cell, platelet and hemoglobin levels were $(8.70 \pm 0.21) \times 10^6/\mu\text{L}$, $(322.60 \pm 18.90) \times 10^6/\mu\text{L}$ and (14.04 ± 0.49) g/dL respectively in NC group. In TC group, these blood components were $(8.78 \pm 0.38) \times 10^6/\mu\text{L}$, $(185.40 \pm 5.61) \times 10^6/\mu\text{L}$ and (14.08 ± 0.48) g/dL, respectively. Platelet levels decreased slightly in the TC group, while the dichloromethane fraction of *D. integrifolia* significantly increased platelet levels in infected rats compared with NC and TC; this effect was greater than that of ciprofloxacin. Red blood cell and hemoglobin levels were not significantly different from the NC group (Table 2). In NC group, hematocrit, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH) and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) were $49.48\% \pm 2.01\%$, (56.80 ± 1.46) fL, (16.12 ± 0.21) pg and (28.44 ± 0.49) g/dL respectively. In infected animals treated with dichloromethane fraction there was no statistical difference in hematocrit, MCV, MCH or MCHC relative to the NC (Table 2).

In NC group, the counts of total white blood cells (WBCs), lymphocytes, monocytes, eosinophils, basophils and neutrophils were $(4.34 \pm 1.07) \times 10^3/\mu\text{L}$, $(3.23 \pm 0.73) \times 10^6/\mu\text{L}$, (0.62 ± 0.03) g/dL, $(0.05 \pm 0.01) \times 10^3/\mu\text{L}$, $(0.03 \pm 0.01) \times 10^3/\mu\text{L}$ and $(0.41 \pm 0.08) \times 10^3/\mu\text{L}$, respectively. In TC group, there were significant increases in all the parameters. The values were $(7.29 \pm 0.15) \times 10^3/\mu\text{L}$, $(0.07 \pm 0.01) \times 10^3/\mu\text{L}$, and (1.10 ± 0.17) g/dL for WBCs, basophils and monocytes respectively ($P < 0.05$), and $(5.21 \pm 0.27) \times 10^6/\mu\text{L}$, $(0.14 \pm 0.01) \times 10^3/\mu\text{L}$ and $(1.04 \pm 0.09) \times 10^3/\mu\text{L}$ for lymphocytes, eosinophils and neutrophils, respectively ($P < 0.01$; Table 3). In infected animals, the *D. integrifolia* fractions and ciprofloxacin altered the leukocyte composition. The doses of 50 and 100 mg/kg of the dichloromethane fraction of *D. integrifolia* significantly increased the number of WBCs, lymphocytes, eosinophils and neutrophils compared to those of NC; they also notably decreased monocyte and neutrophil levels (Table 3).

Table 1
Phytochemical compounds of the dichloromethane fraction of *Dichrocephala integrifolia* extract.

Class of compound	Result
Tannins	+
Phenolic compounds	+
Anthraquinones	+
Reducing sugars	–
Alkaloids	+
Anthocyanins	+
Coumarins	+
Flavonoids	+
Sterols	+
Terpenoids	–
Fatty acids	+
Saponins	+
Poly-uronides	–
polysaccharides	+

+: Present; –: absent.

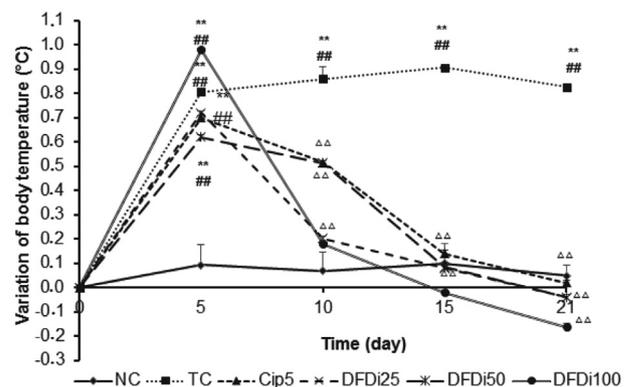


Fig. 1. Variation in body temperature in *Salmonella typhi*-infected rats. Data are mean \pm standard error of the mean ($n = 5$). NC: normal control; TC: typhoid control; Cip5: ciprofloxacin at 5 mg/kg; DFDi25: dichloromethane fraction of *D. integrifolia* at 25 mg/kg; DFDi50: dichloromethane fraction of *D. integrifolia* at 50 mg/kg; DFDi100: dichloromethane fraction of *D. integrifolia* at 100 mg/kg. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$, compared to NC; $\triangle\triangle P < 0.01$, compared to TC; # $P < 0.05$; ## $P < 0.01$, compared to baseline.

Table 2Effects of the dichloromethane fraction of *Dichrocephala integrifolia* on hematological parameter values in *Salmonella typhi*-infected rats.

