

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

*Paix - Travail - Patrie*

\*\*\*\*\*

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

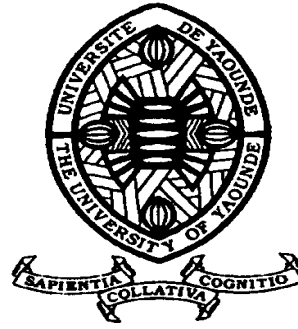
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET

PHYSIOLOGIE ANIMALES

\*\*\*\*\*

LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE

ANIMALE



REPUBLIC OF CAMEROUN

*Peace - Work - Fatherland*

\*\*\*\*\*

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTMENT OF ANIMAL

BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

\*\*\*\*\*

LABORATORY OF ANIMAL

PHYSIOLOGY

**Activités des extraits de *Crinum jagus* [J. Thomps.] Dandy  
(Amaryllidacées) sur les diarrhées motrices, sécrétoires et à  
*Shigella flexineri* induites chez les rats**

THESE

Présentée et soutenue en vue de l'obtention du diplôme de

Doctorat/Ph.D en

Biologie des Organismes Animaux

Par : **NOUBISSI Paul Aimé**  
D.E.A. en Physiologie Animale

Sous la direction de  
**KAMGANG René**  
Maître de Conférences, Université de Yaoundé I

Année Académique : 2017





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

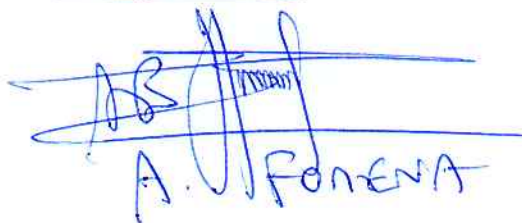
ATTESTATION DE CORRECTION DE THESE DE  
DOCTORAT/Ph.D

Nous soussignés, membres du jury de la soutenance de thèse de **Doctorat/Ph.D** de Monsieur **NOUBISSI Paul Aimé**, Matricule **06S569**, soutenance autorisée par la correspondance N°/017-1538/UYI/VREPDTIC/DAAC/DEPE/SPD/CB-ebo de Monsieur le Recteur de l'Université de Yaoundé I en date du 23 novembre 2017, attestons que les corrections exigées au candidat lors de cette évaluation faite le 01<sup>er</sup> décembre 2017 ont été réellement effectuées et que le présent document peut être déposé sous sa forme actuelle.

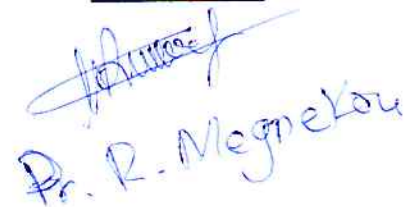
En foi de quoi la présente attestation lui est établie et délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Yaoundé le ..... **19 FEB 2018** .....


Président du Jury

  
A. FONÉNA

Examineur

  
P. R. Megnekou



<b>UNIVERSITE DE YAOUNDE I</b> <b>FACULTE DES SCIENCES</b> Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		<b>The University of Yaoundé I</b> <b>Faculty of Science</b> Division of Programming and follow-up of Academic Affairs
<b>LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS</b>	<b>LIST OF PERMENENT TEACHING STAFF</b>	

**ANNEE ACADEMIQUE 2016/2017**  
(Par Département et par Grade)

**DATE D'ACTUALISATION : Octobre 2017**

### ADMINISTRATION

**DOYEN** : AWONO ONANA, Professeur

**VICE-DOYEN / DPSAA** : DONGO Etienne, Professeur

**VICE-DOYEN / DSSE** : OBEN Julius ENYONG, Professeur

**VICE-DOYEN / DRC** : MBAZE MEVA'A Luc, Maître de Conférences

**Chef Division Affaires Académiques, Scolarité et Recherche** : ABOSSOLO Monique,  
Chargée de cours

**Chef Division Administrative et Financière** : NDOYE FOE Marie C. F., Maître de Conférences

#### 1- DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (40)

N°	NOMS ET PRENOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	BENG née NINTCHOM PENLAP V.	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	MBACHAM Wilfried	Professeur	En poste
4	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	<b>Chef de Département</b>
5	OBEN Julius ENYONG	Professeur	<b>Vice-Doyen (DSSE)</b>
6	BIGOGA DIAGA Jude	Maître de Conférences	En poste
7	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
8	FOKOU Elie	Maître de Conférences	En poste
9	KANSCI Germain	Maître de Conférences	En poste
10	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
11	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
12	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
1	WAKAM née NANA Louise	Maître de Conférences	En poste
14	BELINGA née NDOYE FOE Marie C. Florentine	Maître de Conférences	<b>Chef DAF / FS</b>
15	ACHU Merci BIH	Chargé de Cours	En poste
16	AZANTSA Boris	Chargé de Cours	En poste
17	ATOCHO Barbara Mma	Chargé de Cours	En poste
18	DEMMANO Gustave	Chargé de Cours	En poste
19	DJOKAM TAMO Rosine	Chargé de Cours	En poste
20	DJUIDJE NGOUNOUE Marcelline	Chargé de Cours	En poste
21	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargé de Cours	En poste
22	EFFA ONOMO Pierre	Chargé de Cours	En poste
23	EVEHE BEBANDOUÉ Marie –Solange	Chargé de Cours	<i>En disponibilité</i>
24	EWANE Cécile Anne	Chargé de Cours	En poste
25	KOTUE TAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
26	MBONG ANGIE MOUGANDE Mary Ann	Chargé de Cours	En poste
27	MOFOR née TEUGWA Clauilde	Chargé de Cours	<i>IA4/MINESUP</i>
28	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
29	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Chargé de Cours	En poste

30	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
31	LUNGA Paul KAILAH	Chargé de Cours	En poste
32	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En poste
33	BEBEE FADIMATOU	Assistant	En poste
34	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Assistant	En poste
35	DAKOLE DABOY Charles	Assistant	En poste
36	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Assistant	En poste
37	FONKOUA Martin	Assistant	En poste
38	MANANGA Marlyse Joséphine	Assistant	En poste
39	MBOUCHE FANMOE Marcelline Joëlle	Assistant	En poste
40	TIENTCHEU DJOKAM Léopold	Assistant	En poste

**2- DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (B.P.A.) (44)**

1	BILONG BILONG Charles Félix	Professeur	<b>Chef de Département</b>
2	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
3	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
4	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	En poste
5	MIMPFOUNDI REMY	Professeur	En poste
6	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
7	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
8	NOLA Moïse	Professeur	En poste
9	TAN Paul Vernyuy	Professeur	En poste
10	TCHUEM TCHUENTE Louis	Professeur	<i>Coord. Progr. MINSANTE</i>
11	AJEAGAH Gidéon AGHAINDOUM	Maître de Conférences	<i>Chef Serv. /Diplomation FS</i>
12	DJIETO Lordon Champlain	Maître de Conférences	En poste
13	DZEUFIET DJOMENI Paul Désiré	Maître de Conférences	En poste
14	ESSOMBA née NTSAMA MBALLA	Maître de Conférences	<i>VDRC/Chef dépt FMSB</i>
15	FOTO MENBOHAN Samuel	Maître de Conférences	En poste
16	KAMGANG René	Maître de Conférences	<i>C.E. MINRESI</i>
17	KEKEUNOU Sévilor	Maître de Conférences	En poste
18	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
19	MONY NTONE Ruth	Maître de Conférences	En poste
20	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Maître de Conférences	En poste
21	ALENE Désirée Chantal	Chargé de Cours	<i>Chef Serv. /MINSUP</i>
22	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
23	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
24	BILANDA Danielle Claude	Chargé de Cours	En poste
25	DJIOGUE Séfirin	Chargé de Cours	En poste
26	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargé de Cours	En poste
27	JATSA MEGAPTCHÉ Hermine	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
28	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
29	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
30	MOUGANG NGAMENI Luciane	Chargé de Cours	En poste
31	LEKEUFACK FOLEFACK Guy Benoît	Chargé de Cours	En poste
32	NGOuateu KENFACK Omer BEBE	Chargé de Cours	En poste
33	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Chargé de Cours	En poste
34	NGUEMBOCK	Chargé de Cours	En poste
35	NJUA Clarisse YAFI	Chargé de Cours	En poste
36	TADU Zéphirin	Chargé de Cours	En poste
37	TOMBI Jeannette	Chargé de Cours	En poste
38	YEDE	Chargé de Cours	En poste
39	ETEME ENAMA Serge	Assistant	En poste

40	KANDEDA KAVAYE Antoine	Assistant	En poste
41	KOGA MANG'Dobara	Assistant	En poste
42	METCHI DONGFACK Mireille Flore	Assistant	En poste
43	NOAH E. O. Vivien	Assistant	En poste
44	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Assistant	En poste
<b>3-DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VEGETALES (B. P. V.) (27)</b>			
1	YOUMBI Emmanuel	Professeur	<b>Chef de Département</b>
2	AMBANG Zachée	Professeur	DAARS / UYII
3	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
4	BELL Joseph Martin	Maître de Conférences	En poste
5	DJOCGOUE Pierre François	Maître de Conférences	En poste
6	KENGNE NOUMSI Ives Magloire	Maître de Conférences	En poste
7	MBOLO Marie.	Maître de Conférences	<i>Coordo. Programme MINFOF</i>
8	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<i>CE / MINRESI</i>
9	ZAPFACK Louis	Maître de Conférences	En poste
10	ANGONI Hyacinthe	Chargé de Cours	En poste
11	BIYE Elvire Hortense	Chargé de Cours	En poste
12	MAHBOU SOMO TOUKAM Gabriel	Chargé de Cours	En poste
13	MALLA Armand William	Chargé de Cours	En poste
14	MBARGA BINDZI Marie Alain.	Chargé de Cours	<i>Inspecteur académ. N°1 MINESUP</i>
15	NGALLE Hermine BILLE	Chargé de Cours	En poste
16	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Chargé de Cours	En poste
17	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy Léonard	Chargé de Cours	En poste
18	NGOUO Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
19	NSOM ZAMO Annie Claude ép. Pial	Chargé de Cours	<i>Expert national./UNESCO</i>
20	ONANA Jean Michel	Chargé de Cours	En poste
21	TONFACK Libert Brice	Chargé de Cours	En poste
22	TSOATA Esaïe	Chargé de Cours	En poste
23	DJEUANI Astride Carole	Assistant	En poste
24	GONMADGE Christelle	Assistant	En poste
25	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Assistant	En poste
26	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Assistant	En poste
27	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Assistant	En poste
<b>4-DEPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (C.I.) (35)</b>			
1	KETCHA MBADCAM Joseph	Professeur	<b>Chef de Département</b>
2	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
3	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>Doyen/ UD</i>
4	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Directeur Cabinet PM</i>
5	LAMINSI Samuel	Professeur	En poste
6	MELO née CHINJE Uphie F.	Professeur	<i>Recteur/UN</i>
7	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Vice-Recteur/ Ubda</i>
8	NANSEU Charles Péguy	Professeur	En poste
9	NENWA Justin	Professeur	En poste
10	BABALE DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	En poste
11	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
12	ELIMBI Antoine	Maître de Conférences	En poste
13	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
14	NDIKONTAR Maurice KOR	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen/Ubda</i>
15	NGOMO Horace MANGA	Maître de Conférences	<i>Recteur /UB</i>
16	YOUNANG Elie	Maître de Conférences	En poste

17	ACAYANKA Elie	Chargé de Cours	En poste
18	CHEUMANI YONA Arnaud	Chargé de Cours	En poste
19	EMADACK Alphonse	Chargé de Cours	En poste
20	GWET Simon – Pierre	Chargé de Cours	En poste
21	KAMGANG YOUBI Georges	Chargé de Cours	En poste
22	KEUMEGNE MBOUGUEM Jean Claude	Chargé de Cours	En poste
23	KENNE DEDZO Gustave	Chargé de Cours	En poste
24	MBEY Jean Aimé	Chargé de Cours	En poste
25	NDI Julius NSAMI	Chargé de Cours	En poste
26	NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargé de Cours	En poste
27	NJIOMOU Chantale épse DJANGANG	Chargé de Cours	En poste
28	NJOYA Dayirou	Chargé de Cours	En poste
29	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargé de Cours	En poste
30	PABOUDAM GBAMBIE Awaou	Chargé de Cours	En poste
31	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Chargé de Cours	En poste
32	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Assistant	En poste
33	KOUOTOU DAOUA	Assistant	En poste
34	MAKON Thomas Beauregar	Assistant	En poste
35	NCHIMI NONO Katia	Assistant	En poste

**5-DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (C.O.) (33)**

1	DONGO Etienne	Professeur	<b>Vice-Doyen/ DPSSA</b>
2	GHOGOMU TIH ROBERT RALPH	Professeur	<i>Directeur I.B.A. Foumban</i>
3	MBAFOR Joseph	Professeur	En poste
4	NGADJUI TCHALEU B.	Professeur	<i>Chef de dépt FMBS</i>
5	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	<i>Chef de dépt. UDs</i>
6	NKENGFACK Augustin Ephrem	Professeur	<b>Chef de Département</b>
7	NYASSE Barthélemy	Professeur	<i>Directeur /UN</i>
8	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur au MINESUP</i>
9	WANDJI Jean	Professeur	En poste
10	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	<i>DEPE/ UYI</i>
11	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste
12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
14	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
15	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
16	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Vice-Recteur/ UYII</i>
17	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
18	TCHUENDEM KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
19	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
20	AMBASSA Pantaleon	Chargé de Cours	En poste
21	EYONG Kenneth OBEN	Chargé de Cours	En poste
22	FOTSO WABO Ghislain	Chargé de Cours	En poste
23	KAMTO Eutrophe Ledoux	Chargé de Cours	En poste
24	MKOUNGA Pierre	Chargé de Cours	En poste
25	NGO MBING Joséphine	Chargé de Cours	En poste
26	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Chargé de Cours	<b>Chef Cell/ MINRESI</b>
27	NOTE LOUGBOT Olivier	Chargé de Cours	<b>CEA/MINESUP</b>
28	OUAHOUE WACHE Blandine Marlyse	Chargé de Cours	En poste
29	TABOPDA KUATE Turibio	Chargé de Cours	En poste
30	TAGATSING FOTSING Maurice	Chargé de Cours	En poste
31	ZONDEGOUNBA Ernestine	Chargé de Cours	En poste

32	NGINTEDO Dominique	Assistant	En poste
33	NGOMO Orléans	Assistant	En poste
<b>6-DEPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (26)</b>			
1	FOUDA NDJODO Marcel	Professeur	<i>IGA-MINESUP/Chef Dpt ENS</i>
2	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<b>Chef de Département</b> <i>Chef Division MINESUP</i>
3	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
4	CHEDOM FOTSO Donatien	Chargé de Cours	En poste
5	DJAM Xaviera Youth KIMBI	Chargé de Cours	En poste
6	KOUOKAM KOUOKAM Etienne Appolin	Chargé de Cours	En poste
7	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
8	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
9	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
10	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
11	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste
12	ABESSOLO ALO'O Gislain	Assistant	En poste
13	AMINOUE Halilou	Assistant	En poste
14	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
15	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Assistant	En poste
16	EBELE Serge	Assistant	En poste
17	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
18	KAMDEM KENGNE Christiane	Assistant	En poste
19	KAMGUEU Patrick Olivier	Assistant	En poste
20	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
21	MAKEMBE S. Fritz Oswald	Assistant	En poste
22	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistant	En poste
23	MONTHÉ DJIADEU Valéry Martial	Assistant	En poste
24	NKONDOCK MI BAHANACK Nicolas	Assistant	En poste
25	OLE OLE David Claude	Assistant	En poste
26	TAPAMO KENFACK Hyppolite	Assistant	En poste
<b>7-DEPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (33)</b>			
1	BEKOLLE David	Professeur	<i>Vice-Recteur UN</i>
2	BITJONG NDOMBOL	Professeur	En poste
3	DOSSA COSSY Marcel	Professeur	En poste
4	AYISSI Raoult Domingo	Maître de Conférences	<b>Chef de Département</b>
5	EMVUDU WONO Yves S.	Maître de Conférences	Dir. MINESUP
6	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
7	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	En poste
8	AGHOUEKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	C.E. MINEPAT
9	BOGSO Antoine M	Chargé de Cours	En poste
10	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
11	DOUANLA YONTA Hermann	Chargé de Cours	En poste
12	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
13	KIANPI Maurice	Chargé de Cours	En poste
14	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
15	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
16	MBANG Joseph	Chargé de Cours	En poste
17	MBEHOU Mohamed	Chargé de Cours	En poste
18	MBELE BEDIMA Martin	Chargé de Cours	En poste
19	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste

20	NGUEFACK Bertrand	Chargé de Cours	En poste
21	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
22	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
23	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
24	TCHOUNDJA Edgar Landry	Chargé de Cours	En poste
25	TIAYA TSAGUE N. Anne- Marie	Chargé de Cours	En poste
26	DJIADEU NGAHA Michel	Assistant	En poste
27	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
28	NIMPA PEFOUKEU Romain	Assistant	En poste
29	TANG AHANDA Barnabé	Assistant	<i>Chef Serv. MINPLAMAT</i>
30	TETSADJIO TCHILEPECK Mesmin Erick	Assistant	En poste

#### 8-DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MB) (13)

1	ETOA François-Xavier	Professeur	Recteur UDO/ <b>Chef de Département</b>
2	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
3	ESSIA NGANG Jean Justin	Maître de Conférences	<i>Chef de Division recherche IMPM</i>
4	NYEGUE Maximilienne Ascension	Maître de Conférences	En poste
5	NWAGA Dieudonné M.	Maître de Conférences	En poste
6	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
7	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste
8	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
9	ENO Anna Arey	Chargé de Cours	En poste
10	ESSONO OBOUGOU Germain Gabriel	Chargé de Cours	En poste
11	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
12	NJIKI BIKOÏ Jacky	Assistant	En poste
13	TCHIKOUA Roger	Assistant	En poste

#### 9-DEPARTEMENT DE PHYSIQUE (PH) (41)

1	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
2	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
3	NJOMO Donatien	Professeur	En poste
4	TABOD Charles TABOD	Professeur	<i>Doyen/Ubda</i>
5	WOAFO Paul	Professeur	En poste
6	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	<b>Chef de Département</b>
7	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
8	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
9	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	<i>Dir.Gén. B. MEKIM</i>
10	BEN- BOLIE Germain Hubert	Maître de Conférences	En poste
11	DJUIDJE KENMOE Gemaine épse ALOYEM KAZE	Maître de Conférences	En poste
12	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Maître de Conférences	<i>Chef Dépt UN</i>
13	EYEBE FOU DA Jean Sire	Maître de Conférences	En poste
14	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
15	MBANE BIOUELE	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
16	NANA NBENDJO Blaise	Maître de Conférences	En poste
17	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Maître de Conférences	<i>Chef Serv. MINRESI</i>
18	NOUAYOU Robert	Maître de Conférences	En poste
19	OUMAROU BOUBA	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
20	SAIDOU	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
21	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
22	ZEKENG Serge Sylvain	Maître de Conférences	En poste
23	BODO Bernard	Chargé de Cours	En poste



24	ENYEGUE A NYAM Françoise épouse BELINGA	Chargé de Cours	En poste
25	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
26	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	<i>Chef Cellule MINADER</i>
27	HONA Jacques	Chargé de Cours	En poste
28	MBINACK Clément	Chargé de Cours	En Poste
29	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
30	NDOP Joseph	Chargé de Cours	En poste
31	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	<i>Dir.acad/Univ.Int.Etat Cam-Congo</i>
32	SIMO Elie	Chargé de Cours	En poste
33	TABI Conrad Bertrand	Chargé de Cours	En poste
34	TCHOFFO Fidèle	Chargé de Cours	En poste
35	VONDOU DERBETINI Appolinaire	Chargé de Cours	En Poste
36	WAKATA née BEYA Annie	Chargé de Cours	<i>Chef Serv. MINESUP</i>
37	WOULACHE Rosalie Laure	Chargé de Cours	En poste
38	ABDOURAHIMI	Assistant	En Poste
39	CHAMANI Roméo	Assistant	En Poste
40	MELI'I Jorelle Larissa	Assistant	En Poste
41	MVOGO Alain	Assistant	En Poste

#### 10- DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (S.T.) (44)

1	NDJIGUI Paul-Désiré	Professeur	<b>Chef de Department</b>
2	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
3	BITOM Dieudonné Lucien	Professeur	Doyen FASA/ U D
4	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Maître de Conférences	En poste
5	KAMGANG Pierre	Maître de Conférences	En poste
6	MEDJO EKO Robert	Maître de Conférences	Conseiller Technique/UYII
7	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/MINMIDT</i>
8	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Maître de Conférences	En poste
9	NGOS III Simon	Maître de Conférences	<i>D.A.A.C./UM</i>
10	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
11	NKOUMBOU Charles	Maître de Conférences	En poste
12	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
13	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef de Divi/ MINTP</i>
14	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Chargé de Cours	Chef DAASR FS/UYI
15	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
16	BISSO Dieudonné	Chargé de Cours	<i>Dir.Projet Barage Memve'ele</i>
17	EKOMANE Emile	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
18	ESSONO Jean	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
19	EYONG John TAKEM	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
20	FUH Calistus Gentry	Chargé de Cours	<i>Serv D'ETAT /MINMIDT</i>
21	GANNO Sylvestre	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
22	GHOGOMU Richard TANWI	Chargé de Cours	<i>Chef de Dépt IMIP/Maroua</i>
23	LAMILLEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
24	MBIDA YEM	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
25	MINYEM Dieudonné	Chargé de Cours	<i>Chef de Dépt IMIP/Maroua</i>
26	MOUAFO Lucas	Chargé de Cours	En poste
27	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargé de Cours	En poste
28	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargé de Cours	En poste
29	NGUEUTCHOUA Gabriel	Chargé de Cours	CEA MINRESI

30	NJOM Bernard de Lattre	Chargé de Cours	En poste
31	NYECK Bruno	Chargé de Cours	En poste
32	ONANA Vincent	Chargé de Cours	En poste
33	TCHAKOUNTE Jacqueline ép. NUMBEM	Chargé de cours	CEA MINRESI
34	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Chargé de Cours	En poste
35	ZO'O ZAME Philémon	Chargé de Cours	DG ART
36	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste
37	ANABA ONANA Achille Basile	Assistant	En Poste
38	BINELI BETSI Thierry Olivier	Assistant	En Poste
39	METANG Victor	Assistant	En poste
40	NOMO NEGUE Emmanuel	Assistant	En poste
41	SABABA Elisé	Assistant	En Poste
42	TCHAPTCHET TCHATO De Pesquidoux I	Assistant	En poste
43	TEHNA Nathanaël	Assistant	En poste

### Répartition chiffrée des enseignants permanents par Département (Octobre 2017)

Département	Nombre d'enseignants				
	Pr	MC	CC	ASS	Total
<b>BC</b>	5 (1)	8 (3)	16 (9)	11 (6)	<b>40 (19)</b>
<b>BPA</b>	10 (0)	10 (1)	18 (6)	06 (4)	<b>44 (11)</b>
<b>BPV</b>	03 (0)	06 (0)	13 (3)	5 (6)	<b>27 (9)</b>
<b>C.I.</b>	09 (1)	07 (0)	15 (3)	04(2)	<b>35 (6)</b>
<b>C.O.</b>	9 (0)	10 (3)	12 (3)	2 (0)	<b>33 (6)</b>
<b>IN</b>	02 (1)	01 (0)	08 (0)	15 (4)	<b>26 (5)</b>
<b>MA</b>	3 (0)	04 (0)	18 (1)	05 (0)	<b>30 (1)</b>
<b>MB</b>	1 (0)	6 (1)	4 (2)	2 (0)	<b>13 (3)</b>
<b>PH</b>	8 (0)	14 (1)	15 (2)	4 (2)	<b>41 (5)</b>
<b>ST</b>	3 (0)	10 (1)	23 (4)	07 (0)	<b>43 (5)</b>
<b>Total</b>	<b>53 (3)</b>	<b>76 (10)</b>	<b>142 (33)</b>	<b>61 (24)</b>	<b>332 (70)</b>

Soit un total de : 332 (70) dont  
- Professeurs 53 (3)  
- Maîtres de Conférences 76 (10)  
- Chargés de Cours 142 (33)  
- Assistants 61 (24)  
- ( ) = Nombre de femmes.

Le Doyen de la Faculté des Sciences

AWONO ONANA, Professeur

# SOMMAIRE

LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS .....	i
SOMMAIRE .....	ix
DEDICACES .....	xii
REMERCIEMENTS .....	xiii
LISTE DES ABREVIATIONS ET ACRONYMES .....	xviii
RESUME .....	xix
ABSTRACT .....	xxi
LISTE DES TABLEAUX .....	xv
LISTE DES FIGURES .....	xv
Introduction .....	1
I.1. Le tube digestif chez les mammifères .....	5
I.1.1. Organisation générale du tube digestif .....	5
I.1.2. Histologie du tube digestif .....	5
I.1.3. L'intestin .....	7
I.2. Microbiote intestinal .....	21
I.2.1. Composition du microbiote intestinal .....	21
I.2.2. Fonctions du microbiote intestinal .....	22
I.3. Système immunitaire intestinal .....	23
I.3.1. Immunité innée .....	23
I.3.2. Immunité adaptative .....	25
I.4. Diarrhées .....	27
I.4.1. Définition .....	27
I.4.2. Différents types de diarrhées .....	27
I.4.3. Shigellose .....	32
I.4.4. Traitement des diarrhées .....	35
I.4.4.2. Les antidiarrhéiques .....	36
I.5. <i>Crinum jagus</i> .....	37
I.5.1. Description et distribution géographique .....	37
I.5.2. Ethnopharmacologie .....	38
I.6. Étude de la toxicité .....	38
I.6.1. Définition .....	38
I.6.2. Toxicité aiguë .....	39
I.6.3. Toxicité subaiguë ou sub-chronique .....	39
I.6.4. Toxicité chronique .....	40

I.6.5. Cytotoxicité .....	40
I.7. Activité antioxydante : notion de radicaux libres .....	41
Chapitre II : Matériel et méthodes .....	43
II.1. Matériel .....	44
II.1.1. Matériel végétal.....	44
II.1.2. Matériel animal .....	44
II.2. Méthodes .....	44
II.2.1. Préparation des extraits <i>Crinum jagus</i> .....	44
II.2.2. Détermination de l'extrait et de la fraction efficaces .....	46
II.2.3. Tests phytochimiques de l'extrait à l'éthanol/eau de <i>Crinum jagus</i> .....	50
II.2.4. Evaluation des effets de l'extrait hydroéthanolique de <i>Crinum jagus</i> sur le transit intestinal chez les rats.....	52
II.2.5. Effet de la yohimbine, du glibenclamide et de l'isosorbide dinitrite sur l'activité anti diarrhéique de l'extrait eau/éthanol de <i>Crinum jagus</i> .....	53
II.2.6. Evaluation des effets de l'extrait hydroéthanolique de <i>Crinum jagus</i> sur l'action du Naloxone sur le transit intestinal chez les rats .....	54
II.2.7. Evaluation des effets de l'extrait hydroéthanolique de <i>Crinum jagus</i> sur la sécrétion intestinale.....	54
II.2.8. Evaluation des effets de l'extrait éthanol/eau de <i>Crinum jagus</i> sur les diarrhées infectieuses à shigelles .....	55
II.2.9. Activités antioxydantes de l'extrait hydroéthanolique de <i>Crinum jagus</i> .....	67
II.2.10. Toxicité aiguë.....	69
II.3. Expression des résultats .....	69
II.3.1. Présentation .....	69
II.3.2. Analyses des résultats.....	70
II.3.3. Résultats histologiques .....	70
Chapitre III : Résultats et discussion .....	71
III.1. Résultats.....	72
III.1.1. Effets antidiarrhéiques des différents extraits et fractions sur les diarrhées induites à l'huile de castor chez les rats .....	72
III.1.2. Activités antimicrobiennes.....	73
III.1.3. Effets des extraits aqueux, éthanolique et hydroéthanolique et des fractions flavonoïdes, alcaloïdes et saponines de <i>Crinum jagus</i> sur la viabilité cellulaire .....	76
III.1.4. Phytochimie de l'extrait hydroéthanolique de <i>Crinum jagus</i> .....	77
III.1.5. Effets de l'extrait hydroéthanolique de <i>Crinum jagus</i> sur le transit intestinal chez les rats....	77
III.1.6. Effet de la yohimbine, du glibenclamide, et de l'isosorbide dinitrite sur l'activité anti diarrhéique de l'extrait éthanol/eau de <i>Crinum jagus</i> .....	79
III.1.7. Effets de l'extrait hydroéthanolique de <i>Crinum jagus</i> sur l'action du Naloxone sur le transit intestinal .....	79

III.1.8. Effets de l'extrait hydroéthanolique de <i>C. jagus</i> sur la sécrétion intestinale chez les rats .....	80
III.1.9. Effets de l'extrait hydroéthanolique de <i>Crinum jagus</i> sur la dysenterie bacillaire (shigellose) induite chez les rats .....	81
III.1.10. activités antioxydantes .....	88
III.1.11. Toxicité aiguë.....	88
III.2. Discussion .....	89
Conclusion et perspectives.....	96
Références .....	98
Liste des publications issues de la thèse .....	108

## DEDICACES

*Dieu Tout PUISSANT, merci pour le pouvoir et le courage à moi donnés pour réaliser ce modeste travail que je dédie à toute ma famille.*

## REMERCIEMENTS

Les travaux qui ont fait l'objet de cette thèse ont été réalisés au Laboratoire de Physiologie Animale de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I en partie et au Laboratoire d'Endocrinologie et Radio-Eléments de l'Institut de Recherches Médicales et d'Etudes de Plantes Médicinales (IMPM), Yaoundé. Je tiens à présenter ma profonde gratitude et mes sincères remerciements au Professeur René KAMGANG, enseignant et chef de Laboratoire d'Endocrinologie et Radio-Eléments de l'IMPM, qui a dirigé ces travaux. Il m'a fait bénéficier de son savoir et de ses conseils éclairés afin de perfectionner ce travail. Je le remercie également pour sa disponibilité, ses encouragements et sa rigueur qui ont été d'un support inestimable pour ce travail.

J'exprime ma gratitude au Professeur Jean-Louis ESSAME OYONO, Directeur Général de l'IMPM, de m'avoir accepté dans les différents Laboratoires de l'Institution où j'ai réalisé une partie de ce travail.

J'exprime également ma profonde gratitude à tous les membres de l'équipe GEMS (General Endocrinology and Metabolism System) dirigé par Pr René KAMGANG, qui ont apporté des critiques constructives à ce travail en particulier NGAKOU Joseph, FANKEM Gaëtan MKAMTCHUING Idrice, et Dr MVONGO Clémence.

Je remercie très sincèrement les agences "International Foundation for Science" (IFS) et "Organization of Islamic Cooperation/Committee on Scientific and Technological Cooperation" (OIC/COMSTECH) pour leur soutien financier pour l'accomplissement de ce projet.

Je voudrais sincèrement remercier Dr Marie Christine FONKOUA, 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, et également Dr Pascal MANFO de l'Unité Biotechnologique de la Faculté des Sciences de l'Université de Buéa pour sa contribution à l'étude de la toxicité cellulaire et pour ses précieux conseils.

Je remercie :

- Pr Désiré DZEUFLET pour ses conseils, son équipe pour la réalisation des coupes histologiques, l'association de Pathologie, Cytologie et Développement (PCD) pour le soutien matériel du Laboratoire de Physiologie Animale de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I à travers le Professeur Pierre KAMTCHOUING ;
- Drs Michel FOKAM et Germain SOTOING pour leurs encouragements ;
- L'équipe du Laboratoire de Phytochimie de l'IMPM, pour l'extraction et le screening phytochimique de notre plante ;
- Les enseignants du Département de Biologie et Physiologie Animales de l'Université de Yaoundé I qui ont largement contribué à ma formation ;

- Tous mes collègues du Département de Zoologie et Physiologie Animale de la Faculté des Sciences de l'Université de Buéa pour leur soutien moral ;

- Mon frère NDJIADEU Achille et mes sœurs NGOUANYIWO Calvin, YAMDJEU Tatiana, MBIELEU Marie Yvana et MATEU Bernice pour le soutien ;

Je ne saurais terminer sans manifester ma profonde reconnaissance à tous mes ami(e)s qui se reconnaîtront dans la réalisation de ce travail.



## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Appareils digestifs chez l'Homme et chez le rat.....	5
<b>Figure 2</b> : Organisation structurale et histologique du canal alimentaire .....	6
<b>Figure 3</b> : Structure fondamentale de la paroi du tube digestif :.....	7
<b>Figure 4</b> : Histologie de la paroi digestive.....	9
<b>Figure 5</b> : Structure globale de l'intestin grêle et de la villosité.....	10
<b>Figure 6</b> : Innervation de l'intestin grêle chez l'homme.....	12
<b>Figure 7</b> : Les différentes efférences du système nerveux autonome.....	13
<b>Figure 8</b> : Principales voies d'entrée et de libération du calcium.....	16
<b>Figure 9</b> : Sécrétion et absorption quotidiennes des liquides au niveau du tractus gastro-intestinal chez l'homme.....	19
<b>Figure 10</b> : Transports sécrétoires et absorbants des cellules intestinales .....	20
<b>Figure 11</b> : Composition et densité du microbiote intestinal .....	22
<b>Figure 12</b> : Principaux récepteurs de l'immunité innée.....	25
<b>Figure 13</b> : Lymphocytes T effecteurs et régulateurs : différenciation et production cytokinique ....	27
<b>Figure 14</b> : Sites d'action des médicaments antibactériens .....	36
<b>Figure 15</b> : <i>Crinum jagus</i> .....	38
<b>Figure 16</b> : Protocole d'extraction de <i>C. jagus</i> .....	45
<b>Figure 17</b> : Courbe d'étalonnage de l'IL-2 .....	58
<b>Figure 18</b> : Courbe d'étalonnage de l'IFN- $\gamma$ .....	58
<b>Figure 19</b> : Courbe d'étalonnage de l'IgA .....	60
<b>Figure 20</b> : Courbe d'étalonnage de l'IgM.....	60
<b>Figure 21</b> : Courbe d'étalonnage de la motiline.....	61
<b>Figure 22</b> : Courbe d'étalonnage du peptide intestinal vasoactif.....	62
<b>Figure 23</b> : Susceptibilité antimicrobienne (diamètre d'inhibition en mm) des extraits à l'éthanol/eau, à l'éthanol et à l'eau de <i>C. jagus</i> sur <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Candida albicans</i> et sur <i>Shigella dysenteriae</i> A1.....	74
<b>Figure 24</b> : Susceptibilité antimicrobienne (diamètre d'inhibition en mm) des fractions flavonoïdes, alcaloïdes et saponines de <i>C. jagus</i> sur <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Candida albicans</i> et sur <i>Shigella dysenteriae</i> A1.....	75
<b>Figure 25</b> : Viabilité des cellules de l'épithélium rénal de singe (LLC-MK2) après 24 h d'incubation avec les extraits ou les fractions de <i>Crinum jagus</i> suivi du test au MTT.....	77
<b>Figure 26</b> : Sécrétion intestinale induite par l'huile de castor chez les rats traités à l'extrait hydroéthanolique de <i>C. jagus</i> et au loperamide. ....	80
<b>Figure 27</b> : Sécrétion intestinale induite par la PGE <sub>2</sub> chez les rats traités à l'extrait hydroéthanolique de <i>C. jagus</i> .....	81
<b>Figure 28</b> : Aspects des selles chez les rats normaux et chez les rats diarrhéiques .....	81

<b>Figure 29</b> : Densité de shigelles dans les selles chez les rats diarrhéiques à shigellose traités aux extraits hydroéthanolique de <i>C. jagus</i> et à la ciprofloxacine.....	82
<b>Figure 30</b> : Evolution pondérale des rats diarrhéiques à shigellose traités aux extraits hydroéthanolique de <i>C. jagus</i> et à la ciprofloxacine .....	82
<b>Figure 31</b> : Concentration de l'interleukine-2 et de l'interféron- $\gamma$ chez les rats diarrhéiques à shigellose traités aux extraits hydroéthanolique de <i>C. jagus</i> et à la ciprofloxacine .....	83
<b>Figure 32</b> : Concentration de l'immunoglobuline A et de l'immunoglobuline M chez les rats diarrhéiques à shigellose traités à l'extrait hydroéthanolique de <i>C. jagus</i> et à la ciprofloxacine. ....	84
<b>Figure 33</b> : Concentration du peptide intestinal vasoactif et de la motiline chez les rats diarrhéiques à shigellose traités aux extraits hydroéthanolique de <i>C. jagus</i> et à la ciprofloxacine .....	85
<b>Figure 34</b> : Histologie du côlon du rat témoin normal, témoin diarrhéique et des rats diarrhéiques traités à l'extrait hydroéthanolique de <i>Crinum jagus</i> et à la ciprofloxacine.....	87

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I</b> : Densités optiques des différentes concentrations du standard IL-2 et IFN- $\gamma$ .....	58
<b>Tableau II</b> : Densités optiques des différentes concentrations du standard IgA et IgM .....	59
<b>Tableau III</b> : Densités optiques des différentes concentrations du standard Motiline .....	61
<b>Tableau IV</b> : Densités optiques des différentes concentrations du standard VIP.....	62
<b>Tableau V</b> : Protocole de dosage du sodium.....	63
<b>Tableau VI</b> : Procédure de dosage des ions potassium.....	64
<b>Tableau VII</b> : Protocole de dosage des ions calcium.....	65
<b>Tableau VIII</b> : Protocole de dosage des ions calcium.....	65
<b>Tableau IX</b> : Effets des extraits à l'eau/éthanol, à l'éthanol et à l'eau de <i>C. jagus</i> sur les diarrhées induites à l'huile de castor chez les rats.....	72
<b>Tableau X</b> : Effets des fractions flavonoïdes, alcaloïdes et saponines de <i>C. jagus</i> sur les diarrhées induites à l'huile de castor chez les rats. ....	73
<b>Tableau XI</b> : Concentration minimale inhibitrice, concentration minimale bactéricide et la concentration minimale fongicide des extraits et des fractions de <i>Crinum jagus</i> sur la croissance de <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Candida albicans</i> et sur <i>Shigella dysenteriae</i> A1 <i>in vitro</i> . ....	76
<b>Tableau XII</b> : Effets de l'extrait hydroéthanolique de <i>Crinum jagus</i> et de l'atropine sulfate sur le transit normal du rat. ....	78
<b>Tableau XIII</b> : Effets de l'extrait éthanol/eau de <i>Crinum jagus</i> sur l'accélération du transit intestinal par le carbachol ou par la sérotonine chez les rats. ....	78
<b>Tableau XIV</b> : Effet de l'isosorbide dinitrite, du glibenclamide et de la yohimbine sur l'activité anti diarrhéique de l'extrait eau/éthanol de <i>Crinum jagus</i> .....	79
<b>Tableau XV</b> : Effets de l'extrait eau/éthanol de <i>Crinum jagus</i> et du loperamide sur la contraction intestinale des rats prétraités au Naloxone. ....	79
<b>Tableau XVI</b> : Effets de l'extrait eau/éthanol de <i>Crinum jagus</i> et du loperamide sur quelques sécrétions ioniques.....	80
<b>Tableau XVII</b> : Effets de l'extrait à l'éthanol/eau de <i>Crinum jagus</i> et de la ciprofloxacine sur les taux plasmatiques des ions Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Ca <sup>++</sup> et Cl <sup>-</sup> des rats infectés à <i>Shigella flexineri</i> .....	86
<b>Tableau XVIII</b> : Paramètres hématologiques des rats infectés avec <i>Shigella flexineri</i> après le traitement à l'extrait hydroéthanolique de <i>C. jagus</i> et à la ciprofloxacine.....	86
<b>Tableau XIX</b> : Taux d'inhibition du radical DPPH et du radical oxyde nitrique par l'extrait hydroéthanolique de <i>Crinum jagus</i> .....	88
<b>Tableau XX</b> : Taux de chélation de l'ion ferreux par l'extrait hydroéthanolique de <i>C. jagus</i> .....	88

## LISTE DES ABREVIATIONS ET ACRONYMES

5-HT : 5-Hydroxytryptamine ou sérotonine  
ACh : Acétylcholine  
ACTH: Adrenocorticotropie Hormone  
AMPc : Adénosine Monophosphate cyclique  
APUD: Amine Precursor Uptake and Decarboxylation  
ATP : Adénosine Triphosphate  
CCK : Cholécystokinine  
UFC : Unité Formant Colonie  
CMB : Concentration Minimale Bactéricide  
CMI : Concentration Minimale Inhibitrice  
DL<sub>50</sub> : Dose Létale 50  
DMSO : Diméthylsulfoxyde  
GABA: Gamma-aminobutyric acid  
GALT : Gut Associated Lymphoid Tissues  
GMPc : Guanosine monophosphate cyclique  
ICC: Interstitial Cellule of Cajal  
IgA : Immunoglobuline A  
IgM : Immunoglobuline M  
LPS : Lipopolysaccharide  
NCCLS : National Committee for Clinical Laboratory Standards  
NK : Natural Killer  
NO : Monoxyde d'azote  
OCDE : Organisation pour la Coopération et le Développement économique  
OECD : Organization for Economic Cooperation and Development  
OMS : Organisation Mondiale de la Santé  
PAF : Platelet Activating Factor  
PGE<sub>2</sub> : Prostaglandine E<sub>2</sub>  
*Sd1* : *Shigella dysenteriae* type 1  
SFM : Société Française de Microbiologie  
SHU : Syndrome Hémolytique et Urémique  
SNE : Système Nerveux Entérique  
SRO : Solution de Réhydratation Orale  
VIP : Peptide Vasoactif Intestinal

# RESUME

*Crinum jagus* est une plante utilisée en Afrique et plus particulièrement au Cameroun pour le traitement empirique des diarrhées. La présente étude a été entreprise dans le but d'évaluer l'effet des extraits de cette plante, en entier sur les diarrhées sécrétoires, motrices et sur la shigellose induite chez les rats. Les extraits totaux ont été réalisés par macération à l'eau, à l'éthanol ou à l'éthanol/eau de poudre de *Crinum jagus*, et les fractions flavonoïdes, alcaloïdes et saponines préparées suivant des techniques appropriées. La sensibilité microbienne a été déterminée par la méthode des disques en milieu gélosé, la CMI et la CMB par la méthode de dilution en série en milieu liquide. Les diarrhées sécrétoires ont été induites chez des rats par l'huile de castor. La toxicité cellulaire a été évaluée sur des cellules de l'épithélium rénal de singe en culture. Parmi les différents extraits et fractions de *C. jagus*, l'extrait à l'éthanol/eau et la fraction flavonoïdes se sont révélés plus efficaces sur les diarrhées induites à l'huile de castor ( $P < 0,01$ ). L'extrait à l'éthanol/eau (EWCj) ayant présenté la plus grande efficacité sur les diarrhées motrices et sécrétoires et sur l'inhibition de la croissance bactérienne *in vitro*, a été retenu pour les études pharmacologiques de l'activité antidiarrhéique de la plante. Le transit intestinal a été évalué chez les rats avec le charbon activé sur la motilité normale, la motilité accélérée par le carbachol, la sérotonine ou sur le transit intestinal des rats prétraités aux antagonistes des récepteurs impliqués dans la régulation du transit intestinal (naloxone, glibenclamide, yohimbine) et à l'isosorbide dinitrite, un donneur de monoxyde d'azote. L'interpooling a été induit par l'huile de castor et la prostaglandine E<sub>2</sub>. La shigellose a été induite chez les rats par administration *per os* de  $9 \times 10^8$  UFC de *Shigella flexineri* et traité deux fois par jour à l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* et à la ciprofloxacine (contrôle positif) pendant sept jours. Ces derniers ont été sacrifiés et le sang collecté. Les paramètres hématologiques ont été évalués à l'aide d'un automate d'analyse hématologique. Les Interleukines (IL-2, INF- $\gamma$ ), les immunoglobulines (IgA, IgM), la motiline et le VIP sanguins, ont été dosés par la méthode ELISA. La toxicité aiguë de cet extrait a été réalisée par administration orale d'une dose unique de EWCj 5 g/kg chez des rats. Les propriétés anti-radicalaires ont été évaluées *in vitro* sur les radicaux DPPH, l'oxyde nitrique et l'ion ferreux. Sur la sensibilité microbienne, l'extrait à l'éthanol/eau a donné des rapports CMB/CMI de 6,0 - 1,67 - 6,0 - 3,0 respectivement sur *Sd1*, *E. coli*, *S. typhi*, *S. auréus* alors que ce rapport a été de 3,00 et 3,33 pour les flavonoïdes sur *S. aureus* et *C. albicans*. Sur les cellules épithéliales rénales de singe en culture, les différents extraits et fractions n'ont pas montré d'effet toxique significatif ou de réduction significative de la viabilité cellulaire. La DL<sub>50</sub> de l'extrait à l'éthanol/eau de *C. jagus* a été supérieure à 5000 mg/kg PC. Les tests phytochimiques de l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* ont révélé la présence des tanins, des alcaloïdes, des saponines, des flavonoïdes, des polyphénols, des triterpènes, des coumarines, des anthocyanidines, des stérols et des

polysaccharides. Sur le plan pharmacologique, EWECj a inhibé significativement ( $P < 0,01$ ) le transit intestinal ainsi que l'action du carbachol et de la sérotonine. Un prétraitement des animaux au naloxone, au Glibenclamide et à l'Isosorbide dinitrite a réduit ( $P < 0,01$ ) l'action spasmodique de l'extrait de *C. jagus* alors que la Yohimbine n'a entraîné aucun changement significatif sur cet effet. *Crinum jagus* a également inhibé ( $P < 0,01$ ) les sécrétions intestinales induites par l'huile de castor et/ou par la prostaglandine  $E_2$ . L'extrait a significativement réduit ( $P < 0,01$ ) l'émission des selles diarrhéiques, le nombre de shigelle dans les selles, les taux de l'IL-2, INF- $\gamma$ , IgA et IgM, et de motiline, et a significativement augmenté ( $P < 0,01$ ) le taux du peptide intestinal vasoactif. Chez les rats diarrhéiques l'extrait de *C. jagus* a rétabli la baisse des globules blancs totaux et de l'hémoglobine, et réduit la plage de cellules caliciformes gorgées de mucus. L'extrait a présenté des activités anti-radicalaires contre les radicaux DPPH, l'oxyde nitrique et l'ion ferreux, ce qui pourrait en partie expliquer son activité antidiarrhéique. Il ressort de ce travail que *C. jagus* serait moins toxique aux doses thérapeutiques, serait actif sur le ralentissement du transit intestinal, inhiberait la sécrétion intestinale et la croissance bactérienne. *C. jagus* pourrait à cet effet, être efficace pour le traitement de la shigellose et pour le traitement des diarrhées motrices et sécrétoires.

**Mots clés :** *Crinum jagus*, Diarrhées infectieuses, Transit intestinal, Effets anti radicalaires, Système immunitaire intestinal, Rat.

# ABSTRACT

*Crinum jagus* is a plant traditionally used in Africa and particularly in Cameroon to treat diarrhea. The present study was undertaken to evaluate the effects of the whole plant extracts on secretory diarrhea, motor diarrhea, and *Shigella*-induced diarrhea in rats. Crude extracts were prepared by maceration of *Crinum jagus* powder in water, ethanol or ethanol/water mixture. The plant's flavonoids, alkaloids and saponins fractions were also prepared using appropriate techniques. In primary screening assays, the extracts and fractions were tested for microbial susceptibility *in vitro* using disc diffusion method in Muller-Hinton agar medium, serial tube dilution technique (for determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) values, and *in vivo* in a castor oil-induced secretory diarrhea rat model. Cytotoxicity of the extracts and fractions was also assessed on monkey kidney epithelial cell cultures (LLC-MK2). Among the extracts and fractions, ethanol/water extract (EWCj) and the flavonoids fraction were found to be more effective on castor oil-induced diarrhea ( $P < 0.01$ ), with EWCj being the most effective on motor and secretory diarrhea, and on *in vitro* bacterial growth inhibition, and was therefore selected for further investigations of the antidiarrheal activity and safety. The EWCj antidiarrheal effect was evaluated on rats with normal intestine motility, carbachol-accelerated intestinal motility, serotonin-accelerated intestinal motility, or pretreated with different antagonists of receptors which modulate intestinal transit (naloxone, glibenclamide, and yohimbine) and with isosorbide dinitrate, a NO donor. Antisecretory effect of EWCj was assessed in castor oil and prostaglandin E<sub>2</sub> -induced enteropooling in rats. Shigellosis was induced in rats by oral administration of  $9 \times 10^8$  CFU of *Shigella flexneri* and treated twice daily with *C. jagus* hydro-ethanolic extract for seven consecutive days, with ciprofloxacin serving as positive control. The latter animals were sacrificed and blood collected for determination of interleukins (IL-2, INF- $\gamma$ ), immunoglobulins (IgA, IgM), motilin and intestinal vasoactive peptide levels using ELISA method; and for blood cell count using hematological automate. The antioxidant potential of WECj was studied using its 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging activity, ferrous ions chelating ability and nitric oxide radical inhibiting activity. Assessment of EWCj safety was done through acute toxicity in rats. Microbial sensitivity tests on WECj revealed CMB/MIC ratios of 6.0, 1.67, 6.0 and 3.0, on *S. dysenteriae* A1, *E. coli*, *S. typhi*, and *S. aureus*, respectively. The CMB/MIC ratios were 3.00 and 3.33 for flavonoids on *S. aureus* and on *C. albicans*, respectively. All extracts and fractions including WECj, did not show any significant toxicity or reduction in LLC-MK2 cell viability. Moreover, WECj LD<sub>50</sub> in rats was  $>5000$  mg/kg body weight, suggesting innocuity of the extract. Phytochemical studies of WECj revealed the presence of tannins, alkaloids, saponins, flavonoids, polyphenols, triterpenes, coumarins, anthocyanidins, sterols and polysaccharides. The

EWCj significantly ( $P < 0.01$ ) inhibited the action of carbachol and serotonin on intestinal transit stimulation. Animal pretreatment with naloxone, glibenclamide or isosorbide dinitrate, showed significant reduction ( $P < 0.01$ ) of the spasmolytic activity of WECj whereas pretreatment with yohimbine did not affect the activity of the extract. *Crinum jagus* also inhibited ( $P < 0.01$ ) castor oil/prostaglandin  $E_2$ -induced intestinal secretions. The extract also reduced ( $P < 0.01$ ) diarrheal stool emission, *Shigella flexneri* stool density, and lowered IL-2, INF- $\gamma$ , IgA, IgM and motilin blood levels whereas it increased ( $P < 0.01$ ) the vasoactive intestinal peptide level. In diarrheal rats, *C. jagus* extract restored the decreasing white blood cells and hemoglobin and reduced the density of mucus-filled goblet cells. The extract exhibited DPPH free radical scavenging activity, ferrous ions chelating ability and nitric oxide radical inhibiting activity, which in part, could explain its antidiarrheal activity. From this work, it is clear that *C. jagus* inhibits bacterial growth, intestinal motility and secretion, and could then be used for effective treatment of shigellosis, motor and secretory diarrhea.

**Key words:** *Crinum jagus*, Infectious diarrhea, Intestinal transit, Anti-free radical effects, Intestinal immune system, Rat.



## Introduction

Les diarrhées sont le résultat d'un trouble du transit intestinal qui se caractérise par des selles molles, voire liquides, en quantité anormalement élevée ou avec une fréquence de survenue augmentée, de l'ordre de trois fois par jour (Ammoury et Ghishan, 2012). Elles sont généralement le symptôme d'une infection intestinale pouvant être causée par divers micro-organismes tels que les bactéries, les virus ou les parasites et arrivent en troisième position parmi les maladies infectieuses les plus meurtrières dans le monde avec 2,5 millions de décès en 2004, tous âges confondus (OMS, 2013). Elles constituent la deuxième cause de mortalité chez l'enfant de moins de cinq ans et est à l'origine de 760 000 décès d'enfants par an (OMS, 2013). La probabilité de présenter des diarrhées est de 39,1 % pour un Africain au sud du Sahara, contre 7,2 % dans les pays développés (Yongsi *et al.*, 2008). Au Cameroun, parmi les principales causes de mortalité infantile, les diarrhées viennent en première position. Et parmi les principales causes de morbidité, elles se classent en troisième position avec une prévalence de 13,6 % à l'échelle du pays. C'est dire que, par leur caractère endémo-épidémique, les maladies diarrhéiques constituent une menace importante pour le pays. (Nguendo, 2014). Parmi les diarrhées les plus meurtrières chez l'Homme on distingue la dysenterie bacillaire qui fut responsable de grandes épidémies devenues historiques dans le monde (Avril *et al.*, 1992). La shigellose représente la première cause de la diarrhée sanglante dans le monde (OMS, 2008) et est une infection intestinale invasive aiguë provoquée par des bactéries appartenant au genre *Shigella*. Elle est responsable d'environ 22 % de décès dus aux diarrhées par an dans le monde (Sharma *et al.*, 2010). Au Cameroun, la shigellose est responsable d'environ 4,5 % de cas de diarrhées par an (Yongsi *et al.*, 2008). En 2010 l'épisode de la ville de Buéa présentait un taux de résistance aux antibiotiques de 90 % (Njunda *et al.*, 2012). Parmi les shigelles, *Shigella dysenteriae* type 1 (*Sd1*) est à l'origine de la forme la plus grave de la maladie et peut occasionner de vastes épidémies à l'échelle régionale. *Shigella flexneri* est la cause principale de la shigellose endémique dans les pays en développement (OMS, 2008).