Group	RBC ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	Plt ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	Hb (g/dL)	Ht (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)
NC	8.70 \pm 0.21	228.60 \pm 18.90	14.04 \pm 0.49	49.48 \pm 2.01	56.80 \pm 1.46	16.12 \pm 0.21	28.44 \pm 0.49
TC	8.78 \pm 0.38	185.40 \pm 5.61**	14.08 \pm 0.48	47.16 \pm 1.63	54.90 \pm 0.96	16.40 \pm 0.33	31.50 \pm 0.12*
Cip5	8.62 \pm 0.36	286.20 \pm 11.43 Δ	14.22 \pm 0.41	47.82 \pm 1.78	54.56 \pm 0.86	16.24 \pm 0.26	29.76 \pm 1.74
DFDi25	9.19 \pm 0.16*	489.50 \pm 32.93** $\Delta\Delta\Delta\Delta$	14.72 \pm 0.35	48.88 \pm 1.05	53.20 \pm 0.96	14.02 \pm 1.69	30.10 \pm 0.26
DFDi50	9.08 \pm 0.23	341.80 \pm 16.33** $\Delta\Delta$	14.18 \pm 0.30	47.46 \pm 0.97	53.80 \pm 0.94	16.06 \pm 0.26	29.86 \pm 0.37
DFDi100	9.34 \pm 0.24*	513.00 \pm 13.78** $\Delta\Delta\Delta\Delta$	15.44 \pm 0.40	50.94 \pm 0.95	54.58 \pm 0.83	16.54 \pm 0.35	30.30 \pm 0.31

Data are mean \pm standard error of mean ($n = 5$). NC: normal control; TC: typhoid control; Cip5: ciprofloxacin at 5 mg/kg; DFDi25: dichloromethane fraction of *D. integrifolia* at 25 mg/kg; DFDi50: dichloromethane fraction of *D. integrifolia* at 50 mg/kg; DFDi100: dichloromethane fraction of *D. integrifolia* at 100 mg/kg. RBC: red blood cell; Plt: blood platelets; Hb: hemoglobin; Ht: hematocrit; MCV: mean corpuscular volume; MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared to NC; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$, compared to TC; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$, compared to Cip5.

Table 3Effects of the dichloromethane fraction of *Dichrocephala integrifolia* on a leukocyte composition of *Salmonella typhi*-infected rats.

Group	WBCs ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Lymphocytes ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	Monocytes (g/dL)	Eosinophils ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Basophils ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Neutrophils ($\times 10^3/\mu\text{L}$)
NC	4.34 \pm 1.07	3.23 \pm 0.73	0.62 \pm 0.03	0.05 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	0.41 \pm 0.08
TC	7.56 \pm 0.15*	5.21 \pm 0.27**	1.10 \pm 0.17*	0.14 \pm 0.01**	0.07 \pm 0.01*	1.04 \pm 0.09**
Cip5	4.82 \pm 0.31	3.76 \pm 0.82	0.53 \pm 0.11 $\Delta\Delta$	0.07 \pm 0.02 $\Delta\Delta$	0.02 \pm 0.01	0.44 \pm 0.06 $\Delta\Delta$
DFDi25	4.18 \pm 0.47	3.18 \pm 0.24 Δ	0.53 \pm 0.06 $\Delta\Delta$	0.06 \pm 0.00 $\Delta\Delta$	0.02 \pm 0.01	0.39 \pm 0.03 $\Delta\Delta$
DFDi50	6.93 \pm 0.32*	5.80 \pm 0.11**	0.60 \pm 0.07 Δ	0.07 \pm 0.01 Δ	0.05 \pm 0.01	0.41 \pm 0.03 $\Delta\Delta$
DFDi100	7.31 \pm 0.24*	5.45 \pm 0.24**	0.93 \pm 0.14	0.11 \pm 0.03*	0.07 \pm 0.03	0.75 \pm 0.04** $\Delta\Delta\Delta$

Data are mean \pm standard error of mean ($n = 5$). NC: Normal control; TC: typhoid control; Cip5: ciprofloxacin at 5 mg/kg; DFDi25: dichloromethane fraction of *D. integrifolia* at 25 mg/kg; DFDi50: dichloromethane fraction of *D. integrifolia* at 50 mg/kg; DFDi100: dichloromethane fraction of *D. integrifolia* at 100 mg/kg; WBC: white blood cell. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared to NC; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$, compared to TC; $\Delta\Delta P < 0.01$, compared to Cip5.

3.5. Effects of the dichloromethane fraction of *D. integrifolia* on SOD, CAT, GSH and MDA in *S. typhi*-infected rats

In the liver, kidneys and spleen of infected rats, the levels of SOD significantly decreased when compared to NC as -66.05% , -64.11% and -54.60% , respectively ($P < 0.01$). The CAT decreased significantly ($P < 0.01$) in liver (-47.66%), kidneys (-44.47%) and spleen (-79.87%) in all infected rats when compared to NC. The levels of reduced GSH were significantly reduced ($P < 0.01$) in liver (-71.54%), kidneys (-60.87%) and spleen (-70.50%) in infected animals. The MDA levels increased significantly in the liver (33.87%), kidneys (153.04%) and spleen (102.10%) of infected animals when compared to NC. Administration of the dichloromethane fraction of *D. integrifolia* (25, 50 and 100 mg/kg) resulted in a significant increase in the activity of SOD, CAT and

reduced GSH in animal tissues and a significant reduction in the MDA level (Table 4).