- Les principaux obstacles à la lutte contre la shigellose sont la facilité avec laquelle *Shigella* se transmet de personne à personne, et la vitesse d'apparition de la résistance de cette bactérie aux anti-infectieux (OMS, 2008). La prévention repose principalement sur des mesures visant à empêcher la propagation du micro-organisme dans la communauté et de personne à personne : lavage des mains à l'eau et au savon, approvisionnement en eau potable, élimination hygiénique des excréta humains, allaitement au sein, manipulation et préparation hygiéniques des aliments. Le traitement repose sur l'administration d'un anti-infectieux accompagné par une réhydratation et une supplémentation de l'alimentation en zinc. Le zinc réduit la sécrétion d'ions chlorures en inhibant les canaux potassiques de la membrane basolatérale d'une part, améliore les

capacités d'absorption d'eau et d'électrolytes et renforce la réponse immunitaire intestinale d'autre part. L'anti-infectieux choisi devra être efficace contre les souches locales (ou régionales) de *Shigella*, d'un coût abordable et disponible. Malheureusement, la résistance de *Shigella* à l'ampicilline, au cotrimoxazole et à l'acide nalidixique est évidente et ces médicaments ne sont plus recommandés. La ciprofloxacine, jadis utilisée comme médicament de réserve pour le traitement de la shigellose, est désormais le médicament de choix pour tous les patients atteints de diarrhée sanglante, quel que soit leur âge, bien que des cas d'arthropathie aient été rapportés chez l'enfant. En dehors de la ciprofloxacine et quelques autres fluoroquinolones, le pivmécillinam (amdinocilline pivoxil) et la ceftriaxone sont actuellement les seuls anti-infectieux habituellement efficaces dans tous les groupes d'âge contre les souches multi résistantes de *Shigella*. L'azithromycine est aussi considérée comme une alternative possible chez l'adulte. L'utilisation de ces médicaments de deuxième intention est toutefois actuellement limitée par leur coût et le développement rapide d'une résistance. Les multiples restrictions que présentent les traitements conventionnels actuels constituent un réel problème de traitement de diarrhées. Au niveau de la population africaine il y aurait un net regain d'espoir vis-à-vis de la médecine traditionnelle locale disponible, moins coûteuse et moins toxique (Demetrio *et al.*, 2015). La flore médicinale africaine recèle d'espèces végétales dont les propriétés antidiarrhéiques sont connues. Nous pouvons citer entre autres *Oxalis barrelieri* (Fokam *et al.*, 2015), *Euphorbia scordifolia* (Kamgang *et al.*, 2015), *Sapium Ellipticum* (Wansi *et al.*, 2014), *Dissotis thollonii* (Ateufack *et al.*, 2014), *Picralima nitida* (Kouitchou *et al.*, 2013), *Mallotus oppositifolium* (Kamgang *et al.*, 2006), *Euphorbia prostrata* (Kamgang *et al.*, 2007). La plupart des plantes médicinales africaines n'ont pas fait l'objet d'études expérimentales qui garantiraient une utilisation rationnelle avec un moindre risque. Parmi ces plantes figure *Crinum jagus* dont nous nous sommes évertués à étudier en laboratoire, les effets antidiarrhéiques. La décoction des feuilles fraîches de *Crinum jagus* est utilisée pour traiter la toux, l'asthme, le rhumatisme, les maux de tête et les pertes de mémoire. Les espèces du genre *Crinum* présentent des propriétés antitumorales, antivirales et antipaludiques (Fennell et Staden, 2001). Les alcaloïdes isolés des bulbes de *Crinum jagus* ont montré des propriétés inhibitrices de l'acétylcholine-estérase, d'où son utilisation contre la maladie d'Alzheimer (Jäger *et al.*, 2004 ; Houghton *et al.*, 2004) et son extrait méthanolique aurait des propriétés antivenimeuse (Ode et Asuzu, 2006) et cicatrisante (Udegbunam *et al.*, 2015). La macération de *Crinum jagus* dans du vin de palme ou de raphia est empiriquement utilisée dans la Région de l'Ouest Cameroun comme antipoison et dans le traitement de troubles gastro-intestinaux. Afin de confirmer les effets antidiarrhéiques de cette plante et de déterminer les types de diarrhées pour lesquels elle aurait un effet, nous nous sommes proposés d'étudier les activités des extraits de *Crinum jagus* sur les diarrhées

motrices, sécrétoires et à *Shigella flexineri* induites chez les rats. A cet effet, nous nous sommes proposés :

- 1.- D'évaluer les susceptibilités antimicrobiennes de différents extraits et fractions de *Crinum jagus* à travers la croissance *in vitro* de différentes souches microbiennes et étudier les effets de ces extraits sur la croissance cellulaire *in vitro* ;
- 2.- D'évaluer les propriétés antidiarrhéiques des extraits et fractions de la plante sur les diarrhées induites par l'huile de castor ;
- 3.- D'évaluer les effets de l'extrait le plus efficace sur le transit et la sécrétion intestinale et sur les diarrhées à *Shigella flexineri* induites chez les rats ;
- 4.- D'étudier *in vitro* les propriétés antiradicalaires de l'extrait le plus efficace ainsi que sa toxicité aiguë chez le rat.

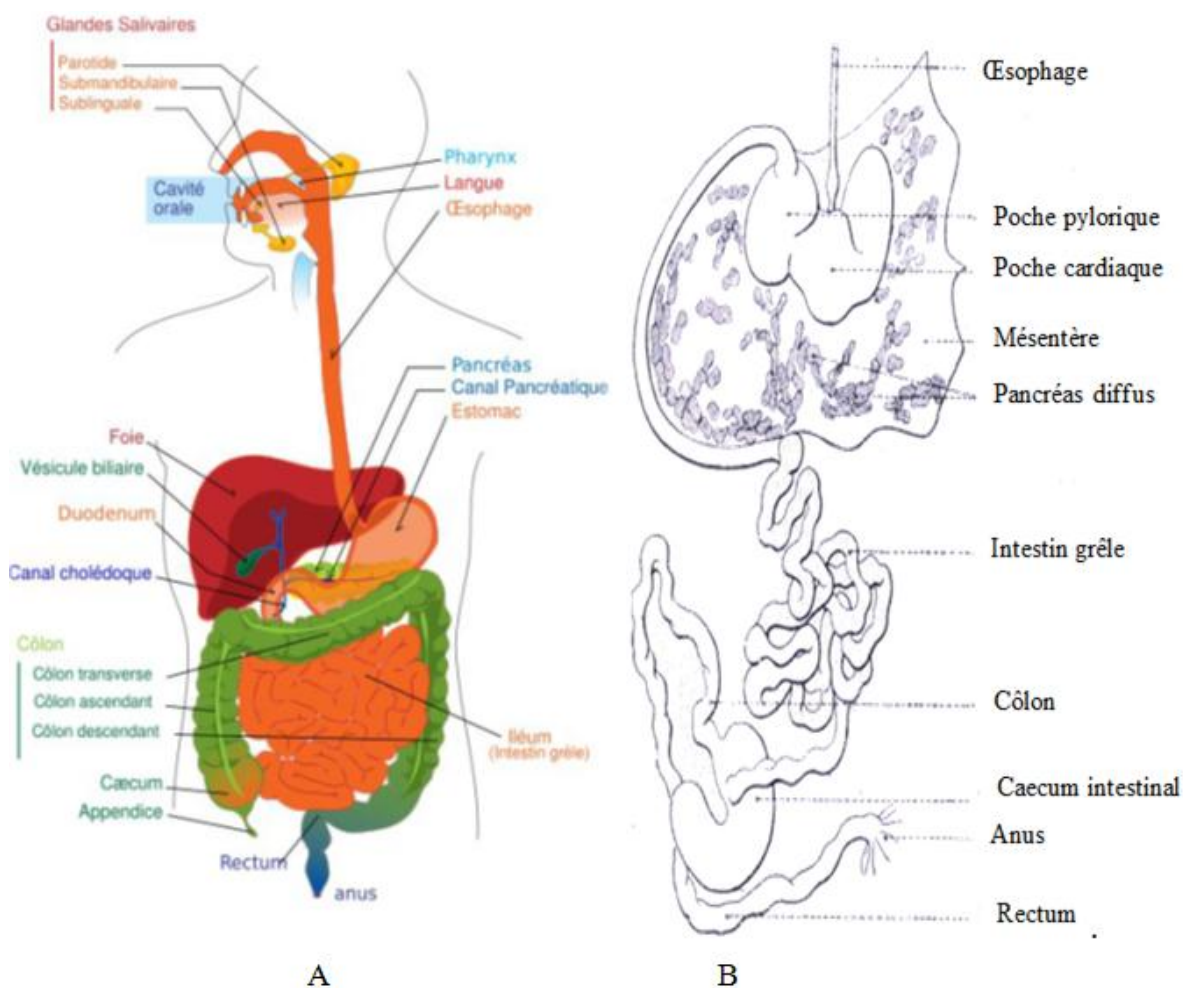
## **Chapitre I**

# **Généralités**

## I.1. Le tube digestif chez les mammifères

### I.1.1. Organisation générale du tube digestif

Le tube digestif encore appelé canal alimentaire est un tube musculé continu qui parcourt l'ensemble de l'organisme de la bouche à l'an. Il comporte successivement la bouche, le pharynx, l'œsophage, l'estomac, l'intestin grêle (duodénum, jéjunum et l'iléon), le gros intestin ou cœlon (caecum, appendice, cœlon ascendant, transverse, descendant et sigmoïde), le rectum et l'an (Figure 1). L'estomac est relié à l'intestin grêle par le pylore et l'intestin grêle au cœlon par la valvule iléo-caecale (Marieb et Hoehn, 2006).



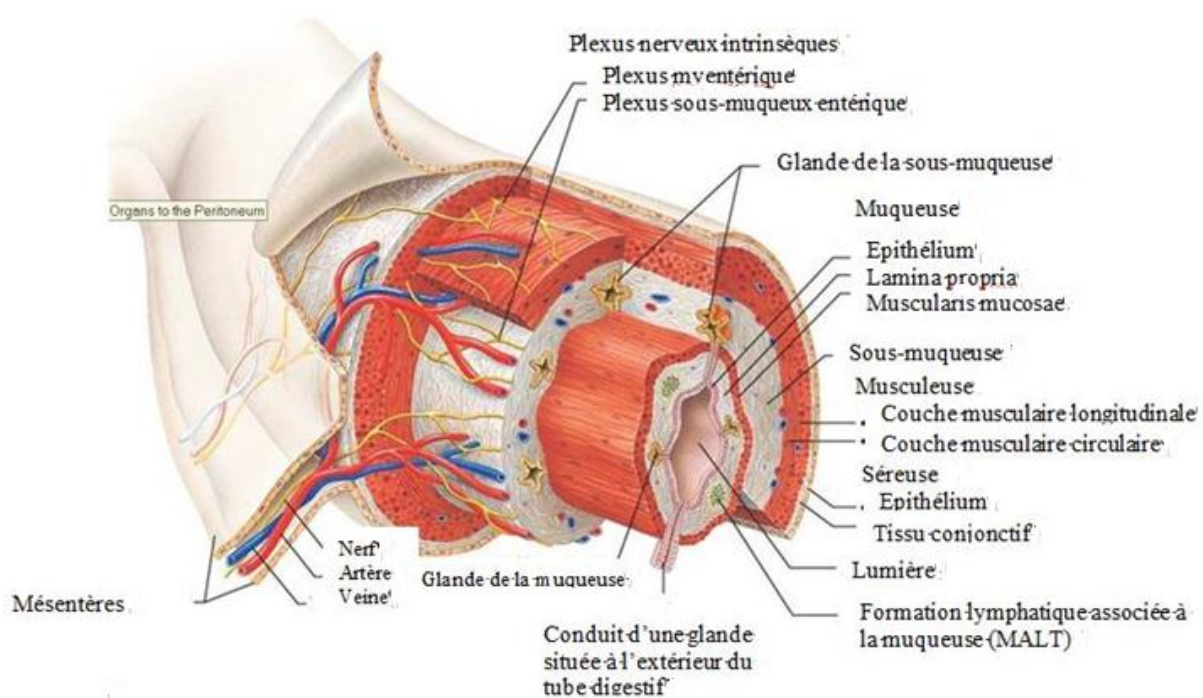
**Figure 1 :** Appareils digestifs (A) chez l'Homme (Fox, 2011) et (B) chez le rat (AGA, 2013)

### I.1.2. Histologie du tube digestif

De l'œsophage au canal anal, les parois de tous les organes du tube digestif sont formées de quatre tuniques. De la lumière vers l'extérieur, ces couches sont la muqueuse, la sous-muqueuse, la musculéuse et la séreuse ou adventice (Figure 2). Chaque tunique comprend un type de tissu prépondérant qui joue un rôle précis dans la digestion.

La muqueuse est un épithélium humide qui tapisse la lumière du tube digestif de la cavité orale à l'an. Ses principales fonctions sont la sécrétion de mucus, d'enzymes digestives et d'hormones, l'absorption des produits de la digestion dans le sang et la protection contre les agents

infectieux (Marieb et Hoehn, 2006). Dans une région donnée du tube digestif, la muqueuse peut n'exercer qu'une seule de ces fonctions ou les trois simultanément. La muqueuse digestive comprend trois sous couches : un épithélium de revêtement, une lamina propria et une muscularis mucosae. L'épithélium de la muqueuse est généralement un épithélium simple prismatique riche en cellules caliciformes qui sécrètent du mucus (Marieb et Hoehn, 2006). La lamina propria sous l'épithélium est formée de tissu conjonctif lâche aréolaire (Figure 2). Elle est parcourue de capillaires qui nourrissent l'épithélium et absorbent les nutriments issus de la digestion. Ses follicules lymphatiques épars qui font partis du MALT (formations lymphatiques associées aux muqueuses) jouent un rôle important dans la défense contre les bactéries et autres agents pathogènes. A l'extérieur de la lamina propria, on trouve la muscularis mucosae, une fine couche de cellules musculaires lisses qui produit des mouvements locaux de la muqueuse. Ainsi, les soubresauts de cette couche musculaire délogent les particules de nourriture qui adhèrent à la muqueuse. Dans la muqueuse de l'intestin grêle, la muscularis mucosae forme une série de petits replis qui accroissent considérablement sa surface (Marieb et Hoehn, 2006).



**Figure 2 :** Organisation structurale et histologique du canal alimentaire (Marieb et Hoehn, 2006)

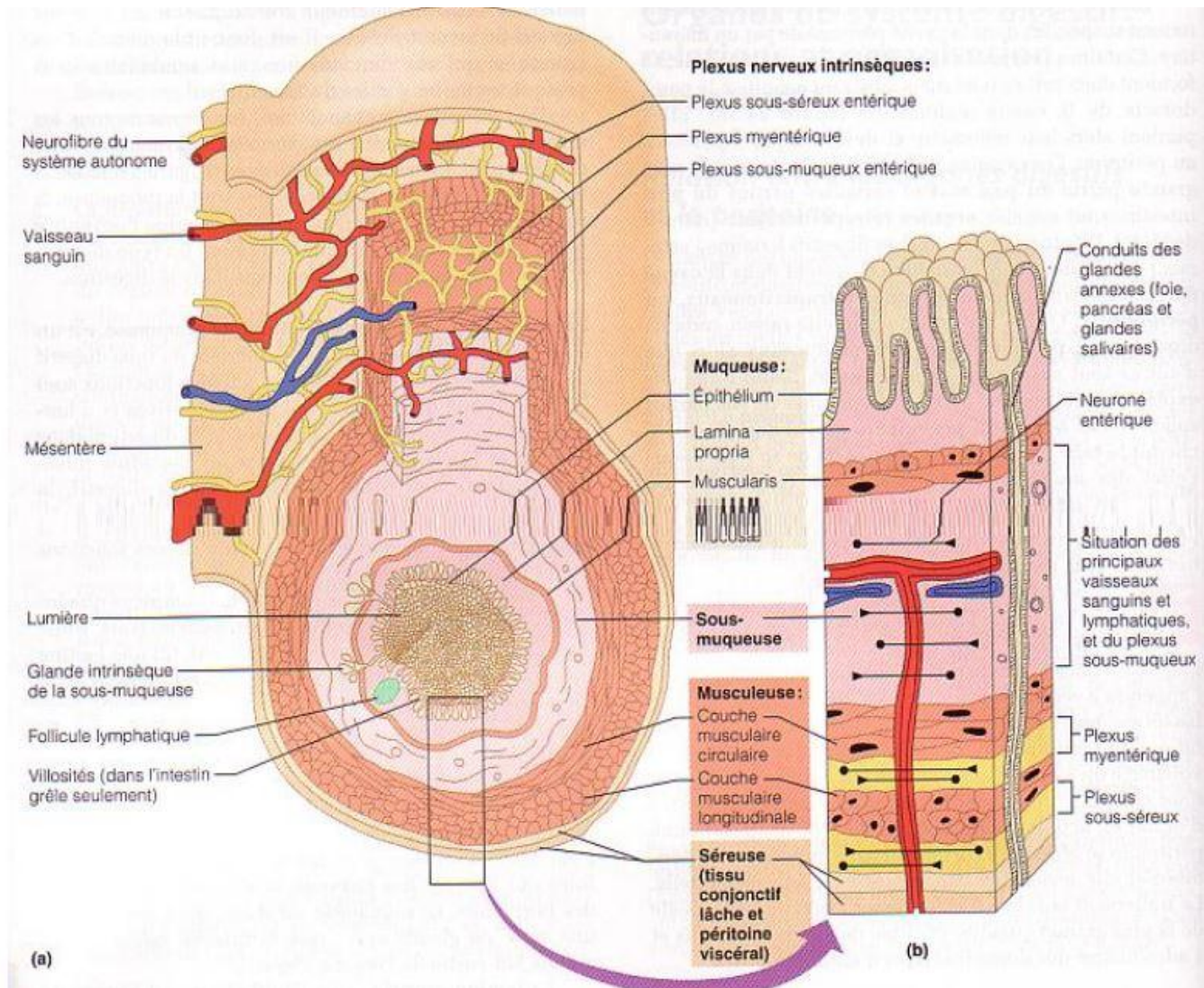
La sous-muqueuse située juste à l'extérieur de la muqueuse est un tissu conjonctif lâche qui renferme des vaisseaux sanguins et lymphatiques, des follicules lymphatiques et des neurofibres. Ses fibres élastiques abondantes permettent de reprendre sa forme après un repas (Marieb et Hoehn, 2006).

La musculeuse produit la segmentation et le péristaltisme c'est-à-dire qu'elle mélange les aliments et les déplace le long du tube digestif. Cette épaisse tunique musculeuse comporte une couche circulaire interne et une couche longitudinale externe formée de cellules musculaires lisses



(Figure 3). A plusieurs endroits le long du tube digestif, la couche circulaire s'épaissit et forme des sphincters qui agissent comme des valves empêchant l'inversion du mouvement et régissant le passage de la nourriture d'un organe à l'autre.

La séreuse, couche la plus externe des organes intra péritonéaux a un rôle protecteur et est formée par le péritoine viscéral.



**Figure 3 :** Structure fondamentale de la paroi du tube digestif : (a) coupe transversale du tube digestif ; (b) Représentation schématique d'une partie de la coupe transversale du tube (Marieb et Hoehn, 2006)

### I.1.3. L'intestin

#### I.1.3.1. Organisation et description de l'intestin grêle

L'intestin grêle est la partie du tube digestif reliant l'estomac à partir du pylore, au gros intestin par la valvule iléo-caecale. C'est dans ses méandres que se termine la digestion et se produit pratiquement toute l'absorption. Il mesure 6 à 7 m de long dans un cadavre ; mais à cause du tonus musculaire, sa longueur n'est que de 2 m et son diamètre est de 2,5 cm environ chez une personne vivante (Marieb et Hoehn, 2006). Par la structure histologique de sa muqueuse, l'intestin grêle comprend trois segments : le duodénum, le jéjunum et l'iléum.

Le duodénum a une longueur de 25 cm environ. Ce segment de l'intestin grêle reçoit les conduits qui apportent la bile du foie et le suc pancréatique en provenance du pancréas. Ces conduits se rejoignent près du jéjunum, où ils forment un bulbe : l'ampoule hépato-pancréatique ou ampoule de Vater qui s'ouvre dans le duodénum par la papille duodénale majeure. L'écoulement de la bile et du suc pancréatique est réglé par le sphincter d'Oddi ou muscle sphincter de l'ampoule hépato-pancréatique (Marieb et Hoehn, 2006).

Le jéjunum mesure environ 2,5 m de long et s'étend du duodénum à l'iléum.

L'iléon, d'une longueur d'environ 3,6 m, débouche dans le gros intestin à la hauteur de la valve iléo-caecale.

### **I.1.3.2. organisation et description du côlon**

Le côlon ou gros intestin s'étend de la valvule iléocœcale à l'anus et comprend plusieurs régions distinctes : Le côlon ascendant qui monte le long du côté droit de la cavité abdominale jusqu'à la hauteur du rein droit. Il fait ensuite un angle droit (courbure colique droite, ou angle colique droit) pour former le côlon transverse qui traverse horizontalement la cavité abdominale. Juste avant la rate, il tourne brusquement (courbure colique gauche ou angle colique gauche) pour former le côlon descendant qui descend le long du côté gauche. Il devient le côlon sigmoïde (en forme de S) lorsqu'il arrive dans le bassin. Le rectum présente trois courbures latérales qui forment intérieurement trois replis appelés plis transverses du rectum qui séparent les fèces des flatuosités c'est-à-dire empêchent les fèces de passer avec les gaz intestinaux (Marieb et Hoehn, 2006). Le canal anal, dernier segment du gros intestin, se trouve entièrement à l'extérieur de la cavité abdomino-pelvienne. D'une longueur de trois centimètres environ, il commence à l'endroit où le rectum pénètre dans le muscle élévateur de l'anus, situé dans le plancher pelvien, et s'ouvre par l'anus. Le canal anal est muni de deux sphincters, un muscle sphincter interne de l'anus, involontaire et formé de fibres musculaires lisses et, un muscle sphincter externe de l'anus, volontaire et formé de fibres musculaires squelettiques (Marieb et Hoehn, 2006). Ces sphincters sont habituellement fermés sauf pendant la défécation.

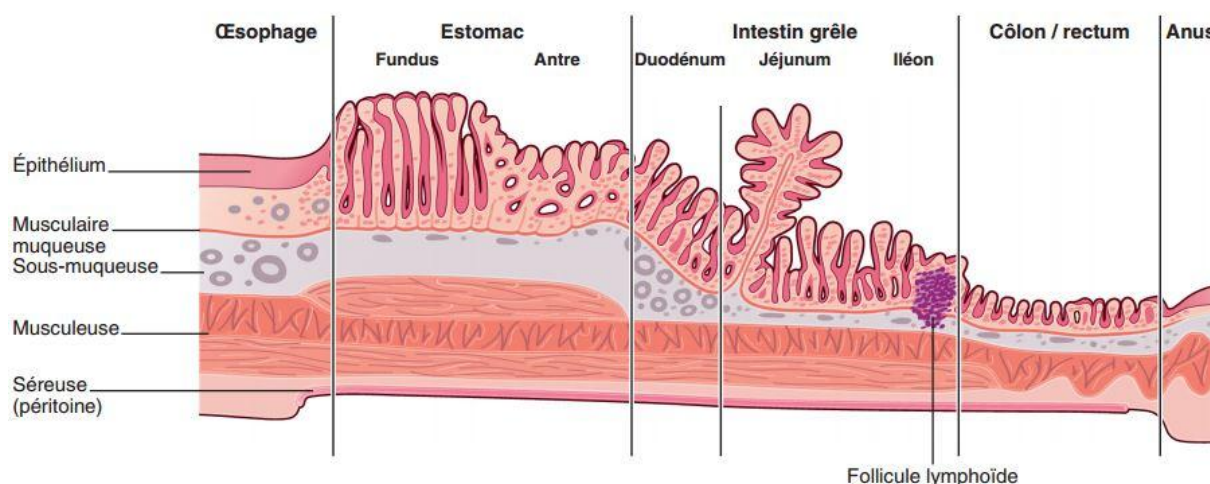
Le côlon mesure en moyenne 1,5 m pour un diamètre moyen de 7 cm chez l'humain (Marieb et Hoehn, 2006). Il forme un cadre autour de l'intestin grêle, en bordure de la cavité abdominale. Chez le rat, il fait environ 8 cm de long avec 1 cm de diamètre (AGA, 2013). Le rôle du côlon est de terminer la digestion, de récupérer l'eau du chyme intestinal et d'évacuer les déchets résiduels vers l'extérieur.

### **I.1.3.3. Quelques modifications structurales de l'intestin grêle à l'origine de ses fonctions**

Les divers segments de l'intestin grêle sont très différents par leur anatomie interne et microscopique. On y retrouve les quatre tuniques qui caractérisent le tube digestif, mais la muqueuse



et la sous-muqueuse sont modifiées en fonction de la position relative de l'intestin dans les voies digestives (Figure 4).



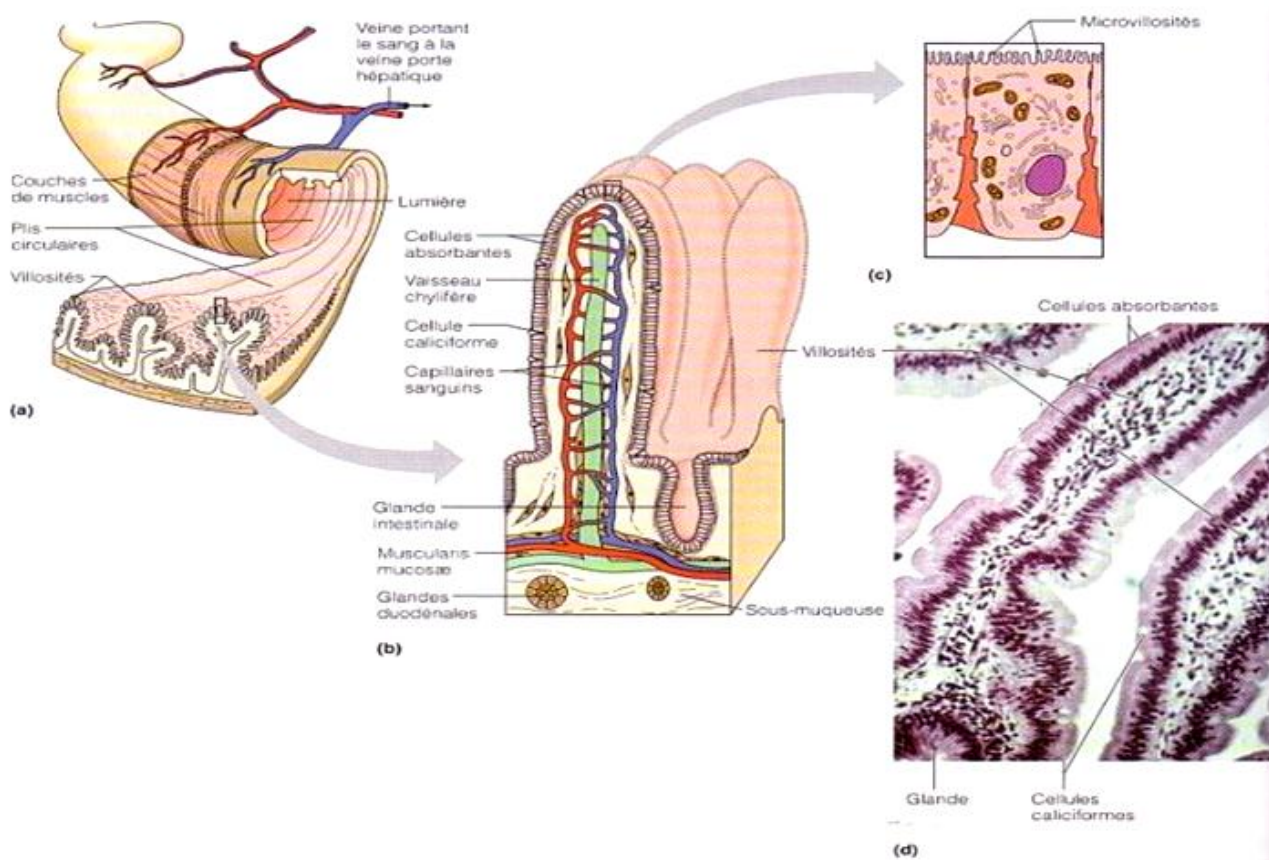
**Figure 4 :** Histologie de la paroi digestive (CDU-HGE, 2014a)

L'intestin grêle est adapté à sa fonction d'absorption des nutriments par sa seule longueur qui lui donne une très grande surface d'absorption, et ses parois qui possèdent trois types de modifications structurales qui accroissent énormément cette surface : les plis circulaires, les villosités intestinales et les microvillosités. Ces modifications sont moins accentuées vers l'extrémité distale. La surface totale du grêle est évaluée à environ 200 m<sup>2</sup>. La majeure partie de l'absorption se passe dans la portion proximale de l'intestin grêle (Marieb et Hoehn, 2006).

Les plis circulaires ou valvules conniventes (Figure 5a) sont des replis profonds et permanents de la muqueuse et de la sous-muqueuse qui forcent le chyme à tourner sur lui-même à l'intérieur de la lumière, permettant ainsi de mélanger continuellement le chyme avec le suc pancréatique et de ralentir son mouvement en vue d'une absorption complète des nutriments.

La muqueuse présente des saillies digitiformes d'une hauteur de plus d'un millimètre, les villosités intestinales, qui lui confèrent un aspect duveteux rappelant une serviette éponge (Figure 5b). Les cellules épithéliales des villosités sont surtout des cellules prismatiques absorbantes. Au cœur de chaque villosité se trouvent un réseau dense de capillaires sanguins et un capillaire lymphatique modifié (élargi) appelé vaisseaux chylifères. Les nutriments diffusent à travers les cellules épithéliales et passent dans les vaisseaux sanguins et les vaisseaux chylifères. Dans le duodénum (portion de l'intestin où l'absorption est la plus intense), les villosités sont de grande taille et en forme de feuille ; elles deviennent plus étroites et plus courtes le long de l'intestin grêle. Chaque villosité contient une bande de muscle lisse qui lui permet de se contracter et de s'allonger alternativement. Ces pulsations accroissent le contact entre la surface de la villosité et le bouillon de

nutriments contenu dans la lumière intestinale (ce qui rend l'absorption plus efficace) et font circuler la lymphe dans les vaisseaux chylifères.



**Figure 5 :** Structure globale de l'intestin grêle et de la villosité (Marieb et Hoehn, 2006). (a) Agrandissement de quelques plis circulaires montrant les villosités en forme de doigts qui leur sont associées. (b) Vue schématique d'une villosité. (c) Deux cellules absorbantes qui présentent les microvillosités sur leur face apicale. (d) Photomicrographie de la muqueuse de l'intestin grêle montrant les villosités

Les microvillosités sont de minuscules saillies formées par la membrane plasmique des cellules absorbantes de la muqueuse ; elles donnent à la surface de la muqueuse une apparence appelée collectivement bordure en brosse (Figure 5c). En plus d'augmenter la surface d'absorption, la membrane plasmique des microvillosités porte des enzymes nommées enzymes de la bordure en brosse, qui effectuent les dernières étapes de la digestion des glucides et des protéines dans l'intestin grêle.

L'épithélium de la muqueuse est un épithélium simple prismatique composé en grande partie de cellules absorbantes liées entre elles par des jonctions serrées et pourvues de très nombreuses villosités. Entre les villosités, la muqueuse est parsemée de dépressions qui conduisent à des glandes intestinales tubulaires appelées glandes intestinales de l'intestin grêle ou glande de Lieberkhün. Les cellules épithéliales qui garnissent ces glandes sécrètent le suc intestinal, un mélange aqueux de mucus qui sert à transporter les nutriments du chyme en vue de leur absorption. Au fond de ces glandes se trouvent des cellules sécrétrices spécialisées, les cellules de Paneth. Ces cellules libèrent

le lysozyme, une enzyme anti bactérienne qui protège l'intestin grêle contre certaines bactéries. Le nombre de glandes diminue le long de l'intestin grêle, mais celui des cellules caliciformes augmente.

La sous-muqueuse se caractérise par la présence de tissu conjonctif lâche alvéolaire et elle contient à la fois des follicules lymphatiques individuels et des follicules lymphatiques agrégés, ou plaques de Peyer. Le nombre de follicules lymphatiques agrégés augmente vers l'extrémité de l'intestin grêle parce que le gros intestin contient une quantité énorme de bactéries qui ne doivent pas avoir accès à la circulation sanguine. Une série de glandes muqueuses complexes, les glandes duodénales ou glandes de Brunner, se retrouvent uniquement dans la sous-muqueuse duodénale. Ces glandes produisent un mucus alcalin riche en bicarbonate qui neutralise le chyme acide provenant de l'estomac. Lorsque cette barrière muqueuse est insuffisante, la paroi intestinale s'érode et il en résulte des ulcères duodénaux (Marieb et Hoehn, 2006).

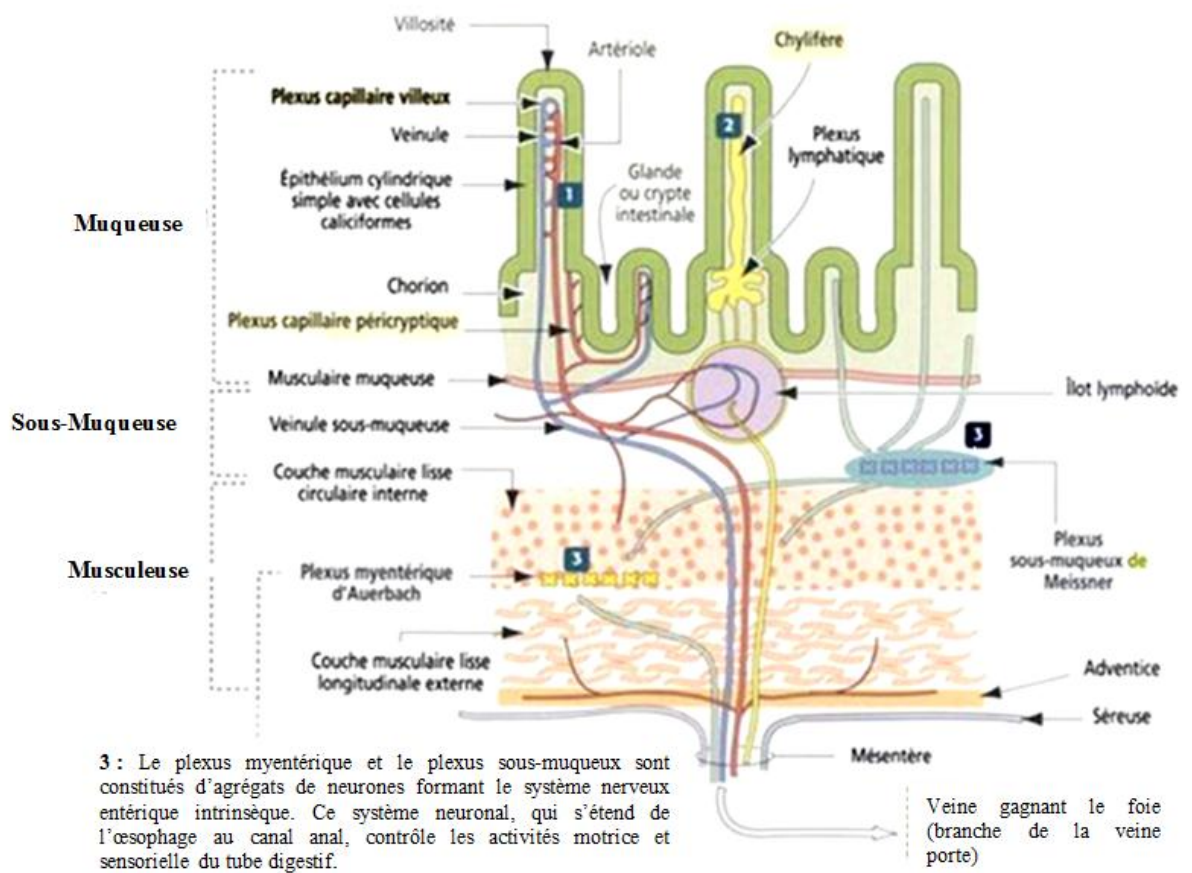
Généralement, le potentiel membranaire des cellules musculaires lisses du tube digestif présente des dépolarisations cycliques rythmiques, appelées ondes lentes, qui provoquent des contractions cycliques des muscles lisses. Ces ondes lentes proviennent des cellules interstitielles de Cajal (ICCs, Interstitial cells of Cajal) (Dickens *et al.*, 1999). Les ICCs sont des cellules mésenchymateuses, interposées entre le système nerveux entérique et les cellules musculaires lisses avec de petits corps cellulaires et plusieurs prolongations allongées. Elles développent de nombreuses ramifications interconnectées pour former un réseau et communiquent entre elles et avec les cellules musculaires lisses par des jonctions communicantes (Kobilo *et al.*, 2003). Les ICCs sont considérées comme des cellules pacemakers et peuvent être impliquées dans la neurotransmission dans les tissus périphériques, la génération et la propagation des ondes lentes (Wang *et al.*, 2005). Les ICCs pacemakers génèrent des ondes lentes électriques, une dépolarisation régulière caractérisée par une augmentation rapide du potentiel avec une longue durée du plateau suivie par une repolarisation ; les ondes lentes sont passivement transmises aux cellules musculaires lisses (Dickens *et al.*, 1999).

#### **I.1.3.4. Innervation**

##### **I.1.3.4.1. Innervation intrinsèque**

Le fonctionnement normal de l'intestin grêle dépend de l'innervation intrinsèque assurée par le système nerveux entérique. Les cellules nerveuses et les cellules gliales entériques incluses dans la paroi intestinale forment le système nerveux entérique (Figure 6). On estime à environ 200 à 600 millions de neurones entériques chez un humain, autant que dans la moelle épinière (Vander *et al.*, 2001). Les corps cellulaires sont groupés en petits agrégats, le ganglion entérique. Le système nerveux entérique est formé de deux plexus qui commandent l'intestin (Kierszenbaum, 2006) : le plexus myentérique également appelé le plexus d'Auerbach, et le plexus sous-muqueux désigné sous le nom du plexus de Meissner. La dégénération partielle du système nerveux entérique durant la vie entraîne des modifications graves de la motilité intestinale. Le système nerveux entérique a des rôles

essentiels dans la commande de la motilité, l'écoulement de sang, le transport de l'eau et d'électrolyte (Kierszenbaum, 2006). Le système nerveux entérique est connecté au système nerveux central par des fibres parasympathiques cholinergiques qui causent une stimulation des muscles lisses intestinaux et sympathiques noradrénergiques qui inhibent ces muscles à l'exception des sphincters dont elles stimulent la contraction ; cependant, le système nerveux entérique peut fonctionner de façon autonome sans ces connections (Vander *et al.*, 2001). Le plexus myentérique qui innerve les couches musculaires longitudinale et circulaire est surtout responsable du contrôle moteur tandis que le plexus sous-muqueux qui innerve l'épithélium glandulaire, les cellules endocrines de l'intestin et les vaisseaux sanguins sous-muqueux est surtout responsable du contrôle des sécrétions digestives. Le système nerveux entérique a comme neurotransmetteurs l'acétylcholine, la noradrénaline, la sérotonine, l'acide aminé GABA, la purine ATP, les gaz NO et CO et plusieurs peptides et polypeptides (substance P, CCK, VIP, enképhalines, endothéline-2, ...) (Vander *et al.*, 2001).



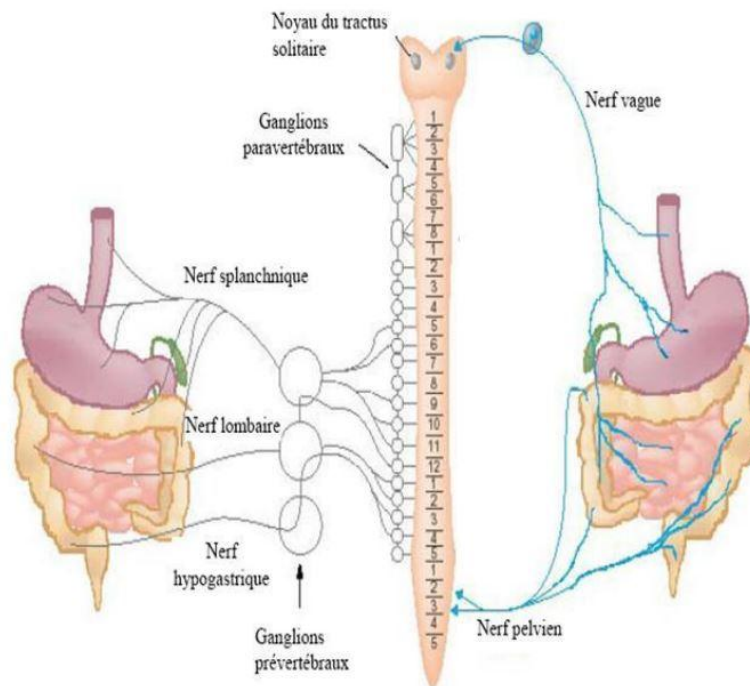
**Figure 6 :** Innervation de l'intestin grêle chez l'homme (Kierszenbaum, 2006).

#### I.1.3.4.2. Innervation extrinsèque

L'innervation extrinsèque du tube digestif (Figure 7) 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 et Gebhart, 2002). Les voies motrices parasympathiques comprennent les branches du nerf vague qui contrôlent la motilité et la sécrétion



de l'intestin supérieur, les nerfs parasymphatiques sacrés qui contrôlent les fonctions du côlon distal (Olsson et Holmgren, 2001).



**Figure 7 :** Les différentes efférences du système nerveux autonome (Blackshaw et Gebhart, 2002)

### I.1.3.5. Physiologie de l'intestin

#### I.1.3.5.1. Motilité de l'intestin

La motilité de l'intestin est sous la commande physiologique de plusieurs facteurs, le système nerveux autonome extrinsèque et intrinsèque, des facteurs paracrines du plexus et d'hormones en circulation (Smith et Watson, 2005a).

La musculaire-externe de la paroi intestinale commande le mélange et la propulsion intestinale, car l'occlusion de la lumière intestinale et le déplacement du contenu intestinal exigent la contraction de cette couche. La segmentation est produite par l'inhibition et la stimulation réciproques de muscles circulaires adjacents. La contraction longitudinale raccourcit l'intestin et augmente le diamètre de la lumière intestinale pour faciliter le passage du bol (Hasler, 2009).

La motilité gastro-intestinale inclut deux activités contractiles locales, la contraction tonique qui assure le mélange des aliments, et le péristaltisme qui induit la propulsion des aliments le long du tube digestif (Hasler, 2006). Ce type de motilité est assuré par la contraction du muscle lisse circulaire qui induit la segmentation de l'intestin et mélange les aliments, alors que la contraction du muscle longitudinale augmente le diamètre de l'intestin pour faciliter le mouvement du bol alimentaire (Hasler, 2006).

Le péristaltisme est une réponse réflexe des muscles lisses du tube digestif qui se déclenche quand la paroi est distendue par les substances présentes dans la lumière ; ce réflexe est présent dans tous les segments du tube digestif, de l'œsophage au rectum. L'étirement provoque une contraction circulaire à l'arrière du stimulus et une zone de relaxation à l'avant. L'onde de contraction se déplace ensuite de direction caudale, faisant progresser le contenu de la lumière à une vitesse de 2 à 25 cm par seconde. L'activité péristaltique peut augmenter ou diminuer sous l'influence des influx autonomes du tube digestif, mais elle se poursuit indépendamment de l'innervation extrinsèque. Le péristaltisme est un excellent exemple de l'activité intégrée du système nerveux entérique. La distension locale cause une libération de la sérotonine, celle-ci active les neurones sensitifs qui, à leur tour activent le plexus myentérique. Des neurones cholinergiques qui traversent le plexus en sens rétrograde activent la libération de la substance P et de l'acétylcholine par certains neurones, ce qui entraîne une contraction des muscles lisses. En même temps, des neurones cholinergiques qui traversent le plexus en sens antérograde stimulent la sécrétion de monoxyde d'azote (NO), du peptide vasoactif intestinal (VIP) et de l'adénosine triphosphate (ATP), par d'autres neurones entraînant une relaxation à l'avant du stimulus : c'est la loi de l'intestin (Barrett *et al.*, 2010). Cette action combinée assure la propulsion des aliments (Smith et Robertson, 1998).

Les contractions de segmentations sont des contractions en forme d'anneau qui apparaissent à intervalles relativement réguliers le long de l'intestin, pour ensuite disparaître et être remplacées par un autre jeu de contractions annulaires dans les segments situés entre les contractions précédentes. Elles impriment des mouvements de va-et-vient au chyme et augmentent son exposition à la surface muqueuse. Ces contractions sont déclenchées par des augmentations locales de l'influx de calcium.

Les contractions toniques sont des contractions relativement prolongées qui ont pour effet d'isoler les segments intestinaux les uns des autres.

Les contractions segmentaires et les contractions toniques ralentissent le transit dans le grêle, de sorte que le temps de transit est plus long après les repas qu'à l'état de jeun. Cela permet un contact plus prolongé du chyme avec les entérocytes et favorise l'absorption.

A l'état de jeûne, il y a des contractions spontanées qui se produisent et se propagent dans la direction anale, elles sont appelées "Migrating motor complex" (MMC) ; ces contractions sont présentes dans l'iléon (IMMC) comme dans le côlon (CMMC) avec un intervalle entre les contractions plus grand dans les IMMC que dans les CMMC (Bush *et al.*, 2000). Les MMC sont divisées en trois phases. La phase I est une phase de silence, elle constitue 40 à 60 % du cycle de la contraction, elle est suivie par la phase II qui est caractérisée par des contractions simples et irrégulières (20 à 30 % du cycle de contraction) et ensuite par la phase III qui est caractérisée par des contractions rythmiques pendant une durée de cinq à dix minutes (Hasler, 2006). Les MMC peuvent se produire spontanément ou induites par les ondes lentes des ICCs (Huizinga et Lammers, 2009).

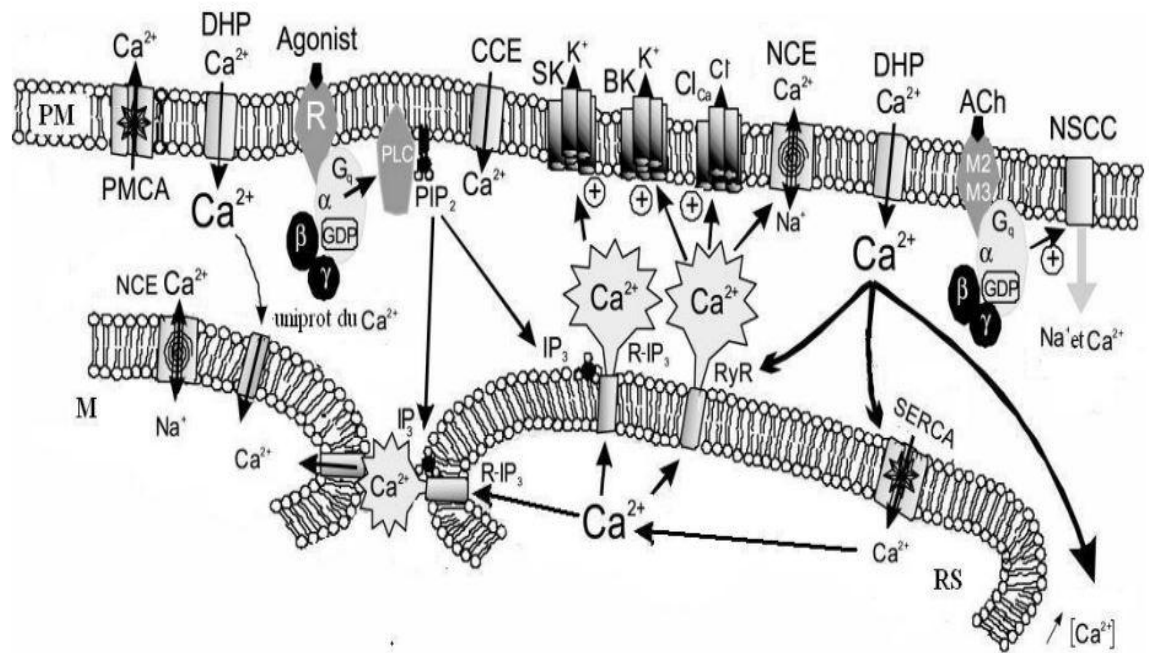
De même, les MMC peuvent être générées par l'augmentation de la pression des fluides ; la période de silence entre les MMC est contrôlée par la libération tonique du monoxyde d'azote (Powell *et al.*, 2003).

La fonction motrice du côlon permet le mélange du contenu de la lumière et sa propulsion vers l'anus. Le chyme pénètre dans le côlon dans un état semi-liquide, l'eau est absorbée et les matières résiduelles deviennent progressivement de plus en plus solides. Il existe deux modèles de base de mouvement dans le côlon : des contractions toniques non coordonnés ou segmentations des muscles lisses circulaires qui sont périodiques et la propulsion spontanée de chyme vers l'anus par propulsion segmentaire, le péristaltisme et les mouvements de masse péristaltiques. Le rectum est plus actif dans la contraction segmentaire que le côlon. Les mouvements spontanés se produisent trois à quatre fois par jour lorsque le côlon est plein et distendu (Smith et Watson, 2005b).

La motilité du côlon est contrôlée par des nerfs intrinsèques du plexus intra-mural et par les nerfs autonomes extrinsèques. Les neurones intrinsèques sécrètent l'acétylcholine qui stimule la motilité alors que les neurones extrinsèques sécrètent le peptide vasoactif intestinal (VIP) et l'oxyde nitrique (NO) qui l'inhibent. Les nerfs autonomes extrinsèques sont également impliqués dans le contrôle du côlon. Ils font synapse avec les neurones dans le plexus pour moduler les effets de l'innervation intrinsèque, et innervent directement le muscle lisse du côlon. Les nerfs parasympathiques augmentent la motricité, alors que les nerfs sympathiques inhibent la motilité (Smith et Watson, 2005b). Les entérotoxines agissent sur les composants myoélectriques et augmentent l'activité propulsive distale. Les médiateurs de la sécrétion intestinale et de l'inflammation comme les prostaglandines, les leukotriènes pourraient aussi agir sur la motilité en stimulant la musculature lisse (Belaiche, 2000).

#### **I.1.3.5.2. Contraction musculaire**

Le muscle lisse du tube digestif présente un tonus qui est imposé par des contractions rythmiques induites par des ondes lentes qui sont accompagnées par l'augmentation de l'influx du calcium dans les cellules musculaires (Hashitani *et al.*, 2001). Le calcium entre dans la cellule via les canaux calciques de type L et les canaux calciques sensibles à la dihydropyridine, ces canaux sont activés par la dépolarisation de la membrane plasmique (Figure 8). D'autres mécanismes d'entrée du calcium incluent les canaux cationiques non sélectifs activés par les agonistes des récepteurs muscariniques et l'entrée capacitative du calcium (Sanders, 2001 ; So et Kim, 2003). Le  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulaire va à son tour entraîner la libération massive du calcium des réserves par l'activation des récepteurs de la ryanodine (Sanders, 2001 ; Ma *et al.*, 2003).



**Figure 8** : Principales voies d'entrée et de libération du calcium (Sanders, 2001)

ACh : acetylcholine, BK: large conductance calcium activated  $K^+$  channels, CCE : capacitive calcium entry,  $Cl_{Ca}$ : calcium activated  $Cl$  channels, DHP: dihydropyridine,  $IP_3$ : inositol triphosphate, M: mitochondria,  $M_2/M_3$ : muscarinic receptor, PM: plasma membrane, NCE:  $Na^+/Ca^{2+}$  exchange, NSCC: non selectif cationic channel,  $PIP_2$ : phosphatidylinositol 4,5-diphosphate, PLC: phospholipase C, PMCA: plasma membrane calcium pump, R: receptor, R- $IP_3$ :  $IP_3$  receptor, RS: sarcoplasmic reticulum, RYR: ryanodine receptor, SERCA: Sarco(endo)plasmic reticulum  $Ca^{2+}$  ATPase, SK: small conductance calcium activated  $K^+$  channels.

L'augmentation de la concentration du calcium peut être stimulée par le couplage pharmacomécanique qui induit la libération du  $Ca^{2+}$  intracellulaire ; ce processus implique des récepteurs qui activent la phospholipase C (PLC). L'activation de cette dernière libère l'inositol triphosphate ( $IP_3$ ) et le diacylglycérol (Makhlouf et Murthy, 2006). L' $IP_3$  libéré va à son tour libérer le calcium des réserves sarcoplasmiques en activant les canaux/récepteurs de l' $IP_3$  (McCarron *et al.*, 2002). Les canaux potassiques et les canaux chloriques jouent un rôle important dans la régulation de l'excitabilité de la cellule musculaire. Ces canaux sont activés par l'augmentation du calcium intracellulaire. L'activation des canaux à chlore induit la sortie du  $Cl^-$ , et par conséquent la dépolarisation de la membrane. Par contre, l'activation des canaux potassiques sensibles au calcium entraîne une sortie du  $K^+$  et hyperpolarise la membrane (Sanders, 2001). L'hyperpolarisation des muscles est accompagnée par la réduction de l'entrée du  $Ca^{2+}$  et par la relaxation des muscles lisses (Sanders, 2008). Il y a au moins trois familles de canaux potassiques activés par le calcium : les BK (large conductance calcium activated  $K^+$  channels), les SK (small conductance calcium activated  $K^+$  channels) et les IK (intermédiaire conductance  $K^+$  channels) (Shieh *et al.*, 2000).

Les canaux  $K_v$  (Voltage-dépendant  $K^+$  channels) et les canaux  $K^+$  sensibles à l'ATP contribuent aussi au contrôle de l'excitabilité et la contraction musculaires (Imai *et al.*, 2001). Le blocage de ces canaux induit la dépolarisation de la membrane et la contraction du muscle lisse, cette



dernière résulte de l'entrée du calcium par les canaux calciques voltage-dépendants (Dong *et al.*, 2005).

### **I.1.3.5.3. Contrôle de la motricité de l'intestin**

#### **I.1.3.5.3.1. Contrôle nerveux du muscle lisse intestinal**

Le fonctionnement normal de l'intestin grêle dépend de l'innervation intrinsèque assurée par le système nerveux entérique et de l'innervation extrinsèque assurée par le système nerveux central. L'acétylcholine (ACh) est le neurotransmetteur majeur du système nerveux entérique (Lecci *et al.*, 2002). Lorsque l'ACh est libérée dans la fente synaptique, elle réagit avec ses récepteurs spécifiques localisés sur la cellule musculaire ou est hydrolysée par l'acétylcholinestérase. Dans le tube digestif, l'acétylcholine agit principalement via les récepteurs muscariniques M<sub>2</sub> et M<sub>3</sub> pour induire la contraction du muscle lisse (Ehlert, 2003). Les récepteurs M<sub>3</sub> sont couplés à la protéine Gq (Yousufzai *et al.*, 2000) ; alors que les récepteurs M<sub>2</sub> sont couplés à la protéine Gi (Sales *et al.*, 1997). De plus, l'activation de ces récepteurs induit l'ouverture des canaux cationiques non sélectifs et les canaux calciques de type L (Jin *et al.*, 2002). L'activation des récepteurs muscariniques par l'ACh ou un agoniste (carbachol) induit la contraction du muscle lisse par augmentation de la concentration du Ca<sup>2+</sup> intracellulaire (McCarron *et al.*, 2002).

En plus de l'acétylcholine, l'ATP semble jouer un rôle important dans la transmission neuroneurone excitatrice au niveau du muscle longitudinal et circulaire en agissant sur ses récepteurs P2X et P2Y (Spencer *et al.*, 2000). L'activation de ces récepteurs induit la libération de l'ACh des neurones excitateurs (Sawyer *et al.*, 2000).

Les tachykinines constituent une famille de neuropeptides qui regroupe la substance P, la neurokinine A et la neurokinine B (Lecci *et al.*, 2002). Les tachykinines jouent un rôle important dans le contrôle de la motilité gastro-intestinale, sa sécrétion, sa transmission nerveuse et sa sensibilité à la douleur. Les récepteurs des tachykinines sont présents dans les neurones entériques, les ICCs, l'épithélium et le muscle lisse du tube digestif (Holzer et Holzer-Petsche, 2001).

#### **I.1.3.5.3.2. Contrôle humoral du muscle lisse intestinal**

La sérotonine ou 5-hydroxytryptamine (5-HT) est stockée et libérée par les cellules entérochromaffines et les neurones entériques cholinergiques (Lomax et Furness, 2000), elle participe dans la transmission excitatrice à travers les récepteurs 5-HT<sub>3</sub> localisés sur les neurones cholinergiques (Furness et Sanger, 2002). Les récepteurs de la 5-HT sont détectés dans diverses régions du tube digestif du rat et de la souris en l'occurrence au niveau du jéjunum, de l'iléon et du côlon (Chetty *et al.*, 2006).

Le NO est considéré comme étant le principal neurotransmetteur inhibiteur du muscle lisse intestinal (Benko *et al.*, 2005). Dans le tube digestif, trois types de NOS (nitric oxid synthase) sont

identifiés, la nNOS (neural NOS), la eNOS (endothelial NOS) et la iNOS (induced NOS) (Teng *et al.*, 1998). Le NO est produit dans les neurones entériques à partir de la L-arginine par la nNOS (Xue *et al.*, 2000). L'inhibition de la NOS par le L-NAME (N-méthyl-L-arginine ester) augmente la fréquence et l'amplitude de contraction du muscle circulaire du côlon du rat (Mulè *et al.*, 1999).

Le VIP est un neuropeptide qui induit la relaxation du muscle gastro-intestinal (Parkman *et al.*, 1997). Cette relaxation est le résultat de l'hyperpolarisation de la membrane (Pluja *et al.*, 2000). L'hyperpolarisation membranaire est due à l'ouverture des canaux  $K^+$  sensibles au calcium induite par l'activation des tyrosines kinases (Takeuchi *et al.*, 1999). Il a été démontré que la libération du VIP active la eNOS et augmente la concentration du GMPc et d'AMPc conduisant à l'activation des canaux potassiques et à la relaxation du muscle lisse du côlon (Kishi *et al.*, 2000 ; Lecci *et al.*, 2002).

La cholécystokinine-pancréozymine (CCK-PZ) stimule la contraction de la vésicule biliaire et la sécrétion pancréatique. La CCK agit aussi en synergie avec la sécrétine pour stimuler la sécrétion d'un suc pancréatique alcalin. Elle inhibe aussi la vidange gastrique, exerce aussi un effet trophique sur le pancréas et pourrait stimuler la motilité du grêle et du côlon (Furness et Sanger, 2002). Certaines données indiquent qu'elle agit de concert avec la sécrétine pour contracter le sphincter pylorique prévenant ainsi un reflux du contenu duodénal dans l'estomac. La sécrétion de CCK augmente lorsque la muqueuse intestinale vient en contact avec les produits de la digestion, notamment les peptides et les acides aminés, et aussi lorsque le duodénum contient des acides gras de plus de dix atomes de carbone (Lomax et Furness, 2000).

La sécrétine est sécrétée par les cellules S qui sont localisées dans les couches profondes du grêle proximal (Furness et Sanger, 2002). Elle augmente la sécrétion de bicarbonate par les cellules des canaux pancréatique et biliaire. Elle stimule ainsi la sécrétion d'un suc pancréatique clair et alcalin. Son effet sur les cellules des canaux pancréatiques dépend de l'AMPc. Elle amplifie aussi l'effet stimulant de la CCK sur la sécrétion des enzymes digestives du pancréas. Elle réduit la sécrétion acide de l'estomac et pourrait déclencher la contraction du sphincter pylorique (Furness et Sanger, 2002). La sécrétion de sécrétine est stimulée par les produits de la digestion protéique et par la présence d'acide dans le liquide qui baigne la muqueuse du grêle proximal. Cet effet stimulant de l'acide sur la libération de la sécrétine est un autre exemple de rétrocontrôle : en effet, la sécrétine déclenche une entrée de suc pancréatique alcalin dans le duodénum, ce qui neutralise l'acide de l'estomac et empêche toute sécrétion additionnelle de l'hormone (Furness et Sanger, 2002).

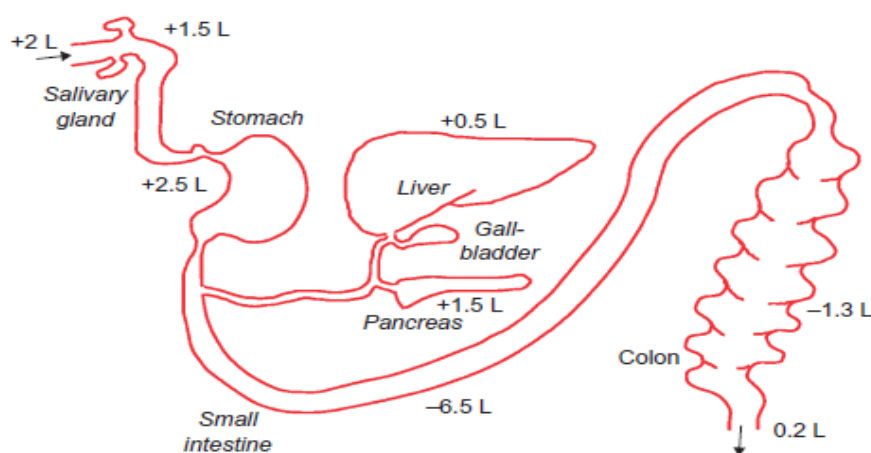
Le peptide inhibiteur gastrique (GIP) est produit par les cellules K de la muqueuse duodénale et jéjunale. Sa sécrétion est stimulée par la présence de glucose et de graisse dans le duodénum. A doses élevées, il a un effet inhibiteur sur la sécrétion gastrique d'où son appellation (Marieb et Hoehn, 2006).

La motiline est produite par les cellules entérochromaffines et les cellules Mo du jéjunum. Elle intervient dans la motricité gastrique et de l'intestin. Cette hormone est libérée chez l'homme et le porc après acidification du duodénum. A concentration égale, l'activité de la motiline est supérieure à celle médiée par l'acétylcholine. Libérée 1 h après un repas, cette hormone voit sa sécrétion diminuée par l'insuline et stimulée par les matières grasses. Elle intervient par le GMP cyclique et son activité myostimulante est due à la libération de calcium (Marieb et Hoehn, 2006).

#### I.1.3.5.4. Sécrétion, absorption et réabsorption au niveau de l'intestin

##### I.1.3.5.4.1. Transport de l'eau et sa régulation

L'eau est nécessaire pour la digestion et l'absorption des nutriments et l'élimination des déchets. L'eau fournit un environnement fluide pour le déplacement du contenu de la lumière intestinale, une solution à l'action d'enzymes digestives, et un moyen pour libérer les solutés à des surfaces absorbantes (Stephen *et al.*, 2009). De grandes quantités de fluide sont transportées à travers les barrières épithéliales dans le tractus gastro-intestinal par les sécrétions de la salive, du suc gastrique, de la bile, et du suc pancréatique, et par l'absorption intestinale. Le débit liquidien duodénal est d'environ 10 L/jour avec une absorption nette de 9 L/jour dans l'intestin grêle et environ 1L/jour atteint le côlon pour se perdre dans les selles. Les glandes salivaires produisent environ 1,5 L de liquide par jour, l'estomac sécrète 2,5 L de suc gastrique, le foie produit 0,5 L de bile, le pancréas produit 1,5 L d'enzyme et de fluide riche en bicarbonate. L'intestin grêle absorbe environ 6,5 L de fluide, et le côlon environ 1,3 L de fluide contre des gradients osmotiques (Figure 9) (Thiagarajah et Verkman, 2006 ; Stephen *et al.*, 2009). Lors du choléra, cette quantité liquidienne passe de 10 L à environ 30 L/jour. Le transfert d'eau est passif et est gouverné par des transferts d'ions actifs. La régulation se fait par des substances endogènes (neuromédiateurs, peptides, hormones) ou par des substances exogènes (substances pharmacologiques, toxines bactériennes) (Keely *et al.*, 2009).



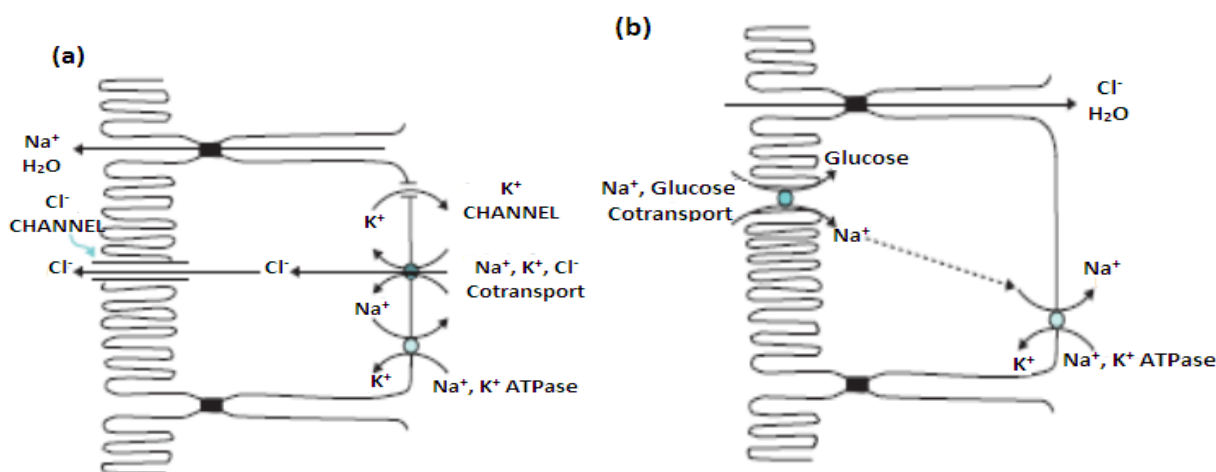
**Figure 9** : Sécrétion et absorption quotidiennes des liquides au niveau du tractus gastro-intestinal chez l'homme (Thiagarajah et Verkman, 2012)

#### I.1.3.5.4.2. Transports des électrolytes et sa régulation

L'entrée du  $\text{Na}^+$  est d'environ 700 à 800 mmol/L par jour contre une sortie d'environ 5 mmol/L par jour. Au niveau du duodénum, le transport de  $\text{Na}^+$  se fait par diffusion (effet solvant drag) et par voie intercellulaire. Au niveau du jéjunum, le transport de  $\text{Na}^+$  se fait par voie intercellulaire et transcellulaire (actif) par le cotransporteur glucose- $\text{Na}^+$ . Au niveau de l'iléon, les échanges se font par voie intercellulaire et transcellulaire par les pompes  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  et  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  et le transport neutre du  $\text{NaCl}$  (Keely *et al.*, 2009).

L'absorption du potassium est essentiellement passive. Les mouvements d'eau induits par un effet osmotique sont associés à un effet " solvant drag " pour le  $\text{K}^+$  (uniquement dans le jéjunum).

Le chlore suit les mouvements de  $\text{Na}^+$ , l'absorption est passive dans l'intestin proximal. L'absorption est active dans l'intestin distal. La sécrétion électrogénique du chlore se fait par le cotransport  $\text{Na}^+$ ,  $\text{H}^+$  et  $\text{Cl}^-$ . Le canal chlore apical permet la sécrétion du  $\text{Cl}^-$  (Figure 10). La régulation se fait par la variation du taux d'AMPC, dont l'élévation entraîne une non absorption de  $\text{NaCl}$  (Keely *et al.*, 2009 ; Gill *et al.*, 2012).



**Figure 10 :** Transports sécrétoires (a) et absorbants (b) des cellules intestinales (Stephen *et al.*, 2009)

Le transport des électrolytes est régulé par un grand nombre de médiateurs solubles qui modulent les mouvements hydroélectriques tels que les pro-sécrétoires (sérotonine (5-HT), neurotensine, platelet activating factor (PAF), histamine, acétylcholine (ACh), peptide vasoactif intestinal (VIP) et substance P), les pro-absorbantifs (somatostatine, neuropeptide Y, aldostérone, Angiotensine) (Hasler, 2009) et les toxines bactériennes comme la toxine cholérique et la Shiga toxine qui stimulent la sécrétion du chlore ( $\text{Cl}^-$ ), inhibe l'absorption du  $\text{NaCl}$  par l'activation de l'AMPC et de la GMPc et entraînent la diarrhée (Thiagarajah et Verkman, 2012). La réponse à ces médiateurs est sous la dépendance du second messager intracellulaire (AMPC) et du  $[\text{Ca}^{2+}]$ /calmoduline intracytosolique.

Au niveau du côlon on note essentiellement une sécrétion du mucus et de certains électrolytes ( $\text{K}^+$  et  $\text{HCO}_3^-$ ) ; l'absorption de l'eau, de certains électrolytes ( $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$ ) et des acides biliaires. La

sécrétion de  $K^+$  se fait à travers les canaux potassiques. L'absorption de  $Na^+$  par la pompe  $Na^+/K^+$  ATPase de la membrane basolatérale de la cellule colique est régulée par l'aldostérone. Le mucus alcalin lubrifie les parois intestinales, protège la muqueuse de l'action des bactéries et facilite le passage des selles. La sécrétion du mucus est stimulée par la distension et par l'irritation mécanique des parois du côlon. Les neurones sécréteurs du plexus sous-muqueux et myentérique stimulent la sécrétion intestinale par la libération de l'acétylcholine et le peptide vasoactif intestinal (VIP). La stimulation des nerfs sympathiques supprime la sécrétion du côlon en raison de la libération d'adrénaline et de la somatostatine. Une implication clinique en est l'utilisation d'analogues de la somatostatine dans le traitement de la diarrhée sécrétoire (Smith et Watson, 2005b).

## **I.2. Microbiote intestinal**

La grande surface d'échanges avec l'extérieur de la muqueuse intestinale héberge aussi un système de défense complexe permettant une protection vis-à-vis des nombreux agents pathogènes auxquels elle est exposée. Le microbiote intestinal est composé d'une très grande quantité de micro-organismes tolérés par le système immunitaire intestinal et qui, adaptés à leur environnement, vivent en synergie avec leur hôte. La flore intestinale est l'ensemble des micro-organismes (principalement des bactéries) qui colonisent le tube digestif humain. Un individu héberge environ  $10^{14}$  bactéries dans son tractus digestif alors qu'il ne contient que  $10^{13}$  cellules eucaryotes, soit dix fois moins de cellules eucaryotes que procaryotes (Dave *et al.*, 2012).

### **I.2.1. Composition du microbiote intestinal**

Le tractus digestif du nourrisson à la naissance est dépourvu de bactérie. La colonisation microbienne débute dès la naissance. En l'absence des mécanismes immunitaires sophistiqués de l'adulte, le tube digestif du nouveau-né est un environnement particulièrement permissif et les niveaux de population y atteignent rapidement  $10^{11}$  bactéries par gramme de selles. Des relations antagonistes gouvernent progressivement le relais d'espèces en dominance conduisant vers l'âge de 2 à 4 ans à un microbiote stable au plan fonctionnel (Dave *et al.*, 2012).

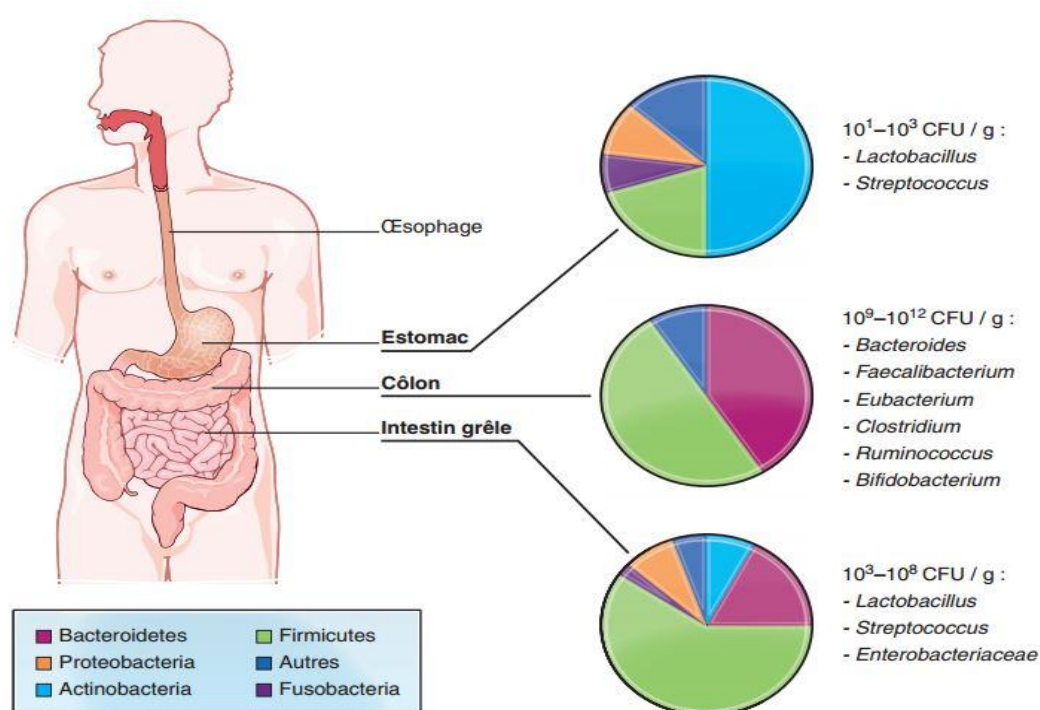
On estime aujourd'hui que chaque individu adulte héberge en dominance dans son tube digestif un millier d'espèces bactériennes différentes. La densité bactérienne atteint son maximum dans le côlon distal avec  $10^{11}$  à  $10^{12}$  bactéries par gramme de contenu. Trois phyla bactériens, Firmicutes, Bacteroidetes et Actinobacteria rassemblent la plus grande part des bactéries fécales dominantes (Figure 11) (Ley *et al.*, 2008 ; Eckburg, *et al.*, 2005).

Le phylum des Firmicutes (bactéries à Gram positif) est toujours fortement représenté. Il comprend tout d'abord le groupe dit *Eubacterium rectale – Clostridium coccoides* qui est souvent le plus important (14 à 31 % des bactéries totales en moyenne). Ce groupe est composé d'espèces bactériennes appartenant aux genres *Eubacterium*, *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Butyrovibrio*. Le

phylum des Firmicutes comprend également le groupe *Clostridium leptum*, avec notamment les espèces *Faecalibacterium prausnitzii*, *Ruminococcus albus* et *Ruminococcus flavefaciens*, groupe qui est aussi très souvent dans la dominance (16 à 22 % en moyenne) (Hold *et al.*, 2002).

Les Bacteroidetes sont représentés par les genres apparentés à Bacteroides (Bacteroides, Prevotella et Porphyromonas). Ils sont toujours présents et partagent la dominance avec les groupes précédents (9 à 42 % des bactéries totales).

Le phylum Actinobacteria est moins systématiquement détecté en dominance mais il représente en moyenne quelques pourcents des bactéries totales. On y trouve les bifidobactéries (0,7 à 10 %) et les bactéries du groupe *Collinsella atopobium* (0,3 à 3,7 % en moyenne) (Dave *et al.*, 2012).



**Figure 11 :** Composition et densité du microbiote intestinal (Dave *et al.*, 2012). La concentration en micro-organismes augmente entre la bouche et le côlon. Les bactéries constituent la grande majorité des micro-organismes du microbiote intestinal.

### I.2.2. Fonctions du microbiote intestinal

La présence permanente d'une importante biomasse bactérienne exerce des effets physiologiques dont les répercussions pour l'hôte sont, pour la plupart, bénéfiques. Parmi les grandes fonctions du microbiote, la fermentation des substrats disponibles au niveau du côlon, le rôle de barrière à la colonisation par les micro-organismes pathogènes, le développement et la maturation du système immunitaire intestinal et les interactions avec les cellules épithéliales ont des rôles essentiels pour le maintien de la santé de l'hôte (Lotz *et al.*, 2007; CDU-HGE, 2014b).

### **I.2.2.1. Fonction de protection et de barrière**

L'effet de barrière est un effet protecteur du microbiote intestinal non seulement vis-à-vis des bactéries pathogènes exogènes, mais également vis-à-vis de bactéries présentes dans l'intestin en faible quantité et potentiellement délétères si leur concentration augmente (Duerkop *et al.*, 2009). Les mécanismes de l'effet de barrière sont de plusieurs ordres. Il existe une compétition pour les nutriments et les sites d'adhérence épithéliaux entre les bactéries pathogènes et les bactéries commensales qui sont plus adaptées à l'écosystème intestinal (Otte et Podolsky, 2004). Par ailleurs, la production par les cellules épithéliales d'une grande partie des peptides antimicrobiens jouant un rôle majeur dans la défense contre les agents pathogènes est induite par le microbiote (CDU-HGE, 2014b). Enfin, le microbiote stimule la production des IgA sécrétoires et renforce les jonctions serrées entre les cellules épithéliales (Duerkop *et al.*, 2009).

### **I.2.2.2. Fonctions immunitaires**

Le microbiote joue un rôle essentiel dans le développement et la maturation du système immunitaire, et donc sur ses fonctions. Les animaux axéniques ont en effet de nombreuses anomalies au niveau du système immunitaire intestinal : hypoplasie des plaques de Peyer, nombre de lymphocytes intraépithéliaux réduits, déficit en certaines populations lymphocytaires T, sécrétion intestinale d'IgA réduite, concentration d'immunoglobulines sériques et production de cytokines limitées (Wells *et al.*, 2010 ; CDU-HGE, 2014b). Les anomalies observées ne se limitent cependant pas à l'épithélium intestinal puisque la rate et les ganglions lymphatiques des animaux axéniques sont non structurés et présentent des zones lymphocytaires atrophiées. L'ensemble de ces anomalies peuvent être réparées chez une souris axénique en quelques semaines en inoculant un microbiote de souris (CDU-HGE, 2014b).

## **I.3. Système immunitaire intestinal**

On peut schématiquement séparer l'immunité intestinale en une composante innée constituée et une composante adaptative.

### **I.3.1. Immunité innée**

#### **I.3.1.1. Épithélium intestinal**

L'épithélium intestinal a la délicate fonction d'absorber les nutriments tout en étant une ligne de défense vis-à-vis des agressions potentielles de l'environnement. Cette barrière est à la fois physique et chimique. La composante physique est constituée de deux éléments principaux (Otte et Podolsky, 2004).

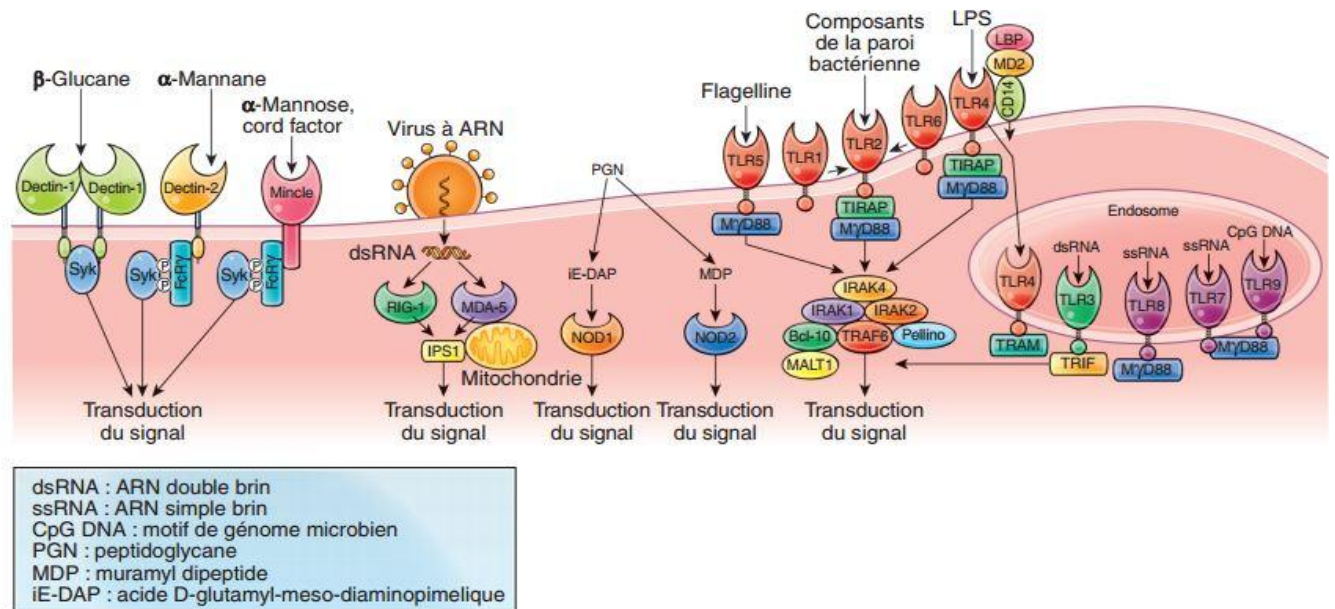
(i) les jonctions serrées qui sont des jonctions étanches entre les cellules épithéliales empêchant la diffusion de molécules et de pathogènes, et

(ii) la couche de mucus qui est fabriquée par les cellules caliciformes. L'épaisseur de la couche de mucus varie le long du tube digestif et est maximale dans l'iléon terminal et surtout le côlon. Le renouvellement rapide des cellules épithéliales participe aussi au maintien physique de la barrière. La composante chimique est constituée principalement de molécules antimicrobiennes (les défensines par exemple) qui sont synthétisées essentiellement par les cellules épithéliales et qui détruisent ou inhibent la croissance des bactéries et/ou levures. (Dann et Eckmann, 2007 ; CDU-HGE, 2014b).

### **I.3.1.2. Récepteurs de l'immunité innée**

Les motifs associés aux pathogènes (pathogen associated molecular pattern, PAMP) sont des motifs moléculaires qui sont propres aux micro-organismes et conservés à l'intérieur d'une classe microbienne. Le lipopolysaccharide (LPS), l'ARN double brin et la flagelline qui sont présents respectivement dans les bactéries à Gram négatif, les virus à ARN et les bactéries flagellées en sont des exemples. Il existe des récepteurs reconnaissant ces motifs (pattern recognition receptor, PRR) qui constituent les récepteurs de l'immunité innée. Ces récepteurs sont exprimés dans les cellules présentatrices de l'antigène et, pour certains, dans d'autres cellules immunitaires et dans les cellules épithéliales. Il en existe de différents types (Figure 12) : Les Toll-like receptors (TLR) sont les mieux caractérisés. Ce sont des récepteurs transmembranaires présents à la surface de la cellule ou des endosomes. Les NOD-like receptors (NLR) sont une famille de plus de 20 récepteurs intracellulaires. Leur principal rôle est la détection des PAMPs cytoplasmiques et des signaux de danger. Les RIG-I-like receptors (RLR) sont une famille de trois récepteurs cytoplasmiques aux ARN viraux. Les C-type lectin-like receptors (CLR) sont une grande famille de récepteurs membranaires détectant des motifs hydrocarbonés (sucres) contenus principalement dans les parois fongiques. L'activation des PRRs induit une cascade de signalisation intracellulaire conduisant à l'activation et/ou la modulation de la réponse immunitaire (Wells *et al.*, 2010). Au niveau des cellules épithéliales intestinales, l'activation des PRRs induit notamment la production de peptides antimicrobiens, la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et le recrutement de polynucléaires neutrophiles et de macrophages (CDU-HGE, 2014b).





**Figure 12** : Principaux récepteurs de l'immunité innée (CDU-HGE, 2014b).

### I.3.2. Immunité adaptative

#### I.3.2.1. Capture des antigènes de la lumière intestinale

Les antigènes de la lumière intestinale peuvent être capturés de trois manières différentes (Duerkop *et al.*, 2009) :

- (i) par les plaques de Peyer et les nodules lymphoïdes isolés,
- (ii) par les cellules dendritiques émettant des prolongements dans la lumière intestinale, et
- (iii) directement par les cellules épithéliales.

Les plaques de Peyer et les nodules lymphoïdes isolés constituent les sites inducteurs majeurs de l'immunité adaptative intestinale (Sanz et De Palma, 2010). Leur épithélium particulier comporte des cellules épithéliales dédifférenciées appelées cellules M présentant de nombreuses microvésicules et une forme particulière leur permettant un contact étroit avec des cellules dendritiques, des macrophages et des lymphocytes au niveau de leur membrane basale (Lotz *et al.*, 2007). Ces cellules captent de façon sélective les microparticules, souvent antigéniques, qui parviennent à leur contact. Elles leur font traverser leur cytoplasme sous forme de vésicules et les libèrent dans le microenvironnement immunocompétent sur lequel elles reposent. Les cellules lymphoïdes naïves T et B sont ainsi informées et sélectionnées, les cellules B prolifèrent et constituent le centre germinatif des nodules solitaires ou les plus nombreux centres germinatifs des plaques de Peyer (Coombes et Maloy, 2007).

#### I.3.2.2. Réponse adaptative B

Les lymphocytes B activés dans un nodule lymphoïde isolé, une plaque de Peyer ou un ganglion mésentérique, quittent ces structures par le système lymphatique efférent qui les draine, puis gagnent la circulation lymphatique et se déversent enfin par le canal thoracique dans la

circulation systémique. Ces lymphocytes B activés colonisent alors tous les territoires muqueux. Ces lymphocytes B activés quelques heures auparavant au contact de l'antigène terminent leur différenciation en plasmocytes et produisent des immunoglobulines A (IgA) spécifiques de cet antigène (Duerkop *et al.*, 2009). En tapissant la surface des muqueuses, elles peuvent capter les antigènes et empêcher leur entrée dans le tissu sous-jacent (CDU-HGE, 2014b).

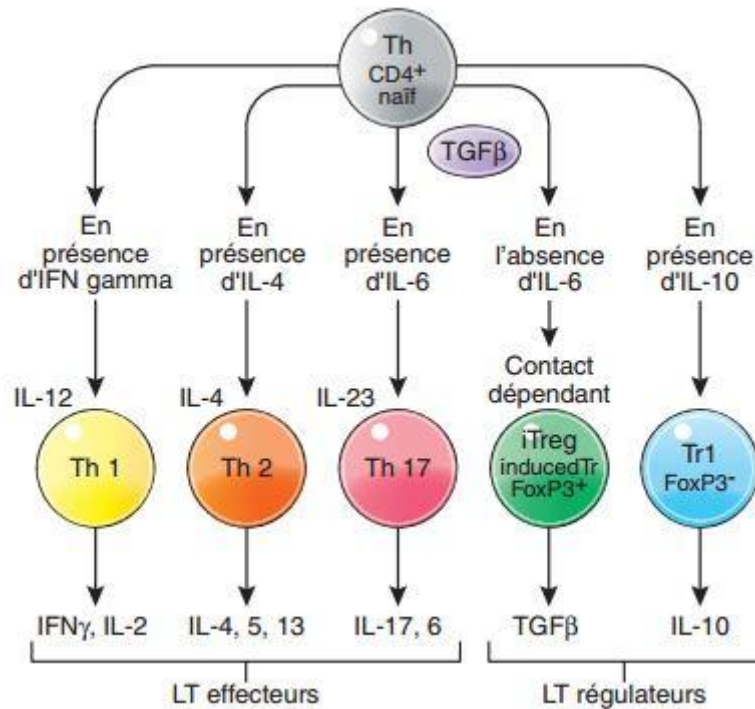
### **I.3.2.3. Réponse adaptative T**

Après présentation des antigènes aux lymphocytes T résidents de la lamina propria, ces derniers sont activés. En fonction de l'environnement inflammatoire (notamment la présence de cytokines), les lymphocytes T naïfs prendront un phénotype pro-inflammatoire (ou effecteur) ou anti-inflammatoire (ou régulateur) (Duerkop *et al.*, 2009). Les cellules dendritiques ont un rôle majeur dans cette phase car elles vont intégrer l'ensemble des paramètres environnementaux et génétiques qui vont conduire à la réponse T. En fonction de cet environnement, la réponse T sera soit effectrice, soit régulatrice (CDU-HGE, 2014b). Schématiquement, on distingue trois types de lymphocytes T effecteurs (Figure 13) :

(i) les Th1 qui dépendent de la présence d'IL-12 et d'IFN- $\gamma$ , des facteurs de transcription Stat1, Stat4 et Tbet, qui synthétisent de l'IL-2 et de l'IFN- $\gamma$  et qui sont impliqués dans la réponse aux infections bactériennes intracellulaires (Duerkop *et al.*, 2009) ;

(ii) les Th2 qui dépendent de la présence d'IL-4, des facteurs de transcription Stat6 et Gata3, qui synthétisent de l'IL-4, IL-5 et IL-13 et qui sont impliqués dans la réponse aux infections parasitaires (Rescigno et Di Sabatino, 2009) ; et

(iii) les Th17 qui dépendent de la présence d'IL-6, de TGF- $\beta$  et d'IL-23, des facteurs de transcription Stat3 et ROR- $\gamma$ t, qui synthétisent de l'IL-17 et de l'IL-6 et qui sont impliqués dans la réponse aux infections bactériennes extracellulaires et fongiques (Rescigno et Di Sabatino, 2009).



**Figure 13** : Lymphocytes T effecteurs et régulateurs : différenciation et production cytokinique (CDU-HGE, 2014b)

## I.4. Diarrhées

### I.4.1. Définition

Les diarrhées sont de troubles du transit qui se caractérisent par des selles molles, voire liquides, en quantité anormalement élevée ou avec une fréquence de survenue augmentée, de l'ordre de trois fois par jour (Shamkuwar, 2013). La diarrhée peut être ponctuelle, évoluant sur moins de 2 semaines, cas dans lequel on parle de diarrhée aiguë, ou chronique lorsque les symptômes durent pendant plus d'un mois (Ammoury et Ghishan, 2012). La diarrhée n'est pas une maladie mais le symptôme d'une autre pathologie et peut se rencontrer dans de très nombreuses affections. Elle est en général le symptôme d'une infection intestinale pouvant être causée par divers micro-organismes, bactéries, virus ou parasites (OMS, 2013). L'infection se transmet par le biais de l'eau ou d'aliments contaminés, ou d'une personne à l'autre en cas d'hygiène insuffisante. La diarrhée est due à une concentration excessive en eau de la masse fécale, celle-ci en contient normalement 60 à 90%. On pourra également noter la présence de sang, de pus ou de graisses pour les symptômes dysentériques (Kasper *et al.*, 2012).

### I.4.2. Différents types de diarrhées

Les diarrhées peuvent être classées en fonction de la durée, de la manifestation et/ou du mécanisme physiopathologique.

#### **I.4.2.1. Classification en fonction de la durée et de la manifestation**

Les diarrhées peuvent être classées en trois syndromes, la dysenterie, diarrhée aiguë, la diarrhée à durée prolongée ou diarrhée chronique ou diarrhée persistante (Strand *et al.*, 2012). Une diarrhée prolongée est définie comme une diarrhée qui dure pendant au moins 7 jours. Si elle dure plus de 14 jours, elle est appelée diarrhée persistante. En outre, la diarrhée prolongée est liée à l'immunité réduite, les carences en micronutriments tels que le zinc, car l'administration de zinc en cas de diarrhée aiguë réduit la durée et le risque de persistance (Strand *et al.*, 2012). La diarrhée aiguë est définie comme l'émission d'au moins trois selles liquides par jour pendant moins de 14 jours (Faure, 2013). La dysenterie est une diarrhée s'accompagnant de sang visible dans les selles. Ses causes sont des lésions de la muqueuse intestinale dues à l'envahissement de celle-ci par les bactéries. Les principales conséquences sont une anorexie et un amaigrissement.

#### **I.4.2.2. Classification en fonction du mécanisme physiopathologique**

En fonction des mécanismes physiopathologiques, on distingue les diarrhées hydro-électrolytiques (sécrétoire, osmotique), les diarrhées avec malabsorption/digestion et les diarrhées motrices (Berrebi, 2006).

##### **I.4.2.2.1. Diarrhée sécrétoire**

La diarrhée sécrétoire est une diarrhée aqueuse liée à une perturbation des mouvements d'eau et d'électrolytes à travers l'intestin grêle, le plus souvent sous l'influence d'une entérotoxine (Belaiche, 2000). La diarrhée sécrétoire est provoquée par des pertes excessives d'eau et d'électrolytes secondaires à la stimulation de la sécrétion et/ou à l'inhibition de l'absorption au niveau du grêle ou du côlon. Lors de son fonctionnement normal, l'intestin réabsorbe l'eau ou les différents sels minéraux (comme le NaCl) en provenance des sécrétions de la digestion. Lorsque le tractus intestinal continue à produire de nouveaux sucs digestifs au lieu de réabsorber l'eau et les sels minéraux (électrolytes), une diarrhée apparaît. Le pH des selles est supérieur à 6,0 (Ammoury et Ghishan, 2012). De nombreux éléments sont susceptibles de provoquer ces sécrétions intempestives : les hormones telles que le VIP, la gastrine et la sécrétine, les acides biliaires, l'acide ricinoléique (huile de castor), certains médicaments (comme les prostaglandines, ARV), les toxines bactériennes (*Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Vibrio cholerae*) qui agissent par activation de l'AMPC, les neurotransmetteurs (acétylcholine, sérotonine) qui sont calcium dépendants (Ammoury et Ghishan, 2012).

##### **I.4.2.2.2. Diarrhée osmotique**

La diarrhée osmotique est provoquée par la présence dans l'intestin de substances qui entraînent un appel d'eau dans le grêle ou le côlon. Lors de l'ingestion de sulfate de magnésium ou de

phosphate de Magnésium, utilisés comme antiacides ou laxatifs, ou encore en cas d'intolérance au lactose, l'intestin se trouve encombré par des substances non absorbables et hydrosolubles : une diarrhée peut alors survenir. La malabsorption de ces sucres au niveau du grêle va provoquer dès leur arrivée dans le côlon une fermentation bactérienne considérable, aboutissant à la production d'acides gras volatils et d'acide lactique, ayant eux-mêmes un pouvoir osmotique puissant. Ces acides sont à l'origine du pH inférieur à 5,6 des selles (Ammoury et Ghishan, 2012).

#### **I.4.2.2.3. Diarrhée de malabsorption**

Les diarrhées apparaissent lorsque la sécrétion globale de l'intestin proximal dépasse les capacités d'absorption de l'intestin distal. Le degré de malabsorption est en corrélation avec la longueur de l'intestin grêle, sa capacité d'absorption, la présence ou l'absence de la valvule iléo-caecale et du côlon, et l'adaptation intestinale (Ammoury et Ghishan, 2012). Si les substances non absorbées sont très hydrosolubles et de faible poids moléculaire, les selles seront trop liquides. Les aliments gras, jamais hydrosolubles, ne peuvent être à l'origine de ce type de diarrhée.

#### **I.4.2.2.4. Diarrhées motrices ou diarrhées de modification du transit intestinal**

Les médicaments (laxatifs) et les toxines bactériennes aussi bien que certains états physiologiques tels que l'effort et le stress peuvent changer la motilité intestinale en affectant directement le système nerveux entérique (SNE), qui régule les fonctions gastro-intestinales telles que la motilité, la sécrétion de l'eau et d'électrolyte, l'écoulement du sang. Ces facteurs diminuent ou augmentent le temps normal de transit permettant l'absorption des nutriments. En cas du ralentissement du transit (neuropathie diabétique par exemple), se développe une pullulation bactérienne chronique, responsable de plusieurs effets nocifs tels que l'inflammation et la diarrhée. En cas d'accélération du transit, on constate une diarrhée motrice qui est due le plus souvent à une colopathie fonctionnelle ou à des causes endocriniennes et nerveuses. Ces diarrhées motrices se caractérisent par des selles de volume modéré mais un nombre élevé d'exonérations avec besoin impérieux, surtout après les repas. Le jeûne et les freinateurs du transit suppriment la diarrhée (Ammoury et Ghishan, 2012).

#### **I.4.2.2.5. Diarrhées exsudatives**

Les diarrhées par altération de la muqueuse sont provoquées par des lésions qui peuvent aller de la destruction isolée de la bordure en brosse de la cellule intestinale (par une atteinte virale), à l'abrasion de la paroi intestinale avec inflammation, ulcérations (entérite nécrosante et colites), en passant par l'atrophie villositaire complète (maladie cœliaque). L'inflammation des muqueuses intestinales lors de la rectocolite hémorragique, la maladie de Crohn, le lymphome, le carcinome, les infections parasitaires et bactériennes, entraîne une exsudation plasmatique et une production

excessive de mucus et de sang, avec augmentation du volume des selles et de la fréquence des défécations. Au cours des diarrhées avec atrophie villositaire, le syndrome de malabsorption est net avec des selles graisseuses ou stéatorrhées (Ammoury et Ghishan, 2012).

### **I.4.2.3. Diarrhées infectieuses**

Les diarrhées infectieuses peuvent être causées par des bactéries invasives, des bactéries produisant des toxines (endotoxines ou exotoxines), des virus ou des protozoaires. Le grand risque de ces diarrhées est la déshydratation qui est d'autant plus grave qu'elle touche les enfants, les vieillards et les sujets malades.

#### **I.4.2.3.1. Diarrhées causées par les bactéries invasives**

Les bactéries invasives pénètrent dans les entérocytes et se multiplient, provoquant ainsi des lésions localisées au côlon qui perd ses capacités d'absorption et est le siège d'une hypersécrétion. Ces diarrhées sont donc des syndromes dysentériques caractérisés par des douleurs abdominales violentes, des émissions fréquentes sans matières fécales mais avec des glaires et du sang. Les bactéries en cause sont de plusieurs types : *Shigella*, *Campylobacter*, *Salmonella*, *Yersinia pseudotuberculosis* et *Yersinia enterocolitica* (Wilks *et al.*, 2003a ; Ammoury et Ghishan, 2012).

#### **I.4.2.3.2. Diarrhées causées par les bactéries produisant des entérotoxines**

Les bactéries qui produisent des toxines se multiplient à la surface de la muqueuse intestinale et provoquent une hypersécrétion hydroélectrolytique. Il s'agit des bactéries comme *Vibrio cholerae* (toxine cholérique), *Escherichia coli* entéropathogènes qui peuvent avoir simultanément les caractères invasifs (entéro-invasive *Escherichia coli* : EIEC) et entérotoxigènes (enterotoxigènes *Escherichia coli* : ETEC), *Perfringens* et *Shigella dysenteriae* (shiga toxine ou verotoxine) (Bigalke et Wellhoner, 1999 ; Alikhani *et al.*, 2013).

#### **I.4.2.3.3. Diarrhées aiguës d'origine virale**

Les gastro-entérites virales se traduisent par une diarrhée, de la fièvre, des vomissements, des douleurs abdominales, des maux de tête, des myalgies. Plusieurs groupes de virus pathogènes peuvent être distingués : des Parvovirus (virus américain Norwalk) et des réovirus, les Rotavirus responsables de 50% des diarrhées aiguës chez le nourrisson, les Entérovirus, les calcivirus (Hodges et Gill, 2010 ; Ammoury et Ghishan, 2012). L'évolution de ces diarrhées est rapidement régressive et ne justifie pas en général d'explorations complexes et coûteuses.

#### **I.4.2.3.4. Diarrhée du voyageur (tourista)**

La diarrhée du voyageur ou tourista est une infection de type gastro-entérite se manifestant par une diarrhée associée à des symptômes tels que douleurs et crampes abdominales, nausée,

vomissements ou malaises, survenant chez le voyageur à destination d'un pays à faible niveau d'hygiène alimentaire ou hydrique (Berrebi, 2006). La diarrhée du voyageur est d'origine infectieuse. Elle est le plus souvent d'origine bactérienne (80%) : *E. coli* entéro-toxinogène (20-75 %), Shigelles (15 %), Salmonelles (7-10 %), *Campylobacter jejuni* (3 %) ; parfois virale (10 à 20 %) : Rotavirus, Virus de Norwalk, Adénovirus, Astrovirus, Entérovirus et beaucoup plus rarement parasitaire (Berrebi, 2006). La turista est le trouble sanitaire le plus fréquent chez les voyageurs, et touche près 20 à 50% des voyages de courte durée (Castelli *et al.*, 1998). Elle survient en général une semaine après l'arrivée et dure habituellement quelques jours et son évolution se fait vers la guérison entre 4 à 7 jours (Yates, 2005 ; Tarr *et al.*, 2009). Ces diarrhées sont plus fréquentes dans les pays d'Afrique, d'Asie et du Sud-Américain.

#### **I.4.2.3.5. L'amibiase intestinale**

L'amibiase intestinale est une maladie infectieuse due à un parasite microscopique, un protozoaire hématophage dénommé *Entamoeba histolytica*, transmis par l'eau et les aliments contaminés. Elle entraîne une infection gastro-entérite de type dysentérique (diarrhée accompagnée de sang et de mucus), qui se propage sur un mode épidémique et fait de très nombreux morts dans les pays en voie de développement. Outre l'atteinte digestive, le parasite peut également infecter d'autres organes tels le foie, le poumon et le cerveau.

#### **I.4.2.4. Autres causes de diarrhées aiguës**

##### **I.4.2.4.1. Médicaments**

La prise quotidienne de certains médicaments peut provoquer soit une diarrhée aiguë, soit une diarrhée chronique (Ammoury et Ghishan, 2012). Parmi ces médicaments, on peut citer : les tonicardiaques (digitale, quinidine), les hypotenseurs (hydralazine, réserpine), les laxatifs (huile de ricin, bisacodyl, phénolphthaléine, oxyphénitasine, dioctyl de sodium, sulfosuccinate), les anti-uricémiants : colchicine (Westendorf, 1999), la metformine (Gould et Sellin, 2009), les anti-mitotiques, les anti-inflammatoires (phénylbutazone) et les antibiotiques qui réduisent la flore intestinale normale (Beaugerie, 2008 ; Hébuterne, 2008 ; Hall, 2011).

##### **I.4.2.4.2. Indigestions, intoxications et stress**

L'indigestion peut provoquer une diarrhée aiguë qui s'accompagne de nausées, vomissements, douleurs abdominales et correspond souvent à la classique indigestion secondaire à un excès alimentaire manifeste avec souvent abus d'alcool. Elle s'explique par une surcharge osmotique du grêle et parfois une accélération de la vitesse du transit intestinal induite par l'alcool.

L'intoxication ou toxi-infection est l'ensemble des troubles provoqués par l'absorption d'aliments souillés par un germe agressif pour l'homme ou par ses toxines.

Une diarrhée purement motrice, brutale et difficile à contenir, peut accompagner certains états de stress. Des perturbations de la motricité colique et intestinale expliquent cette accélération du transit digestif (Mayer *et al.*, 2001).

### **I.4.3. Shigellose**

#### **I.4.3.1. Définition**

La shigellose est une infection intestinale invasive aiguë provoquée par des bactéries appartenant au genre *Shigella*. Elle se manifeste cliniquement par une diarrhée souvent sanglante. Elle est endémique dans de nombreux pays en développement et survient également sous forme d'épidémies accompagnées d'une morbidité et d'une mortalité élevées. Parmi les quatre espèces de *Shigella*, *Shigella dysenteriae* type 1 (*Sd1*) est particulièrement importante car elle est à l'origine de la forme la plus grave de la maladie et peut occasionner de vastes épidémies à l'échelle régionale (OMS, 2008 ; Goodridge, 2013). La shigellose ou dysenterie bacillaire est un problème majeur de santé publique dans de nombreux pays en développement (Goodridge, 2013). Elle est pathologiquement caractérisée par une inflammation de l'intestin et de troubles nerveux (Sebhat *et al.*, 2007), des diarrhées suraiguës. Ces selles sont molles, fétides, liquides, glaireuses et sanglantes (Kamgang *et al.*, 2007).