3.6. Effects of the dichloromethane fraction of *D. integrifolia* on NO in *S. typhi*-infected rats

In serum and tissue from *S. typhi*-infected rats, NO concentrations were significantly elevated compared to the NC ($P < 0.01$), and reached levels of 180.90 $\mu\text{mol/L}$ in serum, 366.40 $\mu\text{mol/g}$ tissue in the liver, 486.04 $\mu\text{mol/g}$ tissue in the kidney, 558.41 $\mu\text{mol/g}$ tissue in the spleen and 558.87 $\mu\text{mol/g}$ tissue in the intestine. Administration of the dichloromethane fraction of *D. integrifolia* at doses of 25, 50 and 100 mg/kg resulted in a significant ($P < 0.01$) decrease in nitrite levels (Fig. 2).

Table 4Effects of the dichloromethane fraction of *D. integrifolia* on malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), catalase and glutathione (GSH).

Group	Organ	SOD (U/g tissue)	MDA ($\mu\text{mol/g}$ tissue)	Catalase (mmol/g tissue)	GSH ($\mu\text{mol/g}$ tissue)
NC	Kidney	4.67 \pm 0.25	6.27 \pm 0.64	49.23 \pm 2.07	3.49 \pm 0.12
	Liver	6.18 \pm 0.13	10.18 \pm 0.40	83.44 \pm 1.73	3.549 \pm 0.47
	Spleen	4.54 \pm 0.27	4.22 \pm 0.42	78.43 \pm 2.97	5.28 \pm 0.27
TC	Kidney	1.68 \pm 0.19**	15.87 \pm 0.64**	25.77 \pm 1.65**	1.37 \pm 0.13**
	Liver	2.10 \pm 0.17**	13.63 \pm 0.39**	46.33 \pm 1.26**	1.01 \pm 0.17**
	Spleen	2.06 \pm 0.32**	8.54 \pm 0.75**	15.79 \pm 1.84*	1.56 \pm 0.07** $\Delta\Delta$
Cip5	Kidney	4.18 \pm 0.41 Δ	6.18 \pm 0.78 $\Delta\Delta$	55.51 \pm 2.99** $\Delta\Delta$	3.36 \pm 0.15 $\Delta\Delta$
	Liver	3.72 \pm 0.10** $\Delta\Delta$	8.74 \pm 0.65 $\Delta\Delta$	71.18 \pm 1.82** $\Delta\Delta$	2.62 \pm 0.49 $\Delta\Delta$
	Spleen	4.57 \pm 0.20 $\Delta\Delta$	4.74 \pm 0.95 $\Delta\Delta$	58.28 \pm 3.12** $\Delta\Delta$	4.21 \pm 0.19** $\Delta\Delta$
DFDi25	Kidney	2.86 \pm 0.49** Δ	6.94 \pm 0.81 $\Delta\Delta$	49.97 \pm 1.85** $\Delta\Delta\Delta$	1.87 \pm 0.24** $\Delta\Delta\Delta$
	Liver	4.94 \pm 0.63 $\Delta\Delta$	9.09 \pm 0.71 $\Delta\Delta$	58.55 \pm 1.90** $\Delta\Delta$	1.99 \pm 0.38**
	Spleen	3.45 \pm 0.49** $\Delta\Delta$	3.91 \pm 0.88 $\Delta\Delta$	51.41 \pm 2.87** $\Delta\Delta$	2.02 \pm 0.12** $\Delta\Delta$
DFDi50	Kidney	3.37 \pm 0.24** $\Delta\Delta$	7.21 \pm 0.57 $\Delta\Delta$	37.76 \pm 2.60**	2.47 \pm 0.27** $\Delta\Delta$
	Liver	5.21 \pm 0.23 $\Delta\Delta\Delta$	9.97 \pm 0.61 Δ	53.00 \pm 1.43** $\Delta\Delta$	2.47 \pm 0.18 Δ
	Spleen	4.12 \pm 0.24 $\Delta\Delta$	4.80 \pm 0.56 $\Delta\Delta$	23.64 \pm 2.07** $\Delta\Delta\Delta$	2.93 \pm 0.37** $\Delta\Delta$
DFDi100	Kidney	5.10 \pm 0.19** $\Delta\Delta$	9.25 \pm 0.38** $\Delta\Delta\Delta$	48.66 \pm 1.43**	3.01 \pm 0.28 $\Delta\Delta$
	Liver	7.83 \pm 0.31** $\Delta\Delta\Delta$	12.29 \pm 0.88 $\Delta\Delta$	58.44 \pm 1.53** $\Delta\Delta\Delta$	3.23 \pm 0.14 Δ
	Spleen	5.62 \pm 0.16** $\Delta\Delta$	5.46 \pm 0.30 $\Delta\Delta$	40.53 \pm 1.39** $\Delta\Delta$	3.61 \pm 0.17** $\Delta\Delta$

Data are mean \pm standard error of mean ($n = 5$). NC: Normal control; TC: typhoid control; Cip5: ciprofloxacin at 5 mg/kg; DFDi25: dichloromethane fraction of *D. integrifolia* at 25 mg/kg; DFDi50: dichloromethane fraction of *D. integrifolia* at 50 mg/kg; DFDi100: dichloromethane fraction of *D. integrifolia* at 100 mg/kg. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared to NC; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$, compared to TC; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$, compared to Cip5.