#### **I.4.3.2. Biologie de *Shigella***

Les Shigelles sont des parasites intestinaux rencontrés seulement chez l'homme et les autres primates. Ceux-ci les éliminent par les selles et les dispersent dans le milieu extérieur (sol, eau) où elles ne survivent pas longtemps. Nommé *Shigella* en l'honneur du bactériologiste japonais Kiyoshi SHIGA qui a découvert le bacille de la dysenterie en 1897. Les shigelles sont des bactéries en forme de bâtonnets immobiles, courts et gram négatif (-), de 2 à 3 µm de long sur 0,5 à 0,7 µm de large, animés de mouvements pendulaires (Tarr *et al.*, 2009). Leur température optimale de croissance est de 37°C en milieu aérobie. Les shigelles sont réparties en 4 groupes sérologiques selon leurs antigènes somatiques (O) :

- Le groupe A qui comprend *S. dysenteriae* (ou *Shiga bacillus*) (10 sérotypes) répandu en Amérique Latine, en Asie et en Afrique ;
- Le groupe B est représenté par *S. flexneri* (8 sérotypes) ;
- Le groupe C représenté par *S. boydi* (15 sérotypes) est exceptionnel aux Etats Unis et en France ;
- Le groupe D représenté par *S. sonnei* (1 sérotype), responsable de la dysenterie bacillaire aux Etats Unis et en France (Das *et al.*, 2013 ; Goodridge, 2013).

#### **I.4.3.3. Nature de la pathogénicité des shigelles**

La présence de sang et de glaire dans les selles du malade atteint de diarrhée subite est un bon indice. Pour établir un diagnostic définitif il faut isoler *Shigella* dans les selles. La pathogénicité de



*Shigella* est multifactorielle et comprend la production d'entérotoxines et sa capacité à envahir et à détruire les tissus de l'hôte, résultant en grande partie de la vaste réponse inflammatoire associée à cette infection (Tarr *et al.*, 2009). Toutes les shigelles possèdent une endotoxine, le glucido-lipido-polypeptidique ou lipopolysaccharide (LPS) avec des propriétés neurotoxiques qui n'est autre que l'antigène O (antigènes de la paroi des entérobactéries). Cette endotoxine ou shiga toxine est soluble, thermolabile, très toxique (1/20 mg permet de tuer une souris) et responsable de la réponse inflammatoire (Tarr *et al.*, 2009). La Shiga toxine est une glycosidase cofacteur dans la pathogenèse de la dysenterie bactérienne. Elle est constituée d'un fragment A, biologiquement actif et de quatre fragments B. le fragment A se lie aux glycolipides membranaires puis clivée par protéolyse en deux sous-unités, A1 et A2. La sous-unité A2 est une enzyme qui présente des homologues avec les lectines végétales, l'abrine et le ricin. La Shiga toxine clive une seule molécule d'adénine à partir du complexe ribosomique eucaryote, à proximité de l'extrémité 3' de l'ARNr (Bigalke et Wellhoner, 1999).

La dose infectieuse chez l'homme est de 10 à 100 shigelles (Chang *et al.*, 2012 ; Goodridge, 2013) ; alors que chez le rat elle est de l'ordre de  $1,2 \cdot 10^9$  *SdI* (Kamgang *et al.*, 2005). Les shigelles doivent pénétrer dans les cellules épithéliales coliques de la muqueuse intestinale (cellules M) pour se multiplier et provoquer la perturbation de l'absorption des nutriments et des liquides, entraînant la diarrhée et des crampes abdominales. Les shigelles restent localisées au niveau du gros intestin et ne se disséminent pas dans l'organisme, causent avec l'invasion, une ulcération de la muqueuse colique et du tissu conjonctif de soutien, ce qui explique la présence de sang dans les selles. Il y a donc contact de la bactérie invasive avec la muqueuse, puis dégénérescence locale de la bordure en brosse des cellules épithéliales. La bactérie englobée par la membrane plasmique se retrouve emprisonnée à l'intérieur d'une vacuole d'endocytose dans le cytoplasme. La bactérie peut digérer la membrane qui l'entoure, et est libérée dans le cytoplasme des cellules adjacentes à travers les membranes latérales (Tarr *et al.*, 2009). Les selles diarrhéiques contiennent de  $10^6$  à  $10^8$  *Shigella* par gramme (OMS, 2008).

Des exotoxines de faible poids moléculaires, à activité cytotoxique et entérotoxique sont produites par *S. flexneri* et *S. sonnei*. C'est un poison vasculaire entraînant des lésions intestinales et nerveuses, possédant un pouvoir toxique élevé. Il existe des souches hybrides de *S. flexneri* qui détiennent le pouvoir invasif et qui sont incapables de se multiplier dans la muqueuse. Ces toxines produisent une réaction inflammatoire transitoire dans les tissus infectés mais le processus infectieux n'évolue pas. *Shigella* a de plus en plus tendance à résister à certains antibiotiques, notamment l'ampicilline, la tétracycline, le cotrimoxazole et l'acide nalidixique (OMS, 2008).

#### **I.4.3.4. Epidémiologie de la dysenterie bacillaire**

Les shigelles provoquent environ 120 millions de cas de shigellose avec 1,1 million de décès chaque année dans le monde. La Shigellose provoque parfois le syndrome hémolytique et urémique (SHU), qui se caractérise par une anémie hémolytique (anémie causée par la destruction des globules rouges), une insuffisance rénale aiguë (urémie), et une faible numération plaquettaire (thrombocytopenie) (Goodridge, 2013).

##### **I.4.3.4.1. Sources d'infection**

L'eau et les aliments sont les principales sources de contamination. Les salades et les produits de la mer sont les plus sensibles aux shigelles (OMS, 2008 ; Das *et al.*, 2013). La mise en évidence des shigelles dans un aliment est délicate car les bactéries y survivent peu de temps. A l'époque actuelle, dans les pays développés, on observe surtout la dysenterie *sonnei* liée au facteur alimentaire. *S. sonnei* survit et se développe dans le lait et les produits laitiers (Chang *et al.*, 2012).

##### **I.4.3.4.2. Traitement de la shigellose**

Tous les cas de diarrhée sanglante doivent être traités sans retard par un anti-infectieux d'efficacité reconnue contre *Shigella*. D'autres mesures utilisées dans le traitement de la diarrhée, comme la réhydratation, la poursuite de l'alimentation et la supplémentation en zinc, doivent également être appliquées (OMS, 2008).

Le choix de l'anti-infectieux doit si possible reposer sur les données récentes de sensibilité concernant les souches de *Shigella* isolées dans le secteur. Si on ne dispose pas de données sur les souches locales, on utilisera les données de pays limitrophes ou tirées d'épidémies récentes survenues dans la région. L'anti-infectieux choisi devra être :

- efficace contre les souches locales (ou régionales) de *Shigella* ;
- d'un coût abordable ;
- disponible localement ou rapidement livrable

La résistance de *Shigella* à l'ampicilline, au cotrimoxazole et à l'acide nalidixique est maintenant répandue et ces médicaments ne sont plus recommandés. En dehors de la ciprofloxacine et quelques autres fluoroquinolones, le pivmécillinam (amdinocilline pivoxil) et la ceftriaxone sont actuellement les seuls anti-infectieux habituellement efficaces dans tous les groupes d'âge contre les souches multirésistantes de *Shigella*. L'azithromycine est aussi considérée comme une alternative possible chez l'adulte. L'utilisation de ces médicaments de deuxième intention est toutefois actuellement limitée par leur coût (pivmécillinam, azithromycine) et le développement rapide d'une résistance (azithromycine) (OMS, 2008).

Certaines plantes médicinales comme *Mallotus oppositifolium* (Kamgang *et al.*, 2006), *Euphorbia prostrata* (Kamgang *et al.*, 2007), *Euphorbia scordifolia* (Kamgang *et al.*, 2015) ont une activité bactéricide contre *Sd1*.

#### **I.4.4. Traitement des diarrhées**

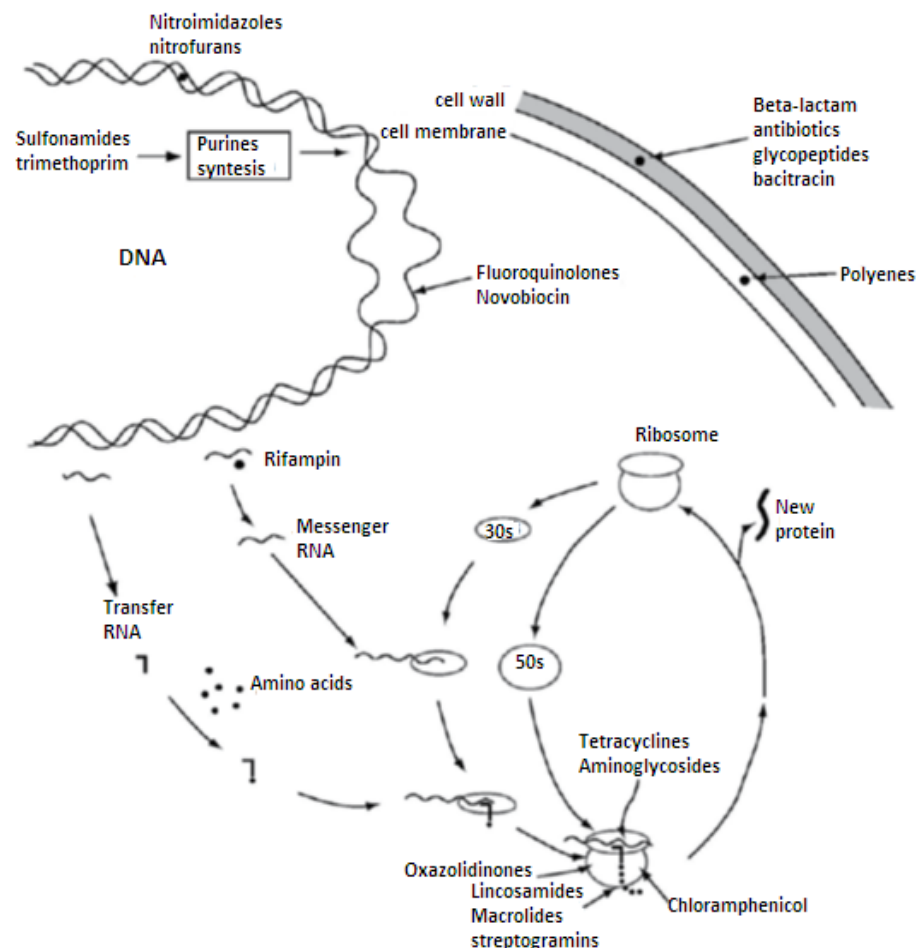
Le traitement des diarrhées repose sur les médicaments anti-diarrhéiques, les anti-infectieux à action locale, les adsorbants et topiques, les antibiotiques dans certains cas. La déshydratation provoquée par des diarrhées aiguës de toutes causes et dans tous les groupes d'âge peut, à moins d'être grave, être traitée efficacement et sans danger par une méthode simple, à savoir la solution de réhydratation orale : SRO (OMS, 2006).

##### **I.4.4.1. Antibiotiques ou anti-infectieux**

Un antibiotique est "tout composé chimique, élaboré par un organisme vivant ou produit par synthèse, à coefficient chimiothérapeutique élevé dont l'activité thérapeutique se manifeste à très faible dose d'une manière spécifique, par l'inhibition de certains processus vitaux, à l'égard des virus, des microorganismes ou même de certains êtres pluricellulaires"(Turpin et Velu, 1957). Les antibiotiques qui sont prescrits pour les patients souffrant de diarrhées infectieuses sont généralement l'ampicilline, métronidazole, la tétracycline et la vancomycine. Le médicament spécifique prescrit dépend de l'agent bactérien impliqué dans la diarrhée (Smith et Watson, 2005c). La classification des antibiotiques est basée sur leur origine, leur nature, leur mécanisme et leur spectre d'action (Wilks *et al.*, 2003a).

##### **I.4.4.1.1. Mécanisme d'action**

L'activité thérapeutique se manifeste à très faible dose d'une manière spécifique, par l'inhibition de certains processus vitaux, à l'égard des virus, des microorganismes ou même de certains êtres pluricellulaires. Chez les bactéries ces antibiotiques peuvent agir au niveau de la paroi ( $\beta$ -lactamines, Vancomycine, Fosfomycine, Cyclosérine), de la membrane plasmique (polypeptides cycliques), du ribosome (Aminoglycosides, Macrolides, Tétracyclines, Acides fusidique, phénicolés), des acides nucléiques (Quinolones, Rifamycines) et sur d'autres étapes du métabolisme intermédiaire (Sulfamides, Triméthoprim, Isoniazide) (Wilks *et al.*, 2003b ; Giguère, 2013) (Figure 14). Leur mode d'action bien que parfois imparfaitement connu, est d'une grande variabilité, voire complexité. Sa connaissance peut permettre de comprendre la synergie et les mécanismes de résistance naturelle et acquise.



**Figure 14** : Sites d'action des médicaments antibactériens (Giguère, 2013)

#### I.4.4.1.2. Activité antibactérienne

Certains médicaments antibactériens sont également considérés à spectre étroit car ils inhibent seulement les bactéries Gram-positives ou Gram-négatives, tandis que les médicaments à large spectre inhibent à la fois des bactéries Gram-positives et Gram-négatives (Giguère, 2013). L'activité antibactérienne peut être bactériostatique ou bactéricide.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la concentration la plus faible d'un antibiotique nécessaire pour empêcher la croissance bactérienne. En revanche, la concentration minimale bactéricide (CMB) est la concentration la plus faible d'un antibiotique nécessaire pour tuer 99,99 % de bactéries. Les antibactériens sont généralement considérés comme bactéricides si le rapport  $CMB/CMI < 4$  et comme bactériostatique si le rapport  $CMB/CMI \geq 4$  (Giguère, 2013).

#### I.4.4.2. Les antidiarrhéiques

Les agents antidiarrhéiques sont utilisés pour le soulagement symptomatique de la diarrhée. Ils comprennent les médicaments qui diminuent la motilité intestinale (Atropine, Lopéramide, opiacés) et de médicaments qui inhibent les sécrétions intestinales (lopéramide) (Camilleri et Szarka, 2009 ; Meite *et al.*, 2009 ; Tarr *et al.*, 2009 ; Faure, 2013).

Le loperamide est un opiacé de synthèse utilisé pour traiter la diarrhée. il réduit la motilité intestinale et augmente le temps de transit (Camilleri et Szarka, 2009). Le loperamide ralentit la motilité intestinale, augmente le tonus du sphincter anal et supprime la sécrétion de l'hormone corticotrope (ACTH) et du cortisol chez les humains et les animaux en agissant au niveau du récepteur "  $\mu$  " des opiacés situé sur le plexus myentérique. En plus de ses effets ralentisseurs du transit, le loperamide inhibe la sécrétion de l'eau et des électrolytes dans le grêle et le côlon. Le loperamide diminue la sécrétion intestinale (eau et électrolytes) qui est stimulée par la prostaglandine E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), agoniste de l'adénosine monophosphate 3 '5'-cyclique (AMPC) (Karim et Adaikan, 1977 Hughes *et al.*, 1984 ; Press *et al.*, 1991). Le loperamide agirait aussi par un mécanisme de blocage de la calmoduline médié par l'activité calmoduline qui stimule le couple Na<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup> (Stoll *et al.*, 1988).

Au Cameroun comme, les plantes médicinales sont utilisées partiellement ou totalement dans le traitement des maladies intestinales telles que les diarrhées, la constipation, les vomissements, la dysenterie amibienne etc. Nous pouvons citer entre autres *Oxalis barrelieri* (Fokam *et al.*, 2015), *Euphorbia scordifolia* (Kamgang *et al.*, 2015), *Sapium Ellipticum* (Wansi *et al.*, 2014), *Dissotis thollonii* (Ateufack *et al.*, 2014), *Picralima nitida* (Kouitchou *et al.*, 2013), *Mallotus oppositifolium* (Kamgang *et al.*, 2006), *Euphorbia prostrata* (Kamgang *et al.*, 2007).

## **I.5. *Crinum jagus***

### **I.5.1. Description et distribution géographique**

*Crinum jagus* (Figure 15), est une plante de la famille des Amaryllidacées à bulbe globuleux à allongé de 3 à 14 cm de diamètre. En Batié on l'appelle "Nlang Nkouoh" ce qui veut dire " (ananas du marigot) ". Ses feuilles sont en rosette basale, vert vif à sombre, de texture fine plus ou moins pétiolées de longueur très variable, 15 à 75 cm, de 2,5 à 8 cm de largeur, avec un apex intact.

*Crinum jagus* est distribué dans les régions tropicales et subtropicales à travers le monde. En Afrique on le trouve à l'Ouest depuis la Guinée jusqu'au Soudan et à l'Ouganda occidental à l'Est, au Sud en Angola. Au Cameroun, il est assez commun depuis la frontière Sud, jusqu' à l'Adamaoua au Nord et limité aux régions humides.



**Figure 15 :** *Crinum jagus* (photo prise par Noubissi en Avril 2012 à Batié)

### **I.5.2. Ethnopharmacologie**

La décoction des feuilles fraîches de *C. jagus* est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter la toux, l'asthme, le rhumatisme, les maux de tête, les pertes de mémoire et en cas d'intoxication alimentaire. Les espèces du genre *Crinum* présentent des propriétés antitumorales, antivirales et antipaludiques (Fennell et Staden, 2001). Les alcaloïdes isolés des bulbes de *C. jagus* ont montré des propriétés inhibitrices de l'acétylcholine-estérase, d'où son utilisation contre la maladie d'Alzheimer (Jäger *et al.*, 2004 ; Houghton *et al.*, 2004). L'extrait méthanolique de *C. jagus* a également montré des propriétés antivenimeuses (Ode et Asuzu, 2006) et cicatrisantes (Udegbunam *et al.*, 2015).

### **I.6. Étude de la toxicité**

#### **I.6.1. Définition**

La toxicité d'une substance est l'ensemble des actions nocives que celle-ci exerce sur un organisme vivant (Cheftel *et al.*, 1989). Les réactions toxiques résultent de l'absorption des doses excessives de médicaments ou substances. Ces effets toxiques peuvent entraîner des troubles de comportement, des troubles métaboliques et de croissance, des dysfonctionnements organiques et même la mort de l'animal. La toxicité d'un produit dépend de la dose, de la voie et de la durée d'administration (OMS, 1979). L'étude toxicologique de tout nouveau médicament s'avère nécessaire avant sa mise sur le marché. L'intérêt d'une telle étude est de déterminer le degré de toxicité du médicament dans le but d'une meilleure prescription clinique (Serrano, 1990). Il est donc judicieux de précéder à l'étude des propriétés pharmacologiques d'une substance par une étude toxicologique.

En fonction de la durée du traitement, on distingue la toxicité aiguë, la toxicité sub-aiguë ou sub-chronique et la toxicité chronique.

### **I.6.2. Toxicité aiguë**

La toxicité aiguë d'un produit se traduit par des manifestations immédiates observées sur un être vivant ou dans une population 24 à 48 heures après administration d'une dose unique de ce produit (OMS, 1992). 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 modifications comportementales ou autres signes qui apparaissent : locomotion, sensibilité au toucher et au bruit, agressivité, aspect des selles, 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 ( $DL_{50}$ ). Elle peut se déterminer selon la méthode de l'OMS qui consiste à administrer des doses croissantes à différents groupes d'animaux (5 mâles et 5 femelles) jusqu'à la dose létale médiane ou par la méthode de l'OCDE. Ici, la substance est administrée oralement à un groupe d'animaux expérimentaux à une des doses définies (entre 2000 et 5000 mg/kg) (OECD/OCDE, 2001). La substance est testée en employant un processus séquentiel, chaque étape employant trois animaux d'un même sexe (normalement des femelles). L'absence ou la présence de mortalité liée à la substance dans un groupe ayant reçu une dose à une étape donnée détermine l'étape suivante. 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 toxicité aiguë varie selon les espèces, l'âge et le sexe (Lu *et al.*, 1965). Plus couramment, on utilise les petits rongeurs (souris, rat, cobaye) dont la durée de vie est assez courte, et chez lesquels on espère observer d'une manière rapide des troubles de comportements. Pour des recherches spéciales, il est important de faire appel aux mammifères comme le chien, le porc, le chimpanzé ou le singe qui sont plus proches de l'espèce humaine que les rongeurs (OMS, 2000).

### **I.6.3. Toxicité subaiguë ou sub-chronique**

La toxicité sub-chronique d'une substance serait les manifestations observées après administration à l'animal des doses répétées de cette substance pendant une période d'environ 10 % de sa durée de vie, soit 90 jours pour un rat et un an pour un chien (Cheftel *et al.*, 1989). L'étude de la toxicité sub-chronique permet de déceler des troubles de croissance, alimentaires, biochimiques et histologiques (foie, reins, poumons, etc.) suite à l'administration continue d'une substance. Les animaux couramment utilisés sont des petits rongeurs et plus particulièrement les souris adultes ou des rats âgés de 8 semaines maximum.

#### I.6.4. Toxicité chronique

La toxicité chronique d'une substance s'observe chez un animal après administration répétée pendant une période s'étendant sur la plus grande partie de sa vie et sur plusieurs générations. Cette étude permet de détecter les substances responsables des maladies qui sont fonction de l'âge telles que les affections cardiaques, les déficiences rénales chroniques (Cheftel *et al.*, 1989).

La toxicité à long terme permet d'évaluer les effets carcinogènes, tératogènes, le nombre de petits, la morphologie et la longévité de la portée (Cheftel *et al.*, 1989).

#### I.6.5. Cytotoxicité

La cytotoxicité est la propriété d'un agent chimique ou biologique à être toxique pour les cellules, éventuellement jusqu'à les détruire. Le test de cytotoxicité permet la recherche d'un effet toxique sur un type cellulaire par une méthode évaluant un paramètre donné (croissance cellulaire, intégrité cellulaire, activité fonctionnelle cellulaire...). Son but est de déterminer la concentration inhibitrice 50% (IC<sub>50</sub>) qui est la concentration qui inhibe de moitié la prolifération cellulaire globale (Senthilraja et Kathiresan, 2015). Plusieurs méthodes d'étude de la cytotoxicité existent à ce jour ; entre autres les méthodes fondées sur des perturbations de la perméabilité membranaire et les méthodes fondées sur des altérations de la prolifération cellulaire.

- **Test MTT (bromure de 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium) :** L'anneau de tétrazolium que le MTT contient est réduit, par la succinate déshydrogénase mitochondriale des cellules vivantes actives, en formazan. Ceci forme un précipité de couleur violette dans la mitochondrie. La quantité de précipité formée est proportionnelle à la quantité de cellules vivantes (mais également à l'activité métabolique de chaque cellule). Il suffit donc après l'incubation des cellules avec du MTT pendant un certain temps à 37 °C (environ trois heures) de dissoudre les cellules, leurs mitochondries et donc les précipités de Formazan violets dans du DMSO 100 %. Un simple dosage de la densité optique à 550 nm par spectroscopie permet de connaître la quantité relative de cellules vivantes et actives métaboliquement (Senthilraja et Kathiresan, 2015).

- **Test LDH :** est basé sur la détection colorimétrique de la sécrétion de LDH (lactate déshydrogénase). La lactate déshydrogénase est une enzyme exclusivement cytoplasmique et relativement stable. L'augmentation de l'activité de cette enzyme dans le surnageant des cellules permet de détecter une altération de la perméabilité membranaire et par conséquent une mesure de la cytotoxicité.

- **Test au rouge neutre :** La cytotoxicité est exprimée comme étant la diminution, en fonction de la concentration, de la fixation du colorant vital rouge neutre après traitement par le produit ou la substance mis à l'essai. Le rouge neutre est un colorant cationique faible qui pénètre facilement dans les membranes cellulaires par diffusion, et s'accumule au niveau intracellulaire dans les lysosomes.



Le colorant est exclu des cellules mortes. Après le temps de contact avec la substance à tester, la quantité de rouge neutre incorporée dans les cellules est mesurée par spectrophotométrie.

### **I.7. Activité antioxydante : notion de radicaux libres**

Les radicaux libres sont des molécules avec un ou plusieurs électrons libres (Lehucher-Michel *et al.*, 2001). Un électron libre est hautement réactif et très instable. Ces radicaux libres se lient avec des éléments stables du corps, afin de leur prendre un électron et acquérir une certaine stabilité. Suite à la perte de son électron, l'élément devient lui-même un radical libre et ira prendre un électron à un autre élément stable entraînant une cascade de réactions (Koechlin-Ramonatxo, 2006). Ce phénomène aboutit à la production de plus en plus de radicaux libres. Les radicaux libres attaquent certaines parties du corps, ce qui cause plusieurs dommages. Toutes ces réactions contribuent à endommager les cellules. De plus, cela induit la progression de certaines maladies telles que le cancer, le diabète, ainsi que le vieillissement. L'organisme limite l'extension des réactions radicalaires par des réactions enzymatiques, en piégeant les radicaux libres grâce à des molécules appelées antioxydants. Les antioxydants neutralisent les radicaux libres en leur donnant un électron, ce qui arrête le processus. Quand ils perdent des électrons, les antioxydants ne deviennent pas des radicaux libres car, ils sont stables sous toutes les formes. Les antioxydants se retrouvent sous plusieurs formes dans l'alimentation. En effet, on peut les retrouver sous forme de minéral (zinc, manganèse et sélénium) ou sous forme de vitamine (vitamine E, bêta-carotène et vitamine C). D'un point de vue du mécanisme, l'oxydation est basée soit sur une réaction de transfert d'un électron ou une réaction de transfert d'hydrogène entre un oxydant et un radical libre.

Dans la pathologie diarrhéique, de nombreux produits libérés par les bactéries invasives, comme les lipopolysaccharides et les peptidoglycanes sont des stimulants potentiels de radicaux libres liés à la production de cytokines par les macrophages (Droy-Lefaix et Bueno 2003). Qu'elle soit infectieuse ou non, la diarrhée est le plus souvent accompagnée de la production d'espèces réactives d'oxygènes à l'origine du stress oxydatif qui est la conséquence d'un déséquilibre métabolique et conséquent à l'inflammation de la muqueuse intestinale (Buccigrossi *et al.*, 2014 ; Ivanov *et al.*, 2017). En présence de virus, comme le rotavirus, 3 jours après l'infection, quand le pic de sévérité de l'infection est atteint, les taux de glutathion et de dérivés thiols sont significativement diminués ; il en est de même pour les enzymes de défense antioxydantes comme la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase et la glutathion transférase. Parallèlement, une augmentation de la lipoperoxydation est notée (Droy-Lefaix et Bueno 2003). Cette libération de radicaux libres, par l'inflammation qu'elle engendre, est à l'origine de sévères altérations de l'intégrité de la barrière muqueuse intestinale (Chiu et al., 2003). Au cours de l'infection entérique par les bactéries invasives, le monoxyde d'azote (NO), un radical peu réactif, est produit par la L-arginine *via* l'enzyme « Nitric Oxyde Synthase inductible » (NOS i) des cellules épithéliales (Droy-Lefaix et

Bueno 2003). De fortes productions de NO peuvent être à l'origine de dommages de la muqueuse intestinale. Le NO peut directement agir sur les cellules épithéliales en dilatant les jonctions étroites mais aussi en interagissant avec l'anion superoxyde libéré au cours de la cascade inflammatoire. En présence de cet anion superoxyde, ( $O_2^-$ ), le NO libère un puissant agent oxydant, le peroxynitrite ( $ONOO^-$ ), un radical connu pour ses effets délétères sur les tissus de l'hôte. Ainsi, l'augmentation de l'expression de la NOS i est observée au cours de l'infection par un *Escherichia coli* entéroinvasif et *Shigella flexneri* (Droy-Lefaix et Bueno 2003).

**Chapitre II**

**Matériel  
et  
méthodes**

## **II.1. Matériel**

### **II.1.1. Matériel végétal**

Le matériel végétal utilisé ici est *Crinum jagus*, une plante de la famille des Amaryllidacées. La plante entière a été récoltée aux abords des rivières au mois d'Avril 2012, dans l'Arrondissement de Batié, Département des Hauts-Plateaux, Région de l'Ouest Cameroun. Elle a été identifiée à l'herbier national par comparaison à l'échantillon conservé sous le numéro 14049 HNC.

### **II.1.2. Matériel animal**

#### **II.1.2.1. Animaux expérimentaux**

Nous avons utilisé des rats mâles et femelles de souche Wistar pesant entre 90 et 120 g. Ces animaux dont l'âge était compris entre 2,5 et 3 mois ont été élevés à l'Animalerie du Laboratoire d'Endocrinologie et de Radioéléments de l'Institut de Recherche Médicale et d'étude de Plantes Médicinales (IMPM) à température ambiante, cycle lumineux naturel, aération suffisante et accès à l'eau et aux aliments *ad libitum*. Ils ont été nourris à la provende dont la composition pour 1 kg était la suivante : maïs (60 %), farine de blé (10 %), farine de poisson (12 %), farine de soja (15 %), et tourteau de palmiste (3 %) enrichie du complexe vitaminique (Kamgang *et al.*, 2008).

#### **II.1.2.2. Microorganismes expérimentaux**

Les microorganismes utilisés dans le test d'activité antimicrobienne *in vitro* étaient *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* A1 et *Shigella flexineri* provenant du Laboratoire de Bactériologie de Centre Pasteur du Cameroun. *In vivo*, l'induction de la shigellose chez les rats a été faite à l'aide de la souche de *Shigella flexineri*.

#### **II.1.2.3. Cellules LLC-MK2**

Les cellules LLC-MK2, cellules de l'épithélium rénal de singe (*American type culture collection*, Virginia, USA) ont été utilisées. Ces cellules ont été cultivées dans le milieu de culture complet RPMI-1640 enrichie de : L-glutamine 0,29 g/L, bicarbonate de sodium (NaHCO<sub>3</sub>), HERPES 25 mM, pénicilline 200 U/ml et streptomycine 200 µg/mL).

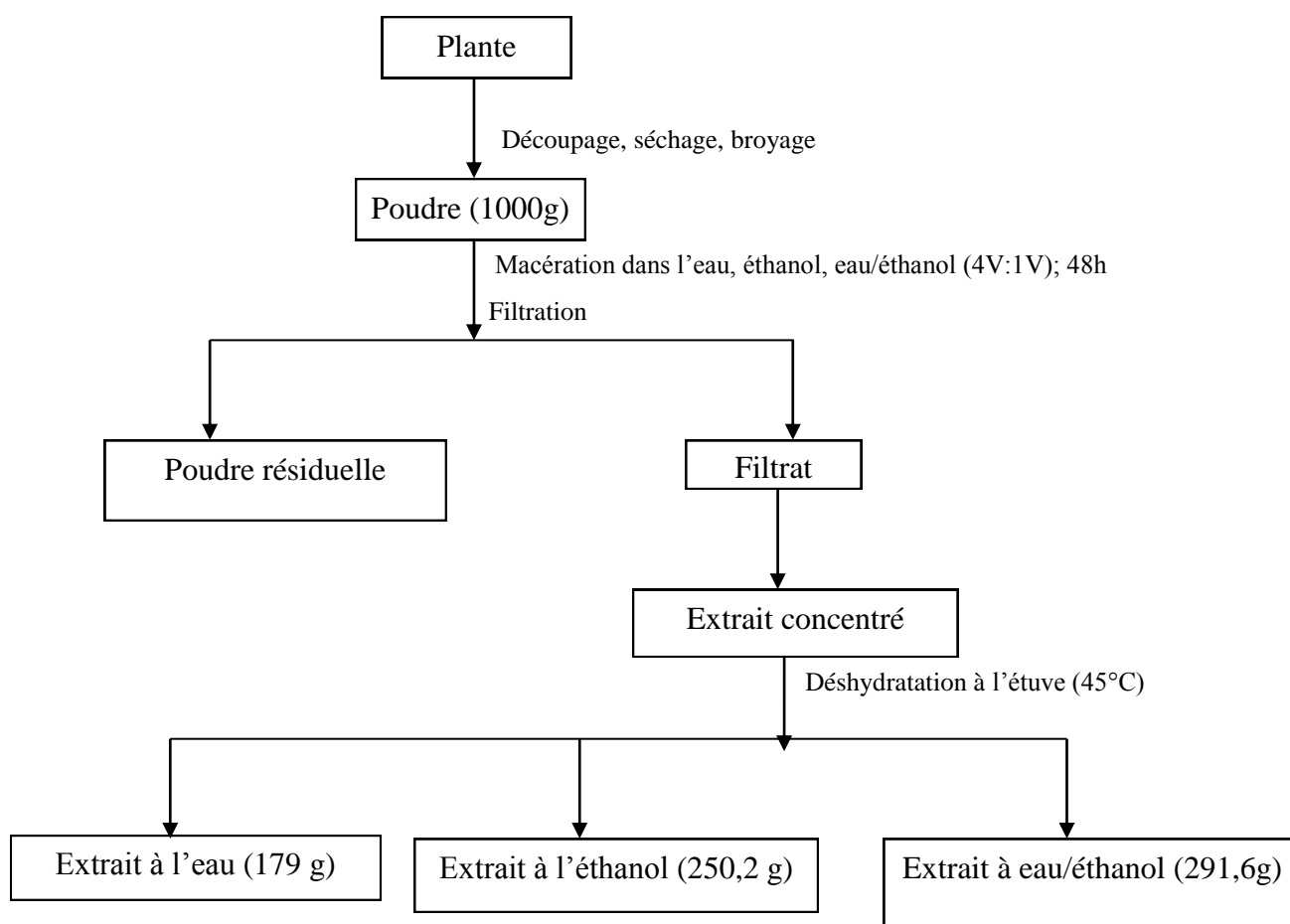
## **II.2. Méthode**

### **II.2.1. Préparation des extraits *Crinum jagus***

#### **II.2.1.1. Préparation des extraits totaux**

La plante entière de *C. jagus* débarrassée des racines, a été découpée et séchée à l'ombre afin d'éviter une quelconque dénaturation de ses composés par les rayons solaires puis broyée. A partir de la poudre obtenue, nous avons préparé les extraits à l'eau, à l'éthanol 95° et au mélange éthanol/eau (1V/4V). Pour chaque extrait, 1000 g de poudre ont été macérés à la température ambiante dans 5 L

de solvant pendant 48 heures avec agitation de temps en temps puis filtrés à l'aide du papier Whatman numéro 1. Après filtration, les résidus des différentes extractions ont été une fois de plus macérés dans leur solvant respectif et filtrés. Pour les extractions alcoolique et hydroalcoolique, les filtrats ont été mélangés puis passés à un évaporateur rotatif (BÜCHI Rota vapor R-124) dont le ballon était plongé dans un bain marie à 45 °C. Ceci a conduit à l'évaporation complète de l'éthanol. La solution restant dans le ballon n'étant pas complètement déshydratée (extrait hydroéthanolique) a été, tout comme les filtrats de l'extraction aqueuse, répartie en fraction aliquot dans des flacons et placée dans une étuve à ventilation (Memmert Model 700) à 45 °C pour évaporation complète de l'eau. Au terme de toutes ces opérations, nous avons obtenu 291,6 g (29,19 %) d'extrait à l'éthanol/eau (WECj) homogène de couleur sombre, 250,2 g (25,02 %) d'extrait à l'éthanol (ECj) et 179 g (17,90 %) d'extrait aqueux (WCj) (Figure 16). L'extrait à administrer a été dissout dans de l'eau distillée ou dans une solution de DMSO 2 % (extrait alcoolique).



**Figure 16** : Protocole d'extraction de *C. jagus*

### II.2.1.2. Fractions

#### - Fraction flavonoïdes

Des feuilles et bulbes séchés et broyés de *C. jagus* (500 g) ont été dégraissés avec de l'éther de pétrole (1:1 v/v) dans un Soxhlet. La poudre dégraissée a été macérée dans de l'alcool méthylique

(80 %) et ce, dans un Soxhlet jusqu'à épuisement pour obtenir un filtrat alcoolique lequel a été séché sous pression réduite. L'extrait alcoolique a ensuite été chromatographié sur une colonne de résine AB-8 suivi d'une élution avec un gradient eau-alcool (40 %) donnant 36 fractions. Les fractions éluées ont été réunies et ensuite lyophilisées pour obtenir 133,8 g de poudre (A). Ensuite, après la séparation chromatographique de la poudre A (96,18 g) sur une colonne de gel de Silice et élution avec un gradient de mélange de cyclohexane et d'acétoacétate, 36 fractions ont été obtenues. Les 36 fractions ont été réunies pour donner la fraction flavonoïdes (61,84 g) (Jian-Guo *et al.*, 2007).

#### **- Fraction alcaloïdes**

Pour obtenir les alcaloïdes, la poudre de *C. jagus* (500 g) a été macérée dans de l'acétate d'éthyle pendant 72 heures à température ambiante. Du filtrat obtenu, le solvant a été évaporé dans un évaporateur rotatif sous pression réduite à 40 ° C. La poudre obtenue après évaporation a été dissoute dans de l'eau et le pH ajusté à 3-4 (à l'aide de l'acide sulfurique) puis dans de l'éther de pétrole et dans de l'éther diéthylique pour éliminer les substances lipophile, acide et neutre. Après l'alcalinisation de la solution (à un pH de 9 à 10 avec NH<sub>4</sub>OH (25 %, m/m)), elle a été extraite avec du chloroforme, suivi d'un lavage dans de l'eau distillée à pH neutre puis séchée avec du Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et concentrée sous pression réduite pour obtenir les alcaloïdes totaux (192.14 g) (Djilani *et al.*, 2006).

#### **- Fraction saponines**

Les Saponines totales ont été obtenues par la méthode d'adsorption (Jian-Guo *et al.*, 2007) avec quelques modifications. La poudre de *C. jagus* (500 g) a été dégraissée deux fois de suite à l'aide de l'éther de pétrole dans du soxhlet (24 heures x 2). La poudre dégraissée a été ensuite passée dans de l'éthanol à 75 % (10 mL/g) pendant 3 h avec agitation constante. Après une filtration par aspiration, l'extraction à partir du résidu a été répétée. Les filtrats ont été combinés et le solvant évaporé sous vide. L'extrait sec obtenu a été dissous dans de l'eau distillée à une concentration de 100 g/L et ensuite fractionné sur une colonne d'adsorption macroporeuse de résine AB-8 respectivement avec de l'eau distillée et de l'éthanol 50%. Le filtrat éthanolique a été évaporé sous vide. L'extraction a produit 1,84 % (p/p) de saponines totales de *C. jagus*.

### **II.2.2. Détermination de l'extrait et de la fraction efficaces**

La détermination de l'extrait et de la fraction efficaces de *C. jagus* ainsi que des doses à utiliser a été faite en déterminant les effets de ces extraits sur la diarrhée induite par l'huile de castor, la détermination de la sensibilité de différentes souches microbiennes et la toxicité cellulaire. Les différentes doses d'extrait aussi bien que les produits de référence ont été administrés par voie orale à l'aide d'une sonde à gavage et à dose unique. La concentration ainsi que le volume de la solution étaient fixés selon les besoins de chaque test. Le volume de substance que chaque animal recevait était fonction de son poids, et était de 10 mL/kg de poids corporel.

### II.2.2.1. Effet des différents extraits de *Crinum jagus* sur les diarrhées sécrétoires induites par l'huile de castor

Nous avons utilisé les extraits à l'eau, à l'éthanol et à eau/éthanol de *C. jagus* ainsi que les fractions flavonoïdes, alcaloïdes et saponines.

Huit groupes de cinq rats chacun, logés individuellement dans une cage métabolique ont été mis à jeun pendant 18 heures avec accès libre à l'eau. Les animaux du premier groupe (contrôle diarrhéique) ont reçu de l'eau distillée (10 mL/kg PC), le groupe témoin traité (Lop5) a reçu le Lopéramide (5 mg/kg PC) (ELDOPER, Micro Labs. 92, sipcot, Hosur-635126, India) et les groupes essais ont reçu respectivement par voie orale l'une des doses (25, 50 et 100 mg/kg PC) d'extraits ou de fraction (6, 12 et 24 mg/kg PC) de *C. jagus*. Trente (30) minutes après, la diarrhée a été induite chez les rats par administration *per os* et à l'aide d'une sonde œsophagienne de l'huile de castor (10 mL/kg PC) à tous les animaux (Doherty, 1981). Les animaux ont été ensuite placés individuellement dans des cages métaboliques contenant du papier filtre préalablement pesé et placé sous la grille. Ces papiers ont été changés chaque heure pendant quatre heures et les paramètres diarrhéiques (temps de latence, fréquence et masse totale des selles diarrhéiques) ont été enregistrés (Sairam *et al.*, 2003). Le pourcentage de variation de la masse des selles diarrhéiques a été déterminé par la formule :

$$\text{Inhibition(\%)} = \frac{\text{MSTD} - \text{MSED}}{\text{MSTD}} \times 100$$

MSTD : masse de selle des témoins diarrhéiques, MSED : masse des selles du groupe essai diarrhéique

### II.2.2.2. Susceptibilité antimicrobienne

#### II.2.2.2.1. Préparation des inocula microbiens

La gélose nutritive a étéensemencée par la méthode de stries grâce à une anse de platine et incubée pendant 18 à 24 heures à 37°C à l'étuve à ventilation (Memmert Model 700) pour l'activité anti bactérienne et 48 heures à 25°C pour l'activité antifongique. Une ou deux colonies microbiennes ont été transférées dans un tube contenant 5 mL d'eau physiologique stérile. Après homogénéisation, l'opacité de la suspension bactérienne dans le tube a été ajustée au point 0,5 de l'échelle de Mac Farland. Pour ajuster les inocula microbiens, étant assuré que l'étalon 0,5 a été bien préparé en vérifiant que sa densité optique à 625 nm est comprise entre 0,08-0,1 ; la turbidité lu à 450 nm (NCCLS, 1999). Les suspensions microbiennes ont été lues à la même longueur d'onde (450 nm), et diluées avec de l'eau physiologique stérile selon qu'elles ont été plus opaques ou concentrées par ajout de quelques colonies jusqu'à l'équivalence à la turbidité de l'étalon (0,5 Mac Farland) qui correspond à une concentration bactérienne d'environ  $1,5 \cdot 10^8$  UFC / mL. Après une dilution au  $1/10^6$  ( $1,5 \cdot 10^7$  UFC /mL), 150 µL de la suspension ont été prélevés et dilués pour obtenir un volume de 4,5 mL. Cette dernière suspension bactérienne a été considérée comme l'inoculum standard ( $1,5 \cdot 10^5$  UFC/mL) (SFM, 2008).

Pour l'induction de la shigellose chez les rats, nous avons concentré l'inoculum bactérien en ajoutant des colonies bactériennes dans les tubes jusqu'à l'équivalence avec la turbidité du point 3 de l'échelle de Mac Farland qui correspond à une concentration bactérienne d'environ  $9.10^8$  UFC/mL.

#### **II.2.2.2. Ensemencement**

L'ensemencement a été effectué dans les 15 minutes qui suivaient la préparation des inocula par inondation. 500  $\mu$ L de chaque suspension standardisée ( $2,5.10^5$  UFC) ont été répandus à la surface du milieu Mueller Hinton et du milieu SS contenu dans les boîtes de Pétri et l'excès a été aspiré à l'aide d'une pipette pasteur stérile munie d'une poire (SFM, 2008).

#### **II.2.2.3. Préparation des disques de papier et détermination de la sensibilité microbienne**

Des disques de papier filtre (Whatman N°3) de 6 mm de diamètre ont été fabriqués à l'aide d'un perforateur de papier (PUNCH NO.9956-1) et introduits dans un tube en verre, puis stérilisés à l'autoclave (125°C pendant 30 minutes). Différentes concentrations (0,39 à 200 mg/mL) de chaque extrait ou fraction de plante ont été préparées (Kamgang *et al.*, 2015). Chaque disque de papier a été imprégné de 50  $\mu$ L d'une des solutions préparées et déposé à l'étuve à 25°C pendant 24 heures pour déshydratation complète. Ces disques imprégnés ont été ensuite déposés à la surface de la gélose 15 minutes après l'ensemencement. Après trente minutes de pré-incubation sous la hotte, les boîtes de Pétri ont été incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C à l'étuve pour l'activité anti bactérienne et 48 heures à 25°C pour l'activité antifongique. Après incubation, les diamètres ou zones d'inhibition ont été évalués. Chaque essais a été réalisé à trois reprise (Shinde et Mulay, 2015).

#### **II.2.2.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)**

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la plus petite concentration d'antibiotique qui ne présente aucune croissance microbienne visible (Olajuyigbe et Afolayan, 2012). Elle a été déterminée par la méthode de dilution en milieu solide. Quinze (15) boîtes de Pétri stériles ont été utilisées pour chaque série :

- Deux considérées comme témoin blanc (TB) et témoin contrôle (TC) contenant uniquement l'agar Mueller Hinton,
- Treize boîtes tests contenant chacune, l'une des concentrations croissantes d'extrait incorporé dans la gélose Mueller Hinton.

La gamme de concentrations des extraits a été préparée dans des tubes à essai par dilution avec des concentrations finales allant de 50 à 0,05 mg/mL. Cette dilution a consisté à introduire 2 mL de chaque extrait dans 18 mL d'agar Muller-Hinton fondue et pré-stérilisée à 40°C. Après solidification, les surfaces des milieux à l'exception du TB ont été ensemencées par stries à l'aide d'une anse de platine avec une culture microbienne de 18 h d'âge issue de l'inoculum standard. Les



boîtes ont ensuite été incubées à 37°C pendant 18-24 h pour les bactéries et à 25°C pendant 48 h pour les champignons. Après cette période d'incubation, les boîtes ont été observées pour les CMI en identifiant la concentration de la première boîte de la série (concentration ascendante d'extrait et en d'antibiotique) qui ne présentait aucune trace visible de croissance. La concentration de l'extrait ou de la fraction de cette dernière a été considérée comme la CMI (Hasan *et al.*, 2009).

#### **II.2.2.2.5. Détermination de la Concentration minimale bactéricide et de la concentration minimale fongicide**

Pour déterminer la concentration minimale bactéricide (CMB) et la concentration minimale fongicide (CMF) de l'extrait ou des fractions sur les microbes, à partir de la boîte de Pétri précédemment considérée comme CMI, la surface des boîtes n'ayant montré aucune croissance microbienne visible à l'œil nu a été raclée et repiquée en stries à l'aide d'une anse de platine sur les plaques de gélose Muller Hinton stérile. L'incubation a été faite à 37° pendant 18-24 h et à 25 °C pendant 48 h pour les bactéries et les champignons respectivement. La plus faible concentration pour laquelle on n'observe aucune colonie microbienne (99,99% de destruction) a été considérée comme la Concentration Minimale Bactéricide (ou Fongicide) CMB, (CMF), de l'extrait ou de la fraction sur la souche testée (Kamgang *et al.*, 2015).

Tous les tests antimicrobiens ont été effectués dans des conditions aseptiques strictes pour assurer la qualité des résultats.

#### **II.2.2.3. Cytotoxicité des extraits et fractions de *Crinum jagus* : Test de viabilité cellulaire au MTT**

**a. Principe :** L'analyse est basée sur l'hydrolyse du 3-(4,5-diméthiazol-2-yl)-2,5-diphényl bromure de tétrazolium (MTT) jaune en cristaux de formazan pourpres, par les cellules métaboliquement actives (les déshydrogénases mitochondriales des cellules vivantes coupent le cycle tétrazolium, induisant ainsi la formation de cristaux pourpres de formazan qui sont insolubles dans les solutions aqueuses). Ces cristaux sont solubilisés dans du DMSO et absorbent avec un maximum à 570 nm

**b. Mode opératoire :** L'étude cytotoxique a été réalisée sur des cellules de l'épithélium rénal (LLC-MK2) de singe. Pour la prolifération cellulaire, les cellules LLC-MK2 ont été incubées dans la gélose complète (37°C en présence de CO<sub>2</sub> 5 % dans de l'air humidifié). La solution cellulaire a été ensuite répartie dans les puits d'une plaque ELISA (96 puits à raison de 150 µL par puits soit 22 000 cellules environ) puis incubée afin de permettre l'adhésion cellulaire à la paroi des plaques. Après 18-24 heures d'incubation, les cellules ayant déjà adhéré, les milieux de culture sont aspirés des puits et remplacés par différentes concentration d'extraits ou de fractions : 3,9 ; 7,8 ; 15,6 ; 31,3 ; 62,5 ; 125 ; 250 et 500 µg/mL. Les puits contrôles négatif et positif ont reçu respectivement du DMSO 0.5% et du Triton X-100 0,1 %. Les cellules ont été ensuite passées à incubation (24 heures à 37°C

en présence de CO<sub>2</sub> 5 % dans de l'air humidifié). Après cette incubation, les différents extraits et fractions à différentes concentrations ont été aspirés et les différentes couches cellulaires lavées au milieu RPMI 1640 sans sérum (150 µL/puits). Les cellules ont été ensuite ré incubées à 37°C pendant 4 heures avec du MTT, 0,5 mg/mL (MTT; Sigma, St Louis, MO, USA). Après ce temps d'incubation, le MTT non cristallisé a été aspiré des puits, le HCl (200 µL/puits) introduit pour lyser les cellules et le DMSO (100 µL/puits) pour solubiliser les cristaux de formazan. La conversion du MTT en cristaux pourpres de formazan indique la viabilité cellulaire. L'intensité de la coloration de chaque puits a été lue au lecteur de plaque à 595 nm avec un background à 650 nm. Le contrôle négatif a été considéré comme référence avec 100% de viabilité et pour déterminer la viabilité dans les puits incubés avec les différents extraits et fractions, la formule suivante a été utilisée (Nondo *et al.*, 2015) :

$$\text{Viabilité (\%)} = \frac{\text{DOt}}{\text{DOc}} \times 100$$

DOt : Densité optique test, DOc : Densité optique contrôle

Chaque concentration d'extrait ou de fraction a été testée trois fois.

A l'issu de cette première partie portant sur les diarrhées induites par l'huile de castor, sur la sensibilité microbienne *in vitro* et sur la cytotoxicité, l'extrait hydroéthanolique de *Crinum jagus* a été retenu pour son efficacité. L'activité sur le transit intestinal, sur la sécrétion intestinale (enteropooling) et l'activité *in vivo* sur la diarrhée induite par *Shigella flexineri* de cet extrait ont été évaluées chez les rats, ainsi que l'étude de sa toxicité aigüe.

### **II.2.3. Tests phytochimiques de l'extrait à l'éthanol/eau de *Crinum jagus***

L'extrait hydroéthanolique a été sujet à plusieurs tests phytochimiques qualitatifs réalisés selon la méthode de Trease et Evans (Trease et Evans, 1983).

#### **II.2.3.1. Test des tanins**

L'extrait (0,5 g) a été dissout dans 5 mL d'eau distillée et chauffé dans un bain marie à 70 °C pendant 3 minutes. Le mélange a été ensuite filtré et le filtrat a été additionné à 2 mL de FeCl<sub>3</sub> 3 %. La présence des tanins dans notre extrait est matérialisée par un précipité bleu foncé.

#### **II.2.3.2. Test des alcaloïdes**

Cent (100) mg d'extrait ont été dissous dans 1 mL de solution aqueuse d'acide chlorhydrique 1 % puis filtré. Six gouttes de réactif de Dragendorff ont été ajoutées au filtrat obtenu précédemment. L'obtention d'un précipité rouge traduit la présence des alcaloïdes.

### **II.2.3.3. Test des saponines**

Un demi-gramme d'extrait a été dissous dans 5 mL d'eau distillée. Le mélange a été vigoureusement agité. La formation d'une mousse persistante au-delà de 10 min était signe de la présence des saponines dans l'extrait.

### **II.2.3.4. Test des flavonoïdes**

Nous avons préparé 5 mL d'extrait de *C. jagus* (0,4 mg/mL) dans lequel nous avons ajouté 0,5 mL de HCl puis le copeau de magnésium. L'apparition d'une coloration rouge a indiqué la présence des flavonoïdes dans notre extrait.

### **II.2.3.5. Test des phénols**

Deux millilitres d'extrait (100 mg/mL) ont été mélangés à 3 mL d'une solution de FeCl<sub>3</sub> 5 %. Au mélange initial 5 gouttes de cyanure ferrique potassique K<sub>3</sub>Fe (CN)<sub>6</sub> 5 % ont été ajoutées. La formation d'un précipité vert sombre indiquait la présence des phénols.

### **II.2.3.6. Test des triterpènes**

Dans un tube à essai contenant 2 mL d'extrait à l'éthanol/eau de *C. jagus* (10 g/mL), nous avons ajouté les mêmes quantités de chloroforme et d'anhydride acétique (3 mL) et ensuite nous avons ajouté 0,4 mL d'une solution d'acide sulfurique concentré. Après agitation, l'obtention d'une coloration violette caractérise la présence des triterpènes dans l'extrait.

### **II.2.3.7. Test des coumarines**

Dans un tube à essai contenant 10 mL d'extrait à l'éthanol/eau de *C. jagus*, (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 trois fois successives avec 2 mL d'éther. Cette solution (2 mL) a été placée sur une source de rayonnement UV. L'obtention d'une fluorescence est synonyme de la présence des coumarines dans l'extrait.

### **II.2.3.8. Test des anthraquinones**

Dans un tube à essai contenant 1 mL d'extrait à l'éthanol/eau de *C. jagus*, ont été ajoutés quelques 2 mL d'éther puis 3 mL d'une solution d'ammoniaque 10 %. Après agitation, la solution laissée au repos n'a pas présenté une coloration rose caractéristique des anthraquinones traduisant ainsi son absence dans l'extrait.

### **II.2.3.9. Test des anthocyanidines**

Une solution d'acide chlorhydrique 10 % (15 mL) a été ajoutée à 15 mg d'extrait de plante. Après l'avoir laissé pendant 30 minutes, nous y avons ajouté 15 mL d'eau distillée et la solution

obtenue a été soumise à trois lavages successifs avec 6 mL d'éther chacun. La coloration rouge traduit la présence des anthocyanidines.

#### **II.2.3.10. Test des polysaccharides**

A la moitié d'un mg d'extrait, nous avons ajouté 1 mL d'eau distillée puis quelques gouttes de liqueur de Fehling A et B. Après chauffage, l'obtention d'une coloration rouge traduit la présence de polysaccharides dans notre extrait.

#### **II.2.3.11. Test des stérols**

Dans un tube à essai contenant 10 mg d'extrait à l'éthanol/eau de *C. jagus*, nous avons ajouté quelques 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. 0,5 mL d'acide anhydride a été ajouté à la solution obtenue après lavage puis le même volume de chloroforme y est également ajouté. L'obtention d'une coloration rouge violette caractérise la présence des stérols.

### **II.2.4. Evaluation des effets de l'extrait hydroéthanolique de *Crinum jagus* sur le transit intestinal chez les rats**

#### **II.2.4.1. Transit intestinal normal**

Cinq groupes de cinq rats normaux chacun ont été utilisés pour cet essai. Les animaux ont été mis à jeun avec accès libre à l'eau 18 heures avant le début de l'expérience. Après ce jeun, le groupe témoin normal (TN) a reçu oralement de l'eau distillée (10 mL/kg PC), le groupe témoin traité a reçu de l'atropine sulfate (0,2 mg/kg de PC) et les groupes essais ont reçu respectivement par voie orale 25, 50 et 100 mg/kg d'extrait hydroéthanolique de *C. jagus*. Trente (30) minutes après, chaque animal a reçu par voie orale 10 mL/kg PC de charbon (10 % charbon activé dans 5% de gomme arabique). Trente (30) minutes après administration du charbon, les animaux ont été sacrifiés et l'abdomen ouvert. La distance de progression du charbon dans l'intestin (du pylore au cæcum) a été mesurée et exprimée en pourcentage de la distance totale de l'intestin grêle (Fokam *et al.*, 2015). L'inhibition a été déterminée par la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{\text{DPCT (\%)} - \text{DPCE (\%)}}{\text{DPCT (\%)}} \times 100$$

DPCT : distance parcourue par le charbon chez le groupe témoin normal, DPCE : distance parcourue par le charbon chez le groupe essai

#### **II.2.4.2. Effets sur l'accélération du transit intestinal par le carbachol**

Six groupes de cinq rats chacun ont été soumis à 18 heures de jeun avec accès libre à l'eau. Après le jeun, les groupes témoin normal (TN) et contrôle positif (PC) ont reçu oralement de l'eau distillée (1 mL/100 g P.C.), le groupe témoin traité de l'atropine sulfate (0,2 mg/kg PC) et les groupes essais ont reçu respectivement par voie orale 25, 50 et 100 mg/kg d'extrait hydroéthanolique

de *C. jagus*. Trente (30) minutes après ce traitement, du carbachol hydrochloride (Sigma Aldrich, RT 66223 ; lot 622PX) 0,5 mg/kg P.C. a été administré par voie intrapéritonéale à ces animaux. Juste après administration du carbachol, chaque animal a reçu par voie orale 1 mL/100 g P.C. de charbon (10 % charbon activé dans 5% de gomme arabique) et 30 minutes après l'administration du charbon, les animaux ont été sacrifiés et l'abdomen ouvert, la distance de progression du charbon dans l'intestin (du pylore au caecum) a été mesurée et exprimée en pourcentage de la distance totale de l'intestin grêle. L'inhibition (%) a été déterminée par la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{\text{DPCT (\%)} - \text{DPCE (\%)}}{\text{DPCT (\%)}} \times 100$$

DPCT : distance parcourue par le charbon chez le groupe témoin, DPCE : distance parcourue par le charbon chez le groupe essai

#### **II.2.4.3. Effets sur l'accélération du transit intestinal par la sérotonine**

Huit groupes de cinq rats chacun ont été soumis à 18 heures de jeun avec accès libre à l'eau. Après le jeun, le groupe témoin normal (TN) a reçu oralement de l'eau distillée (1 mL/100 g P.C.), le groupe témoin traité a reçu du loperamide (5 mg/kg PC) et les groupes essais ont reçu respectivement par voie orale 25, 50 ou 100 mg/kg d'extrait à l'éthanol/eau de *C. jagus*. Trente (30) minutes après, chaque animal a reçu par voie intrapéritonéale de la sérotonine (5-HT) (Sigma Aldrich, H9523 ; lot 441TO) 1 mg/kg P.C. Juste après administration de la sérotonine, chaque animal a reçu par voie orale 1 mL/100g de P.C. de charbon (10 % charbon activé dans 5 % de gomme arabique) et 30 minutes après, les animaux ont été sacrifiés et l'abdomen ouvert, la distance de progression du charbon dans l'intestin (du pylore au caecum) a été mesurée et exprimée en pourcentage de la distance totale de l'intestin grêle. L'inhibition (%) a été déterminée par la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{\text{DPCT (\%)} - \text{DPCE (\%)}}{\text{DPCT (\%)}} \times 100$$

DPCT : distance parcourue par le charbon chez le groupe témoin, DPCE : distance parcourue par le charbon chez le groupe essai

#### **II.2.5. Effet de la yohimbine, du glibenclamide et de l'isosorbide dinitrite sur l'activité anti diarrhéique de l'extrait eau/éthanol de *Crinum jagus***

Nous avons utilisé cinq groupes de rats répartis en deux lots. Les animaux ont été soumis à 18 heures de jeun avec accès libre à l'eau. Les rats du premier lot divisés en 3 groupes tests ont reçu respectivement pour le groupe 1 de la yohimbine (Sigma Life Science, Y3125 ; lot 862NE) 1 mg/kg de P.C. par voie sous cutanée ; du glibenclamide (Sigma Life Science, Y0000242 ; lot 261YA) 1 mg/kg de P.C. par voie orale pour le groupe 2 et de l'isosorbide dinitrite (Sigma Aldrich, I0775000; lot 830HR) 150 mg/kg de P.C. par voie orale pour le groupe 3. Les animaux du second lot, ont été divisés en deux groupes, n'ayant reçu aucun prétraitement : le groupe 4 considéré comme témoin essai et le groupe 5 considéré comme témoin normal. Trente minutes après, tous les animaux du

premier lot et ceux du groupe 4 ont reçu de l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* (100 mg/kg de P.C.) tandis que ceux du groupe 5 ont reçu de l'eau distillée (1 mL/100g de P.C.) *per os*.

Trente (30) minutes après, la diarrhée a été induite chez les animaux par administration *per os* de l'huile de castor (1 mL/100g P.C.) à tous les animaux (Doherty, 1981). Les animaux ont été ensuite placés individuellement dans des cages métaboliques contenant du papier filtre préalablement pesé et placé sous la grille de la cage. Ces papiers filtres ont été changés chaque heure pendant quatre heures et les paramètres diarrhéiques (temps de latence, fréquence et masse totale des selles diarrhéiques) enregistrés (Sairam *et al.*, 2003). Le pourcentage d'inhibition de la diarrhée a été déterminé par la formule :

$$\text{Inhibition(\%)} = \frac{\text{MSTD} - \text{MSED}}{\text{MSTD}} \times 100$$

MSTD : masse des selles des témoins diarrhéiques, MSED : masse des selles des groupes essais diarrhéiques

## **II.2.6. Evaluation des effets de l'extrait hydroéthanolique de *Crinum jagus* sur l'action du Naloxone sur le transit intestinal chez les rats**

Six groupes de cinq rats chacun ont été soumis à 18 heures de jeun avec accès libre à l'eau. Après le jeun, les groupes témoin normal (TN) et contrôle positif (PC) ont reçu oralement de l'eau distillée (1 mL/100 g P.C.), le groupe témoin traité a reçu du loperamide (5 mg/kg PC) et les groupes essais ont reçu respectivement par voie orale 25, 50 ou 100 mg/kg d'extrait à hydroéthanolique de *C. jagus*. Trente (30) minutes après administration de ces substances, chaque animal à l'exception de ceux du groupe témoin normal a reçu par voie intrapéritonéale du naloxone hydrochloride dihydraté (Merck A7658 ; lot 8297YN) 0,4 mg/kg P.C. Juste après administration du naloxone, chaque animal a reçu par voie orale 1 mL/100 g de P.C. de charbon (10 % charbon activé dans 5 % de gomme arabique) et 30 minutes après, les animaux ont été sacrifiés et l'abdomen ouvert, la distance de progression du charbon dans l'intestin (du pylore au caecum) a été mesurée et exprimée en pourcentage de la distance totale de l'intestin grêle. L'inhibition (%) a été déterminée par la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{\text{DPCT (\%)} - \text{DPCE (\%)}}{\text{DPCT (\%)}} \times 100$$

DPCT : distance parcourue par le charbon chez le groupe témoin, DPCE : distance parcourue par le charbon chez le groupe essai

## **II.2.7. Evaluation des effets de l'extrait hydroéthanolique de *Crinum jagus* sur la sécrétion intestinale**

### **II.2.7.1. Sécrétion intestinale induite par l'huile de castor**

Six groupes de cinq rats chacun soumis à 18 heures de jeun avec accès libre à l'eau ont été utilisés. Après le jeun, deux groupes témoins (témoin normal TN et témoin diarrhéique TD) ont reçu

oralement de l'eau distillée (1 mL/100g de P.C.), le groupe témoin positif (Lop5) a reçu du Lopéramide (5 mg/kg de P.C.) et les groupes essai ont reçu respectivement par voie orale l'une des doses d'extrait à hydroéthanolique de *C. jagus* : 25, 50 ou 100 mg/kg. Trente minutes après ce traitement, chaque animal à l'exception de ceux de l'un des groupes témoins normaux a reçu par voie orale de l'huile de castor (1 mL/100g de P.C.). Trente minutes plus tard, tous les animaux ont été sacrifiés, l'abdomen ouvert, le contenu de l'intestin grêle (du pylore au cæcum) a été prélevé et vidé dans une éprouvette graduée. Le volume du contenu intestinal a été enregistré. L'inhibition a été déterminée par la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{\text{VTD} - \text{VE}}{\text{VTD}} \times 100$$

VTD : Volume du contenu luminal témoin diarrhéique, Volume du contenu luminal essai

Par ailleurs, le contenu luminal a été centrifugé (5000 trs/min pendant 15 minutes), le surnageant prélevé pour l'évaluation de quelques paramètres ioniques.

### II.2.7.2. Sécrétion intestinale induite par la prostaglandine

Six groupes de cinq rats chacun soumis à 18 heures de jeun avec accès libre à l'eau ont été utilisés. Après le jeun, deux groupes témoin (témoin normal : TN et témoin diarrhéique : PGE<sub>2</sub>) ont reçu oralement de la gomme arabique (2 %) (1 mL/100g de P.C.), et les groupes essai ont reçu respectivement par voie orale l'une des doses d'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* : 25, 50 ou 100 mg/kg. Trente minutes après ce traitement, chaque animal à l'exception de ceux du groupe témoin normal a reçu par voie orale de la prostaglandine PGE<sub>2</sub> (0,2 mg/kg PGE<sub>2</sub> + 2 % gomme) (Sigma Life Science, A5576 ; lot 7215TY) (0,2 mg/kg PC). Trente minutes plus tard, tous les animaux ont été sacrifiés, l'abdomen ouvert, l'intestin grêle (du pylore au cæcum) a été prélevé et son contenu vidé dans une éprouvette graduée. Le volume du contenu intestinal a été mesuré. L'inhibition a été déterminée par la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{\text{VTD} - \text{VE}}{\text{VTD}} \times 100$$

VTD : Volume du contenu luminal témoin diarrhéique, Volume du contenu luminal essai

### II.2.8. Evaluation des effets de l'extrait éthanol/eau de *Crinum jagus* sur les diarrhées infectieuses à shigelles

#### II.2.8.1. Induction des diarrhées

Avant l'expérimentation, tous les animaux ont été déparasités par administration quotidienne (6h et 18h) de la Tétracycline 10 mg/kg P.C. pendant 3 jours. Quatre jours après ce déparasitage, les animaux ont été isolés dans des cages métaboliques et ont reçu *per os*, à l'aide d'une sonde

œsophagienne, à l'exception de ceux du groupe témoin normal (TN), un inoculum de *Shigella flexneri*,  $9 \times 10^8$  UFC correspondant au point 3 de l'échelle de Mac Farland (Wansi *et al.*, 2014).

### II.2.8.2. Traitement des animaux

Dès l'apparition des selles diarrhéiques (environ 24 heures après administration des shigelles), les animaux malades ont été répartis en cinq (5) groupes de cinq (5) animaux chacun :

- Un groupe témoin diarrhéique (TD) qui a reçu de l'eau distillée,
- Un groupe (Cipro) qui a reçu la Ciprofloxacine (RYAN PHARMA UK) 2,5 mg/kg de P.C.,
- Trois groupes essais qui ont reçu chacun par voie orale l'une des doses d'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* : 25 mg/kg (EWCj25), 50 mg/kg (EWCj50) ou 100 mg/kg (EWCj100). Les animaux ont été traités deux fois par jour (6 h et 18 h) pendant sept jours. Chaque jour, le comportement et la variation de poids ont été enregistrés, et les shigelles dénombrées dans les selles.

Pour le dénombrement des shigelles, 0,5 g de selles fraîches recueillies chez chaque rat diarrhéique a été dissout dans 4,5 mL d'eau physiologique stérile. 250  $\mu$ L de cette solution de selles a été dilué dans 9,750 mL d'eau physiologique stérile. 50  $\mu$ L de cette suspension finale a été repiqué par écoulement sur une gélose SS puis incubé à 37°C pendant 24 heures. Le nombre de germes a été obtenu par comptage direct du nombre de colonies (Wansi *et al.*, 2014).

Après 7 jours de traitement, les animaux y compris ceux du groupe témoin normal ont été sacrifiés, le sang, l'iléon et le côlon prélevés. Une partie du sang a été prélevée dans les tubes à EDTA pour les analyses hématologiques (taux de globules blancs, globules rouges, hématocrite, hémoglobine) et l'autre dans des tubes à hémolyse secs puis centrifugée à 4000 tr/min pendant 5 minutes et le surnageant a été prélevé pour le dosage de l'interféron gamma, de l'interleukine 2 et des immunoglobulines A et M. Le côlon a été utilisé pour les coupes histologiques. Une partie de l'iléon a été prélevée, rincée dans une solution de Tyrode, broyée dans du Tris HCl puis centrifugée et le surnageant a été prélevé pour le dosage de la motiline et du peptide intestinal vasoactif.

### II.2.8.3. Analyses biochimiques

Le dosage de l'interféron gamma (IFN- $\gamma$ ), de l'interleukine 2 (IL-2), des immunoglobulines A et M (IgA et IgM), de la motiline et du peptide intestinal vaso-actif (VIP) s'est fait par la technique ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay).

#### Principe

La technique ELISA est une technique immuno-enzymatique de détection qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps.



### II.2.8.3.1. Dosage des interleukines 2 et de l'interféron gamma

#### a. Réactifs

Tous les réactifs ont été fournis prêts à l'emploi et conservés à 4°C. Ces réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée. Le kit Komabiotech de dosage de l'interleukine 2 ou de l'interféron- $\gamma$  comprend :

- une plaque de microtitration sensibilisée, (anticorps anti IL-2 ou anti IFN- $\gamma$  de rats)
- l'anticorps de détection,
- la protéine standard (sérum de rat),
- l'enzyme de développement de la coloration (Conjugué de Streptavidin-HRP, 600  $\mu$ L),
- le diluent (1% BSA dans le PBS, 50 mL),
- le réactif de développement de la coloration (solution de TMB 10 mL),
- la solution stop (2M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 10 mL),
- le tampon de lavage (PBST 50 mL concentré pour 1L)
- un papier adhérent.

#### b. Protocole de dosage

Dans chaque puits de la plaque sensibilisée, 200  $\mu$ L de tampon de lavage a été introduit. Cette solution a été ensuite aspirée à l'aide d'une micropipette puis chaque puits a subi une série de 3 lavages successifs avec chaque fois 300  $\mu$ L de tampon de lavage PBS (Phosphate Buffer Solution). Après élimination complète du tampon de lavage des puits, 100  $\mu$ L de chaque échantillon ou du standard y a été introduit et ceci en dupliqué. La plaque a été ensuite couverte et laissée à incubation pendant 2 h à température ambiante. Le liquide a été aspiré de chaque puits suivi d'une série de 4 lavages chaque fois avec 300  $\mu$ L de tampon de lavage. Après élimination complète du tampon de lavage des puits, 100  $\mu$ L d'anticorps de détection dilués (0,2 $\mu$ g/mL) a été introduit dans les puits essais. La plaque a été ensuite couverte et laissée à incubation pendant 2 h à température ambiante. Le liquide a été aspiré de chaque puits suivi d'une série de 4 lavages comme précédemment. Après élimination complète du tampon de lavage des puits, 100  $\mu$ L de l'enzyme de développement de la couleur (Streptavidin-HRP) y a été introduit et la plaque couverte et laissée à incubation pendant 30 minutes à température ambiante. Au bout de cette période d'incubation, chaque puits a subi une série de 4 lavages puis 100  $\mu$ L de TMB (3, 3, 5, 5-Tétraméthylbenzidine) y a été transféré suivi d'une incubation de 5 minutes à température ambiante. Les réactions ont été arrêtées par ajout dans chaque puits de 100  $\mu$ L de la solution stop. La plaque a été ensuite lue à l'aide d'un lecteur ELISA à 450 nm.

Après calcul des moyennes de chaque lecture, la densité optique du standard (Tableau I : A IL-2, B : IFN- $\gamma$ ) ou de chaque échantillon a été obtenue par la formule suivante :

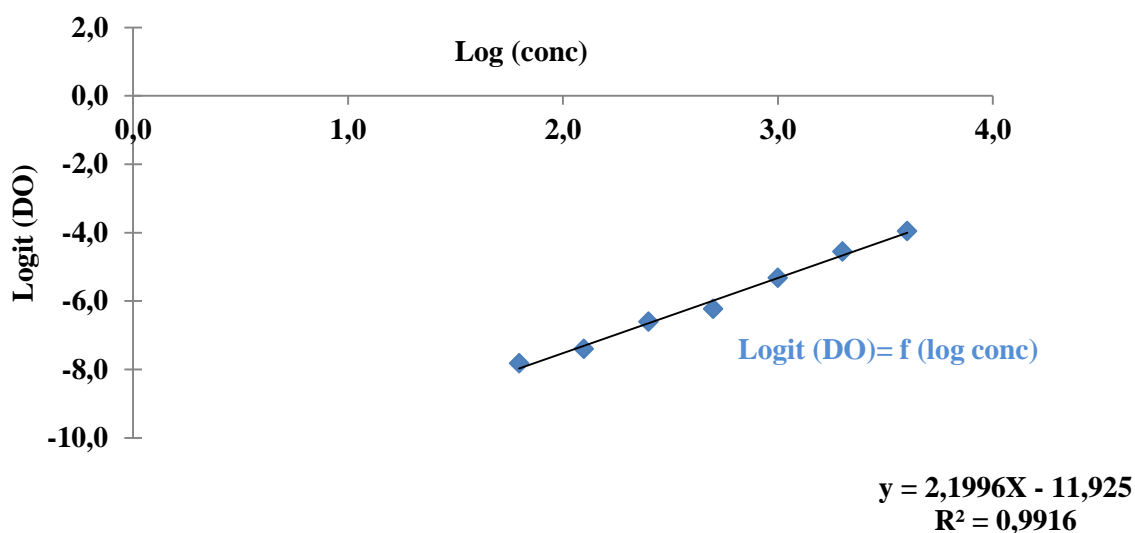
$$DO = DO_{\text{m Test}} - DO_{\text{m Blanc}}$$

Avec DO<sub>m</sub>: densité optique moyenne.

**Tableau I :** Densités optiques des différentes concentrations du standard IL-2 (A) et IFN- $\gamma$  (B)

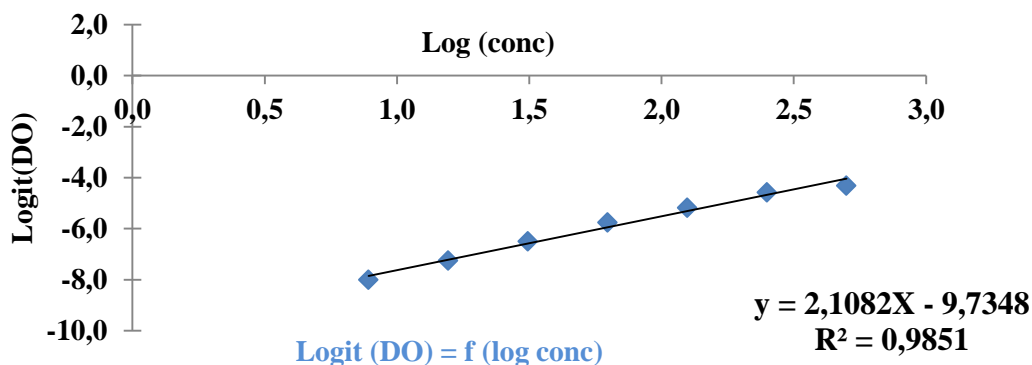
<b>A</b>	Concentration (pg/mL)	62,5	125	250	500	1000	2000	4000
	DO	0,04	0,061	0,135	0,196	0,484	1,032	1,866
<b>B</b>	Concentration (pg/mL)	31,25	62,5	125	250	500	1000	2000
	DO	0,074	0,08	0,084	0,179	0,356	0,75	1,283

Ces densités optiques des différentes concentrations du standard IL-2 et IFN- $\gamma$  ont permis de construire les courbes d'étalonnage (Figure 17 et 18) à partir desquelles les concentrations en IL-2 et en IFN- $\gamma$  (pg/mL) de chaque échantillon ont été déterminées.



**NB : Logit (A) = ln (A/100-A)**

**Figure 17 :** Courbe d'étalonnage de l'IL-2



**Figure 18 :** Courbe d'étalonnage de l'IFN- $\gamma$

### II.2.8.3.2. Dosage des immunoglobulines A et M

#### a. Réactifs

Tous les réactifs ont été fournis prêts à l'emploi et conservés à 4°C. Ces réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée. Le kit Komabiotech de dosage des immunoglobulines A ou des immunoglobulines M comprend :

- une plaque de microtitration sensibilisée, (aux anticorps anti IgA ou IgM de rats)
- l'anticorps de détection (HRP),
- la protéine standard (sérum de rat),
- le diluent (1% BSA dans le PBS, 50mL),
- la solution révélatrice (TMB, 10 mL),
- la solution stop (2M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 10 mL),
- le tampon de lavage (PBST 50 mL concentré pour 1L)
- un couvercle de plaque

### b. Protocole de dosage

Dans chaque puits de la plaque sensibilisée, 200 µL du tampon de lavage a été introduit. Cette solution a été ensuite aspirée à l'aide d'une micropipette puis chaque puits a été lavé 4 fois successivement avec 300 µL de tampon de lavage. Après élimination complète du tampon de lavage des puits, 100 µL de chaque échantillon ou du standard y a été introduit et ceci en dupliqué. La plaque a été ensuite couverte et laissée à incubation pendant 1 h à température ambiante. Le liquide a été aspiré de chaque puits suivi d'une série de 5 lavages chaque fois avec 300 µL de tampon de lavage. Après élimination complète du tampon de lavage des puits, 100 µL d'anticorps de détection dilués (1/500) a été introduit dans les puits essais. La plaque a été ensuite couverte et laissée à incubation pendant 1 h à température ambiante. Le liquide a été aspiré de chaque puits suivi d'une série de 5 lavages comme précédemment. Après élimination complète du tampon de lavage des puits, 100 µL de solution révélatrice y ont été introduits et la plaque couverte et laissée à incubation pendant 12 à 32 minutes à température ambiante. Au bout de cette période d'incubation, les réactions ont été arrêtées par ajout dans chaque puits de 100 µL de la solution stop. La plaque a été ensuite lue à l'aide d'un lecteur ELISA à 450 nm.

Après calcul des moyennes de chaque lecture, la densité optique du standard (Tableau II : A : IgA, B : IgM) ou de chaque échantillon a été obtenue par la formule suivante :

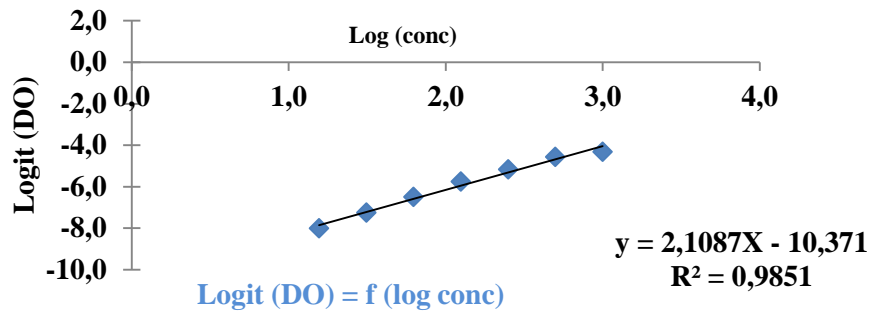
$$DO = DO_{m \text{ Test}} - DO_{m \text{ Blanc}},$$

DO<sub>m</sub> : Densité optique moyenne

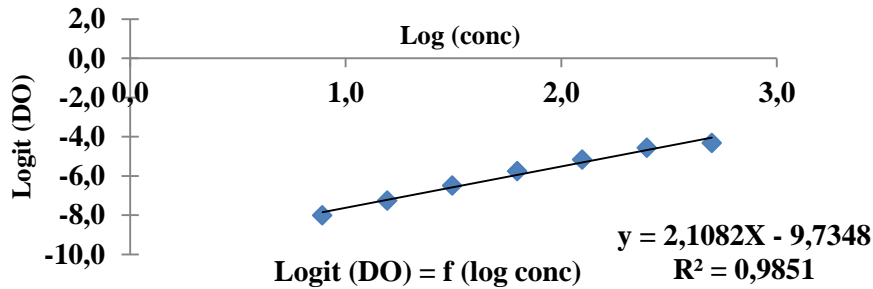
**Tableau II** : Densités optiques des différentes concentrations du standard IgA et IgM

<b>A</b>	Concentration (ng/mL)	15,625	31,25	62,5	125	250	500	1000
	DO	0,033	0,07	0,149	0,311	0,558	1,016	1,309
<b>B</b>	Concentration (ng/mL)	7,8	15,625	31,25	62,5	125	250	500
	DO	0,033	0,07	0,149	0,311	0,558	1,016	1,309

Ces densités optiques des différentes concentrations du standard IgA et IgM ont permis de construire les courbes d'étalonnage (Figure 19 et 20) à partir desquelles les concentrations en IgA et IgM (ng/mL) de chaque échantillon ont été déterminées.



**Figure 19** : Courbe d'étalonnage de l'IgA



**Figure 20** : Courbe d'étalonnage de l'IgM

### II.2.8.3.3. Dosage de la motiline

#### a. Réactifs

Tous les réactifs ont été fournis prêts à l'emploi et conservés à 4°C. Ces réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée. Le kit Blue Gene de dosage de la motiline comprend :

- une plaque de microtitration sensibilisée, (aux anticorps anti motiline)
- l'enzyme conjuguée,
- six protéines standards (allant de A à F),
- deux substrats enzymatiques (A et B),
- la solution stop (2M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 6 mL),
- le tampon de lavage (10 mL concentré pour 1L)
- un couvercle de plaque

#### b. Protocole de dosage

Pour réaliser le dosage de la motiline, cent (100) microlitre de chaque échantillon ou standard a été introduit en dupliqué dans les puits correspondants avec le PBS dans le puits considéré comme blanc. 50 µL de la solution de l'enzyme conjuguée a été ajouté dans chaque puits à l'exception du blanc. Le mélange a été homogénéisé puis la plaque couverte et incubée à 37°C pendant 1 h. Le liquide a été aspiré de chaque puits suivi d'une série de 5 lavages. Après élimination complète du tampon de lavage des puits, 50 µL du substrat A et 50 µL du substrat B ont été ajoutés dans chaque puits puis, la plaque a été couverte et laissée à incubation pendant 10 à 15 minutes à l'abri de la

lumière. Au bout de cette période d'incubation, les réactions ont été arrêtées par ajout dans chaque puits de 50 µL de la solution stop. La plaque a été ensuite lue à l'aide d'un lecteur ELISA à 450 nm.

Après calcul des moyennes de chaque lecture, la densité optique du standard (Tableau III) ou de chaque échantillon a été obtenue par la formule suivante :

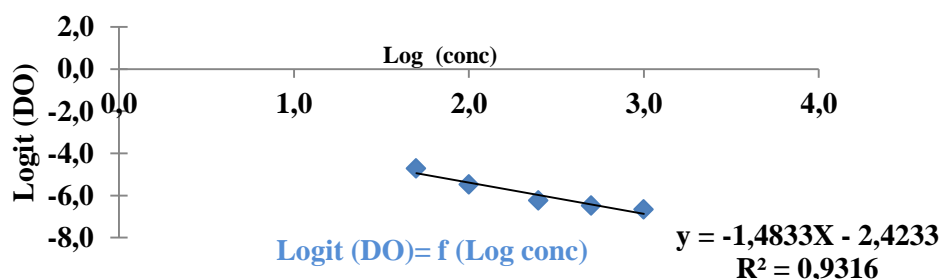
$$DO = DO_{\text{m Test}} - DO_{\text{m Blanc}},$$

DO<sub>m</sub> : Densité optique moyenne

**Tableau III** : Densités optiques des différentes concentrations du standard Motiline

Concentration (pg/mL)	50	100	250	500	1000
DO	0,875	0,412	0,193	0,152	0,128

Ces densités optiques des différentes concentrations du standard motiline ont permis de construire la courbe d'étalonnage (Figure 21) à partir desquelles les concentrations en motiline (pg/mL) de chaque échantillon ont été déterminées.



**Figure 21** : Courbe d'étalonnage de la motiline

#### II.2.8.3.4. Dosage du peptide intestinal vaso-actif (VIP)

##### a. Réactifs

Tous les réactifs ont été fournis prêts à l'emploi et conservés à 4°C. Ces réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée. Le kit Bioaim de dosage du VIP comprend :

- une plaque de microtitration sensibilisée, (aux anticorps secondaires)
- deux flacons de 6µl chacun d'anticorps anti VIP,
- deux flacons de 10 µl chacun de protéines standards (VIP),
- deux flacons de 10 µl chacun de VIP biotinylé,
- une solution HRP- Streptavidin concentrée de 60 µl
- un tampon de dilution concentré (15 mL) pour 75 mL
- la solution stop (2M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 6 mL),
- le tampon de lavage (25 mL concentré pour 1L)
- un couvercle de plaque

##### b. Protocole de dosage

Pour réaliser le dosage du VIP, après avoir ramené tous les réactifs à température ambiante, 25 µl d'anticorps anti VIP a été introduit dans chaque puits à l'exception des puits du blanc et celui

du standard à 0 ng/mL qui reçoivent respectivement 75 µl et 50 µl de tampon de dilution. Ensuite, 50 µl de chaque échantillon ou standards a été introduit en dupliqué dans les puits correspondants suivi immédiatement de l'introduction de 25 µl de VIP biotinylé. La plaque ainsi préparée a été couverte et laissée à incubation pendant 1 h à température ambiante et sur un agitateur magnétique. Le contenu de chaque puits a été aspiré suivi d'une de 4 lavages successifs avec 300 µL de tampon de lavage. Immédiatement après, 100 µL de la solution HRP- Streptavidin a été introduit dans chaque puits suivi d'une seconde incubation à température ambiante pendant 45 minutes sur agitateur magnétique au terme de laquelle les puits ont été lavés comme précédemment. Cent microlitre (100 µL) du substrat TMB a été ajouté dans chaque puits puis, la plaque a été couverte et laissée à incubation pendant 15 minutes à température ambiante, sur agitateur magnétique et à l'obscurité. Au bout de cette période d'incubation, les réactions ont été arrêtées par ajout dans chaque puits de 50 µL de la solution stop. La plaque a été ensuite lue à l'aide d'un lecteur ELISA à 450 nm. Après calcul des moyennes de chaque lecture, la densité optique du standard (Tableau IV) ou de chaque échantillon a été obtenue par la formule suivante :

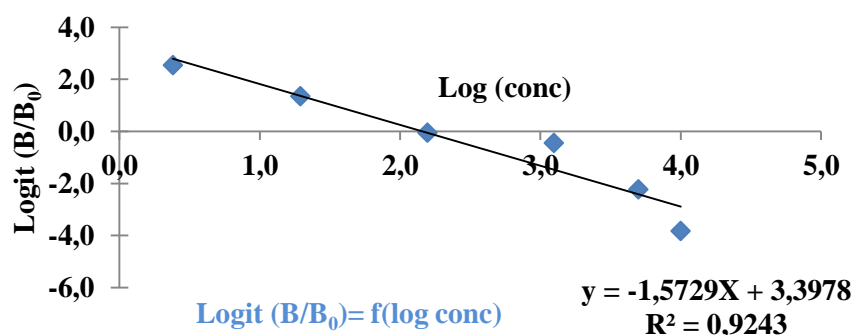
$$\text{Pourcentage d'absorbance} = \frac{\text{DOM Test} - \text{DOM Blanc}}{\text{DOMs} - \text{DOM Blanc}} \times 100$$

DOM : Densité optique moyenne ; DOMs : densité optique moyenne du standard à 0 pg/mL (liaison totale).

**Tableau IV** : Densités optiques des différentes concentrations du standard VIP

Concentration (pg/mL)	2,4	19,5	156,3	1250	5000	10000
B/B <sub>0</sub>	92,73	79,39	48,48	39,10	9,70	2,12

Ces densités optiques des différentes concentrations du standard VIP nous ont permis de construire la courbe d'étalonnage (Figure 22) à partir desquelles les concentrations en peptide intestinal vasoactif (pg/mL) de chaque échantillon ont été déterminées.



NB : B= densité optique échantillon, B<sub>0</sub>= densité optique du standard à 0 pg/mL (liaison totale) qui est de 0,33.

**Figure 22** : Courbe d'étalonnage du peptide intestinal vasoactif (VIP)

### II.2.8.3.5. Dosage des ions sodium

#### a. Principe

Le sodium précipite avec l'acétate de Mg-uranyle ; les ions uranyles restant en suspension forment un complexe brun jaune avec de l'acide thioglycolique. La différence entre le blanc réactif (sans précipitation de sodium) et l'échantillon est proportionnelle à la concentration de sodium.

#### b. Réactifs

Tous les réactifs ont été fournis prêts à l'emploi et conservés à température ambiante à l'abri de la lumière. Ces réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée. Le kit Chrono Lab de dosage du sodium contient :

- la solution de précipitation : acétate d'uranyle (19 mmol/L) ;
- le réactif de coloration : ammonium thioglycolate (550 mmol/L) ;
- l'étalon sodium : (150 mmol/L).

#### c. Protocole de dosage

Le dosage du sodium a été réalisé suivant le protocole du tableau V.

**Tableau V** : Protocole de dosage du sodium

<b>A</b>			
	Standard	Echantillon	
Standard	20 µL	-	
Echantillon	-	20 µL	
Solution précipitante	1000 µL	1000 µL	
- boucher les tubes, homogénéiser, repos (5 minutes), - Agiter vigoureusement (30 secondes), repos (30 minutes), - Centrifuger (3200 rpm/min, 5 minutes).			
<b>B</b>			
	Blanc	Standard	Echantillon
Surnageant	-	20 µL	20 µL
Réactif de coloration	1000 µL	1000 µL	1000 µL
- Homogénéiser les tubes, repos (5 minutes), - Lire la DO (contre le blanc réactif) à 410 nm			

La concentration de sodium (mmol/L) a été calculée comme suit :

$$[\text{sodium}] = 150 \times (\text{DO BR} - \text{DO échantillon}) / (\text{DO BR} - \text{DO étalon})$$

DO : Densité optique, BR: blanc réactif

### II.2.8.3.6. Dosage des ions potassium

#### a. Principe

Dans un milieu alcalin et après déprotéinisation par l'acide trichloroacétique, les ions potassium précipitent avec le tétraphénylborate de sodium (TPB-Na) pour former une suspension

stable de tétraphénylborate de potassium. La turbidité produite est proportionnelle à la concentration de potassium présent dans l'échantillon.

### b. Réactifs

Les réactifs ont été fournis prêts à l'emploi et conservés à température ambiante. Le réactif de travail est stable 30 jours à une température comprise entre 15 et 25°C. Le kit QCA de dosage du potassium contient:

- le précipitant : acide trichloroacétique (0,3 mol/L)
- le réactif TPB-Na : tétraphénylborate de sodium (0,1 mol/L)
- l'hydroxyde de sodium (1,5 mol/L)
- l'étalon potassium (5 mmol/L).

### c. Protocole de dosage

Après remplissage des tubes (Tableau VI) le dosage s'est fait en deux étapes à l'aide du kit QCA : une précipitation et le dosage proprement dit. Le réactif de travail a été préparé en mélangeant à volumes égaux le réactif B et C.

**Tableau VI** : Procédure de dosage des ions potassium

Echantillon	100 µL
Précipitant	1000 µL
- Homogénéiser les tubes (vortex) - Centrifuger (3000 rpm/min, 10 minutes)	
Réactif de travail	2000 µL
Surnageant/étalon	200 µL
- Introduire 200 µL de surnageant (échantillon) ou du standard dans le réactif de travail, - Homogénéiser, incubé (5-10 min) à température ambiante, - Lire l'absorbance contre le blanc réactif à 580 nm.	

La concentration de potassium (mmol/L) a été déterminée suivant la formule :

$$[[\text{Potassium}]](\text{mmol/L}) = \frac{\text{Absorbance échantillon}}{\text{Absorbance standard}} \times 5$$

## II.2.8.3.7. Dosage des ions calcium

### a. Principe

Dans un milieu alcalin, les ions calcium réagissent avec l' $\alpha$ -Crésolphtaléine pour former un complexe coloré.



L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de calcium.

### b. Réactifs

Les réactifs ont été fournis prêts à l'emploi et conservés à l'abri de la lumière et des sources de contamination et à une température comprise entre 2 et 8°C. Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée. Le kit Chrono Lab de dosage du calcium contient :

- le réactif R1, tampon : Ethanolamine (500 mmol/L)



- le réactif R2, chromogène : l' $\alpha$ -Crésolphtaléine (0,62 mmol/L) et de 8-Hydroxyquinoléine (69 mmol/L)
- l'étalon primaire aqueux de Calcium (10 mg//dL)

### c. Protocole de dosage

Après remplissage des tubes, le dosage a été réalisé comme l'indique le tableau VII.

**Tableau VII** : Protocole de dosage des ions calcium

	Blanc	Etalon	Echantillon
R1	1000 $\mu$ L	1000 $\mu$ L	1000 $\mu$ L
R2	1000 $\mu$ L	1000 $\mu$ L	1000 $\mu$ L
Etalon	-	20 $\mu$ L	-
Echantillon	-	-	20 $\mu$ L
- Homogénéiser et incuber pendant (5 min) à température ambiante, - Lire l'absorbance contre le blanc réactif à 570 nm.			

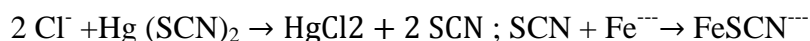
La concentration de calcium (mg/dL) a été déterminée suivant la formule :

$$[\text{Calcium}](\text{mg/dL}) = \frac{\text{Absorbance Echantillon} - \text{Absorbance Blanc}}{\text{Absorbance Etalon} - \text{Absorbance Blanc}} \times 10$$

## II.2.8.3.8. Dosage des ions chlorure

### a. Principe

Les ions chlorure de l'échantillon réagissent avec le thiocyanate de mercure en déplaçant l'ion thiocyanate. Le thiocyanate libre, en présence d'ions ferriques, forme un complexe coloré. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration en ions chlorure présents dans l'échantillon testé.



### b. Réactifs

Les réactifs ont été fournis prêts à l'emploi. Conservés à l'abri de la lumière et des sources de contamination et à une température comprise entre 2 et 8°C, tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée. Le kit Chrono Lab de dosage du chlorure contient :

- le réactif R, thiocyanate de mercure : thiocyanate de mercure (4 mmol/L), Nitrate fer (40 mmol/L), Nitrate de mercure (2 mmol/L), Acide nitrique (45 mmol/L) ;
- l'étalon primaire aqueux de chlorures (125 mmol/L)

### c. Protocole de dosage

Le dosage des ions chlorure a été réalisé suivant le protocole du tableau VIII.

**Tableau VIII** : Protocole de dosage des ions calcium

	Blanc	Etalon	Echantillon
R	1000 $\mu$ L	1000 $\mu$ L	1000 $\mu$ L
Etalon	-	10 $\mu$ L	-
Echantillon	-	-	10 $\mu$ L
- Homogénéiser et incuber (4 min) à température ambiante, - Lire l'absorbance contre le blanc réactif à 480 nm.			

La concentration de calcium (mmol/L) a été déterminée suivant la formule :

$$\text{[[Chlorure]] (mmol/L)} = \frac{\text{Absorbance Echantillon} - \text{Absorbance Blanc}}{\text{Absorbance Standard} - \text{Absorbance Blanc}} \times 125$$

#### **II.2.8.4. Analyses hématologiques**

Les numérations des globules rouges (GR), des globules blancs (GB) 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 d'un automate d'analyse hématologique (Bechman Coulter, Coulter A<sup>c</sup>. T BR-13692A).

#### **II.2.8.5. Analyses histologiques**

##### **II.2.8.5.1. Fixation**

Dans des flacons de 5 mL, 1 fragment de 1 cm<sup>3</sup> environ du côlon 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 à l'aide d'un microtome et introduit dans des cassettes pour subir le processus de déshydratation et d'inclusion.

##### **II.2.8.5.2. Inclusion**

Les organes ont été déshydratés et éclaircis avant d'être infiltrés par la paraffine. La déshydratation comporte trois étapes : la déshydratation proprement dite, l'éclaircissement et l'imprégnation.

##### **a. Déshydratation**

Les tissus ont été laissés dans des bains d'alcool de concentrations croissantes de 50 à 100 % pendant un certain temps : 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 ; Xylène, 1 heure ; Xylène, 1½heure ; Paraffine à 60°C, 1 heure ; Paraffine à 60°C, 1½ heure ; Paraffine à 60°C, 2 heures.

##### **b. 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.

##### **c. Imprégnation**

Une fois déshydratés et éclaircis, les organes sont infiltrés par la paraffine. Les organes ont séjourné dans trois bains de paraffine fondue pendant respectivement 1 heure, 1 heure et 30 minutes

et 2 heures. Les tissus ont été placés dans des moules de paraffine fondue. Après orientation appropriée du tissu, le bloc a été obtenu par refroidissement sur une plaque réfrigérante

#### **II.2.8.5.4. Coupes et coloration**

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 étalées dans un bain-marie à 40°C, les meilleures coupes ont été collées sur les lames porte-objets et conservés à l'étuve à 45°C pendant 12 heures environ.

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 ;

#### **II.2.8.5.6. Montage et observation**

Les coupes colorées ont été couvertes par une fine lamelle de verre après imprégnation à l'EUKitt. Les coupes colorées ont été ensuite observées au microscope photonique (Olympus CH-2), objectifs 4X et microphotographiées.

### **II.2.9. Activités antioxydantes de l'extrait hydroéthanolique de *Crinum jagus***

#### **II.2.9.1. Test de l'activité antiradicalaire DPPH (1,1-diphényl-2-picrilhydrazyl)**

##### **a. Principe**

Au fur et à mesure que le radical DPPH (1,1-diphényl-2-picrilhydrazyl) est piégé par les antioxydants contenus dans les échantillons à analyser à travers le transfert de l'atome d'hydrogène pour former le DPPH-H stable, l'on note une décroissance de l'absorbance résultant du changement de couleur initiale qui va du marron au jaune (Katalinié *et al.*, 2004).

## b. Protocole

Vingt microlitres d'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* (10, 20, 40, 80, 160, 320 µg/mL) a été introduits dans 2 mL d'une solution méthanolique de DPPH (0,3 mM). Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité l'absorbance a été mesurée au spectrophotomètre à 517 nm. Un contrôle constitué de DPPH sans extrait a été réalisé.

Le taux d'inhibition du radical DPPH par les spécimens a été calculé selon la formule de Yen et Duh (Yen et Duh, 1994). La catéchine (Sigma) a été utilisée comme standard.

$$\% \text{ d'inhibition du radical DPPH} = \frac{Ac(0) - Ae(t)}{Ac(0)} \times 100$$

Ac (0) = Absorbance contrôle à t = 0 min, Ae (t) = Absorbance de l'essai après 30 min d'incubation

### II.2.9.2. Activité sur le radical oxyde nitrique

#### a. Principe

Au cours de l'expérience, le NO généré par le nitroprusside de sodium au pH physiologique interagit avec l'oxygène pour produire les ions nitrites qui seront mis en évidence par le réactif de Greiss. Plus l'extrait est actif, moins il y a production d'ion nitrites et plus faible est l'absorbance (Sreejayan et Rao, 1997).

#### b. Protocole

A 0,5 mL d'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* (10-1000 µg/mL dans une solution méthanolique (0,2 %) ont été ajoutés 2 mL de sodium nitroprusside 10 mM (dans le tampon phosphate pH 7,4 ; 50 mM). Le mélange a été homogénéisé et incubé à température ambiante, environ 25°C pendant 15 min. après incubation, 0,5 mL du mélange réactionnel a été mélangé à 1 mL d'acide sulfanilique (0,33 % dans l'acide acétique glacial 20 %). Après repos de 5 min pour diazotation complète, 1 mL de naphthylethylene diamine dihydrochloride (0,1 %) y a été ajouté, et la solution homogénéisée et incubée à température ambiante pendant 30 min ; un chromophore rose se forme dans la lumière diffuse.

L'absorbance a été lue à 540 nm contre le blanc (constitué du mélange réactionnel sans nitroprusside).

Le contrôle a été préparé en remplaçant l'extrait par la solution méthanolique (nitroprusside + solution méthanolique) ainsi que son blanc. Le pourcentage d'inhibition a été calculé à partir de la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition du radical DPPH} = \frac{Abs1 - Abs2}{Abs1} \times 100$$

Abs1= absorbance du contrôle

Abs2= absorbance de l'essai.

### II.2.9.3. Chélation de l'ion ferreux

#### a. Principe

La compétition entre la ferrozine et les composés bioactifs de la plante pour le piégeage des ions ferreux se traduit par une diminution de l'absorbance du complexe ferrozine – Fe<sup>2+</sup> à 562 nm (Dinis *et al.*, 1994).

#### b. Protocole

A 100 µL de chaque échantillon d'extrait (1, 2, 4, 6 et 8 mg/mL) préparé dans le méthanol, 0,05 mL de chlorure ferreux (2 mM FeCl<sub>2</sub>) a été ajouté. La réaction a été initiée par ajout de 0,2 mL de ferrozine (5 mM), le mélange vigoureusement secoué a été laissé à température ambiante pendant 10 min. Le tube contrôle a été préparé de la même façon, avec l'extrait remplacé par du méthanol.

L'absorbance a été lue à 562 nm et le pourcentage de chélation des métaux par l'extrait calculé comme suit :

$$\% \text{ d'inhibition de chélation de l'ionferreux} = \frac{\text{Abs1} - \text{Abs2}}{\text{Abs1}} \times 100$$

Abs1= absorbance du contrôle

Abs2= absorbance de l'essai

### II.2.10. Toxicité aiguë

La toxicité aiguë a été menée suivant la méthode OCDE en sa ligne directive 425. En bref un rat de sexe femelle après 18 h de jeun a reçu de l'extrait à une dose unique de 5000 mg/kg de P.C. Il a été immédiatement laissé en observation pendant les 4 h suivant cette administration et les paramètres tels que la mobilité, la sensibilité au toucher, l'agressivité, la sensibilité aux bruits, la nature du pelage et la nature des selles ont été évalués. Après cette période d'observation, l'animal a été nourri et laissé en observation pour 14 jours avec des prises pondérales à 48h, 7 et à 14 jours. Au terme de cette période, l'animal n'étant pas mort, nous avons soumis deux autres rats femelles au même traitement.

## II.3. Expression des résultats

### II.3.1. Présentation

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

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

$x_i$  : valeur individuelle par animal ; SD : Standard Deviation (écart type) ; n : nombre d'animaux par groupe.

### **II.3.2. Analyses des résultats**

Les moyennes des groupes témoins et essais ont été comparées par l'analyse de la variance (ANOVA) suivi du test de DUNNETT en utilisant le logiciel GRAPH PATH INSTAT.

### **II.3.3. 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**

# **Résultats et discussion**

### III.1. Résultats

#### III.1.1. Effets antidiarrhéiques des différents extraits et fractions sur les diarrhées induites à l'huile de castor chez les rats

##### III.1.1.1. Extraits à l'éthanol/eau, à l'éthanol et à l'eau de *Crinum jagus*

L'administration d'huile de castor a provoqué chez les animaux du groupe témoin diarrhéique une émission importante de selles diarrhéiques. La masse de ces selles diarrhéiques était d'environ 6 g avec une fréquence de 8 selles diarrhéiques en 4 h d'observation. Le prétraitement aux différents extraits a entraîné une baisse significative ( $p < 0,01$ ) et de façon dose dépendante aussi bien de la fréquence que de la masse des selles diarrhéiques. L'action a été plus prononcée avec l'extrait hydroéthanolique qui a présenté une inhibition de la masse des selles diarrhéiques de 71,20 % contre 65,47 et 64,24% respectivement pour les extraits éthanolique et aqueux à 100 mg/kg de P.C. (Tableau IX)

**Tableau IX :** Effets des extraits à l'eau/éthanol, à l'éthanol et à l'eau de *C. jagus* sur les diarrhées induites à l'huile de castor chez les rats.

Groupes	Traitement	FSD	MSD (g)	% I	TL (min)
TD	Eau Distillée 10 mL/kg	8,00 ± 0,32	6,04 ± 0,35	-	35,4 ± 0,51
Lop 5	5	1,2±0,20**	1,18±0,13**	80,46	204,2 ± 2,42**
WECj	25 mg/kg	4,2±0,20**	2,72±0,36**	54,97	87,6 ± 2,42**
	50 mg/kg	3,8±0,58**	2,5 ± 0,25**	58,61	80,2 ± 1,46**
	100 mg/kg	2,8±0,20**	1,74±0,21**	71,2	125,2 ± 4,19**
ECj	25 mg/kg	3,60±0,24**	2,75 ± 0,12**	48,11	59,80 ± 1,20**
	50 mg/kg	3,20 ± 0,20**	2,17 ± 0,15**	59,06	112 ± 2,12**
	100 mg/kg	1,80 ± 0,37**	1,83 ± 0,11**	65,47	120,60 ± 1,72**
WCj	25 mg/kg	4,4 ± 0,24**	4,62 ± 0,36**	23,51	48,8 ± 1,88**
	50 mg/kg	2,8 ± 0,34**	3,67 ± 0,29**	39,24	51,00 ± 1,52**
	100 mg/kg	1,6 ± 0,24**	2,16 ± 0,19**	64,24	95,80± 4,00**

WECj : Extrait à l'éthanol/eau, Ecj : Extrait à l'éthanol, WCj : Extrait aqueux de *C. jagus*. Lop5 : Lopéramide, FSD : Fréquence des selles diarrhéiques ; MSD : Masse des selles diarrhéiques ; % I : Taux d'inhibition ; TL : Temps de latence Moyennes ± ESM. (n = 5). Différence significative : \*\* $p < 0,01$  par rapport au témoin diarrhéique (TD).