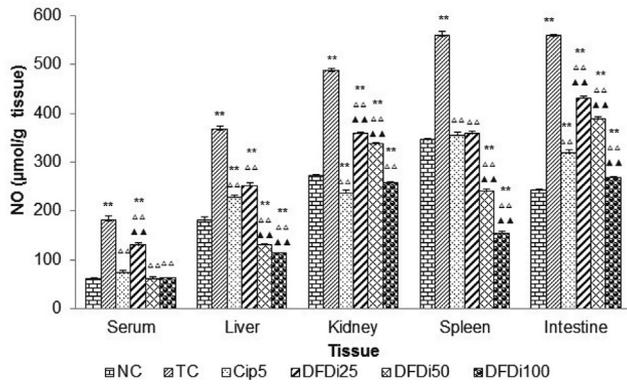


Fig. 2. Serum and tissue concentrations of nitric oxide (NO) in rats infected with *Salmonella typhi*. Data are mean \pm standard error of the mean ($n = 5$). NC: Normal control; TC: typhoid control; Cip5: ciprofloxacin at 5 mg/kg; DFDi25: dichloromethane fraction of *Dichrocephala integrifolia* at 25 mg/kg; DFDi50: dichloromethane fraction of *D. integrifolia* at 50 mg/kg; DFDi100: dichloromethane fraction of *D. integrifolia* at 100 mg/kg. ** $P < 0.01$, compared to NC; $\Delta\Delta P < 0.01$, compared to TC; $\blacktriangle P < 0.01$, compared to Cip5.

3.7. Effects of the dichloromethane fraction of *D. integrifolia* on liver and kidney morphology in *S. typhi*-infected rats

In *Salmonella*-infected rats perivascular fibrosis, leukocyte infiltrations, degeneration of hepatocyte tissue and vascular congestions were observed. Treatment with the dichloromethane fraction of *D. integrifolia* did not improve the liver tissue architecture of *S. typhi*-infected rats. The different histological sections showed perivascular fibrosis inflammatory focus and vascular congestion at the portal space (Fig. 3).

In infected and untreated rats, mesangial expansion was observed with the disappearance of Bowman’s space or glomerular chamber and degeneration of tubular cells. Treatment with the fraction of *D. integrifolia* at doses of 50 and 100 mg/kg showed a glomerulus contained in a glomerular chamber, near the normal proximal and distal tubes with negligible tubular clarifications (Fig. 4).

4. Discussion

The establishment of infection was accompanied by some changes in the behavior and physiology of the animals, including

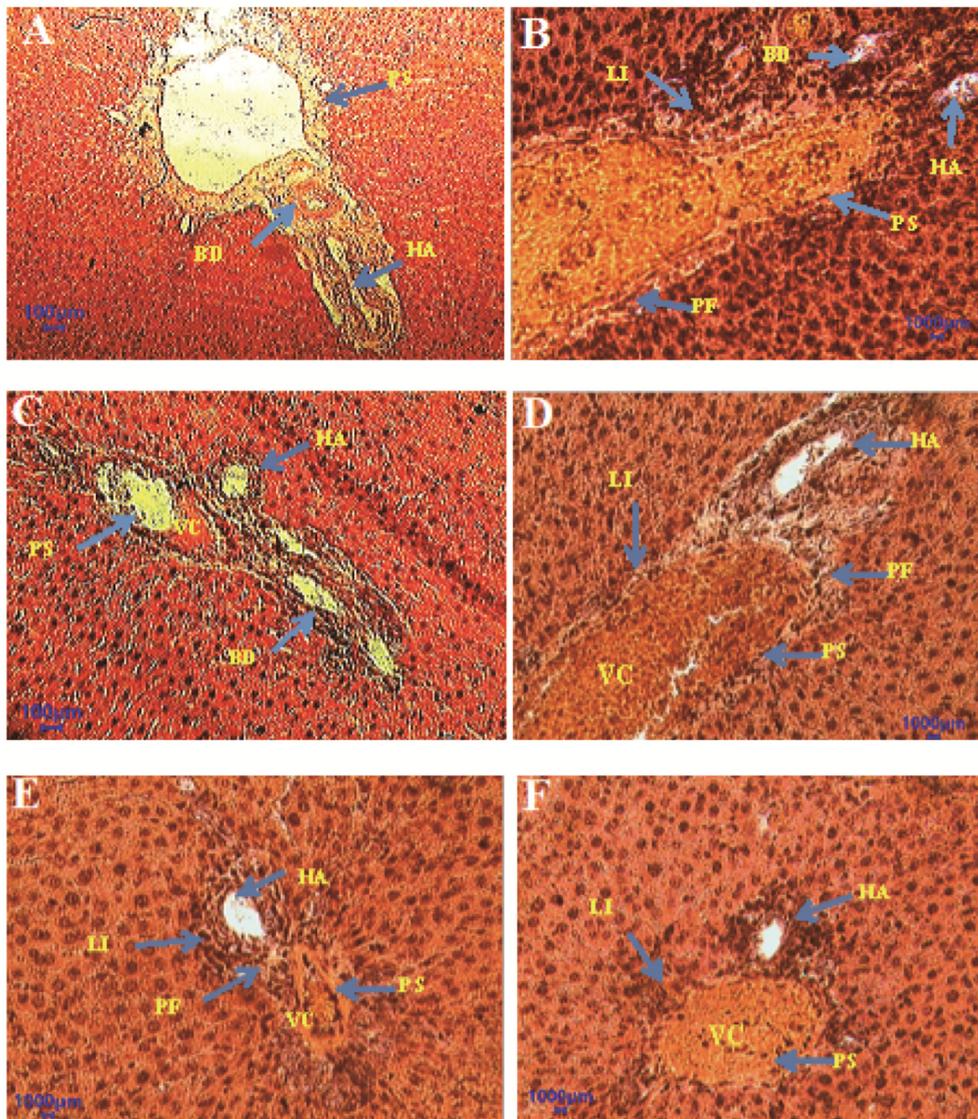


Fig. 3. Histological aspect of liver sections by hematoxylin and eosin staining. (A): Normal control; (B): typhoid control; (C): ciprofloxacin at 5 mg/kg; (D): dichloromethane fraction of *D. integrifolia* at 25 mg/kg; (E): dichloromethane fraction of *D. integrifolia* at 50 mg/kg; (F): dichloromethane fraction of *D. integrifolia* at 100 mg/kg; PF: perivascular fibrosis; VC: vascular congestion; PS: portal space; H: hepatocytes; BD: biliary ducts; LI: leukocyte infiltration; HA: hepatic artery; H&E: hematoxylin and eosin staining.

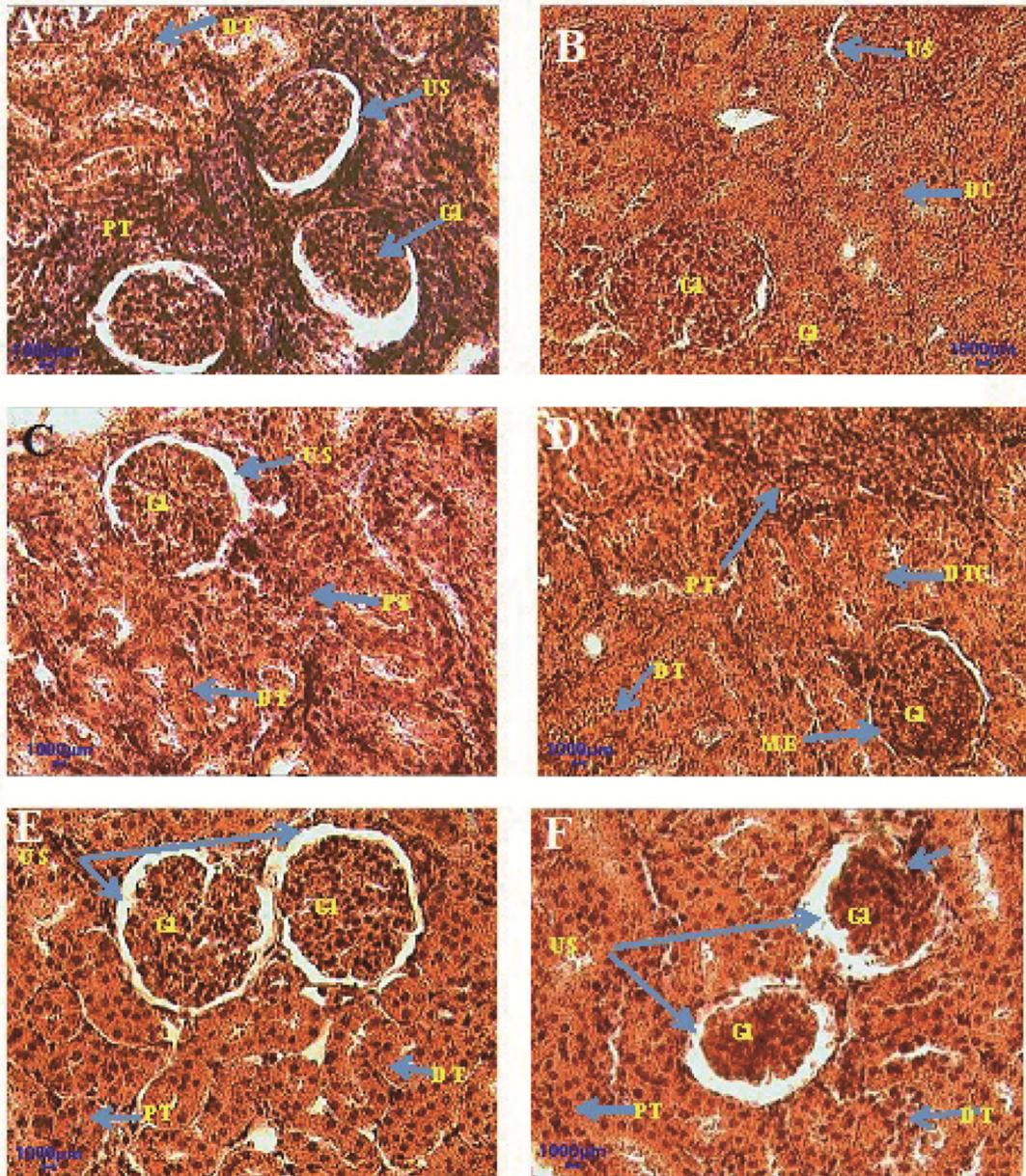


Fig. 4. Histology of kidney sections by hematoxylin and eosin staining. (A): Normal control; (B): typhoid control; (C): ciprofloxacin at 5 mg/kg; (D): dichloromethane fraction of *D. integrifolia* at 25 mg/kg; (E): dichloromethane fraction of *D. integrifolia* at 50 mg/kg; (F): dichloromethane fraction of *D. integrifolia* at 100 mg/kg; Gl: glomerulus; US: urinary space; PT: proximal tubules; DT: distal tubules; ME: Mesangial expansion; DTC: degeneration of tubular cells.