##### III.1.1.2. Fractions flavonoïdes, alcaloïdes et saponines

Les animaux traités à la fraction flavonoïdes (Fla) ont émis moins de selles liquides ( $P < 0,01$ ) avec une inhibition maximale de 62,91 % à 24 mg/kg. Chez les animaux traités aux fractions alcaloïdes (Alk) et saponines (Sap), l'émission de selles diarrhéiques ainsi que leurs masses restent relativement basses par rapport au témoin (Tableau X).



**Tableau X** : Effets des fractions flavonoïdes, alcaloïdes et saponines de *C. jagus* sur les diarrhées induites à l'huile de castor chez les rats.

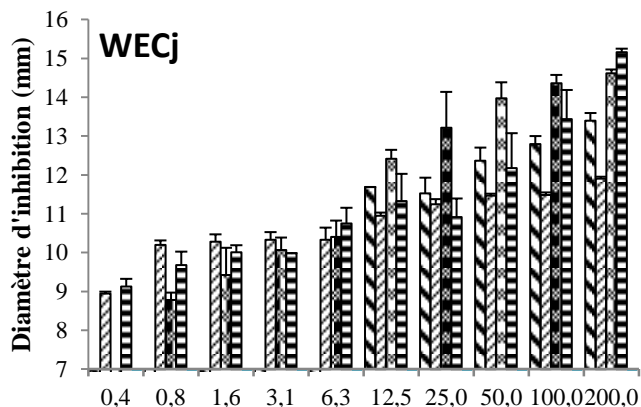
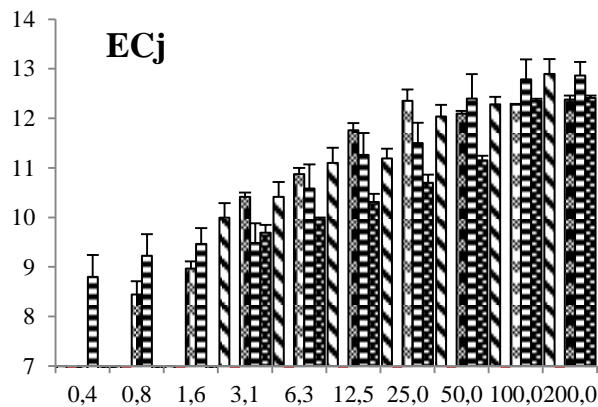
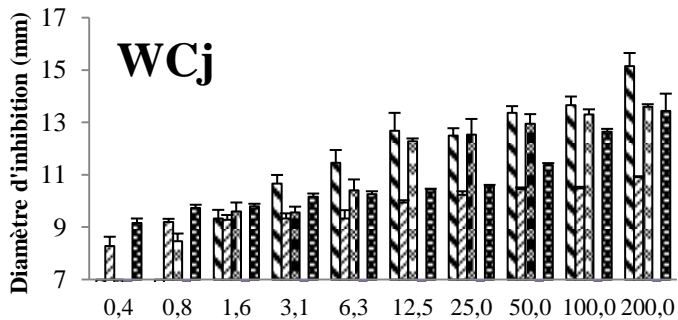
Groupes	Traitement	FSD	MSD	% I	TL (min)
TD	Eau Distillée (10 mL/kg)	8,00 ± 0,32	6,04 ± 0,35	-	35,4 ± 0,51
Lop 5	5 mg/kg	1,2±0,20**	1,18±0,13**	80,46	204,2 ± 2,42**
Fla	6 mg/kg	4,00±0,32**	3,00±0,24**	50,33	60,00 ± 2,01**
	12 mg/kg	2,20±0,37**	2,50±0,31**	58,61	64,60 ± 2,05**
	24 mg/kg	2,00 ± 0,00**	2,24± 0,26**	62,91	112,20± 3,47**
Alk	6 mg/kg	3,00 ± 0,32**	2,13 ± 0,23**	64,74	50,80 ± 2,03**
	12 mg/kg	3,20 ± 0,37**	2,25 ± 0,16**	62,75	43,20 ± 2,31
	24 mg/kg	3,80 ± 0,20**	2,49 ± 0,24**	58,77	69,00 ± 2,70**
Sap	6 mg/kg	4,80 ± 0,37**	3,84 ± 0,15**	36,42	114,06 ± 3,89**
	12 mg/kg	3,20 ± 0,20**	3,52 ± 0,35**	41,72	75,80 ± 2,84**
	24 mg/kg	4,60 ± 0,51**	3,53 ± 0,25**	41,56	64,00 ± 4,01**

Fla : fraction flavonoïdes de *C. jagus*, Alk : fraction alcaloïdes de *C. jagus*, Sap : fraction saponine de *C. jagus*, Lop5 : Lopéramide 5 mg/kg, FSD : Fréquence des selles diarrhéiques, MSD : Masse des selles diarrhéiques ; % I : Taux d'inhibition; TL : Temps de latence, Moyennes ± ESM, (n = 5). Différence significative : \*p<0,05, \*\*p<0,01 par rapport au témoin diarrhéique (TD).

### III.1.2. Activités antimicrobiennes

#### III.1.2.1. Susceptibilité antimicrobienne des extraits aqueux, éthanolique et hydroéthanolique de *Crinum jagus*

Les extraits aqueux, éthanolique et hydroéthanolique de *C. jagus*, ont inhibé de façon dose-dépendante la croissance microbienne *in vitro* (Figure 23). L'extrait hydroéthanolique s'est montré efficace sur toutes les souches testées sauf sur *Candida albicans* (Figure 23 WECj). L'inhibition la plus importante a été observée sur *Shigella dysenteriae* A1 (15,16 ± 0,09 mm), sur *Staphylococcus aureus* (14,62 ± 0,10 mm) et sur *Escherichia coli* (13,40 ± 0,20 mm). L'extrait à l'éthanol n'a présenté aucun effet sur *Salmonella typhi*. Cet extrait à 200 mg/mL a inhibé la croissance de *Escherichia coli* (12,90 ± 0,30 mm), *Staphylococcus aureus* (12,38 ± 0,07 mm), *Shigella dysenteriae* A1 (12,87 ± 0,27 mm) et de *Candida albicans* (12,42 ± 0,04 mm) (Figure 23 ECj). Sur *Candida albicans* l'extrait aqueux s'est révélé plus efficace (13,45 ± 0,66 mm). L'extrait aqueux à 200 mg/mL a inhibé la croissance de *Staphylococcus aureus*, bactéries gram positif (13,60 ± 0,10 mm), des bactéries gram négatif *Escherichia coli* (15,15 ± 0,50 mm) et *Salmonella tiphy* (10,91 ± 0,05 mm) (Figure 23WCj).



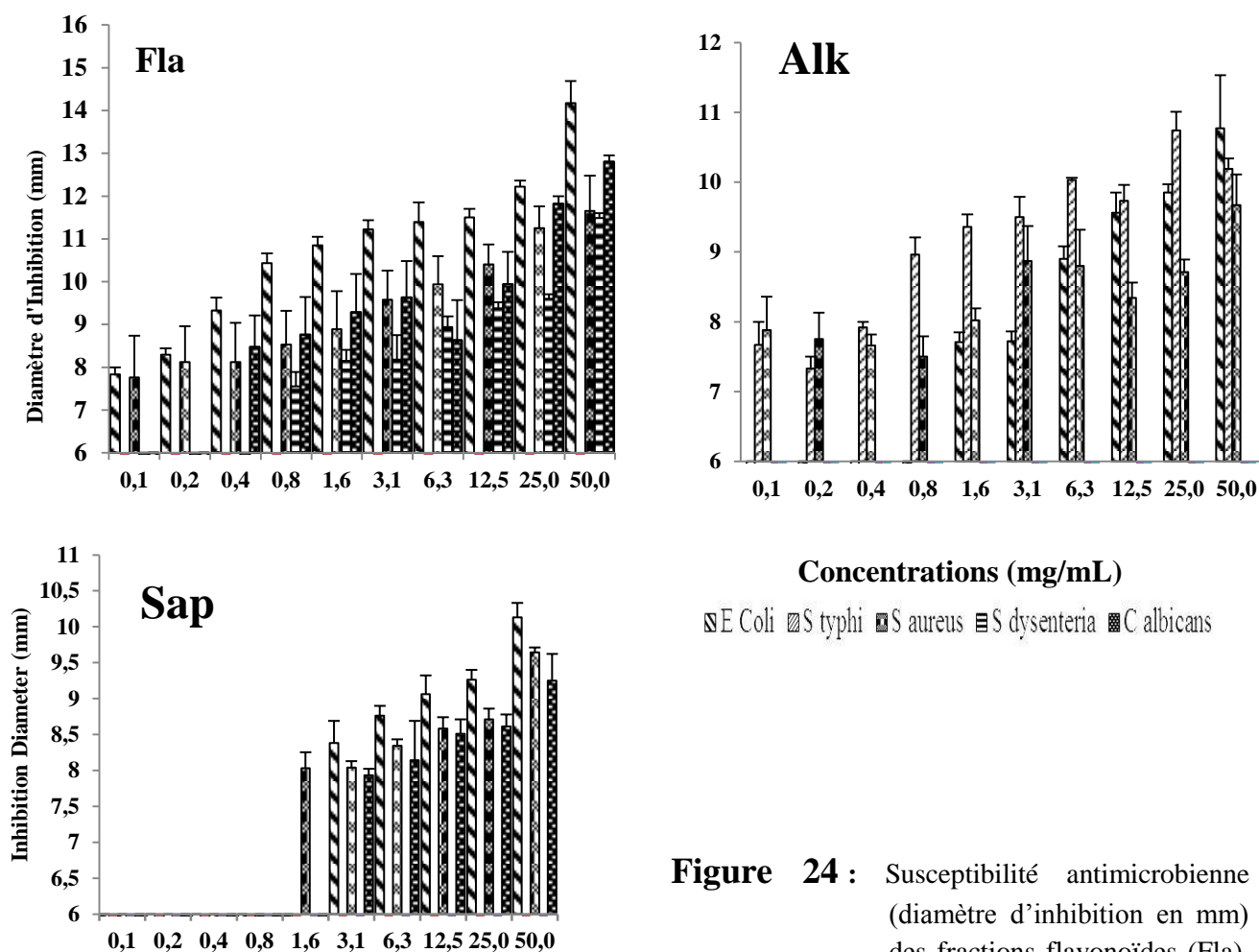
Concentrations (mg/mL)

▨ E. coli ▩ S. typhi ■ S. aureus ▤ S. dysenteriae ▧ C. albicans

**Figure 23 :** Susceptibilité antimicrobienne (diamètre d'inhibition en mm) des extraits à l'éthanol/eau (WECj), à l'éthanol (ECj) et à l'eau (WCj) de *C. jagus* sur *E. coli* (*Escherichia coli*), *S. typhi* (*Salmonella typhi*), *S. aureus* (*Staphylococcus aureus*), *C. albicans* (*Candida albicans*) et sur *S. dysenteriae* (*Shigella dysenteriae*) A1.

### III.1.2.2. Susceptibilité antimicrobienne des fractions flavonoïdes, alcaloïdes et saponines de *Crinum jagus*

La fraction flavonoïdes a inhibé la croissance des souches microbiennes. A 50 mg/mL, l'activité a été de  $14,17 \pm 0,52$  mm sur *Escherichia coli*, de  $11,65 \pm 0,83$  mm sur *Staphylococcus aureus*, de  $11,49 \pm 0,11$  mm sur *Shigella dysenteriae* A1 et de  $12,80 \pm 0,15$  mm sur *Candida albicans*. (Figure 24, Fla). La fraction saponines (Figure 24 Sap) a de façon importante inhibé la croissance de *Escherichia coli* mais avec une action moins prononcée sur *Staphylococcus aureus* et sur *Candida albicans*. La fraction Alcaloïdes (Figure 24, Alk) s'est montrée efficace seulement sur *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* et sur *Staphylococcus aureus*.



**Figure 24 :** Susceptibilité antimicrobienne (diamètre d'inhibition en mm) des fractions flavonoïdes (Fla), alcaloïdes (Alk) et saponines (Sap) de *C. jagus* sur *E. coli* (*Escherichia coli*), *S. typhi* (*Salmonella typhi*), *S. aureus* (*Staphylococcus aureus*), *C. albicans* (*Candida albicans*) et sur *S. dysenteriae* (*Shigella dysenteriae* A1).

### III.1.2.3. Concentrations minimales inhibitrice, bactéricide et fongicide

L'extrait éthanol/eau et la fraction flavonoïdes de *C. jagus* ont présenté les plus petites concentrations minimales inhibitrices (CMI) : respectivement 0,5, 0,5 et de 1,0 mg/mL sur les souches de *S. typhi*, *S. dysenteriae* A1 et sur *S. aureus* pour l'extrait éthanol/eau (Tableau XI), 0,1, 0,15, 0,3 et 1,0 mg/mL pour la fraction flavonoïdes sur *E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans*, et sur *S. dysenteriae* A1 (Tableau XI). La plus petite concentration minimale bactéricide (CMB) a été obtenue avec la fraction flavonoïdes : 1,5 et 2,0 mg/mL respectivement sur *E. coli* et sur *S. aureus*. La plus petite concentration minimale fongicide (CMF) a été de 1,0 et 3,0 mg/mL respectivement pour la fraction flavonoïdes et l'extrait aqueux sur *C. albicans*.

**Tableau XI :** Concentration minimale inhibitrice, concentration minimale bactéricide et la concentration minimale fongicide des extraits et des fractions de *Crinum jagus* sur la croissance de *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* et sur *Shigella dysenteriae* A1 *in vitro*.

Extraits	Souches microbiennes								
	<i>E. coli</i>			<i>S. typhi</i>			<i>S. aureus</i>		
	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI
WCj	3,00	5,00	1,67	1,00	4,00	4,00	1,50	4,00	2,67
ECj	5,00	7,00	1,40	1,50	3,00	2,00	3,00	5,00	1,67
WECj	9,00	15,00	1,67	0,50	3,00	6,00	1,00	3,00	3,00
Fla	0,10	1,50	15,00	-	-	-	0,15	2,00	13,33
Sap	2,00	5,00	2,50	-	-	-	2,00	5,00	2,50
Alk	5,00	8,00	1,60	1,00	2,00	2,00	2,00	3,00	1,50

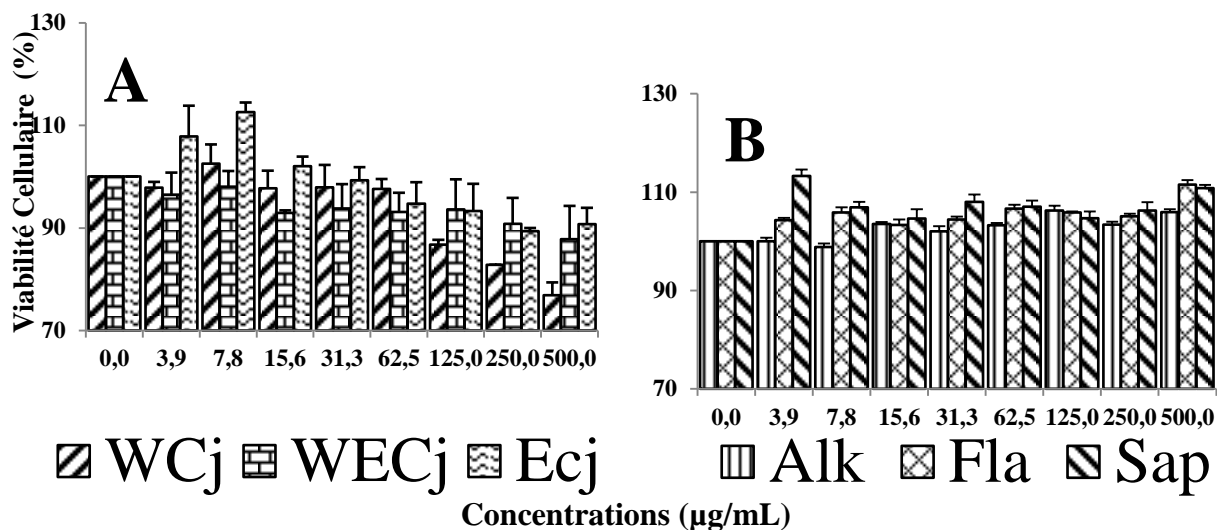
Extraits	Souches microbiennes					
	<i>S. dysenteriae</i>			<i>C. albicans</i>		
	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMF	CMF/CMI
WCj	-	-	-	1,00	3,00	3,00
ECj	1,00	3,00	3,00	4,00	6,00	1,50
WECj	0,50	3,00	6,00	-	-	-
Fla	1,00	3,00	3,00	0,50	1,00	3,33
Sap	-	-	-	2,00	6,00	3,00
Alk	2,00	5,00	2,50	-	-	-

CMI : Concentration minimale inhibitrice, CMB : Concentration minimale bactéricide, CMF : Concentration minimale fongicide, *E. coli* : *Escherichia coli*, *S. typhi* : *Salmonella typhi*, *S. aureus* : *Staphylococcus aureus*, *C. albicans* : *Candida albicans* et *S. dysenteriae* : *Shigella dysenteriae* A1, WECj : extrait eau/éthanol, WCj : extrait aqueux, ECj : extrait éthanolique, Fla : fraction flavonoïdes, Sap : fraction saponines, et alk : fraction alcaloïdes.

### III.1.3. Effets des extraits aqueux, éthanolique et hydroéthanolique et des fractions flavonoïdes, alcaloïdes et saponines de *Crinum jagus* sur la viabilité cellulaire

Les cellules de l'épithélium rénal de singe (LLC-MK2) incubées avec des solutions d'extraits ou de fractions de concentrations allant de 3,91 à 500 µg/mL n'ont présenté aucune réduction significative de la viabilité comparée au témoin (Figure 25). Par ailleurs, l'extrait aqueux de *C. jagus*

semble montrer une toxicité cellulaire aux concentrations élevées 125, 250 et 500 µg/mL avec une viabilité cellulaire de 76,86±2,49% à 500 µg/mL.



Sur les activités motrice et sécrétoire intestinales, et la croissance microbienne, l'extrait hydroéthanolique et la fraction flavonoïde de *C. jagus* ont montré de meilleures propriétés antidiarrhéiques, avec un plus pour l'extrait hydroéthanolique. En tenant compte des pratiques traditionnelles d'utilisation de cette plante, l'extrait à l'éthanol aqueux a donc été retenu pour l'étude des activités pharmacologiques antidiarrhéiques.

### III.1.4. Phytochimie de l'extrait hydroéthanolique de *Crinum jagus*

L'analyse phytochimique de l'extrait hydroéthanolique de *Crinum jagus* a révélé la présence des tanins, des alcaloïdes, des saponines, des flavonoïdes, des polyphénols, des triterpènes, des coumarines, des anthocyanidines, des stérols et des polysaccharides, et l'absence des anthraquinones.

### III.1.5. Effets de l'extrait hydroéthanolique de *Crinum jagus* sur le transit intestinal chez les rats

#### III.1.5.1. Transit intestinal normal

Une heure après l'administration du charbon activé chez les rats témoins normaux (TN), il a été observé une progression intestinale de 59%. L'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* de manière dose-dépendante et significativement ( $P < 0,01$ ) a réduit la distance parcourue par le charbon : 46,32, 60,38 et 64,55 % respectivement à 25, 50 ou 100 mg/kg (Tableau XII). L'extrait à 100 mg/kg administré après un prétraitement à l'atropine n'a entraîné aucun effet supplémentaire sur l'action de l'atropine.

**Tableau XII :** Effets de l'extrait hydroéthanolique de *Crinum jagus* (25, 50 ou 100 mg/kg) et de l'atropine sulfate (0,2 mg/kg bw) sur le transit normal du rat.

	LTI (cm)	DPC (cm)	%DPC	% I
TN	90,20±2,97	53,2±2,63	58,88±1,46	-
Atropine	94,40±1,08	22,00±0,71	23,3±0,63**	60,43
WECj25	94,80±2,27	29,90±0,87	31,62±1,25**	46,32
WECj50	97,80±2,06	22,80±0,86	23,34±0,92**	60,38
WECj100	94,48±1,59	19,70±0,44	20,80±0,56**	64,55
Atropine + WECj100	83,60±0,93	21,00±0,71	25,13±0,90	57,31

WECj25, WECj50, WECj100 : extrait hydroéthanolique de *C. jagus* à 25, 50 ou 100 mg/kg, LTI : Longueur totale de l'intestin ; DPC : Distance parcourue par le charbon ; % DPC : Pourcentage de la distance parcourue par le charbon ; % I : Taux d'inhibition par rapport au TN. Les valeurs représentent les Moyennes ± E.S.M. ; (n=5). Différence significative : \*\*P< 0,01 comparée au TN.

### III.1.5.2. Accélération du transit intestinal par action du carbachol ou de la sérotonine

L'administration du carbachol (Tableau XIII A) ou de la sérotonine (Tableau XIII B) a entraîné une accélération du transit intestinal. La progression du contenu intestinal induite par le carbachol a été de 89,14 % contre 58,88 % chez les animaux normaux. L'atropine, l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* à 25, 50 ou 100 mg/kg ont significativement (p<0,01) et de façon dose-dépendante réduit l'accélération intestinale induite par le carbachol respectivement de 62,78 %, 48,19 %, 59,78 % et de 63,83 %. La sérotonine a entraîné une propulsion intestinale chez les animaux du groupe 5-HT comparés aux animaux du groupe témoin normal (70,05 % contre 58,88 % chez TN). L'extrait hydroéthanolique de *C. jagus*, autant que le lopéramide, a significativement (p<0,01) réduit la progression intestinale induite par la 5-HT (Tableau XIII B).

**Tableau XIII :** Effets de l'extrait éthanol/eau de *Crinum jagus* sur l'accélération du transit intestinal par le carbachol (A) ou par la sérotonine (B) chez les rats.

	LTI (cm)	DPC (cm)	%DPC	% I	
TN	90,20±2,97	53,20±2,63	58,88±1,46	-	
<b>A</b>	Eau Distillée + Carbachol	77,60±1,26	69,20±1,88	89,14±1,53 <sup>b</sup>	-
	Atropine+Carbachol	83,80±1,85	27,80±1,07	33,18±1,06** <sup>b</sup>	62,78
	WECj25+Carbachol	85,00±2,02	39,20±1,02	46,18±1,30** <sup>b</sup>	48,19
	WECj50+Carbachol	78,70±2,29	27,80±1,16	35,85±1,29** <sup>b</sup>	59,78
	WECj100+Carbachol	79,20±1,69	25,60±1,57	32,24±1,50** <sup>b</sup>	63,83
<b>B</b>	5-HT	89,00±1,80	55,60±1,47	70,05±1,33	-
	Lop5 +5-HT	67,40±1,29	33,20±1,98	51,38±1,40** <sup>b</sup>	26,65
	WECj25+5-HT	76,80±2,15	37,00±1,79	48,09±1,40** <sup>b</sup>	31,35
	WECj50+ 5-HT	79,20±1,62	38,00±1,73	47,93±1,63** <sup>b</sup>	31,58
	WECj100+5-HT	87,00±0,71	41,20±1,16	47,34±1,17** <sup>b</sup>	32,42

WECj25, WECj50, WECj100 : extrait hydroéthanolique de *C. jagus* à 25, 50 et 100 mg/kg, LTI : Longueur totale de l'intestin; DPC : Distance parcourue par le charbon ; % DPC : Pourcentage de la distance parcourue par le charbon ; % I : Taux d'inhibition par rapport au groupe Carbachol ou au groupe 5-HT. Les valeurs représentent les Moyennes ± E.S.M. (n=5). Différence significative : \*\*P< 0,01 comparée au TN, <sup>b</sup>P< 0,01 comparée au groupe Carbachol ou au groupe 5-HT.

### III.1.6. Effet de la yohimbine, du glibenclamide, et de l'isosorbide dinitrite sur l'activité anti diarrhéique de l'extrait éthanol/eau de *Crinum jagus*

Le prétraitement des rats au glibenclamide et à l'isosorbide dinitrite a signification ( $p < 0,01$ ) réduit l'effet antidiarrhéique de l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* (100 mg/kg). L'extrait seul a inhibé les diarrhées de 71,20%. Par contre, l'inhibition a été de 31,46 et de 48,01% respectivement chez les animaux ayant reçu un prétraitement à l'isosorbide dinitrite et au glibenclamide. Par ailleurs, le prétraitement des animaux à la yohimbine a entraîné un changement non significatif sur l'effet antidiarrhéique de l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* (Tableau XIV).

**Tableau XIV :** Effet de l'isosorbide dinitrite, du glibenclamide et de la yohimbine sur l'activité anti diarrhéique de l'extrait eau/éthanol de *Crinum jagus*

	FSD	MSD (g)	I (%)	TL (min)
TD (Eau distillée 10 mL/kg)	8,00 ± 0,32 <sup>b</sup>	6,04 ± 0,35	-	35,40 ± 0,51
Lopéramide	1,20 ± 0,2** <sup>b</sup>	1,18 ± 0,13**	80,46	204,20 ± 2,42** <sup>b</sup>
WECj100	2,8 ± 0,20**	1,74 ± 0,21**	71,20	125,2 ± 4,19**
ISO (150 mg/kg) +EWCj100	5,20±0,20** <sup>b</sup>	4,14 ± 0,39** <sup>b</sup>	31,46	87,00 ± 5,36** <sup>b</sup>
GLIB (1 mg/kg) + EWCj100	3,80±0,20** <sup>a</sup>	3,14±0,14** <sup>b</sup>	48,01	91,60±5,66** <sup>b</sup>
YOHI (1 mg/kg) +EWCj100	2,60 ± 0,24**	2,37 ± 0,14**	60,76	96,00 ± 4,30** <sup>b</sup>
ISO	6,00±0,32** <sup>b</sup>	6,02±0,33 <sup>b</sup>	0,33	42,00±1,38 <sup>b</sup>
GLIB	6,40±0,24** <sup>b</sup>	5,26±0,30 <sup>b</sup>	12,91	50,40±2,29** <sup>b</sup>
YOHI	2,40±0,24**	1,96±0,15**	67,48	112,00±4,36**

ISO : isosorbide dinitrite, GLIB : glibenclamide, YOHI : yohimbine, FSD : Fréquence des selles diarrhéiques ; MSD : Masse des selles diarrhéiques; I : Inhibition ; TL : Temps de latence. Les valeurs représentent les Moyennes ± ESM, (n = 5). Différence significative : \*\* $p < 0,01$  par rapport au témoin diarrhéique (TD) ; <sup>a</sup> $P < 0,05$  <sup>b</sup> $P < 0,01$  comparé au groupe WECj100.

### III.1.7. Effets de l'extrait hydroéthanolique de *Crinum jagus* sur l'action du Naloxone sur le transit intestinal

Le prétraitement des rats au Naloxone a réduit l'action spasmolytique de l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus*. La propulsion intestinale chez les animaux traités à l'extrait a été comparable à celle des animaux témoins normaux (Tableau XV).

**Tableau XV :** Effets de l'extrait eau/éthanol de *Crinum jagus* et du loperamide sur la contraction intestinale des rats prétraités au Naloxone.

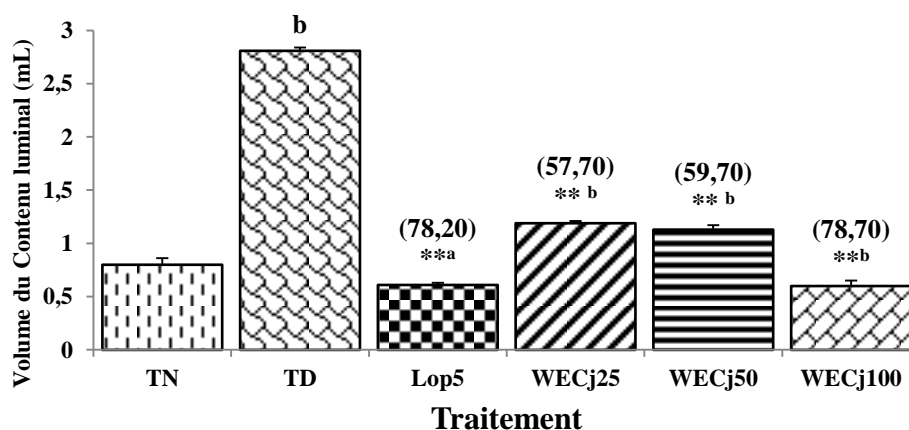
	LTI (cm)	DPC (cm)	%DPC	% I
TN	90,20±2,97	53,20±2,63	58,88±1,46	-
Naloxone + H <sub>2</sub> O	77,40±2,71	51,20±2,08	66,17±1,80*	-
Naloxone + Lop5	97,00±1,64	56,80±1,53	58,61±1,69	11,43
Naloxone + WECj25	92,20±1,43	54,20±1,16	58,91±2,10	10,97
Naloxone + WECj50	83,40±1,66	48,80±1,46	58,49±1,03	11,61
Naloxone + WECj100	78,80±2,48	45,40±2,06	57,51±0,88	13,09

WECj25, WECj50, WECj100 : extrait hydroéthanolique de *C. jagus* à 25, 50 et 100 mg/kg, Lop5 : Lopéramide 5 mg/kg, LTI : Longueur totale de l'intestin; DPC : Distance parcourue par le charbon ; % DPC : Pourcentage de la distance parcourue par le charbon ; RDP : % I : Taux d'inhibition par rapport au groupe Naloxone. Les valeurs représentent les Moyennes ± E.S.M. (n=5). Différence significative : \* $P < 0,05$  comparée au groupe témoin normal TN.

### III.1.8. Effets de l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* sur la sécrétion intestinale chez les rats

#### III.1.8.1. Sécrétion intestinale induite par l'huile de castor

L'administration de l'huile de castor chez les rats a provoqué une importante sécrétion intestinale :  $2,81 \pm 0,03$  mL chez le rat diarrhéique (DC) contre  $0,80 \pm 0,06$  mL chez le rat normal (NC). L'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* à 25, 50 ou 100 mg/kg a significativement ( $P < 0,01$ ) et de façon dose-dépendante inhibé cette sécrétion induite par l'huile de castor respectivement de 59,70 %, 78,70 % et 78,20 % (Figure 26).



**Figure 26** : Sécrétion intestinale induite par l'huile de castor chez les rats traités à l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* 25 (WECj25), 50 (WECj50), 100 mg/kg (WECj100) et au loperamide 5 mg/kg (Lop5). (n=5). Différence significative : \*\* $p < 0,01$  comparé au témoin diarrhéique (TD); <sup>a</sup> $P < 0,05$ , <sup>b</sup> $P < 0,01$  comparé au témoin normal (TN). ( ) : Taux d'inhibition.

Par ailleurs, l'analyse du contenu luminal en ions  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$  et  $\text{Cl}^-$  a montré une concentration élevée en ces ions chez les rats diarrhéiques. Le traitement à l'extrait eau/éthanol de *C. jagus* a significativement et de manière dose-dépendante réduit cette perte ionique (Tableau XVI).

**Tableau XVI** : Effets de l'extrait eau/éthanol de *Crinum jagus* et du loperamide sur quelques sécrétions ioniques

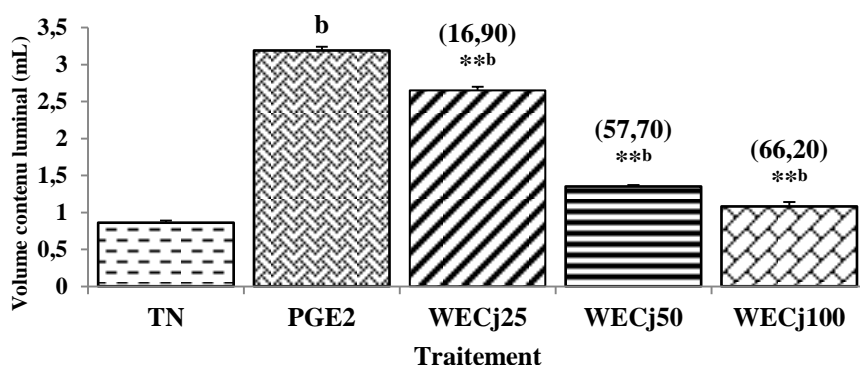
Concentrations	TN	TD	Lop5	WECj25	WECj50	WECj100
$\text{Na}^+$ (mmol/L)	$50,00 \pm 5,27$	$136,67 \pm 6,24^{**}$	$56,67 \pm 4,08^a$	$76,67 \pm 4,08^{**a}$	$63,33 \pm 6,24^a$	$53,33 \pm 6,24^a$
$\text{K}^+$ (mmol/L)	$3,07 \pm 0,13$	$4,43 \pm 0,09^{**}$	$3,79 \pm 0,10^{**a}$	$4,04 \pm 0,09^{**a}$	$3,75 \pm 0,06^{**a}$	$3,68 \pm 0,12^{**a}$
$\text{Ca}^{++}$ (mmol/L)	$1,93 \pm 0,01$	$2,61 \pm 0,09^{**}$	$1,91 \pm 0,04^a$	$2,00 \pm 0,01^a$	$1,95 \pm 0,02^a$	$1,92 \pm 0,01^a$
$\text{Cl}^-$ (mmol/L)	$44,680 \pm 1,55$	$71,28 \pm 1,55^{**}$	$44,15 \pm 0,65^a$	$67,55 \pm 0,65^{**}$	$64,36 \pm 1,0^{**a}$	$48,40 \pm 1,0^a$

WECj25, WECj50, WECj100 : extrait hydroéthanolique de *C. jagus* à 25, 50 ou 100 mg/kg ; Lop5 : Loperamide, les valeurs représentent les Moyennes  $\pm$  E.S.M. (n=5). Différence significative : \*\* $P < 0,01$  comparée au témoin normal (TN), <sup>a</sup> $p < 0,01$  comparé au témoin diarrhéique (TD).

#### III.1.8.2. Sécrétion intestinale induite par la prostaglandine

L'administration de la prostaglandine  $\text{E}_2$  ( $\text{PGE}_2$ ) a provoqué un important appel d'eau au niveau intestinal. L'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* à 25, 50 ou 100 mg/kg a entraîné une réduction significative ( $p < 0,01$ ) et dose-dépendante de cette sécrétion de 16,9 %, 57,7 % et 66,2 % respectivement (Figure 27).





**Figure 27** : Sécrétion intestinale induite par la PGE<sub>2</sub> chez les rats traités à l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* 25 (WECj25), 50 (WECj50), 100 mg/kg (WECj100). (n=5). Différence significative : \*\*p<0,01 comparé au Témoin diarrhéique (PGE<sub>2</sub>) ; <sup>b</sup> P<0,01 comparé au Témoin normal (TN). ( ) : Taux d'inhibition.

### III.1.9. Effets de l'extrait hydroéthanolique de *Crinum jagus* sur la dysenterie bacillaire (shigellose) induite chez les rats

#### III.1.9.1. Comportement des animaux et aspect des selles au cours du traitement

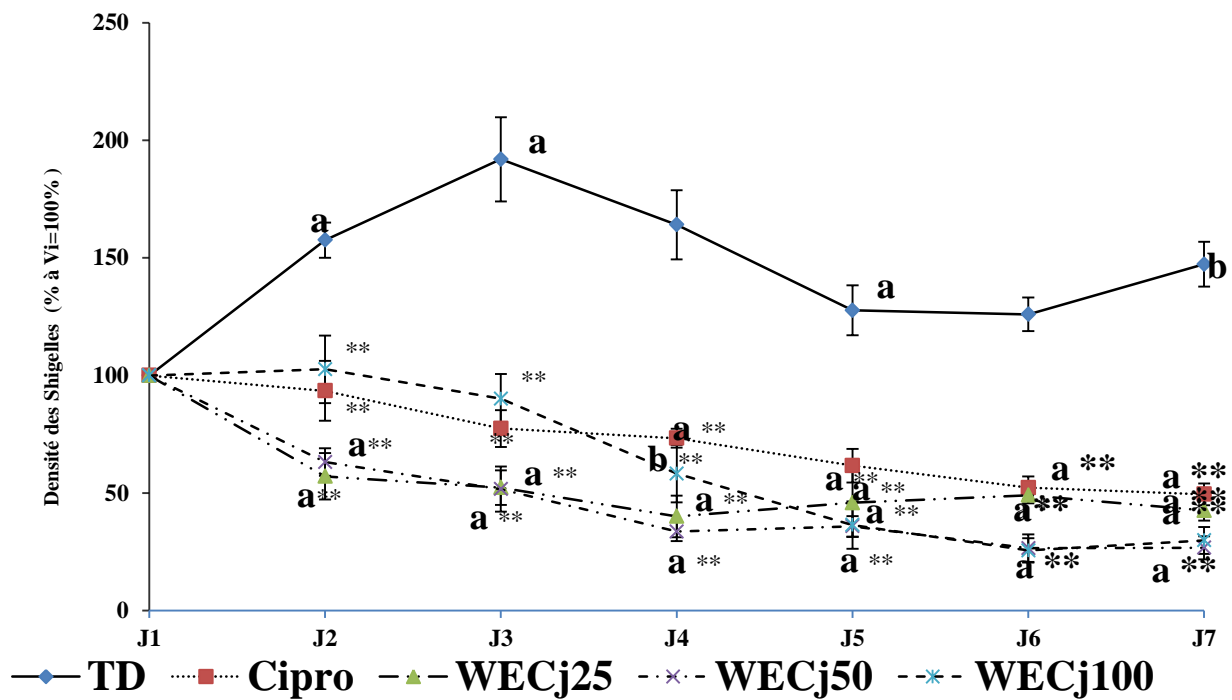
Quatre heures après administration de  $9 \times 10^8$  *Shigella flexineri*, les animaux sont devenus calmes, moins mobiles et se sont repliés en boule avec des poils dressés. Les premières selles diarrhéiques sont apparues 24 heures après administration des Shigelles. Ces selles diarrhéiques étaient pâteuses, non moulées contenant beaucoup de glaires (Figure 28). Au cours du traitement, les animaux diarrhéiques traités aux différents extraits ou à la ciprofloxacine ont progressivement retrouvé la mobilité contrairement aux animaux témoins diarrhéiques (TD).



**Figure 28** : Aspects des selles chez les rats normaux et chez les rats diarrhéiques : g= glaires, s= traces de sang

#### III.1.9.2. La densité des shigelles

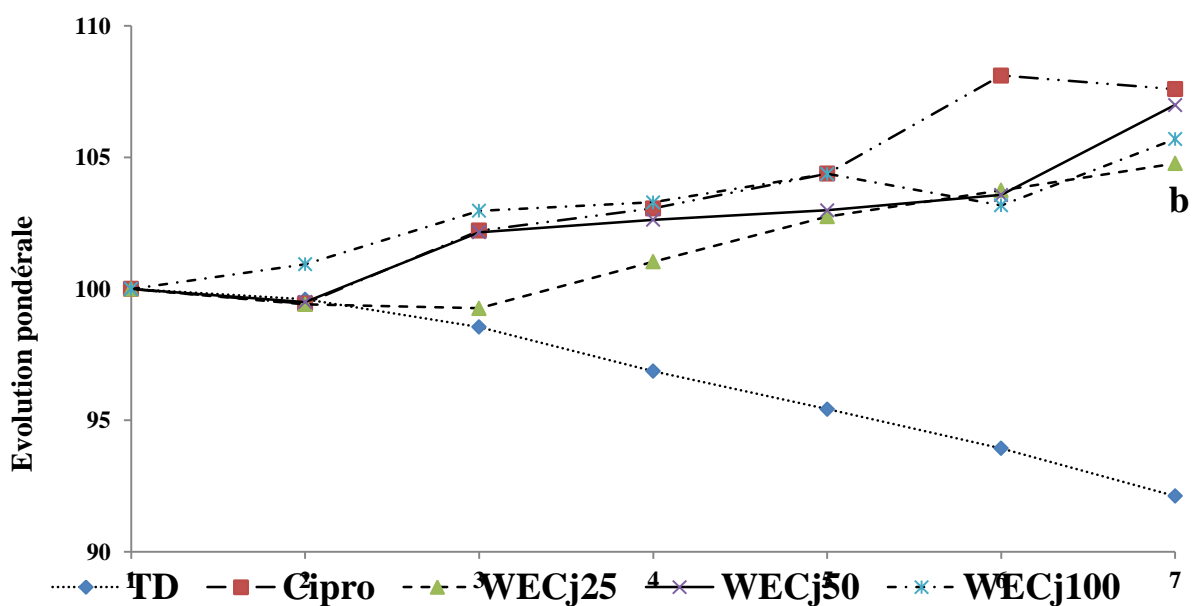
Dans les selles des rats diarrhéiques (TD), le nombre de shigelles a augmenté à partir du premier jour d'apparition de la diarrhée : +57 et +92 % (P<0,01) respectivement au deuxième et au troisième jour par rapport à la charge au premier jour. Chez les animaux traités, le nombre de bactéries a baissé significativement (P<0,01) dès le premier jour de traitement après l'apparition des diarrhées (Figure 26). Le nombre de shigelles chez les rats diarrhéiques traités à l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* WECj25, WECj50 ou WECj100 a significativement baissé (p<0,01) du premier au septième jour de traitement. Au septième jour, la charge bactérienne dans les selles par rapport à la charge initiale a été de 42, 26, 29 et 50 % respectivement pour WECj25, WECj50, WECj100 et la ciprofloxacine 2,5 mg/kg (Figure 29).



**Figure 29 :** Densité de shigelles dans les selles chez les rats diarrhéiques à shigellose traités pendant 7 jours aux extraits hydroéthanolique de *C. jagus* 25 mg/kg (WECj25), 50 mg/kg (EWCj50) et 100 mg/kg (EWCj100) et à la ciprofloxacine 2,5 mg/kg (Cipro), (n =5). Différence significative : \*\*p<0,01 par rapport au témoin diarrhéique (TD) ; <sup>a</sup>p<0,01 ; <sup>b</sup>p<0,05 par rapport à la charge bactérienne au temps d'apparition de la diarrhée et le début de traitement.

### III.1.9.3. Variation pondérale

Dès l'apparition de la diarrhée, nous avons observé une diminution de masse chez les animaux témoins diarrhéiques (Figure 30).



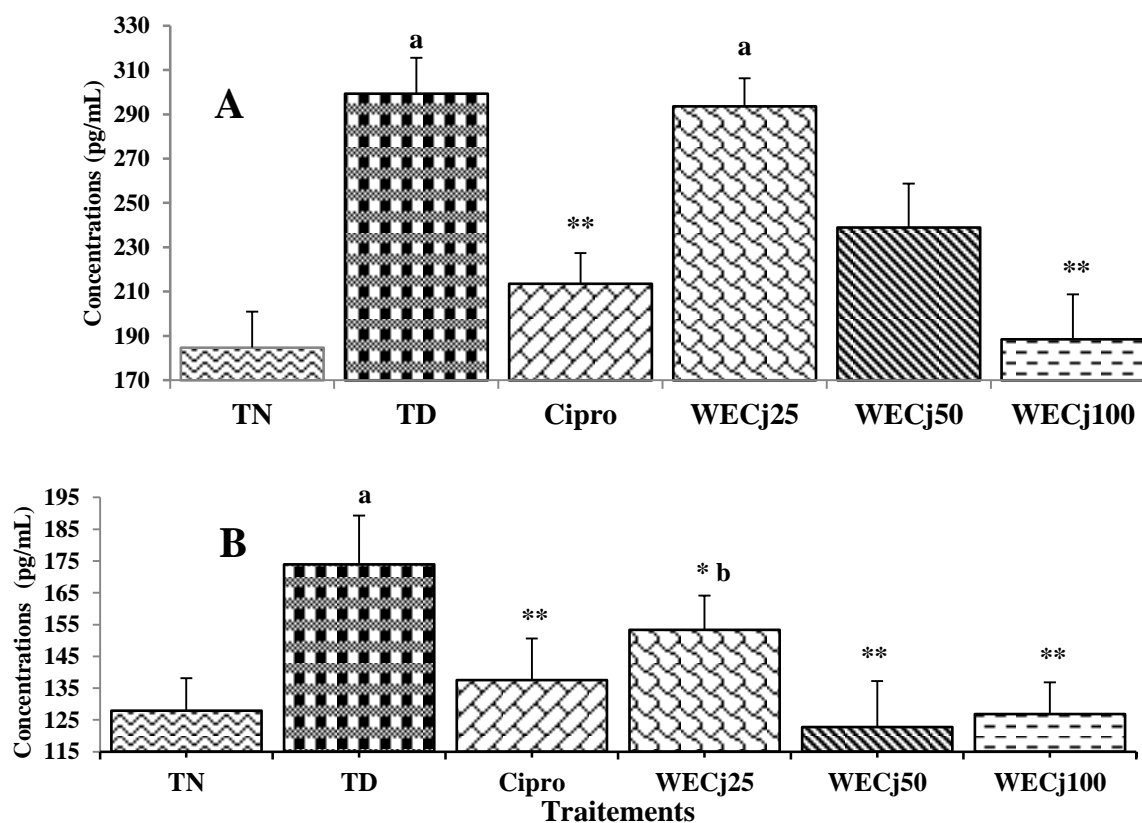
**Figure 30 :** Evolution pondérale des rats diarrhéiques à shigellose traités aux extraits hydroéthanolique de *C. jagus* 25 mg/kg (WECj25), 50 mg/kg (EWCj50) et 100 mg/kg (EWCj100) et à la ciprofloxacine 2,5 mg/kg (Cipro), (n =5). Différence significative ; <sup>b</sup>p<0,05 par rapport au poids de départ.

Au septième jour, cette perte de poids est de 8 % du poids de départ. Par contre, chez les animaux traités, nous avons observé de légers gains en masse pendant les 7 jours de traitement. L'augmentation par rapport aux masses initiales départ était de 5, 7, 6 et 8 % au jour 7 respectivement pour WECj25, WECj50, WECj100 ou la ciprofloxacine 2,5 mg/kg.

### III.1.9.4. Paramètres biochimiques

#### III.1.9.4.1. Taux de l'Interleukine-2 et de l'interféron gamma

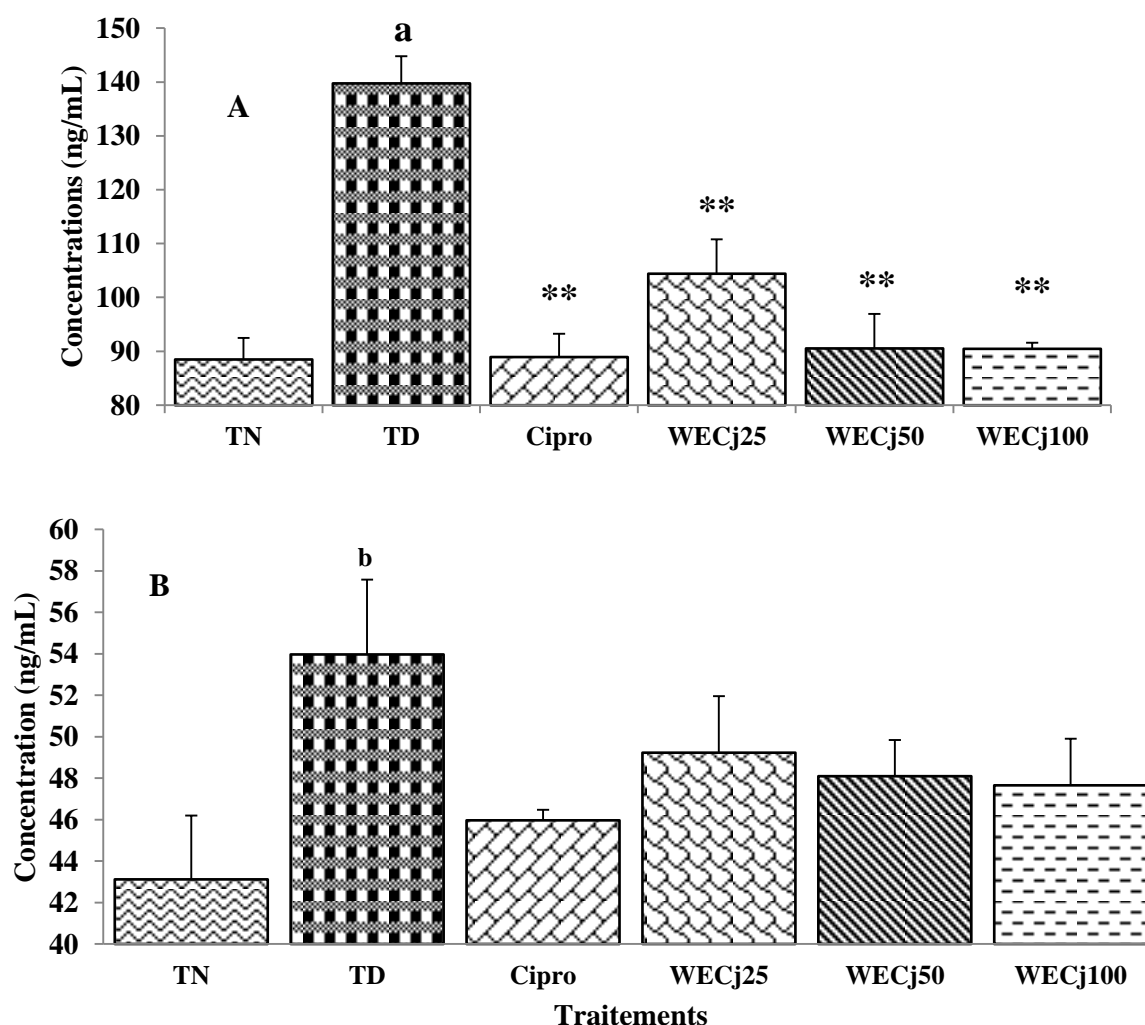
La concentration de l'interleukine-2 a significativement augmenté ( $P < 0,01$ ) chez les animaux diarrhéiques comparés aux normaux. L'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* a significativement et de façon dose-dépendante réduit cette concentration avec  $293,63 \pm 13,77$ ,  $238,95 \pm 19,84$  et  $188,49 \pm 20,31$  pg/mL respectivement à 25, 50 ou 100 mg/kg contre  $299,35 \pm 16,18$  pg/mL chez le groupe contrôle diarrhéique et de  $184,70 \pm 16,22$  pg/mL chez le groupe contrôle normal (Figure 31A). L'infection des animaux aux shigelles a entraîné une augmentation significative ( $p < 0,01$ ) de la concentration sanguine de l'interféron- $\gamma$  (Figure 31B). Après une semaine de traitement à l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus*, cette concentration a significativement diminué. Elle a été de  $173,92 \pm 15,34$  pg/mL chez les témoins diarrhéiques contre  $153,32 \pm 10,76$ ,  $122,73 \pm 14,39$  et  $126,82 \pm 10,03$  pg/mL pour *C. jagus* à 25, 50 et 100 mg/kg respectivement.



**Figure 31 :** Concentration de l'interleukine-2 (A) et de l'interféron- $\gamma$  (B) chez les rats diarrhéiques à shigellose traités aux extraits hydroéthanoliques de *C. jagus* 25 mg/kg (WECj25), 50 mg/kg (WECj50) et 100 mg/kg (WECj100) et à la ciprofloxacine 2,5 mg/kg (Cipro), (n=5). Différence significative : \*\* $p < 0,01$  par rapport au témoin diarrhéique (TD) ; <sup>a</sup> $p < 0,01$ , <sup>b</sup> $p < 0,05$  par rapport au témoin normal.