erect hairs, reduction in mobility, increase excretion of watery stool, presence of mucus in the stool and increase in body temperature (fever). During *Salmonella* infection, one of the first obstacles faced by bacteria is a thick layer of mucus that covers the surface of the gut epithelium; this must be penetrated in order to gain direct contact with the epithelium. The changes in animal physiology suggest that *S. typhi* bacteria had proliferated in the intestine, invaded the system and were fighting non-specific defense mechanisms [28]. Also, the establishment of the disease was accompanied by a significant increase in levels of white blood cells and lymphocytes in untreated animals. This increase in the level of white blood cells, lymphocytes and platelets in the treated animals showed that the fraction of *D. integrifolia* extract had an immunostimulatory effect.

Fever usually occurs in 80% of typhoid cases [29]. Indeed, the colonization of the digestive mucosa by bacteria, including *S. typhi*

and many other microorganisms, is accompanied by an activation of the lymphoid system and thus the production of endogenous pyrogens and prostaglandins [27,30,31]. Lipopolysaccharide (LPS) presents on the bacterial walls can directly cause fever by interacting with Kupffer cells or indirectly by inducing the production of pyrogenic cytokines by white blood cells, such as interleukins 1 and 6, tumor necrosis factor- α (TNF- α), ciliary neurotropic factor and interferon, which act on the central nervous system to increase body temperature [32]. Treatment with the dichloromethane fraction of *D. integrifolia* reduced the increased body temperature. These antipyretic properties of the dichloromethane fraction of *D. integrifolia* may either be due to interference in the biosynthesis of prostaglandins or to the presence of compounds such as saponosides, which are potent inhibitors of prostaglandins [33].

The *S. typhi* infection modifies the levels of antioxidant enzymes (CAT and SOD), the level of natural antioxidant (GSH) and the level

of a marker of lipid peroxidation (MDA) in liver, splenic and renal tissues. Administration of the dichloromethane fraction of *D. integrifolia* increased the concentrations of CAT and SOD in the different investigated tissues. Microbial infections can lead to a release of toxins whose metabolism increases ROS such as superoxide anion, hydrogen peroxide (H_2O_2) and radical hydroxyl, which are responsible for oxidative stress and can damage DNA, proteins and lipids [10,34]. Oxidative stress due to overproduction of ROS and impairment of antioxidant defense mechanisms has been suggested as possible factors that contribute to the pathogenesis of typhoid [35]. The increase in SOD activity could be indicative of the increased production of superoxide anions (O_2^-). Antioxidant defense requires concerted actions by SOD and CAT. SOD inhibits the accumulation of O_2^- and converts O_2^- into H_2O_2 involved in the formation of HO^\cdot from the Fenton and Haber-Weiss reactions. CAT catalyzes the transformation of H_2O_2 into O_2 and H_2O [36]. Treatment with the dichloromethane fraction of *D. integrifolia* significantly decreased the level of GSH and MDA in the different tissues of infected rats. GSH is an antioxidant that can interact with ROS and has the effect of preventing the oxidation of biological substrates like proteins, DNA and fatty acids [37]. MDA is an end product in the lipid peroxidation process; the increase in its tissue levels suggests an increase in lipid peroxidation leading to tissue lesions [38]. The decrease of MDA indicates the ability of the dichloromethane fraction of *D. integrifolia* to break the chain reaction of lipid peroxidation in *S. typhi*-infected rats.

Compared to the typhoid control, significant decreases in NO levels were observed in animals treated with the *D. integrifolia* fraction, returning NO to near normal levels, in some cases. In fact, during enteric infection by invasive bacteria, NO is produced by L-arginine via the inducible NO synthase (iNOS) pathway of the epithelial cells [39]. The expression of iNOS is stimulated by several cytokines such as TNF- α , interferon- γ , interleukin-1 and LPS [40]. According to its multiple physiological properties, NO, at high concentrations, exhibits toxicity when it combines with a superoxide anion to form peroxynitrite, which induces the nitration of lipids, nucleic acids and proteins, deforming their structure and altering their function [41]. These results show that the dichloromethane fraction of *D. integrifolia* could prevent damage to certain biomolecules by chronic degenerative diseases. Such damage was shown histologically by tissue lesions in the liver and kidney. Histological observation of these organs in infected and untreated rats revealed infiltration of leukocytes and perivascular fibrosis in the liver and mesangial expansion and cellular disorganization in the kidney. Treatment of infected rats with the dichloromethane fraction of *D. integrifolia* provided progressive amelioration of the injured kidney cells, and protected the liver against damage from *S. typhi* infection.

5. Conclusion

The results of this study indicate that the dichloromethane fraction of *D. Integrifolia* has protective action against a series of pathological conditions initiated by *S. typhi* infection. Further studies are necessary to isolate and characterize the component of the dichloromethane fraction of *D. integrifolia* that is responsible for these observed effects and to elucidate its mechanism of action.