### III.1.9.4.2. Taux des immunoglobulines A et M

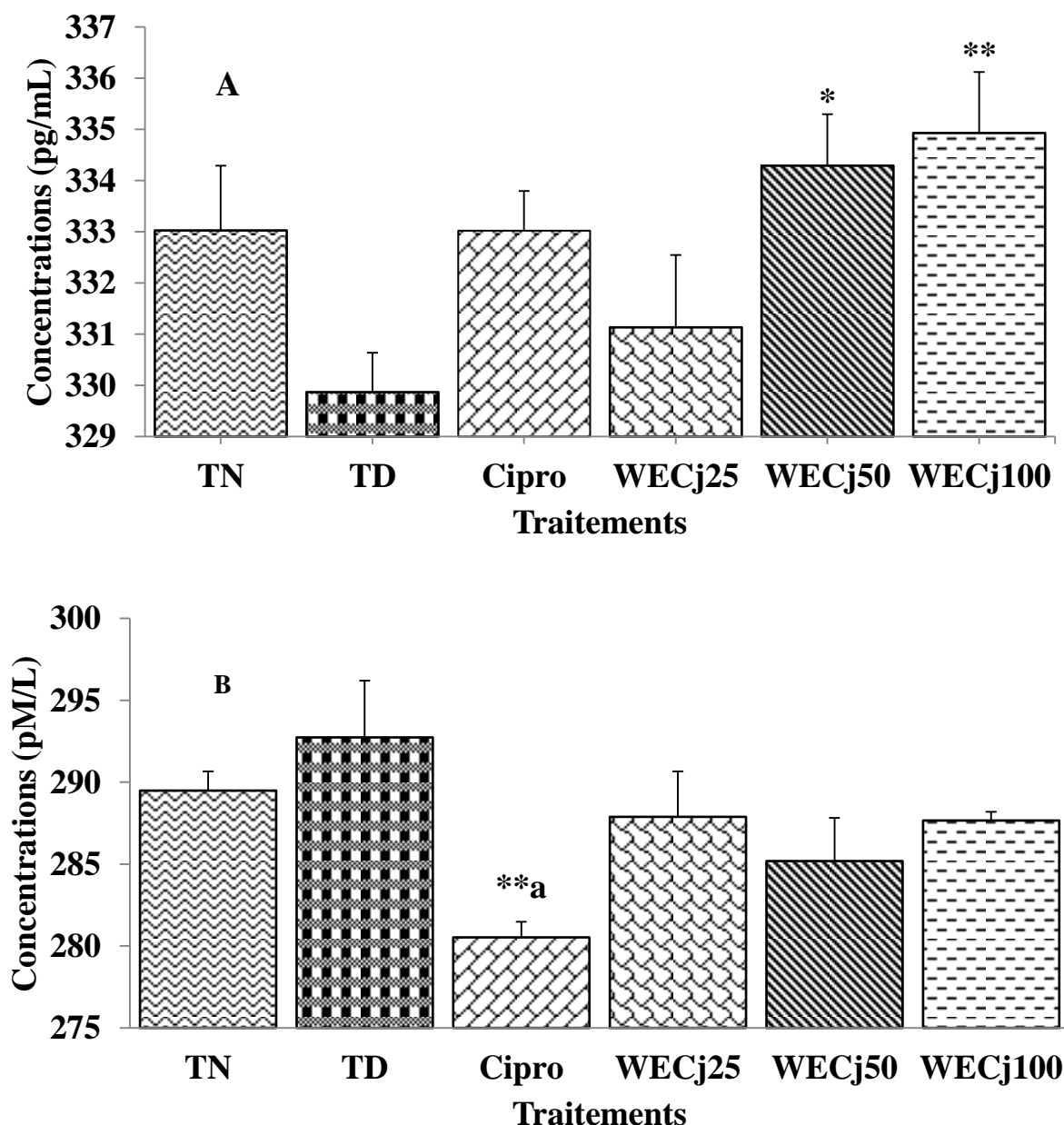
Chez les rats normaux, la concentration en IgA était de  $88,50 \pm 3,98$  ng/mL. L'infection aux shigelles a entraîné une augmentation de la concentration en IgA chez les témoins diarrhéiques ( $139,77 \pm 5,03$  ng/mL). L'administration des différentes doses de l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* a significativement ( $p < 0,01$ ) réduit cette concentration et de façon dose-dépendante. Ces concentrations ont été de  $88,95 \pm 4,28$ ,  $104,42 \pm 6,34$ ,  $90,55 \pm 6,36$  et de  $90,47 \pm 1,14$  ng/mL chez les rats ayant reçu respectivement la ciprofloxacine et l'extrait à 25, 50 ou 100 mg/kg (Figure 32A). Chez les témoins diarrhéiques, la concentration en IgM a connu une augmentation significative ( $p < 0,01$ ) comparée aux rats normaux ( $53,97 \pm 3,60$  contre  $43,12 \pm 3,08$  ng/mL respectivement). Chez les animaux ayant reçu la ciprofloxacine ou l'extrait hydroéthanolique de *Crinum jagus* (25, 50 ou 100 mg/kg) nous avons obtenu une baisse avec des concentrations respectives de  $45,97 \pm 0,51$ ,  $49,23 \pm 2,73$ ,  $48,10 \pm 1,74$  et de  $47,66 \pm 2,24$  ng/mL (Figure 32B).



**Figure 32 :** Concentration de l'immunoglobuline A (A) et de l'immunoglobuline M (B) chez les rats diarrhéiques à shigellose traités à l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* 25 mg/kg (WECj25), 50 mg/kg (WECj50) ou 100 mg/kg (WECj100) et à la ciprofloxacine 2,5 mg/kg (Cipro), (n = 5). Différence significative : \*\* $p < 0,01$  par rapport au témoin diarrhéique (TD) ; <sup>a</sup> $p < 0,01$  par rapport au témoin normal.

### III.1.9.4.3. Taux du peptide intestinal vasoactif et de la motiline

L'infection des animaux aux shigelles a entraîné une variation significative ( $p < 0,01$ ) de la concentration du peptide intestinal vasoactif (Figure 33A), mais n'a provoqué aucun effet significatif sur la teneur sanguine de la motiline (Figure 33B). La concentration du peptide intestinal vasoactif a été de  $333,03 \pm 1,26$  et de  $329,87 \pm 0,77$  pg/mL respectivement chez les animaux des groupes témoin normal et témoin diarrhéique contre  $333,02 \pm 0,78$ ,  $331,13 \pm 1,41$ ,  $334,29 \pm 1,00$  et de  $334,93 \pm 1,19$  pg/mL chez les animaux traités respectivement à la ciprofloxacine et à l'extrait à 25, 50 et 100 mg/kg (Figure 33A).



**Figure 33 :** Concentration du peptide intestinal vasoactif et de la motiline chez les rats diarrhéiques à shigellose traités aux extraits hydroéthanolique de *C. jagus* 25 mg/kg (WECj25), 50 mg/kg (EWCj50) et 100 mg/kg (EWCj100) et à la Ciprofloxacine 2,5 mg/kg (Cipro), (n =5). Différence significative : \* $p < 0,05$  ; \*\* $p < 0,01$  par rapport au témoin diarrhéique (TD) ; <sup>a</sup> $p < 0,05$  par rapport au témoin normal

### III.1.9.4.4. Concentration plasmatique de quelques ions

L'apparition de la diarrhée chez les rats a été accompagnée d'une diminution du taux plasmatique des ions Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup> et Cl<sup>-</sup>. L'extrait à l'éthanol/eau de *C. jagus* a, de façon significative (P< 0,01) et dose-dépendante, réduit ces pertes ioniques (Tableau XVII).

**Tableau XVII :** Effets de l'extrait à l'éthanol/eau de *Crinum jagus* et de la ciprofloxacine sur les taux plasmatiques des ions Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup> et Cl<sup>-</sup> des rats infectés à *Shigella flexineri*.

Concentrations	TN	TD	Cipro	WECj25	WECj50	WECj100
Na <sup>+</sup> (mmol/L)	143,33±4,08	93,33±4,08**	146,67±6,24 <sup>a</sup>	120,00±6,24** <sup>a</sup>	136,67±6,24 <sup>a</sup>	140,00±4,08 <sup>a</sup>
K <sup>+</sup> (mmol/L)	5,11±0,09	3,75± 0,08**	5,46± 0,12** <sup>a</sup>	4,32± 0,09** <sup>a</sup>	5,00± 0,08** <sup>a</sup>	5,11± 0,07** <sup>a</sup>
Ca <sup>++</sup> (mmol/L)	3,25±0,01	2,44± 0,03**	3,06± 0,04 <sup>a</sup>	2,52± 0,01**	2,80± 0,11**	3,12± 0,09 <sup>a</sup>
Cl <sup>-</sup> (mmol/L)	113,83±2,29	95,74± 1,46**	108,51± 2,29 <sup>a</sup>	100,00± 1,36**	104,79± 1,36** <sup>a</sup>	107,98± 1,36 <sup>a</sup>

WECj25, WECj50, WECj100 : extrait à l'éthanol/eau de *Crinum jagus* à 25, 50 et 100 mg/kg, Cipro : ciprofloxacine 2,5 mg/kg, TN : Témoin normal, TD : Témoin diarrhéique. Les valeurs représentent les Moyennes ± E.S.M. (n=5). Différence significative : \*\*P< 0,01 comparée TN, <sup>a</sup>p<0,01 comparé au TD.

### III.1.9.4.5. Eléments sanguins

Chez les rats diarrhéiques (TD), nous avons observé une baisse significative (P< 0,01) des GB (2,74±0,75 x 10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>), de l'Hb (11,16±0,80 g/dL), une hausse des GR (6,42±0,45 X10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>) et des Pc (374,80±2,05 x 10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>) par rapport aux rats normaux. L'hématocrite (Ht), le volume globulaire moyen (VGM), la teneur globulaire moyenne en hémoglobine (TGMH), la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) ont été respectivement de 40,04±1,76%, 59,98±2,06 μm<sup>3</sup>, 34,02±3,79 contre 31,56±2,07 μg/dL chez le TN. Chez les TD, nous avons observé une baisse de l'Ht (34,32±1,93%), du VGM (52,20±0,53 μm<sup>3</sup>), de la TGMH (17,40±0,08 μg). Chez les animaux diarrhéiques traités à l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* nous avons observé une augmentation significative (p<0,01) et dose dépendante des GB (5,22±0,32 x 10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>) et des Pc (826,60±2,89 x 10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>) par rapport au TD (Tableau XVIII).

**Tableau XVIII :** Paramètres hématologiques des rats infectés avec *Shigella flexineri* après le traitement à l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* et à la ciprofloxacine

Groupes	TN	TD	Cipro	WECj25	WECj50	WECj100
GBX10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	5,24±0,14	2,74±0,75**	3,92±0,22	4,79±0,08 <sup>b</sup>	4,92±0,55 <sup>b</sup>	5,22±0,32 <sup>a</sup>
GRX10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	4,28±0,19	6,42±0,45	7,06±0,35*	7,82±1,19**	7,37±0,51**	8,25±0,39**
Hb (g/dL)	13,15±0,76	11,16±0,80	12,18±0,93	12,32±0,74	13,14±0,54	12,30±0,62
Ht (%)	40,04±1,76	34,32±1,93	36,68±2,25	40,52±1,67	42,64±3,30 <sup>b</sup>	44,40±0,86 <sup>b</sup>
PcX10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	373,40±1,13	374,80±2,05	361,80±4,72 <sup>b</sup>	485,64±3,02** <sup>a</sup>	497,20±2,15** <sup>a</sup>	826,60±2,89** <sup>a</sup>
VGM (μm <sup>3</sup> )	59,98±2,06	52,20±0,53*	51,80±0,73**	54,00±0,84*	52,20±0,86*	53,20±0,97*
TGMH (μg)	34,02±3,79	17,40±0,08**	17,40±0,22**	14,26±2,81**	16,60±0,97**	14,56±1,39**
CCMH (μg/dL)	31,56±2,07	33,46±0,38	33,46±0,47	33,78±0,84	34,74±0,66	35,04±0,97

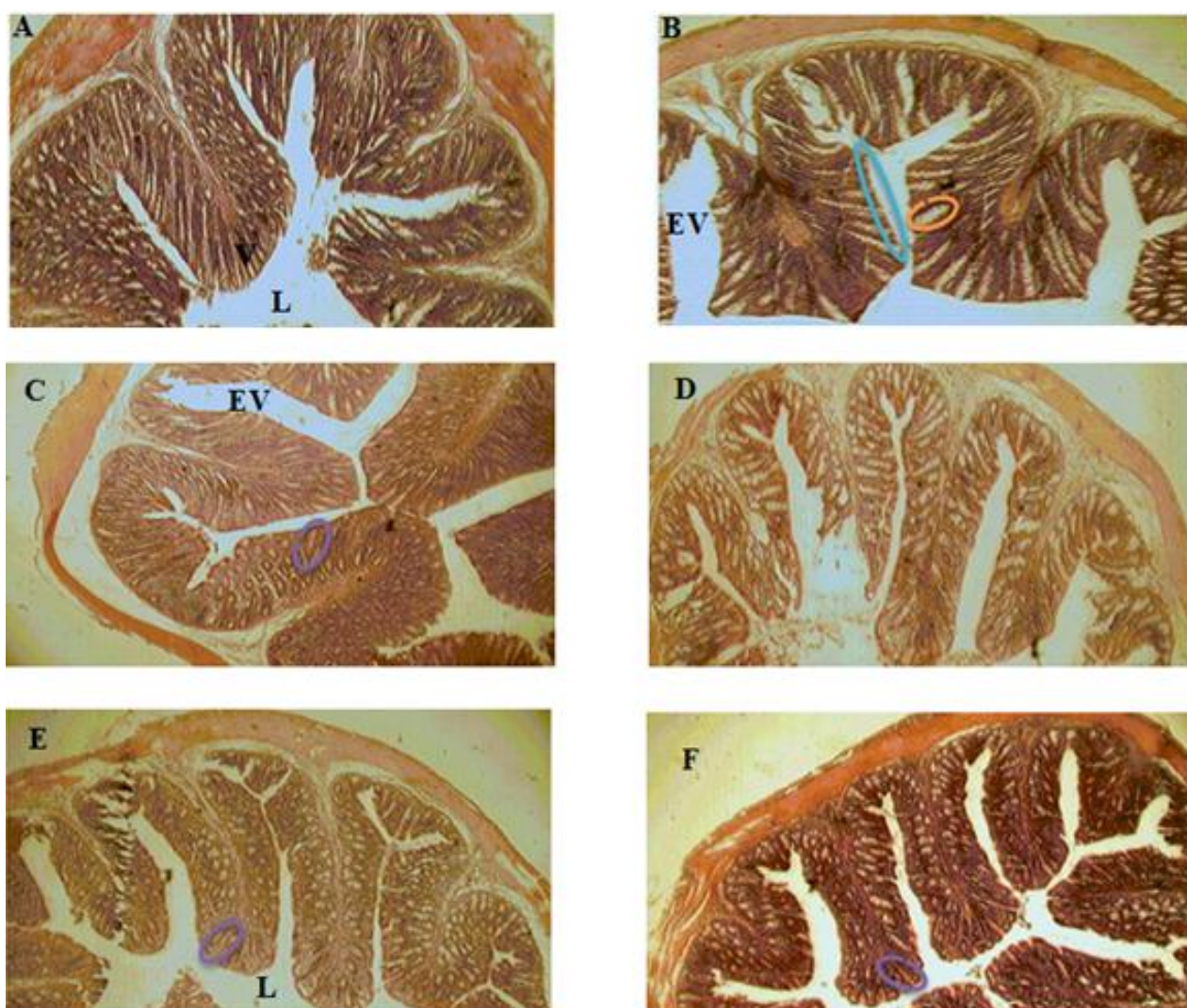
WECj25, WECj50, WECj100 : extrait à l'éthanol/eau de *Crinum jagus* à 25, 50 et 100 mg/kg, Cipro : ciprofloxacine 2,5 mg/kg, NC : témoin normal, TD : témoin diarrhéique, GB : globules blancs, Hb : hémoglobine, Ht : hématocrite, GR : globules rouges, Pc : plaquettes sanguines, VGM : volume globulaire moyen, TGMH : teneur globulaire moyenne en hémoglobine, CCMH : concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine, (n=5). Différence significative : \*p<0,05, \*\*p<0,01 par rapport au Témoin normal (TN) ; <sup>a</sup>p<0,01, <sup>b</sup>p<0,05 par rapport au témoin diarrhéique (TD).



Il a été observé chez les animaux diarrhéiques traités à l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) et dose dépendante de l'Ht ( $44,40 \pm 0,86\%$ ), une augmentation non significative de la CCMH ( $35,04 \pm 0,97 \mu\text{g/dL}$ ) par rapport au TD. Le VGM et la TGMH chez ces animaux n'ont présenté aucune variation significative par rapport au TD (Tableau XVIII).

### III.1.9.4.6. Effets des différents traitements sur la morphologie intestinale des rats diarrhéiques

Le côlon des rats normaux (Figure 34A) a montré un épithélium normal avec des plis (V) et des microplis de grandes tailles.



H&Ex400

**Figure 34 :** Histologie du côlon du rat témoin normal (A), témoin diarrhéique (B) et des rats diarrhéiques traités à l'extrait hydroéthanolique de *Crinum jagus* à 25 mg/kg (C), 50 mg/kg (D), 100 mg/kg (F) et à la ciprofloxacine (2,5 mg/kg) (E) — Abrasion de l'épithélium du côlon, — Cellules caliciformes gorgées de mucus, — Cellules caliciformes vidées de mucus

Chez les rats diarrhéiques non traités (Figure 34B), le côlon a montré d'une part une abrasion et une érosion du revêtement muqueux de l'épithélium donnant lieu à de vastes espaces interplis (EV) et d'autre part, un grand nombre de cellules caliciformes gorgées de mucus. Avec le traitement à

l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* à 25 mg/kg (Figure 34C), 50 mg/kg (Figure 34D), 100 mg/kg (Figure 34F) et à la ciprofloxacine (2,5 mg/kg) (Figure 34E) l'épithélium a de façon dose-dépendante retrouvé un aspect normal avec des microplis bien reconstitués et une diminution de la plage de cellules caliciformes dont les diamètres ont réduit.

### III.1.10. activités antioxydantes

#### III.1.10.1. Activité sur le DPPH et le radical oxyde nitrique

Le taux d'inhibition du radical DPPH par l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* a significativement ( $p < 0,01$ ) augmenté et de façon dose dépendante. A 320  $\mu\text{g/mL}$ , l'activité antiradicalaire sur le DPPH a été de  $56,711 \pm 0,049 \%$  (Tableau XIX). L'inhibition du radical oxyde nitrique (I-NO) a significativement augmenté ( $p < 0,01$ ) et de manière dose-dépendante, avec un taux d'inhibition de  $65,90 \pm 0,43 \%$  à 320  $\mu\text{g/mL}$  (Tableau XIX).

**Tableau XIX :** Taux d'inhibition (%) du radical DPPH (I-DPPH) et du radical oxyde nitrique (I-NO) par l'extrait hydroéthanolique de *Crinum jagus*

WECj	D10	D20	D40	D80	D160	D320
I-DPPH (%)	$44,34 \pm 0,35$	$50,24 \pm 0,55^{**}$	$51,37 \pm 0,99^{**}$	$54,95 \pm 0,15^{**}$	$56,50 \pm 0,10^{**}$	$56,71 \pm 0,05^{**}$
I-NO(%)	$40,45 \pm 0,10$	$57,60 \pm 0,02^{**}$	$58,22 \pm 0,26^{**}$	$62,51 \pm 0,27^{**}$	$64,10 \pm 0,20^{**}$	$65,90 \pm 0,43^{**}$

WECj : extrait hydroéthanolique de *Crinum jagus*; D10-D320 : différentes doses d'extrait de 10 à 320 microgrammes/millilitre ; DPPH : 1,1-diphényl-2-picrilhydrazyl. Différence significative :  $^{**}p < 0,01$  par rapport à la valeur initiale

#### III.1.10.2. Chélation de l'ion ferreux

L'extrait hydroéthanolique de *Crinum jagus* de manière dose dépendante, a significativement ( $p < 0,01$ ) chélaté l'ion ferreux. Le taux de chélation a été de  $60,25 \pm 0,22$  à 160  $\mu\text{g/mL}$  (Tableau XX).

**Tableau XX :** Taux de chélation (%) de l'ion ferreux par l'extrait hydroéthanolique de *Crinum jagus*

WECj	D1	D2	D4	D6	D8
	$34,46 \pm 0,43$	$35,15 \pm 0,26$	$51,13 \pm 0,53^{**}$	$60,25 \pm 0,22^{**}$	$56,85 \pm 0,21^{**}$

WECj : extrait hydroéthanolique de *Crinum jagus* ; D1-D8 : différentes doses d'extrait de 1 à 8 mg/millilitre. Différence significative :  $^{**}p < 0,01$  par rapport à la valeur initiale

#### III.1.11. Toxicité aiguë

Une heure après administration de l'extrait hydroéthanolique (5000 mg/kg), les rats ont manifesté une diminution de la motilité et quelques contractions abdominales. Ces signes ont disparu au bout d'une trentaine de minutes et par la suite, pendant les 14 jours d'observation, les animaux n'ont plus présenté de signe de trouble comportemental (sensibilité au bruit, au toucher et au pincement, agressivité, locomotion). Les selles avaient l'aspect normal et nous n'avions enregistré aucun décès. La dose létale médiane  $DL_{50}$  de cet extrait serait supérieure à 5 000 mg/kg de poids corporel et il serait faiblement toxique.



### III.2. Discussion

*Crinum jagus* est empiriquement utilisé dans la Région de l'Ouest Cameroun en cas d'ingestion de poisons et dans le traitement de troubles gastro-intestinaux. Il a été évalué dans ce travail, l'activité antidiarrhéique de cette plante. Dans un premier temps, ont été évaluées l'efficacité des différents extraits (totaux et fractions) sur certains paramètres de diarrhées ainsi que leur toxicité cellulaire afin de sélectionner l'extrait le plus efficace pour ensuite étudier sa toxicité et ses propriétés pharmacologiques sur les diarrhées induites.

L'administration d'huile de castor (ou huile de ricin) a entraîné chez les rats des diarrhées caractérisées par une augmentation de la fréquence et de la masse des selles liquides. L'acide ricinoléique issu de la digestion de l'huile de castor provoque l'irritation et l'inflammation de la muqueuse intestinale avec pour conséquence une augmentation de la libération des prostaglandines et du monoxyde d'azote (Pérez-Gutiérrez *et al.*, 2013). Le monoxyde d'azote va transformer la guanylate cyclase soluble en GMPC, un potentiel activateur de la wécrétion intestinale. Cette action de l'acide ricinoléique dans l'intestin grêle peut être médiée par la libération de prostaglandine E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), la libération de l'adénylate cyclase ou de l'AMP<sub>c</sub> et de monoxyde d'azote (Majumder *et al.*, 2013). La prostaglandine E<sub>2</sub> par activation de ses récepteurs EP<sub>3</sub> et EP<sub>4</sub> va entraîner l'augmentation de l'activité péristaltique de l'intestin grêle et la modification de la perméabilité intestinale aux électrolytes (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>) par inhibition intestinale de l'activité de la pompe Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase (Meite *et al.*, 2009), et l'activation des canaux chloriques dont la conséquence physiologique est la sortie massive des ions Cl<sup>-</sup> vers la lumière intestinale, sortie suivie par les ions Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup>, et donc d'eau (Pérez-Gutiérrez *et al.*, 2013). Tous ces mécanismes conduisent ainsi à une augmentation de la fréquence et de la quantité des selles diarrhéiques. Les extraits aqueux, éthanolique et hydroéthanolique de *C. jagus*, ainsi que ses fractions flavonoïdes, alcaloïdes et saponines ont, comme le lopéramide, significativement prolongé le temps d'induction des diarrhées et diminué la fréquence et la masse des selles diarrhéiques. Certains antidiarrhéiques tel que le lopéramide sont des agonistes opioïdes qui augmentent l'absorption et/ou diminuent la sécrétion ou la motilité gastro-intestinale par activation des récepteurs muscariniques μ du plexus myentérique du gros intestin (Wood et Galligan, 2004 ; Faure, 2013). Cette activation inhibe la libération de l'acétylcholine entraînant ainsi le relâchement du tonus musculaire lisse intestinal (Regnard *et al.*, 2011). La conséquence physiologique est l'accroissement des contractions de segmentation et l'inhibition du péristaltisme, augmentant ainsi le temps de transit intestinal. L'activation des récepteurs μ entraîne donc une diminution des sécrétions, une augmente du tonus de contraction et une diminution de la motricité intestinales. Ainsi, les différents extraits et

fractions de *C. jagus* pourraient prolonger le temps d'apparition des diarrhées, diminuer la fréquence et la masse des selles diarrhéiques en interférant soit sur la production ou sur l'action de la prostaglandine E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), de l'adénylate cyclase, de l'AMPc, du monoxyde d'azote, de la pompe Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase, ou sur le mécanisme d'action de l'acétylcholine. Pour cette activité spasmolytique et anti-sécrétoire, l'extrait à l'éthanol/eau et la fraction flavonoïde, mieux que les autres extraits, ont été plus efficaces.

Sur les cultures microbiennes, les différents extraits totaux et fractions de *C. jagus* ont freiné la croissance des bactéries aussi bien gram positif que gram négatif, et ainsi que celle du champignon (*Candida albicans*). Ceci laisse penser que les extraits de *Crinum jagus* contiendraient des substances à activité antibiotique à large spectre (Giguère, 2013). Avec le rapport CMB/CMI > 4, l'extrait hydroéthanolique aurait une activité bactériostatique sur *S. typhi* et sur *S. dysenteriae A1* et la fraction flavonoïdes l'aurait sur *E. coli* et sur *S. aureus*. Par ailleurs, les autres extraits et fractions auraient, par leurs rapports CMB/CMI < 4, des activités bactéricides sur *E. coli*, *S. typhi*, *S. aureus* ou *S. dysenteriae A1* (Giguère, 2013). Séparément, aucune fraction n'a été aussi active que les différents extraits totaux. L'activité antimicrobienne des extraits de *Crinum jagus* résulterait des actions synergiques des composés bioactifs contenus dans les extraits et dont les activités antimicrobiennes sont bien connues, notamment les saponines (Soetan *et al.*, 2006 ; Maatalah *et al.*, 2012), les anthraquinones (Lu *et al.*, 2011 ; Dave et Ledwani, 2012), les phénols, les anthocyanidines (Karimi *et al.*, 2011) et les coumarines (Mirunalini et Krishnaveni, 2011).

Les cellules épithéliales des tubules rénales sont des cellules issues de l'organe impliqué dans l'élimination des xénobiotiques de l'organisme (Kelly *et al.*, 2013). Sur les cellules épithéliales rénales de singe (LLC-MK2) en culture, les différents extraits et fractions n'ont pas montré d'effet toxique significatif ou une réduction significative de la viabilité cellulaire. Même à une concentration de 500 µg/mL la mortalité cellulaire a été < 50 %. Les extraits et fractions de *C. jagus* auraient donc une DL<sub>50</sub> (concentration induisant 50% de mortalité) > 500 µg/mL.

Sur les activités motrice et sécrétoire intestinales, et la croissance microbienne, l'extrait hydroéthanolique et la fraction flavonoïde de *C. jagus* ont montré de meilleures propriétés antidiarrhéiques, avec un plus pour l'extrait hydroéthanolique. En tenant compte des pratiques traditionnelles d'utilisation de cette plante, l'extrait à l'éthanol aqueux a été retenu pour l'étude des activités pharmacologiques antidiarrhéiques.

En toxicité aiguë, l'extrait hydroéthanolique de *Crinum jagus* jusqu'à 5000 mg/kg n'a entraîné, ni décès, ni modification de comportement chez les rats. La DL<sub>50</sub> serait donc

supérieure à 5000 mg/kg, traduisant un faible effet toxique de l'extrait en prise aiguë (OECD/OCDE, 2008).

Sur le transit accéléré par le carbachol, l'extrait hydroéthanolique de *Crinum jagus* a provoqué une baisse considérable de la propulsion intestinale. Le carbachol tout comme l'acétylcholine active les récepteurs muscariniques  $M_3$  dont la conséquence est une augmentation de l'amplitude, de la fréquence et du tonus de contraction des muscles lisses intestinaux (Tanahashi *et al.*, 2013). L'extrait de *Crinum jagus*, comme l'atropine, antagoniste muscarinique de l'ACh qui agit en empêchant la mobilisation des ions  $Ca^{2+}$  intracellulaires responsables de la contraction musculaire (Hu *et al.*, 2010 ; Hu *et al.*, 2012), contiendrait des substances dont l'action passe soit par le blocage des récepteurs muscariniques ( $M_3$ ) responsables de la formation de l'inositol 1,4,5-triphosphate (IP3) à l'origine de l'augmentation du  $Ca^{2+}$  intracellulaire (Unno *et al.*, 2005), soit par le blocage des canaux calciques membranaires. Cette action s'expliquerait en partie par la présence dans *Crinum jagus* des composés bioactifs tels que les flavonoïdes, les saponines les tanins, les polyphénols et les alcaloïdes, qui ont des activités anticholinergiques (Pandy *et al.*, 2013). Par ailleurs, l'extrait hydroéthanolique de *Crinum jagus* a inhibé l'accélération du transit intestinal induite par la sérotonine. La sérotonine provoque la contraction intestinale via ses récepteurs 5-HT<sub>3</sub> situés au niveau pré et post ganglionnaire du système nerveux entérique. La stimulation de ces récepteurs entraîne une libération de la substance P à l'origine de cette contraction (Chetty *et al.*, 2006). L'extrait hydroéthanolique de *Crinum jagus* agirait donc soit en bloquant les récepteurs 5-HT<sub>3</sub> ou la production de la substance P.

Le naloxone a réduit l'effet spasmolytique de *Crinum jagus* et du loperamide, agoniste opioïde périphérique. Le naloxone est un antagoniste compétitif des récepteurs  $\mu$  opioïdes dont l'activation inhibe la libération de l'acétylcholine et entraîne ainsi une relaxation du muscle lisse intestinale. La conséquence physiologique est l'accroissement de la segmentation du côlon et l'inhibition du péristaltisme avec augmentation du temps de transit intestinal (Faure, 2013). *Crinum jagus* contiendrait donc des composés qui seraient agonistes des récepteurs  $\mu$  opioïdes.

L'huile de castor a induit chez les rats, une augmentation du volume du contenu intestinal. Dans le modèle de sécrétion intestinale induite par l'huile de Castor, *Crinum jagus* a montré une activité antisécrétoire avec un effet comparable à celui du loperamide. L'augmentation du volume du contenu intestinal induite à l'huile de castor est due à l'acide ricinoléique qui stimule l'activité péristaltique de l'intestin grêle et modifie la perméabilité intestinale aux électrolytes ( $Na^+$ ,  $K^+$ ) par inhibition intestinale de l'activité  $Na^+/K^+$ -ATPase

(Mehmood *et al.*, 2015 ; Maiti *et al.*, 2007 ; Meite *et al.*, 2009). *Crinum jagus*, comme le loperamide, agirait soit en inhibant la sécrétion de l'eau et des électrolytes dans la lumière de l'intestin grêle, soit en augmentant l'absorption de l'eau au niveau du côlon, soit par activation de la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase. Il pourrait aussi agir par inhibition de la production de la prostaglandine  $\text{E}_2$ , ou par antagonisation de ses effets. En effet, l'extrait a réduit le volume de sécrétion induite par la  $\text{PGE}_2$  chez le rat, ce qui suggérerait ainsi une activité inhibitrice probable de l'extrait de *C. jagus* sur la production ou les effets de la  $\text{PGE}_2$ . L'action de *Crinum jagus* sur l'activité de la  $\text{PGE}_2$  serait liée aux effets des triterpènes contenus dans cette plante. Les triterpènes ont une activité antiphlogistique, une activité inhibitrice de la biosynthèse des leucotriènes et de la 5-lipoxygénase responsable de l'inflammation intestinale, et inhibitrice de la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase (Sharma *et al.*, 2009). Ils ont également une activité contre le stress oxydatif, et une activité inhibitrice de cytokines pro-inflammatoires responsables des diarrhées (Marquez-martin *et al.*, 2006). L'extrait de *Crinum jagus* pourrait agir via les terpènes. *C. jagus* a par ailleurs réduit la fuite, à travers le liquide luminal, des ions  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$  et  $\text{Cl}^-$ . Certains composés à propriété antidiarrhéique de l'extrait de *Crinum jagus* tels que les tanins, par leurs réactions avec les protéines de la muqueuse intestinale, forment une barrière spasmolytique qui réduit également la sécrétion intestinale (Prasad *et al.*, 2014).

L'Isosorbide dinitrite (donneur de NO) et le glibenclamide (antagoniste des canaux potassiques) ont réduit l'effet antidiarrhéique de l'extrait de *C. jagus*, alors que la Yohimbine (antagoniste des récepteurs  $\alpha_2$  adrénergiques) n'a entraîné aucun changement significatif sur cet effet. Le monoxyde d'azote est le médiateur dans la sécrétion intestinale d'eau et d'électrolytes dans les diarrhées induites par l'huile de Castor (Shamkuwar, 2013 ; Nwidua *et al.*, 2014). *C. jagus*, agirait par un mécanisme impliquant l'inhibition de la synthèse, de la libération ou de l'action du NO. Le blocage des canaux potassiques par le glibenclamide entraîne une dépolarisation des membranes des cellules musculaires lisses intestinales avec ouverture des canaux calciques voltage-dépendants et entrée du calcium (Khan *et al.*, 2016). Par contre, leur ouverture entraîne l'entrée d'ions  $\text{K}^+$  suivie d'une hyperpolarisation, et donc de la fermeture des canaux calciques dont la conséquence est la relaxation musculaire. Le glibenclamide, en levant l'inhibition exercée par l'extrait de *Crinum jagus* sur le transit intestinal, montrerait que cet extrait contiendrait des substances, notamment les flavonoïdes, qui agiraient en activant l'ouverture des canaux  $\text{K}_{\text{ATP}}$  (Scholz *et al.*, 2010). Les récepteurs  $\alpha_2$  adrénergiques ont un rôle physiologique dans la régulation de la fonction gastro-intestinale. Ils sont présents dans les muscles lisses gastro-intestinaux et leur activation par leurs agonistes réduit la motilité du transit gastro-intestinal en inhibant l'adényl cyclase, et diminuant ainsi le

taux de l'AMPc. La Yohimbine, en bloquant les récepteurs  $\alpha_2$  adrénergiques diminue l'absorption des fluides et d'électrolytes et le temps de transit (Khan *et al.*, 2016). L'effet relaxant de *C. jagus* reste significatif même après blocage des récepteurs  $\alpha_2$  adrénergiques. *C. jagus* n'agirait pas par la voie impliquant ces récepteurs, puisque son action n'est guère influencée par la yohimbine.

La diarrhée, qu'elle soit infectieuse ou non, est accompagnée de la production d'espèces réactives d'oxygènes à l'origine du stress oxydatif qui est la conséquence d'un déséquilibre métabolique et conséquent à l'inflammation de la muqueuse intestinale (Buccigrossi *et al.*, 2014 ; Ivanov *et al.*, 2017). L'extrait hydroéthanolique de *Crinum jagus* a présenté des activités anti radicalaires notamment contre les radicaux DPPH, l'oxyde nitrique et l'ion ferreux ; ceci pourrait en partie expliquer l'activité antidiarrhéique de cette plante.

Les shigelles ont développé chez le rat des diarrhées caractérisées par des selles molles ou liquides, avec la glaire et du sang, émettant une odeur fétide. La présence de sang dans les selles traduirait l'invasion ou la destruction des cellules épithéliales de l'intestin de l'hôte, entraînant ainsi une ulcération et une hémorragie. Par ailleurs, chez ces animaux, nous avons observé une augmentation de la densité des shigelles dans les selles, une perte pondérale, une augmentation des taux sanguins d'interleukine 2, d'interféron gamma, des immunoglobulines A et M, de la motiline et une diminution du taux de VIP, des ions  $K^+$ ,  $Na^+$  et  $Cl^-$ , une diminution des globules blancs et des globules rouges. Comme chez des patients diarrhéiques, les animaux diarrhéiques ont présenté une augmentation du taux sanguin de la motiline. La motiline induit la contraction des muscles lisses intestinaux via ses récepteurs localisés sur les muscles lisses circulaires (Sanger *et al.*, 2013 ; Chen et Tsai, 2012). L'action de cette hormone peut aussi se produire de façon indirecte par une activation des récepteurs 5-HT<sub>3</sub> de la sérotonine (Ohno *et al.*, 2010). Certains antigènes bactériens notamment les Lipopolysaccharides (LPS) sont à l'origine de l'inflammation des muqueuses duodénale et jéjunale entraînant la libération de de la motiline (Depoortere *et al.*, 2001). Le traitement à l'extrait de *Crinum jagus* a entraîné une baisse de la concentration sanguine de la motiline. La baisse de la charge bactérienne par l'extrait de *C. jagus* diminuerait la concentration de LPS et donc les inflammations duodénales et jéjunales d'où la diminution de la concentration sanguine de la motiline.

Le peptide intestinal vasoactif (VIP) est un neurotransmetteur inhibiteur de la contraction du muscle lisse intestinal. Son action et celle du monoxyde d'azote (NO) au niveau du muscle lisse intestinal sont étroitement liées si bien que la libération de l'un entraîne celle de l'autre (Geldre et Lefebvre, 2004). *Crinum jagus* stimulerait la production ou la sécrétion du

peptide intestinal vasoactif puisqu'il a induit une augmentation du taux sanguin de cette hormone. Par ailleurs, l'augmentation des taux des globules rouges et des globules blancs traduirait des propriétés immunomodulatrices certaines de l'extrait.

Morphologiquement, le côlon des rats diarrhéiques a présenté un épithélium érodé, des plis avec de larges espaces interplis et des abrasions, leur donnant l'allure d'un plateau, de nombreuses cellules caliciformes gorgées de mucus. La production du mucus est une réaction de défense du tube digestif. Cette production de mucus a lieu chaque fois que l'intégrité de la muqueuse est menacée. Le traitement à l'extrait de *Crinum jagus* et à la ciprofloxacine a protégé la morphologie du côlon dont l'épithélium a retrouvé son aspect normal avec des plis et microplis de grandes tailles présentant de nombreuses digitations bien reconstituées et des cellules caliciformes dont le contenu en mucus a considérablement diminué.

L'augmentation de la densité de shigelles et de la quantité de selles diarrhéiques glaireuses et sanguinolentes, serait liée à la pullulation bactérienne avec production de shiga toxine, destruction du tissu intestinale et baisse de l'immunité : tout ceci constitue des signes typiques de la diarrhée infectieuse à germes invasifs (Hodges et Gill, 2010). La shiga toxine est à l'origine de l'inflammation de la muqueuse intestinale dont les conséquences sont entre autres l'augmentation de la production de la motiline et l'altération de l'absorption des électrolytes d'où la baisse du taux des ions  $K^+$ ,  $Na^+$  et  $Cl^-$  (Hodges et Gill, 2010). L'augmentation des taux sanguins d'interleukine 2, d'interféron gamma, des immunoglobulines A et M traduirait une réaction de défense de l'animal face à la multiplication des shigelles. Les animaux diarrhéiques traités à l'extrait de *Crinum jagus* ou à la ciprofloxacine ont présenté des selles à consistance normale, sans trace de sang ou de glaire, avec une baisse de la densité des shigelles. Cette baisse pourrait être tributaire d'une action directe de certains composés bioactifs de *Crinum jagus* tels que les composés phénoliques sur les shigelles. Les composés phénoliques en effet provoquent la rupture de la membrane plasmique par augmentation de sa perméabilité (Sanchez *et al.*, 2013). La baisse de la densité des shigelles serait peu conséquente du système immunitaire, puisque le traitement à l'extrait de *Crinum jagus* et à la ciprofloxacine a provoqué une augmentation moins importante des taux sanguins d'interleukine 2, d'interféron gamma, d'immunoglobulines A et M que ce qui est observé chez les animaux diarrhéiques non traités.

La colonisation de la muqueuse digestive par des bactéries, notamment *Shigella et Salmonella* (Bao *et al.*, 2000 ; Islam *et al.*, 2014) et beaucoup d'autres microorganismes, s'accompagne d'une activation du système lymphoïde et donc des plaques de Payer et des GALT et une production importante des immunoglobulines et des cytokines. L'IgA, qui

constitue la plus importante immunoglobuline produite dans l'intestin et autres surfaces muqueuses, est la première ligne de défense au niveau des sécrétions contre les bactéries et les virus (Macpherson *et al.*, 2001). Elle inhibe l'adhérence microbienne, la colonisation des surfaces muqueuses, neutralise certaines toxines microbiennes, inhibe la croissance microbienne et active l'expulsion des plasmides microbiens (Guruprasad, 2015). L'IgM active le système complément et contribue à l'agglutination et la neutralisation des bactéries et des virus. Elle est aussi nécessaire dans l'induction des cellules B mémoires (Rutemark *et al.*, 2011). L'IL-2 active la maturation des lymphocytes T, la maturation des lymphocytes B et la production des immunoglobulines (Gronowicz *et al.*, 2016). L'INF- $\gamma$  par activation des macrophages et des lymphocytes T helper entraîne la phagocytose et à la destruction intracellulaire des bactéries ; elle active également l'expression du facteur d'adhérence VCAM-1 de l'épithélium intestinal qui fixe les microbes en vue de leur destruction (Bao *et al.*, 2000). L'extrait ou la ciprofloxacine a relativement baissé les taux des immunoglobulines et cytokines chez les animaux diarrhéiques. Ceci serait dû à une baisse de la stimulation des systèmes lymphoïdes, une baisse de production des immunoglobulines, et ceci, suite à la diminution de la charge bactérienne suite à leur destruction ou à leur élimination.

Les extraits de *Crinum jagus* ont protégé les animaux diarrhéiques contre les pertes pondérales. Le gain pondéral entraîné par cette activité résulterait de la stimulation de l'appétit ou de l'inhibition des pertes d'eau et d'électrolytes suite à la baisse de la densité des shigelles.

**Conclusion**

**et**

**perspectives**



## Conclusion

Ce travail avait pour but d'évaluer les activités antidiarrhéiques des extraits de *Crinum jagus*. A cet effet, l'efficacité de différents extraits (aqueux, éthanolique et hydroéthanolique) et fractions (alcaloïdes, flavonoïdes et saponines) a été évaluée sur les paramètres impliqués dans les manifestations des diarrhées : sécrétion et motilité intestinales, croissance microbienne. Par ailleurs, a été évaluée, *in vivo*, l'activité de l'extrait le plus efficace sur les diarrhées infectieuses à *Shigella*, induites chez les rats.

- Des différents extraits et fractions évalués, l'extrait hydroéthanolique mieux que la fraction flavonoïdes a montré des propriétés antidiarrhéiques plus importantes sur la croissance microbienne et sur les diarrhées induites par l'huile de castor.

- L'extrait hydroéthanolique de *Crinum jagus* aurait des propriétés bactéricides sur *E. coli* et *S. aureus* (car rapport CMB/CMI < 4) et des propriétés bactériostatiques sur *S. typhi* et *S. dysenteriae* A1 (rapport CMB/CMI > 4). Cet extrait a ralenti le transit et baissé la sécrétion intestinale.

- L'infection à *S. flexineri* chez le rat aurait un caractère invasif se traduisant par une abrasion de la muqueuse intestinale, un taux élevé de facteurs immunitaires : d'IgA, d'IgM, de l'INF $\gamma$  et de l'Il-2. L'extrait hydroéthanolique a réduit la densité de *S. flexineri* dans les selles qui sont redevenues normales, sans glaire et sans sang. Par ailleurs, il a maintenu normaux les taux des leucocytes et des hématies.

- En toxicité cellulaire, aucun extrait, même à la plus forte concentration de 500  $\mu\text{g/mL}$ , n'a provoqué plus de 50% de la mortalité cellulaire suggérant une IC<sub>50</sub> (concentration induisant 50% de mortalité) > 500  $\mu\text{g/mL}$ . En toxicité aigüe, l'extrait à l'éthanol/eau de *Crinum jagus* n'a entraîné aucun décès et aucune altération des réactions comportementales. Cet extrait serait donc légèrement toxique et sans danger majeur à doses thérapeutiques.

L'extrait l'éthanol/eau de *Crinum jagus* présente cet avantage qu'il serait efficace sur les diarrhées motrices, sécrétoires et infectieuses. Ces effets justifieraient l'utilisation de cette plante dans la médecine traditionnelle.

## Perspectives

A la suite de ces travaux, nous envisageons étudier les propriétés pharmacologiques de la fraction flavonoïdes, ses effets ainsi que ceux de l'extrait hydroéthanolique sur la contraction des fragments isolés de l'intestin en vue de confirmer certains mécanismes d'action. Nous comptons procéder au séquençage de l'ADN des shigelles issues des rats infectés et traités soit à l'extrait hydroéthanolique ou à la fraction flavonoïdes et enfin mener l'étude de leur toxicité subaiguë. Des compléments d'étude de l'extrait hydroéthanolique pourraient permettre d'envisager la mise à disposition de substances pour la production de médicaments traditionnels améliorés (MTA).

## Références

- AGA, (American Gastroenterological Association). The digestive system and how it works, *National Digestive Diseases Information Clearing house*. 2013.
- Alikhani MY, Hashemi SH, Aslani MM, Farajnia S. Prevalence and antibiotic resistance patterns of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from adolescents and adults in Hamedan, Western Iran. *Iran. J. Microbiol.* 2013; 5: 42–7.
- Ammoury RF, Ghishan FK. Pathophysiology of diarrhea and its clinical implications, in: *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, edited by Leonard R. Johnson, Fayez K. Ghishan, Jonathan D. Kaunitz, Juanita L. Merchant, Hamid M. Said, JDW, Elsevier Inc. 2012; pp. 2183–2197.
- Ateufack G, Tadjoua TH, Kamanyi A, Yousseu NW, Sama FL, Kuate JR. Antidiarrhoeal and antibacterial activity of aqueous and methanolic extracts of *Dissotis thollonii* Cogn. (Melastomataceae) leaves. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 2014; 4: 837–843.
- Avril J, Dabernat H, Denis F, Monteil H. *Shigella*, in: *Bactériologie Clinique*, Edition Marketing. 1992; pp. 160–165.
- Bao S, Beagly K, France M, Shen J, Husband A. Interferon-gamma plays a critical role in intestinal immunity against *Salmonella typhimurium* infection. *Immunology.* 2000; 99: 464–472.
- Barrett KE, Boitano S, Barman SM, Brooks HL. Gastrointestinal Physiology Overview of gastrointestinal function and regulation, in: *Ganong's Review of Medical Physiology*. The McGraw-Hill Companies, Inc. 2010; pp. 429–450.
- Beaugerie L. Antibiotic-associated diarrhea. *Rev. Prat.* 2008; 58: 1207–1212.
- Belaiche J. Physiopathologie des diarrhées aiguës infectieuses. *Acta Endoscopica.* 2000; 30: 177–184.
- Benko R, Lazar Z, Undi S, Illenyi L, Antal A, Horvath O, Rumbus Z, Wolf M, Maggi C, Bartho L. Inhibition of nitric oxide synthesis blocks the inhibitory response to capsaicin in intestinal circular muscle preparations from different species. *Life Sci.* 2005; 76: 2773–2782.
- Berrebi W. Diarrhée chronique, in: *Hépatologie Gastro-Entérologie*. De Boeck Secundair, Amazon France. 2006; pp. 319–331.
- Bigalke H, Wellhoner H. Bacterial Toxins, in: *Toxicology*, edited by Marquardt H, Schäfer. G, McClellan R, Welsch F. Elsevier Inc. 1999; pp. 1009–1023.
- Blackshaw LA, Gebhart GF. The pharmacology of gastrointestinal nociceptive pathways. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2002; 2: 642–648.
- Buccigrossi V, Laudiero G, Russo C, Miele E, Sofia M, Monini M, Ruggeri FM, Guarino A. Chloride secretion induced by rotavirus is oxidative stress-dependent and inhibited by *Saccharomyces boulardii* in human enterocytes. *PLoS One.* 2014; 9: e99830.
- Bush TG, Spencer NJ, Watters N, Sanders KM, Smith TK. Spontaneous migrating motor complexes occur in both the terminal ileum and colon of the C57BL/6 mouse in vitro. *Auton. Neurosci.* 2000; 84: 162–168.
- Camilleri M, Szarka L. Dysmotility of the small intestine and colon, in: *Textbook of Gastroenterology*, edited by Yamada T. Blackwell. 2009; pp. 1108–1156.
- Castelli F, Beltrame A, Carosi G. Principes et pratiques du traitement ambulatoire de la turista : Congrès Péril fécal. Journée, FRANCE (15/10/1997). *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 1998; 91: 397–455.
- CDU-HGE, (Collégiale des Universitaires en Hépatogastro-Entérologie). Histologie digestive, in: *Les Fondamentaux de la Pathologie Digestive* Ed. Elsevier-Masson. 2014a; pp. 1–5.
- CDU-HGE, (Collégiale des Universitaires en Hépatogastro-Entérologie) . Histologie digestive, in: *Les Fondamentaux de la Pathologie Digestive* Ed. Elsevier-Masson. 2014b; pp. 1–13.
- Chang Z, Lu S, Chen L, Jin Q, Yang J. Causative species and serotypes of shigellosis in mainland

- China: systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2012; 7: e52515.
- Cheftel J, Cheftel H, Besaucon R. Aspect toxicologique: introduction à la biochimie et à la technique des aliments, Edité par Lavoisier, France. 1989.
- Chen C, Tsai C. Ghrelin and motilin in the gastrointestinal system. *Curr. Pharm. Des.* 2012; 18: 4755–4765.
- Chetty N, Irving HR, Coupar IM. Activation of 5-HT<sub>3</sub> receptors in the rat and mouse intestinal tract : a comparative study. *Br. J. Pharmacol.* 2006; 148: 1012–1021.
- Chiua M, Guarner C, Peralta C1, Lovet T, Gomez G, Soriano G, Balenzo J. Intestinal mucosa damage and bacterial translocation in cirrhotic rats. *Eur. J. Gastroenterol. Hepato1.* 2003; 15: 145-150.
- Coombes JL, Maloy F. Control of intestinal homeostasis by regulatory T cells and dendritic cells. *Sem. Immunol.* 2007; 19: 116-126.
- Cumming G, Fidler F, Vaux DL. Error bars in experimental biology. *J. Cell Biol.* 2007; 177: 7–11.
- Dann SM, Eckmann L. Innate immune defenses in the intestinal tract. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 2007; 23: 115-120.
- Das SK, Ahmed S, Ferdous F, Farzana FD, Chisti MJ, Leung DT, Malek MA, Talukder KA, Bardhan PK, Salam MA, Faruque ASG, Raqib R. Changing emergence of Shigella sero-groups in Bangladesh: observation from four different diarrheal disease hospitals. *PLoS One*. 2013; 8: e62029.
- Dave H, Ledwani L. A review on anthraquinones isolated from Cassia species and their applications. *Indian J. Nat. Prod. Resour.* 2012; 3: 291–319.
- Dave M, Higgins PD, Middha S, Rioux KP. The human gut microbiome: current knowledge, challenges, and future directions. *Transl. Res.* 2012; 160: 246–257.
- Demetrio VLJ, Andrade IJ, Puzon JJM, Cabrera EC, Rivera WL. Antibacterial activities of ethanol extracts of Philippine medicinal plants against multidrug-resistant bacteria. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 2015; 5: 532–540.
- Depoortere I, Thijs T, Thielemans L, Keith JC, Assche GV, Peeters TL. Effect of recombinant human interleukin-11 on motilin and substance P release in normal and inflamed rabbits. *Regul. Pept.* 2001; 97: 111–119.
- Dickens EJ, Hirst GDS, Tomita T. Identification of rhythmically active cells in guinea-pig stomach. *J. Physiol.* 1999; 514: 515–531.
- Diezi J. Principe de base et répercussion clinique., in: *Pharmacologie: Des Concepts Fondamentaux Aux Applications Théoriques*, edited by Schorderet, Frison-Roche, Paris, slatkine, Génève. 1992; pp. 33–35.
- Dinis TC, Madeira VM, Almeida LM. Action of phenolic derivatives (Acetaminophen, salicylate, and 5-Aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Arch. Biochem. Biophys.* 1994; 315: 161–169.
- Djilani A, Legseir B, Soulimani R, Dicko A, Younos C. New Extraction Technique for Alkaloids, *J. Braz. Chem. Soc.* 2006; 17: 518–520.
- Doherty S. Inhibition of arachinodic acid release, mechanism by which glucocorticoids inhibit endotoxin-induced diarrhoea. *Br. J. Pharmacol.* 1981; 73: 549–554.
- Dong D, Wang Q, Chen W, Fan J, Mu J, Ke J, Yang B. Contrasting effects of tetraethylammonium and 4-aminopyridine on the gastrointestinal function of mice. *Eur. J. Pharmacol.* 2005; 509: 179–185.
- Droy-Lefaix MT, Bueno L. Inflammatory cascade and diarrhoea: a new approach. *Acta Endoscopica.* 2003; 33: 773-777.
- Duerkop BA, Vaishnava S, Hooper LV. Immune responses to the microbiota at the intestinal mucosal

- surface. *Immunity*. 2009; 31: 368-376.
- Dunant Y. Principes de pharmacologie et de toxicologie. Etudes de médecine (première année). 2002.
- Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, Gill SR, Nelson KE, Relman DA. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*. 2005; 308: 1635-1638.
- Ehlert F. Contractile role of M<sub>2</sub> and M<sub>3</sub> muscarinic receptors in gastrointestinal, airway and urinary bladder smooth muscle. *Life Sci*. 2003; 74: 355–366.
- Faure C. Role of anti-diarrhoeal drugs as adjunctive therapies for acute diarrhoea in children. *Int. J. Pediatr*. 2013; 2013: 1-14.
- Fennell CW, Staden JV. *Crinum* species in traditional and modern medicine. *J. Ethnopharmacol*. 2001; 78: 15–26.
- Fokam TMA, Kamgang R, Noubissi PA, Essame OJL. Activity of *Oxalis barrelieri* aqueous extract on rat secretory diarrhea and intestine transit. *J. Appl. Pharm. Sci*. 2015; 5: 58–62.
- Fox SI. The digestive system, in: *Human Physiology*, Published by McGraw-Hill Companies, Inc. 2011; pp. 612–653.
- Furness J, Sanger G. Intrinsic nerve circuits of the gastrointestinal tract: identification of drug targets. *Curr. Opin. Pharmacol*. 2002; 2: 612–622.
- Geldre VLA, Lefebvre RA. Interaction of NO and VIP in gastrointestinal smooth muscle relaxation. *Curr. Pharm. Des*. 2004; 10: 2483–2497.
- Giguère S. Therapy antimicrobial drug action and interaction: an introduction, in: *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*, edited by Giguère S, Prescott JF, Dowling PM., John Wiley & Sons, Inc. 2013; pp. 3–10.
- Gill RK, Alrefai WA, Borthakur A, Dudeja PK. Intestinal Anion Absorption, in: *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. Elsevier Inc. 2012; pp. 1819–1848.
- Goodridge LD. Bacteriophages for managing *Shigella* in various clinical and non-clinical settings. *Bacteriophage*. 2013; 3: e25098.
- Gould M, Sellin JH. Diabetic diarrhea. *Curr. Gastroenterol. Rep*. 2009; 11: 354–359.
- Gronowicz G, Secor ERJ, Flynn JR, Kuhn LT. Human biofield therapy does not affect tumor size but modulates immune responses in a mouse model for breast cancer. *J. Integr. Med*. 2016; 14: 389–399.
- Guruprasad Y. Role of immunoglobulins in oral submucous fibrosis. *J. Cranio-Maxillary Dis*. 2015; 4: 3-4.
- Hall EJ. Antibiotic-responsive diarrhea in small animals. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract*. 2011; 41, 273–286.
- Hasan MF, Das R, Khan A, Hossain MS, Rahman M. The determination of antibacterial and antifungal activities of *Polygonum hydropiper* (L.) root extract. *Adv. Biol. Res*. 2009; 3: 53–56.
- Hashitani H, Fukuta H, Takano H, Klemm MF, Suzuki H. Origin and propagation of spontaneous excitation in smooth muscle of the guinea pig urinary bladder. *J. Physiol*. 2001; 530: 273–286.
- Hasler W. Small intestine motility, in: *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, edited by Johnson LR. Elsevier Academic Press, Oxford. 2006; pp. 935–964.
- Hasler WL. Motility of the small intestine and colon, in: *Textbook of Gastroenterology*, edited by Yamada T., Blackwell. 2009; pp. 231–263.
- Hébuterne X. Drug-induced diarrhea. *Rev. Prat*. 2008; 58: 1213–1216.
- Hodges K, Gill R. Infectious diarrhea: Cellular and molecular mechanisms. *Gut Microbes*. 2010; 1: 4–21.