Acknowledgement

The authors are very grateful to the Centre Pasteur of Yaoundé, Cameroon, for providing *S. typhi* strain.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

References

- [1] Huang DB, DuPont HL. Problem pathogens: extra-intestinal complications of *Salmonella enterica* serotype Typhi infection. *Lancet Infect Dis* 2005;5(6):341–8.
- [2] Thielman NM, Crump JA, Guerrant RL. Enteric fever and other causes of abdominal pain with fever. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Principles and practice of infectious disease. Philadelphia: Elsevier Inc.; 2010. p. 1399–412.
- [3] Sarkiyayi S, Abdurashheed K. A preliminary investigation on anti-typhoid properties of *Acacia nilotica* leaf extract. *Global J Med Res Dis* 2013;13(5):11–6.
- [4] Als D, Radhakrishnan A, Arora P, Gaffey MF, Campisi S, Velummailum R, et al. Global trends in typhoidal salmonellosis: a systematic review. *Am J Trop Med Hyg* 2018;99(3):10–9.
- [5] Appiah GD, Hughes MJ, Chatham-Stephens K. Typhoid & paratyphoid fever. (2019-06) [2019-06] <https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2020/travel-related-infectious-diseases/typhoid-and-paratyphoid-fever..>
- [6] World Health Organization. Background document: the diagnosis, treatment and prevention of typhoid fever. (2003-03) [2019-03]. <https://www.glowm.com/pdf/WHO-diagnosis%20treatment%20prevention%20of%20typhoid%20fever-2003-CustomLicense.pdf..>
- [7] Van Der Heijden J, Bosman ES, Reynolds LA, Finlay BB. Direct measurement of oxidative and nitrosative stress dynamics in *Salmonella* inside macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015;112(2):560–5.
- [8] Lunga PK, Tamokou Jde D, Fodouop SP, Kuate JR, Tchoumboue J, Gatsing D. Antityphoid and radical scavenging properties of the methanol extracts and compounds from the aerial part of *Paullinia pinnata*. *Springerplus* 2014;3:302.
- [9] Haque SS. Nitric oxide and ciprofloxacin against oxidative stress induced by *Salmonella typhimurium*. *World J Pharm Pharm Sci* 2013;2(6):6212–9.
- [10] Schlauch JM. How does the oxidative burst of macrophages kill bacteria? Still an open question. *Mol Microbiol* 2011;80(3):580–3.
- [11] Zintchem R, Njinkio B, Kamgang R, Fokunang C, Emery D, Biwole M. Antioxidative properties of *Mallotus oppositifolium* decoction leaves extract using *in vitro* models. *Int J Biol Chem Sci* 2013;7(6):2396–408.
- [12] Noubissi PA, Mvongo C, Fokam Tagne MA, Manfo Tsague FP, Fankem GO, Kamgang R. Antidiarrheal, antimicrobial and cytotoxic activities of *Crinum jagus* extracts. *J Physiol Pharmacol Adv* 2016;6(11):938–49.
- [13] Kamgang R, Fankem GO, Ngo Tetka J, Gonsu Kamga H, Fonkoua MC. Antimicrobial and antidiarrheal effects of four Cameroonian medicinal plants: *Dichrocephala integrifolia*, *Dioscorea preussii*, *Melenis minutiflora*, and *Tricalysia okelensis*. *Int J Curr Pharm Res* 2015;7(1):21–4.
- [14] Agbor GA, Moumbegna P, Oluwasola EO, Nwosu LU, Njoku RC, Kanu S, et al. Antioxidant capacity of some plants foods and beverages consumed in the eastern region of Nigeria. *Afr J Tradit Complement Altern Med* 2011;8(4):362–9.
- [15] Emégam NK, Nguépi MSD, Lambou AF, Okomolo FCM, Sotoing GT, Bougolla DP, et al. Antioxidant properties of *Dichrocephala integrifolia* (Asteraceae) in a mouse model of monosodium glutamate-induced neurotoxicity. *Afr J Trad Complement Altern Med* 2017;14(5):147–55.
- [16] Moundipa PF, Melanie Flore KG, Bilong Bilong CF, Bruchhaus I. *In vitro* amoebic activity of some medicinal plants of the Bamun region (Cameroon). *Afr J Trad CAM* 2005;2(2):113–21.
- [17] Mothana RA, Al-Musayeib NM, Al-Ajmi MF, Cos P, Maes L. Evaluation of the *in vitro* antiparasitoid, antileishmanial, and antityrosinase activity of medicinal plants used in Saudi and Yemeni traditional medicine. *Evid Based Complement Altern Med* 2014;2014:7.
- [18] Abad MJ, Bedoya LM, Bermejo P. Essential oils from the Asteraceae family active against multidrug-resistant bacteria. In: Rai MK, Kon KV, editors. Fighting multidrug resistance with herbal extracts, essential oils and their components. Madrid: Elsevier Inc.; 2013. p. 205–21.
- [19] Darah I, Lim SH, Nithianantham K. Effects of methanol extract of *Wedelia chinensis* Osbeck (Asteraceae) leaves against pathogenic bacteria with emphasis on *Bacillus cereus*. *Indian J Pharm Sci* 2013;75(5):533–9.
- [20] Trease G, Evans W. Pharmacognosy. 15th ed. Edinburgh: Saunders; 1997. p. 414–20.
- [21] Smith JA, van den Broek FAR, Canto Martorell J, Hackbarth H, Ruksenas O, Zeller W. Principles and practice in ethical review of animal experiments across Europe: summary of the report of a FELASA working group on ethical evaluation of animal experiments. *Lab Anim* 2007;41:143–60.
- [22] Jang-Gi C, Ok-Hwa K, Young-Seob L, Hee-Sung C, You-Chang O, Obiang-Obounou B, et al. *In vitro* and *in vivo* antibacterial activity of *Punica granatum* peel ethanol extract against *Salmonella*. *Evid Based Complement Alternat Med* 2011;2011:690518.
- [23] Tala DS, Gatsing D, Fodouop SPC, Fokunang C, Kengni F, Djimeli MN. *In vivo* anti-salmonella activity of aqueous extract of *Euphorbia prostrata* Aiton

- (Euphorbiaceae) and its toxicological evaluation. *Asian Pac J Trop Biomed* 2015;5(4):310–8.
- [24] Atsafack SS, Kodjo N, Njateng GSS, Sokoudjou JB, Kuate JR, Gatsing D. Anti-infectious and *in vivo* antioxidant activities of *Albizia gummifera* aqueous stem bark extract against *Salmonella typhi*-induced typhoid fever in rats. *Int J Pharm* 2016;6(2):20–30.
- [25] Kamgang R, Fokam Tagne MA, Gonsu Kamga H, Noubissi PA, Fonkoua MC, Essame Oyono JL. Activity of aqueous ethanol extract of *Euphorbia scordifolia* on *Shigella dysenteriae* type 1-induced diarrhea in rats. *Int J Pharm Sci Drug Res* 2015;7(1):40–5.
- [26] Fokam Tagne MA, Noubissi PA, Fankem GO, Kamgang R. Effects of *Oxalis barrelieri* L. (Oxalidaceae) aqueous extract on diarrhea induced by *Shigella dysenteriae* type 1 in rats. *Health Sci Rep* 2018;1(2):e20.
- [27] Bao S, Beagley KW, France MP, Shen J. Interferon- γ plays a critical role in intestinal immunity against *Salmonella typhimurium* infection. *Immunol* 2000;99(3):464–72.
- [28] Broz P, Ohlson MB, Monack DM. Innate immune response to *Salmonella typhimurium*, a model enteric pathogen. *Gut Microbes* 2012;3(2):62–70.
- [29] Mackowiak PA, Durack DT. Fever of unknown origin. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Principles and practice of infectious disease. Philadelphia: Elsevier Inc.; 2010. p. 779–89.
- [30] Kaur J, Jain SK. Role of antigens and virulence factors of *Salmonella enterica* serovar Typhi in its pathogenesis. *Microbiol Res* 2012;167(4):199–210.
- [31] Khan AQ, Zhao L, Hirose K, Miyake M, Li T, Hashimoto Y, et al. *Salmonella typhi rpoS* mutant is less cytotoxic than the parent strain but survives inside resting THP-1 macrophages. *FEMS Microbiol Lett* 1998;161(1):201–8.
- [32] Mackowiak PA. Temperature regulation and the pathogenesis of fever. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Principles and practice of infectious disease. Philadelphia: Elsevier Inc.; 2010. p. 765–78.
- [33] Soro TY, Traoré F, Datte J, Nene-Bi AS. Activité antipyrétique de l'extrait aqueux de *Ximenia americana*. *Phytother* 2009;7(6):297–303 [French].
- [34] Hurst JK. What really happens in the neutrophil phagosome?. *Free Radic Biol Med* 2012;53(3):508–20.
- [35] Nwankpa P, Eteng MU, Akpanabiatu MI, Oze G, Nwanjo HU. Effect of *Phyllanthus Amarus* on serum lipid profile and oxidative stress status in *Salmonellae typhi* infested wistar rats. *J Nat Prod Plant Resour* 2012;2(5):574–8.
- [36] Ivanov AV, Valuev-Elliston VT, Ivanova ON, Kochetkov SN, Starodubova ES, Bartosch B, et al. Oxidative stress during HIV infection: mechanisms and consequences. *Oxid Med Cell Longev* 2016;2016:8910396.
- [37] Tirkey N, Pilkhwai S, Kuhad A, Chopra K. Hesperidin, a citrus bioflavonoid, decreases the oxidative stress produced by carbon tetrachloride in rat liver and kidney. *BMC Pharmacol* 2005;5:1–2.
- [38] Saeed N, Khan MR, Shabbir M. Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla* L. *BMC Complement Altern Med* 2012;12:221.
- [39] Witthöft T, Eckmann L, Kim MJ, Kagnoff MF. Enteroinvasive bacteria directly activate expression of iNOS and NO production in human colon epithelial cells. *Am Physiol* 1998;275(3):564–71.
- [40] Droy-Lefaix MT, Bueno L. Inflammatory cascade and diarrhoea: a new approach. *Acta Endoscopica* 2003;33(5):773–80.
- [41] Khan KH. Protective effect of *Emblia officinalis* against *S. typhimurium* through its antioxidant activity. *Recent Res Sci Technol* 2010;2(4):29–36.