- Hold GL, Pryde SE, Russell VJ, Furrie E, Flint HJ. Assessment of microbial diversity in human colonic samples by 16S rDNA sequence analysis. *Microbiol. Ecol.* 2002; 39: 33-39.
- Holzer P, Holzer-Petsche U. Tachykinin receptors in the gut: physiological and pathological implications. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2001; 1: 583–590.
- Houghton PJ, Agbedahunsi JM, Adegbulugbe A. Choline esterase inhibitory properties of alkaloids from two Nigerian *Crinum* species. *Phytochemistry.* 2004; 65: 2893–2896.
- Hu J, Gao W, Gao Y, Ling N, Huang L, Liu C. M<sub>3</sub> muscarinic receptor- and Ca<sup>2+</sup> influx-mediated muscle contractions induced by croton oil in isolated rabbit jejunum. *J. Ethnopharmacol.* 2010; 129: 377–380.
- Hu J, Gao W, Ma L, Man S, Huang L, Liu C. Activation of M<sub>3</sub> muscarinic receptor and Ca<sup>2+</sup> influx by crude fraction from *Crotonis Fructus* in isolated rabbit jejunum. *J. Ethnopharmacol.* 2012; 139: 136–141.
- Hughes S, Higgs NB, Turnberg LA. Loperamide has antisecretory activity in the human jejunum *in vivo*. *Gut.* 1984; 25: 931–935.
- Huizinga JD, Lammers WJ. Gut peristalsis is governed by a multitude of cooperating mechanisms. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2009; 296: G1–G8.
- Imai T, Okamoto T, Yamamoto Y, Tanaka H, Koike K, Shigenobu K, Tanaka Y. Effects of different types of K<sup>+</sup> channel modulators on the spontaneous myogenic contraction of guinea-pig urinary bladder smooth muscle. *Acta. Physiol. Scand.* 2001; 173: 323–333.
- Islam D, Ruamsap N, Khantapura P, Aksomboon A, Srijan A, Wongstitwilairoong B, Bodhidatta L, Gettayacamin M, Venkatesan MM, Mason J. Evaluation of an intragastric challenge model for *Shigella dysenteriae* 1 in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) for the pre-clinical assessment of *Shigella* vaccine formulations. *Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.* 2014; 122: 463–475.
- Ivanov AV, Bartosch B, Isagulians MG. Oxidative stress in infection and consequent disease. *Oxidative Med and Cel Long.* 2017; 2017: 1-3.
- Jäger AK, Adersen A, Fennell CW. Acetylcholinesterase inhibition of *Crinum* sp. *South African J. Bot.* 2004; 70: 323–325.
- Jian-Guo J, Xiao-Juan H, Jian C, Qing-Sheng L. Comparison of the sedative and hypnotic effects of flavonoids, saponins, and polysaccharides extracted from Semen *Ziziphus jujube*. *Nat. Prod. Res.* 2007; 21: 310–320.
- Jin X, Morsy N, Shoeb F, Zavzavadjian J, Akbarali H. Coupling of M<sub>2</sub> muscarinic receptor to L-type Ca<sup>2+</sup> channel via c-src kinase in rabbit colonic circular smooth muscle. *Gastroenterology.* 2002; 123: 827–834.
- Kamgang R, Fokam TAM, Gonsu KH, Noubissi PA, Fonkous MC, Oyono ELJ. 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: 40–45.
- Kamgang R, Gonsu KH, Wafo P, Mbungni NJA, Pouokam EV, Fokam TMA, Fonkous MC. Activity of aqueous ethanol extract of *Euphorbia prostrata* on *Shigella dysenteriae* type 1-induced diarrhea in rats. *Indian J. Pharmacol.* 2007; 39: 240–244.
- Kamgang R, Pouokam KEV, Fonkous MC, Penlap NBV, Biwolé SM. *Shigella dysenteriae* type 1-induced diarrhea in rats. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2005; 58: 335–337.
- Kamgang R, Pouokam KEV, Fonkous MC, Penlap NBV, Biwolé SM. Activities of aqueous extracts of *Mallotus oppositifolium* on *Shigella dysenteriae* A1-induced diarrhoea in rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2006; 33: 89–94.
- Kamgang R, Youmbi M, Foyet F, Fokam T, Mengue N, Ngongang Y. Antihyperglycemic potential of the water-ethanol extract of *Kalanchoe crenata* (Crassulaceae). *J. Nat. Med.* 2008; 62: 34–40.

- Karim SM, Adaikan PG. The effect of Loperamide on prostaglandin induced diarrhoea in rat and man. *Prostaglandins*. 1977; 13: 321–331.
- Karimi E, Jaafar HZE, Ahmad S. Phytochemical analysis and antimicrobial activities of methanolic extracts of leaf, stem and root from different varieties of *Labisa pumila* Benth. *Molecules*. 2011; 16: 4438–4450.
- Kasper MR, Lescano AG, Lucas C, Gilles D, Biese BJ, Stolovitz G, Reaves EJ. Diarrhea outbreak during U.S. military training in El Salvador. *PLoS One*. 2012; 7: e40404.
- Katalinić V, Milos M, Modun D, Musić I, Boban M. Antioxidant effectiveness of selected wines in comparison with (+) -catechin. *Food Chem*. 2004; 86: 593–600.
- Keely SJ, Montrose MH, Barrett KE. Electrolyte secretion and absorption : small intestine and colon, in: *Textbook of Gastroenterology*. edited by Yamada T., Blackwell. 2009; pp. 330–367.
- Kelly EJ, Zhican W, Voellinger JL, Yeung CK, Shen DD, Thummel KE, Ying Z, Ligresti G, Eaton DL, Muczynski KA, Duffield JS, Neumann T, Tourovskaja A, Fauver M, Kramer G, Asp E, Himmelfarb J. Innovations in preclinical biology: ex vivo engineering of a human kidney tissue microperfusion system. *Stem Cell Res. Ther*. 2013; 4: S17.
- Khan H, Saeed M, Gilani A, Muhammad N, Rehman N, Mehmood MH, Ashraf N. Antispasmodic and antidiarrheal activities of rhizomes of *Polygonatum verticillatum* maneuvered predominately through activation of K<sup>+</sup> channels : Components identification through TLC. *Toxicol. Ind. Health* 2016; 32: 677–685.
- Kierszenbaum A. Histologie et biologie cellulaire : Une introduction à l'anatomie pathologique, Ed. De Boeck, Collection : Histologie. 2006.
- Kishi M, Takeuchi T, Katayama H, Yamazaki Y, Nishio H, Hata F, Takewaki T. Involvement of cyclic AMP-PKA pathway in VIP-induced, charybdotoxin-sensitive relaxation of longitudinal muscle of the distal colon of Wistar-ST rats. *Br. J. Pharmacol*. 2000; 129: 140–146.
- Kobilo T, Szurszewski JH, Farrugia G, Hanani M. Coupling and innervation patterns of interstitial cells of Cajal in the deep muscular plexus of the guinea-pig. *Neurogastroenterol. Motil*. 2003; 15: 635–641.
- Koechlin-Ramonatxo C. Oxygen, oxidative stress and anti oxidant supplementation, or an other way for nutrition in respiratory diseases. *Nutr. Clin. Métabolisme*. 2006; 20: 165–177.
- Kouitcheu MBL, Tamesse JL, Kouam J. The anti-shigellosis activity of the methanol extract of *Picalima nitida* on *Shigella dysenteriae* type I induced diarrhoea in rats. *BMC Complement. Altern. Med*. 2013; 13: 1–11.
- Lecci A, Santicioli P, Maggi C. Pharmacology of transmission to gastrointestinal muscle. *Curr. Opin. Pharmacol*. 2002; 2: 630–641.
- Lehucher-Michel M, Lesgards J, Delubac O, Stocker P, Durand P, Prost M. Stress oxydant et pathologies humaines. *Presse Med*. 2001; 30: 1076–1081.
- Ley RE, Hamady M, Lozupone C, Turnbaugh PJ, Ramey RR, Bircher JS, Schlegel ML, Tucker TA, Schrenzel MD, Knight R, Gordon JI. Evolution of mammals and their gut microbes. *Science*. 2008; 320: 1647-1651.
- Lomax A, Furness J. Neurochemical classification of enteric neurons in the guinea-pig distal colon. *Cell Tissue Res*. 2000; 302: 59–72.
- Lotz M, Ménard S, Hornef M. Innate immune recognition on the intestinal mucosa. *Int. J. Med. Microbiol*. 2007; 297: 379-392.
- Lu C, Wang H, Wenping LV, Xu P, Zhu J, Jun X, Bo L, Lou Z. Antibacterial properties of anthraquinones extracted from rhubarb against *Aeromonas hydrophila*. *Fish. Sci*. 2011; 77: 375–384.

- Lu F, Jessup D, Laualle A. Toxicity of pesticides in young versus adult rats. *Food Cosmet. Toxicol.* 1965; 3: 591–597.
- Ma T, Qi Q, Yang WX, Xu J, Dong ZL. Contractile effects and intracellular Ca<sup>2+</sup> signalling induced by emodin in circular smooth muscle cells of rat colon. *World J. Gastroenterol.* 2003; 9: 1804–1807.
- Maatalah MB, Bouzidi NK, Bellahouel S, Merah B, Fortas Z, Soulimani R, Saidi S, Derdour A. Antimicrobial activity of the alkaloids and saponin extracts of *Anabasis articulata*. *E3 J. Biotechnol. Pharm. Res.* 2012; 3: 54–57.
- Macpherson AJ, Hunziker L, McCoy K, Lamarre A. IgA responses in the intestinal mucosa against pathogenic and non-pathogenic microorganisms. *Microbes Infect.* 2001; 3: 1021–1035.
- Maiti A, Dewanjee S, Mandal SC. *In Vivo* Evaluation of Antidiarrhoeal Activity of the Seed of *Swietenia macrophylla* King (Meliaceae). *Trop. J. Pharm. Res.* 2007; 6: 711–716.
- Majumder R, Jami MSI, Alam MEK, Alam MB. Antidiarrheal Activity of *Lannea coromandelica* Linn. Bark Extract. *Am. J. Sci. Res.* 2013; 8: 128–134.
- Makhlouf G, Murthy K. Cellular physiology of gastrointestinal smooth muscle, in: *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, edited by Johnson LR. Elsevier Academic Press, Oxford. 2006; pp. 524–531.
- Marieb N, Hoehn K. The Digestive System, in: *Human Anatomy & Physiology*, edited by Marieb NE, Hoehn K. Person Education Inc. 2006; pp. 725–790.
- Marquez-martin A, De La Puerta R, Fernandez-Arche A, Ruiz-Gutierrez V, Yaqoob P. Modulation of cytokine secretion by pentacyclic triterpenes from olive pomace oil in human mononuclear cells. *Cytokine* 36. 2006: 211–217.
- Mayer EA, Naliboff BD, Chang L, Coutinho SV. Stress and the gastrointestinal tract V. stress and irritable bowel syndrome. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2001; 280: G519–G524.
- McCarron J, Craig J, Bradley K, Muir T. Agonist-induced phasic and tonic responses in smooth muscle are mediated by Ins P3. *J. Cell Sci.* 2002; 115: 2207–2218.
- Mehmood MH, Munir S, Khalid UA, Asrar M, Gilani AH. Antidiarrhoeal, antisecretory and antispasmodic activities of *Matricaria chamomilla* are mediated predominantly through K<sup>+</sup>-channels activation. *BMC Complement. Altern. Med.* 2015; 15: 1–9.
- Meite S, N'guessan J, Bahi C, Yapi H, Djaman A, Guina FG. Antidiarrheal Activity of the Ethyl Acetate Extract of *Morinda morindoides* in Rats. *Trop. J. Pharm. Res.* 2009; 8: 201–207.
- Mirunalini S, Krishnaveni M. Coumarin: a plant derived polyphenol with wide biomedical applications. *Int. J. Pharma Tech Res.* 2011, 3: 1693–1696.
- Mulè F, D'Angelo S, Amato A, Contino I, Serio R. Modulation by nitric oxide of spontaneous mechanical activity in rat proximal colon. *J. Auton. Pharmacol.* 1999; 19: 1–6.
- NCCLS, (National Committee for Clinical Laboratory Standards). Antimicrobial Methods for determining bactericidal activity of agents: Approved guideline M26-A. 1999.
- Nguendo YB. Landforms and diarrheal diseases in Yaoundé (Cameroon): A medical geomorphology approach in a tropical urban setting. *Can. J. Trop. Geogr.* 2014; 1: 24–36.
- Njunda AL, Assob JCN, Nsagha DS, Kamga HLF, Awafong MP, Weledji EP. Epidemiological, clinical features and susceptibility pattern of shigellosis in the Buea Health District, Cameroon. *BMC Res. Notes.* 2012; 5: 1–5.
- Nondo R, Moshi M, Erasto P, Zofou D, Njouendou A, Wanji S, Ngemenya M, Kidukuli A, Masimba P, Titanji V. Evaluation of the cytotoxic activity of extracts from medicinal plants used for the treatment of malaria in Kagera and Lindi regions. *Tanzania J. Appl. Pharm. Sci.* 2015; 5: 7–12.
- Nwidua LL, Ukirib OO, Clenilson RM, Vilegasd W. Antidiarrheal mechanism and ionic profile of *carpolobia lutea* ethanolic stem-bark extracts in rats. *African J. Tradit. Complement. Altern. Med.*

- 2014; 11: 257-263.
- Ode OJ, Asuzu IU. The anti-snake venom activities of the methanolic extract of the bulb of *Crinum jagus* (Amaryllidaceae). *Toxicon*. 2006; 48: 331–342.
- OECD/OCDE. OECD/OCDE Test Guideline 452, in: Chronic Toxicity Studies. Draft Consultant's Proposal. 2008. pp. 1–15.
- OECD/OCDE. Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method, in: OECD Guideline for Testing of Chemicals. 2001; pp. 1–14.
- Ohno T, Mochiki E, Kuwano H. The roles of motilin and ghrelin in gastrointestinal motility. *Int. J. Pept.* 2010; 2010: 1–6.
- Olajuyigbe OO, Afolayan AJ. *In Vitro* antibacterial and time-kill assessment of crude methanolic stem bark extract of *Acacia mearnsii* De Wild against bacteria in shigellosis. *Molecules*. 2012; 17: 2103–2118.
- Olsson C, Holmgren S. The control of gut motility. *Comp Biochem Physiol Mol Integr Physiol*. 2001; 128: 481–503.
- OMS, (Organisation Mondiale de la Santé). Maladies diarrhéiques. *Aide-mémoire N°330*. 2013.
- OMS, (Organisation Mondiale de la Santé). Directives pour la lutte contre la shigellose, y compris lors d'épidémies dues à *Shigella dysenteriae* type 1. 2008.
- OMS, (Organisation Mondiale de la Santé). Le traitement de la diarrhée: *Manuel à l'usage des médecins et autres personnels de santé qualifiés*, 4<sup>ème</sup> édition. ed. Genève (Suisse). 2006.
- OMS, (Organisation Mondiale de la Santé). General guidelines for methodologies and research and evaluation of traditional medicine. EDM/TRN/1. 2000.
- OMS, (Organisation Mondiale de la Santé). Research guideline for evaluating the safety and efficiency of herbal medicine. Manila, Philippines. 1992.
- OMS, (Organisation Mondiale de la Santé). Principes et méthodes d'évaluation de la toxicité des produits chimiques. Critères d'hygiène et de l'environnement. 1979.
- Otte JM, Podolsky DK. Functional modulation of enterocytes by gram-positive and gram-negative microorganisms. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol*. 2004; 286: 613-626.
- Pandy V, VamsiKrishna A, SivaNagaSrikanth B, Vankadari M, Praveena B, Ameen Kunhu MP, Konasani R, Kumarappan CT. *In vitro* anticholinergic and antihistaminic activities of acorus calamus linn. leaves extracts. *African J. Tradit. Complement. Altern. Med*. 2013; 10: 95–101.
- Parkman H, Pagano A, Ryan J. PACAP and VIP inhibit pyloric muscle through VIP/PACAP preferring receptors. *Regul Pept*. 1997; 71: 185–190.
- Pérez-Gutiérrez S, Zavala-Mendoza D, Hernández-Munive A, Mendoza-Martínez Á, Pérez-González C, Sánchez-Mendoza E. Antidiarrheal Activity of 19-Deoxycetexone Isolated from *Salvia ballotiflora* Benth in Mice and Rats. *Molecules*. 2013; 18: 8895-8905.
- Pluja L, Fernandez E, Jimenez M. Electrical and mechanical effects of vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylate cyclase-activating peptide in the rat colon involve different mechanisms. *Eur. J. Pharmacol*. 2000; 389: 217–224.
- Powell AK, Fida R, Bywater RA. Motility in the isolated mouse colon: migrating motor complexes, myoelectric complexes and pressure waves. *Neurogastroenterol. Motil*. 2003; 15: 257–266.
- Prasad SK, Laloo D, Kumar R, Sahu AN, Hemalatha S. Antidiarrhoeal evaluation of rhizomes of *Cryptocoryne spiralis* Fisch . ex Wydler : Antimotility and antisecretory effects. *Indian J. Exp. Biol*. 2014; 52: 139–146.
- Press AG, Ewe K, Schmidt J, Junge H. Effect of loperamide on jejunal electrolyte and water transport, prostaglandin E<sub>2</sub>-induced secretion and intestinal transit time in man. *Eur. J. Clin. Pharmacol*.



- 1991; 41: 239–243.
- Regnard C, Twycross R, Mihalyo M, Wilcock A. “Loperamide,.” *J. Pain Symptom Manage.* 2011; 42: 319–323.
- Rescigno M, Di Sabatino A. Dendritic cells in intestinal homeostasis and disease. *J. Clin. Invest.* 2009; 119: 2441–2450.
- Rutemark C, Alicot E, Bergman A, Ma M, Getahun A, Ellmerich S, Carroll M, Heyman B. Requirement for complement in antibody responses is not explained by the classic pathway activator IgM. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011; 108: E934–E942.
- Sairam K, Hemalatha S, Kumar A, Srinivasan T, Ganesh J, Shankar M, Venkataraman S. Evaluation of Antidiarrhoeal activity in seed extracts of *Mangifera indica*. *J. Ethnopharmacology.* 2003; 84: 11–15.
- Sales M, Sterin-Borda L, Rodriguez M, Borda E. Intracellular signals coupled to different rat ileal muscarinic receptor subtypes. *Cell Signal.* 1997; 9: 373–378.
- Sanchez E, Heredia N, Camacho-corona MR, Garcia S. Isolation, characterization and mode of antimicrobial action against *Vibrio cholerae* of methyl gallate isolated from *Acacia farnesiana*. *J. Appl. Microbiol.* 2013; 115: 1307–1316.
- Sanders K. Regulation of smooth muscle excitation and contraction. *Neurogastroenterol Motil.* 2008; 20: 39–53.
- Sanders KM. Mechanisms of calcium handling in smooth muscles. *J. Appl. Physiol.* 2001; 91:1438–1449.
- Sanger GJ, Wang Y, Hobson A, Broad J. Motilin : towards a new understanding of the gastrointestinal neuropharmacology and therapeutic use of motilin receptor agonists. *Br. J. Pharmacol.* 2013; 170: 1323–1332.
- Sanz Y, De Palma G. Gut microbiota and probiotics in modulation of epithelium and gut-associated lymphoid tissue function. *Int. Rev. Immunol.* 2009; 28: 397–413.
- Sawyer G, Lambrecht G, Ehlert F. Functional role of muscarinic (M<sub>2</sub>) receptors in alpha, betamethylene ATP induced, neurogenic contractions in guinea-pig ileum. *Br. J. Pharmacol.* 2000; 129: 1458–1464.
- Scholz EP, Zitron E, Katus HA, Karle CA. Cardiovascular ion channels as a molecular target of flavonoids. *Cardiovasc. Therapeutics.* 2010; 28: 46–52.
- Sebhat AE, Endale T, Andargachew M, Afework K. A Case of shigellosis with intractable septic shock and convulsions. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2007; 60: 314–316.
- Senthilraja P, Kathiresan K. *In Vitro* cytotoxicity MTT assay in Vero, HepG2 and MCF-7 cell lines study of Marine Yeast. *J. Appl. Pharm. Sci.* 2015; 5: 80–84.
- Serrano J. Toxicopharmacologie expérimentale des plantes médicinales. Actes du 1<sup>e</sup> colloque Européen d’Ethnopharmacologie. Office de la Recherche Scientifique et Technique d’Outre Mer (O.R.S.T.O.M). 1990.
- SFM, (Société Française de Microbiologie). Comité de l’antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Recommandations. 2008.
- Shamkuwar P. Role of potassium channels, nitric oxide pathway and adrenergic receptors in antidiarrhoeal effect of mebarid. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* 2013. 6: 9–10.
- Sharma A, Singh SK, Bajpai D. Phenotypic and genotypic characterization of *Shigella* spp . with reference to its virulence genes and antibiogram analysis from river Narmada. *Microbiol. Res.* 2010. 165: 33–42.
- Sharma R, Singh S, Singh GD, Khajuria A, Sidiq T, Singh SK, Chashoo G, Pagoch SS, Kaul A, Saxena AK, Johri RK, Taneja SC. *In Vivo* genotoxicity evaluation of a plant based antiarthritic and

- anticancer therapeutic agent Boswellic acids in rodents. *Phytomedicine*. 2009; 16: 1112–1118.
- Shieh C, Coghlan M, Sullivan J, Copalakrishnan M. Potassium channels: Molecular defects, diseases, and therapeutic opportunities. *Pharmacol. Rev.* 2000; 52: 557–593.
- Shinde AB, Mulay YR. Phytochemical analysis and antibacterial properties of some selected indian medicinal plants. *Int. J. Curr. Microbiol. Apply Sci.* 2015; 4: 228–235.
- Smith GD, Watson R. The Small Intestine, in: *Gastrointestinal Nursing*, edited by Smith GD; Roger W., Blackwell Science. 2005a; pp. 58–74.
- Smith GD, Watson R. The Large Intestine, in: *Gastrointestinal Nursing*, edited by Smith GD; Roger W., Blackwell Science. 2005b; pp. 75–105.
- Smith GD, Watson R. Pharmacology in Gastroenterology, in: *Gastrointestinal Nursing*, edited by Smith GD; Roger W., Blackwell Science. 2005c; pp. 158–164.
- Smith TK, Robertson WJ. Synchronous movements of the longitudinal and circular muscle during peristalsis in the isolated guinea-pig distal colon. *J. Physiol.* 1998; 506: 563–577.
- So I, Kim KW. Nonselective cation channels activated by the stimulation of muscarinic receptors in mammalian gastric smooth muscle. *J. Smooth Muscle Res.* 2003; 36: 231–247.
- Soetan K, Oyekunle MA, Aiyelaagbe OO, Fafunso MA. Evaluation of the antimicrobial activity of saponins extract of *Sorghum bicolor* L. Moench. *African J. Biotechnol.* 2006; 5: 2405–2407.
- Spencer N, Walsh M, Smith T. Purinergic and cholinergic neuroneuronal transmission underlying reflexes activated by mucosal stimulation in the isolated guinea pig ileum. *J. Physiol.* 2000; 522: 321–331.
- Sreejayan, Rao M. Nitric oxide scavenging by Curcuminoids. *J. Pharm. Pharmacol.* 1997; 49: 105–107.
- Stephen JP, Raybould HE, Hal FYJ. Integrative responses of the gastrointestinal tract and liver to a meal, in: *Textbook of Gastroenterology*, edited by Yamada T., Blackwell. 2009; pp. 3–14.
- Stoll R, Ruppin H, Domschke W. Calmodulin mediated effects of loperamide on chloride transport by brush border membrane vesicles from human ileum. *Gastroenterology*. 1988; 95: 69–76.
- Strand TA, Sharma PR, Gjessing HK, Ulak M, Chandyo RK, Adhikari RK, Sommerfelt H. Risk factors for extended duration of acute diarrhea in young children. *PLoS One*. 2012; 7: e36436.
- Takeuchi T, Kishi M, Hirayama N, Yamaji M, Ishii T, Nishio H, Hata F, Takewaki T. Tyrosine kinase involvement in apamin-sensitive inhibitory responses of rat distal colon. *J. Physiol.* 1999; 514: 177–188.
- Tanahashi Y, Waki N, Unno T, Matsuyama H, Iino S, Kitazawa T, Yamada M, Komori S. Roles of M<sub>2</sub> and M<sub>3</sub> muscarinic receptors in the generation of rhythmic motor activity in mouse small intestine. *Neurogastroenterol. Motil.* 2013; 25: 687–699.
- Tarr PI, Bass DM, Hecht GA. Bacterial, viral, and toxic causes of diarrhea, gastroenteritis, and anorectal infections, in: *Textbook of Gastroenterology*, edited by Yamada T., Blackwell. 2009; pp. 1157–1224.
- Teng B, Murthy K, Kuemmerle J, Grider J, Sase K, Michel T, Makhlof G. Expression of endothelial nitric oxide synthase in human and rabbit gastrointestinal smooth muscle cells. *Am. J. Physiol.* 1998; 275: G342–G351.
- Thiagarajah JR, Verkman AS. Water Transport in the Gastrointestinal Tract, in: *Physiology of the Gastrointestinal Tract* First Edit., Elsevier Inc. 2012.
- Thiagarajah JR, Verkman AS. Water Transport in the Gastrointestinal Tract, in: *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, Fourth Edit., edited by Leonard R. Johnson. Academic Press. 2006; pp. 1827–1845.

- Trease G, Evans W. Textbook of Pharmacognosy. 12th edn. Balliere Tindall and Company Publisher, London. 1983.
- Turpin R, Velu H. Thérapeutique antibiotique. Chicago. 1957.
- Udegbonam SO, Udegbonam RI, Nnaji TO, Anyanwu MU, Kene OC, Anika SM. Antimicrobial and antioxidant effect of methanolic *Crinum jagus* bulb extract in wound healing. *J. Intercult. Ethnopharmacol.* 2015; 4: 239–248.
- Unno T, Matsuyama H, Sakamoto T, Uchiyama M, Izumi Y, Komori S, Okamoto H, Yamada M. M<sub>2</sub> and M<sub>3</sub> muscarinic receptor-mediated contractions in longitudinal smooth muscle of the ileum studied with receptor knockout mice. *Br. J. Pharmacol.* 2005; 146: 98–108.
- Vander Burtwistle JC, Despo NG, Dujardin JP, Gapp DA, Goodman HM, Hammerman DL, Housh D, Jerome SN. The Digestion and Absorption of Food, in: *Human Physiology: The Mechanism of Body Function*, edited by The McGraw-Hill Companies. 2001; pp. 553–591.
- Wang X, Vannucchi M, Nieuwmeyer F, Ye J, Maria-PellegriniHuizinga F, Dirk J. Changes in Interstitial Cells of Cajal at the Deep Muscular Plexus Are Associated with Loss of Distention-Induced Burst-Type Muscle Activity in Mice Infected by *Trichinella spiralis*. *Am. J. Pathol.* 2005; 167: 437–453.
- Wansi SL, Nguefack-Mbuyo EP, Nchouwet ML, Miaffo D, Nyadjeu P, Wabo JP, Mbiantcha M, Nkeng-Efouet PA, Nguefack TB, Kamanyi A. Antidiarrheal Activity of Aqueous Extract of the Stem Bark of *Sapium ellipticum* (Euphorbiaceae). *Trop. J. Pharm. Res.* 2014; 13: 929–935.
- Wells JM, Loonen LM, Karczewski JM. The role of innate signaling in the homeostasis of tolerance and immunity in the intestine. *Int. J. Med. Microbiol.* 2010; 300: 11–18.
- Westendorf J. Natural Compounds, in: *Toxicology*, edited by Marquardt H, Schäfer SG, McClellan R, Welsch F., Elsevier Inc. 1999; pp. 959–1007.
- Wilks D, Farrington M, Rubenstein D. Gastrointestinal infections, in: *The Infectious Diseases Manual*, edited by Wilks D., Farrington M., blackwell. 2003a; pp. 57–69.
- Wilks D, Farrington M, Rubenstein D. Antibiotics : theory, usage and abuse, in: *The Infectious Diseases Manual*, edited by Wilks D., Farrington M., blackwell. 2003b; pp. 381–389.
- Wood J, Galligan J. Function of opioids in the enteric nervous system. *Neurogastroenterol. Motil.* 2004; 16: 17–28.
- Xue L, Farrugia G, Miller S, Ferris C, Snyder S, Szurszewski J. Carbon monoxide and nitric oxide as coneurotransmitters in the enteric nervous system: Evidence from genomic deletion of biosynthetic enzymes. *Proc. Nat. Acad. Soc. U S A.* 2000; 97: 1851–1855.
- Yates J. Traveler’s diarrhea. *Am. Fam. Physician.* 2005; 71: 2095–2100.
- Yen G, Duh P. Scavenging effect of methanolic extracts of Peanut Hulls on free-radical and active-oxygen species. *J. Food Chem.* 1994; 42: 629–632.
- Yongsi BN, Salem G, Bruneau J. Épidémiologie géographique des maladies diarrhéiques à Yaoundé (Cameroun). *Mappemonde.* 2008; 89: 1–17.
- Yousufzai S, Gao G, Abdel-Latif A. Mitogen-activated protein kinase inhibitors suppress prostaglandin F<sub>2</sub>-induced myosin-light chain phosphorylation and contraction in iris sphincter smooth muscle. *Eur. J. Pharmacol.* 2000; 407: 17–26.

### Liste des publications issues de la thèse

- **Noubissi Paul Aimé**, Ngwewondo Adela, Fokam Tagne Michel Archange, Fankem Gaëtan Olivier and Kamgang René. (2016). Spasmolytic and Anti-Secretory Activities of Water/Ethanol *Crinum jagus* Extract. *International Journal of Pharmacology, Phytochemistry and Ethnomedicine*, 5: 52-59.
- **Noubissi Paul Aimé**, Mvongo Clémence., Fokam Tagne Michel Archange, Manfo Tsague Faustin Pascal, Fankem Gaetan Olivier and Kamgang René. (2016). Antidiarrheal, Antimicrobial and Cytotoxic Activities of *Crinum jagus* Extracts. *Journal of Physiology and Pharmacology Advances*, 6(11): 938-949.

## Spasmolytic and Anti-Secretory Activities of Water/Ethanol *Crinum jagus* Extract

Noubissi Paul Aimé<sup>1,4,a</sup>, Ngwewondo Adela<sup>2,b</sup>,  
Fokam Tagne Michel Archange<sup>3,c</sup>, Fankem Gaëtan Olivier<sup>1,d</sup>  
and Kamgang René<sup>1,2,e\*</sup>

<sup>1</sup>Animal Physiology Laboratory, Faculty of Science, University of Yaoundé I, Cameroon.

<sup>2</sup>Laboratory of Endocrinology and Radioisotopes, Institute of Medical Research and Medicinal Plants studies (IMPM), Yaoundé, Cameroon.

<sup>3</sup>Department of Biological Science, Faculty of Science, University of Ngaoundéré, Cameroon.

<sup>4</sup>Department of Zoology and Animal Physiology, Faculty of Science, University of Buea, Cameroon.

<sup>a</sup>noubiaime@yahoo.fr, <sup>b</sup>adelafopezi@yahoo.fr, <sup>c</sup>fm\_archange@yahoo.fr,  
<sup>d</sup>fankemgaetanolivier@yahoo.com, <sup>e</sup>gemskrui@yahoo.fr

**Keywords:** *Crinum jagus* extract, intestine transit, enteropooling, PGE<sub>2</sub>, carbachol, serotonin, naloxone, rat.

**Abstract.** The present study was undertaken to determine the potential anti-secretory and spasmolytic mechanism of *Crinum jagus* water/ethanol extract (25, 50 and 100 mg/kg p.o.). Anti-secretory activities were evaluated using castor oil and PGE<sub>2</sub>-induced enteropooling models in rats. Spasmolytic activities were conducted on small intestinal transit, on carbachol, 5-HT- induced intestine motility as well as on naloxone-pretreated intestine transit. *C. jagus* extract 25, 50 and 100 mg/kg bw has significantly (p<0.01) reduced in dose-dependent manner the castor oil-induced intestine secretion with inhibition rate of -59.7, -78.7 and -78.2% respectively. *C. jagus* 25, 50 and 100 mg/kg bw water/ethanol extract induced significant (p< 0.01) dose-dependent reduction of PGE<sub>2</sub>-induced fluid accumulation, with inhibition rate of -16.9, -57.7 and -66.2% respectively. On intestine transit, as on carbachol and on serotonin-induced intestine motility, the extract significantly (P< 0.01) reduced the distance covered by the charcoal. The spasmolytic effect of *C. jagus* extract was inhibited by the naloxone. These findings show that *C. jagus* may reduce intestine secretion by the blockage of prostaglandin receptors. The spasmolytic effect could result from the blockage of muscarinic and/or serotonergic receptors, and by involving opiate receptors. These results support the traditional use of *Crinum jagus* in gastrointestinal disorders treatment.

### List of abbreviations

*C. jagus*: *Crinum jagus*  
WE: water/ethanol extract  
WECj: water/ethanol extract of *Crinum jagus*  
NC: normal control (group)  
DC: diarrheic control (group)  
bw: body weight  
i.p.: intraperitoneal  
p.o.: per os  
5-HT: 5-hydroxytryptamine (serotonin)  
Lop5: loperamide 5 mg/kg bw  
PGE<sub>2</sub>: prostaglandin E<sub>2</sub> (Prostacyclin).



## Introduction

Intestinal spasms are uncontrolled contractions in the muscles of the small and large intestines. It can produce symptoms such as abdominal pain, colic, flatulence, constipation and diarrhea [1]. Diarrhea is the second leading cause of death in children under five and is responsible for 3 million child deaths per year [2]. It is the passage of more than three unformed stools in 24 hours [3] and can last several days, dehydrating and depriving the body of its mineral salts necessary for survival. Diarrhea is one of the major health threats to populations in tropical and subtropical poor countries. Healers and patients in many communities still rely on locally available phytomedicines. World Health Organization in Diarrheal Disease Control Programme has given a special emphasis on the use of traditional medicines in the control and management of diarrhea [3]. It is very important to find plants or plant products that relax the intestinal muscle and that may be used for treatment of diarrhea and intestinal cramps. Plants and other natural products like charcoal from traditional roasted banana and kaolin chalk are locally used in diarrhea management. Amongst those plants, *Crinum jagus* (Amaryllidaceae) is widely used in Africa as antitumor, antiviral, antiparasitary, immunostimulator, and against mental trouble and snake bite [4]. According to traditional medicine practitioners in the Western Region of Cameroon, this plant is used as anti-poison and for the treatment of many other diseases [5]. This study has been planned to explore the scientific basis for the medicinal use of *Crinum jagus* in hyperactive gut disorders, like abdominal spasms and diarrhea using *in vivo* assays.

## Materials and Methods

### Preparation of crude extract

Fresh *Crinum jagus* plants were collected from Batié (West Region, Cameroon) in August 2012. The specimen was confirmed at the National Herbarium of Yaoundé, Cameroon, with the voucher number HNC 14049. The whole plant was cleaned, sliced into small pieces, shade dried and powdered. The plant powder was extracted with water/ethanol (4:1) mixture. 1000 g powder were macerated at room temperature in 5 L solvent for 48 hours (with occasional stirring), followed by filtration using Whatman filter paper N°1. The residue was macerated again in solvent for 48 hours and filtered. Likewise, the 2 filtrates obtained were pooled, concentrated in a rotary evaporator at 45°C to yield 291.6 g of dry dark hydro-ethanolic extract. The extracts were kept in a well-closed container at +4°C until use. Prior to the oral administration to rats or to *in vitro* assays, the extract was dissolved in distilled water.

### Experimental animal

Apparently healthy albino rats (130 – 170 g) of either sex obtained from the animal house of the Department of Animal Physiology, Faculty of Science of the University of Yaoundé I were used. Animals were housed in clean metabolic cages placed in a ventilated house and allowed free access to standard rat diet: carbohydrates 50-55%, fats 15-20% and proteins 25-30% [6]. *In vivo* experiments were done according to the guidelines of the European Union on Animal Care (CEE Council 86/609) [7] that were adopted by the Institutional Committee of the Cameroon Ministry of Scientific Research and Innovation.

### Extract activities on rat intestine

For each test, groups of five rats each were fasted for 18 h with free access to water and all treatments were done orally.

### Castor oil-induced intestine secretion

Animals were given distilled water 1 mL/100g bw (Normal Control NC and Diarrheic Control DC groups), loperamide 5 mg/kg bw (Lop5), 25 (WE25), 50 (WE50) and 100 (WE100) mg/kg bw *C. jagus* water/ethanol extract. Then, one hour later animals of each group except the NC was administered the castor oil (1 mL/100g bw). 30 min later, animals were sacrificed, and their

small intestines were ligated from pyloric sphincter to ileo-caecal junction and the accumulation of intestinal fluid secretion induced by castor oil were assessed and expressed in reduction rate.

#### ***PGE<sub>2</sub>-induced intestine secretion***

Groups of rats received 2% gum acacia (Normal Control NC and Positive Control PC groups), 25 (WE25), 50 (WE50) and 100 (WE100) mg/kg bw *C. jagus* water/ethanol extract. One hour later animals of each group except NC received the PGE<sub>2</sub> (100 µg/kg in 2% gum acacia). Then 30 min later, animals were sacrificed, and their small intestines were ligated from pyloric sphincter to ileo-caecal junction and assessments of the accumulation of intestinal fluid secretion induced by PGE<sub>2</sub> were made and calculated in terms of percentage reduction.

#### ***Normal transit***

Overnight-fasted rats were randomized into five groups of five rats each and were respectively administered per os: 1 mL/100 g bw distilled water for the NC, 25 (WE25), 50 (WE50) and 100 (WE100) mg/kg of *C. jagus* water/ethanol extract and the standard drug atropine sulphate 0.2 mg/kg bw i.p. (Gland Pharma. Pally. Dundigal. Post, Hyderabad, India) (AT0.2). Then each animal was orally given 30 min later 2 mL of charcoal meal (10% activated charcoal in 5% gum acacia) as diet marker, and was sacrificed 30 min after administration of the charcoal. The distance covered by the charcoal meal in the intestine was expressed as the percentage of the total distance travelled from the pylorus to the caecum [8].

#### ***Carbachol-induced transit***

Six groups of five normal rats each respectively received 1 mL/100 g bw distilled water (Normal Control NC and Carbachol Control groups), 25 (WE25), 50 (WE50) and 100 (WE100) mg/kg bw *C. jagus* water/ethanol extract and the standard drug atropine sulphate 0.2 mg/kg bw i.p. (AT0.2). Thirty minutes later animals except NC received 0.5 mg/kg bw i.p. carbachol (Sigma Aldrich, RT 66223-622PX). After carbachol administration, all the animals orally received 2 mL charcoal meal and were sacrificed 30 min later. The distance covered by the charcoal meal in the intestine was expressed as the percentage of the total distance traveled from the pylorus to the caecum.

#### ***Naloxone-pretreated intestine transit***

Six groups of five normal rats each, except NC were intraperitoneally pretreated with 0.4 mg/kg bw naloxone (Merck A7658; 8297YN). Thirty minutes later, different groups respectively received 1 mL/100 g bw, p.o. distilled water (Normal Control NC and Naloxone Control groups), 5 mg/kg loperamide (Lop5), or 25 (WE25), 50 (WE50) and 100 (WE100) mg/kg bw *C. jagus* extracts. Thirty minutes after, all the animals orally received 2 mL of charcoal meal and were sacrificed 30 min later. The distance covered by the charcoal meal in the intestine was expressed as the percentage of the total distance traveled from the pylorus to the caecum.

#### ***Serotonin-induced transit***

Six groups of five normal rats each respectively received 1 mL/100 g bw distilled water (Normal Control NC and 5-HT Control groups), 25 (WE25), 50 (WE50) and 100 (WE100) mg/kg bw *C. jagus* water/ethanol extract, and the standard drug loperamide 5 mg/kg bw (Lop5). Thirty minutes later each animal except NC received 1 mg/kg bw i.p. serotonin (Sigma Aldrich, H9523; 441TO). Just after serotonin administration, all animals orally received 2 mL charcoal meal and were sacrificed 30 min later. The distance covered by the charcoal meal in the intestine was expressed as the percentage of the total distance traveled from the pylorus to the caecum.

#### **Statistical analysis**

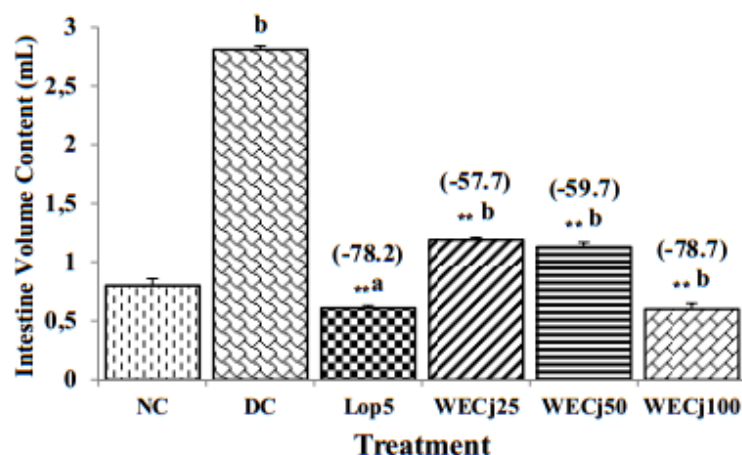
Data were expressed as mean ( $\bar{X}$ )  $\pm$  standard error of mean (S.E.M) ( $\bar{X} \pm$  S.E.M) of the group. The statistical significant differences were determined by one-way analysis of variance (ANOVA), followed by Dunnett's t-test. A value of  $p < 0.05$  was considered significant.



## Results

### Castor oil-induced intestine secretion

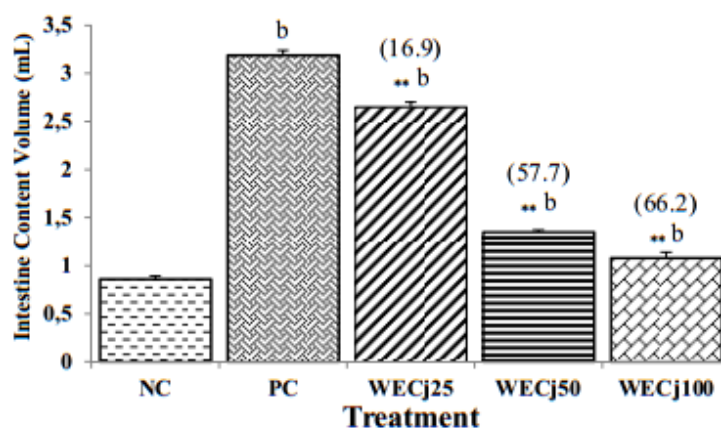
The diarrheic control (DC) rat intestinal fluid content was  $2.81 \pm 0.03$  mL against  $0.80 \pm 0.06$  mL for the normal control (NC). *Crinum jagus* 25, 50 and 100 mg/kg bw extract, dose dependently and significantly ( $P < 0.01$ ) inhibited castor oil-induced intestinal accumulation: -59.7%, -78.7% and -78.2% respectively (Fig. 1).



**Figure 1:** Enteropooling in castor oil-induced diarrheic rats treated with *C. jagus* water/ethanol extract 25 (WECj25), 50 (WECj50), 100 (WECj100) and Loperamide 5 (Lop5) mg/kg bw. Values are mean  $\pm$  S.E.M, (n=5). Significant difference: \*\* $p < 0.01$  compared with Diarrheic Control (DC); <sup>a</sup> $p < 0.05$ , <sup>b</sup> $p < 0.01$  compared with Normal control. ( ): inhibition rate.

### PGE<sub>2</sub>-induced intestine secretion

In PGE<sub>2</sub>-induced enteropooling assay, PGE<sub>2</sub> administration caused a substantial increase ( $p < 0.01$ ) of fluid accumulation in rats. Administration of 25, 50 and 100 mg/kg bw water/ethanol extract of *C. jagus* produced significant ( $p < 0.01$ ) dose dependent reduction of fluid accumulation with inhibition rate of -16.9%, -57.7% and -66.2% respectively (Fig. 2).



**Figure 2:** Enteropooling in PGE<sub>2</sub>-induced diarrheic rats treated with *C. jagus* water/ethanol extract 25 (WECj25), 50 (WECj50), and 100 (WECj100) mg/kg bw. Values are mean  $\pm$  S.E.M, (n=5). Significant difference: \*\* $p < 0.01$  compared with Positive Control (PC); <sup>b</sup> $p < 0.01$  compared with Normal Control (NC). ( ): inhibition rate.

### Normal transit test

In normal control rats one hour after charcoal feeding, the black meal moved up to 59% of the intestine total length. All the tested compounds significantly ( $P < 0.01$ ) reduced the distance



moved by the charcoal (Table 1). The inhibitory effects of water/ethanol extract 25, 50 and 100 mg/kg on charcoal transit were -46.32%, -60.38% and -64.55% respectively (Table 1).

**Table 1:** Effect of *Crinum jagus* water/ethanol extract 25 (WECj25), 50 (WECj50), 100 (WECj100) and Atropine (0.2 mg/kg bw) on rat intestine transit.

	ITL (cm)	CCL (cm)	TLCR (%)	Covered Rate (%/NC)
NC	90.20±2.97	53.2±2.63	58.88±1.46	100
Atropine	94.40±1.08	22.00±0.71	23.3±0.63**	-60.43±1.07
WECj25	94.80±2.27	29.90±0.87	31.62±1.25**	-46.32±1.42
WECj50	97.80±2.06	22.80±0.86	23.34±0.92**	-60.38±1.05
WECj100	94.48±1.59	19.70±0.44	20.80±0.56**	-64.55±1.54

Values are mean ± S.E.M. (n=5). Significant difference: \*\*P< 0.01 compared with normal control group (NC). ITL: Intestine total length; CCL: Charcoal covered length; TLCR: Total length covered rate.

### Carbachol-induced intestine transit

**Table 2:** Effect of *Crinum jagus* water/ethanol extract: 25 (WECj25), 50 (WECj50), 100 (WECj100) and Atropine (0.2 mg/kg bw) on Carbachol-induced rat intestine transit.

	ITL (cm)	CCL (cm)	TLCR (%)	Covered Rate (%/NC)
NC	90.20±2.97	53.20±2.63	58.88±1.46	100
Carbachol	77.60±1.26	69.20±1.88	89.14±1.53 <sup>b</sup>	+51.40
Atropine+Carbachol	83.80±1.85	27.80±1.07	33.18±1.06** <sup>b</sup>	-48.84
WECj25+Carbachol	85.00±2.02	39.20±1.02	46.18±1.30** <sup>b</sup>	-21.6
WECj50+Carbachol	78.70±2.29	27.80±1.16	35.85±1.29** <sup>b</sup>	-40.00
WECj100+Carbachol	79.20±1.69	25.60±1.57	32.24±1.50** <sup>b</sup>	-45.2

Values are mean ± S.E.M. (n=5). Significant difference: \*\*P< 0.01 compared with Carbachol control; <sup>b</sup> P< 0.01 compared with normal control group (NC). ITL: Intestine total length; CCL: Charcoal covered length; TLCR: Total length covered rate.

Carbachol has increased the intestine propulsion in rats compared with the normal control (NC) (89.148% versus 58.88%). Atropine, 25, 50 and 100 mg/kg bw *C. jagus* extract significantly (p<0.01) inhibited carbachol-induced intestine transit by -48.8%, -21.6%, -40% and -45.2% respectively (Table 2).

### Naloxone-pretreated intestine transit

Pretreatment with naloxone reversed the antimotility effect of *C. jagus* water/ethanol extract. Charcoal meal progression in plant treated rat was comparable to that of normal animals as well as that of naloxone or loperamide rat (Table 3).

**Table 3:** Effect of *Crinum jagus* water/Ethanol extract 25 (WECj25), 50 (WECj50), 100 (WECj100) and Loperamide (Lope, 5 mg/kg bw) on Naloxone-pretreated rat intestine transit.

	ITL (cm)	CCL (cm)	TLCR (%)	Covered Rate (%/NC)
NC	90.20±2.97	53.20±2.63	58.88±1.46	100
Naloxone	77.40±2.71	51.20±2.08	66.17±1.80*	+12.40
Naloxone + Lope5	97.00±1.64	56.80±1.53	58.61±1.69	-0.46
Naloxone + WECj25	92.20±1.43	54.20±1.16	58.91±2.10	+0.06
Naloxone + WECj50	83.40±1.66	48.80±1.46	58.49±1.03	-0.70
Naloxone + WECj100	78.80±2.48	45.40±2.06	57.51±0.88	-2.31

Values are mean ± S.E.M. (n=5). Significant difference: \*P< 0.05 compared with normal control group (NC); <sup>b</sup> P< 0.05 compared with Naloxone control. ITL: Intestine total length; CCL: Charcoal covered length; TLCR: Rate of total length covered.

### Serotonin-induced intestine transit

Serotonin has increased the intestine propulsion in rats compared with the normal control rats (NC) (70.05% versus 58.88%). Water/ethanol *C. jagus* extract and loperamide slightly reduced serotonin-induced gastro-intestinal motility in rats (Table 4).

**Table 4:** Effect of *Crinum jagus* water/ethanol extract 25 (WECj25), 50 (WECj50), 100 (WECj100) and Loperamide (5 mg/kg bw) on 5-HT-induced rat intestine transit.

	ITL (cm)	CCL (cm)	TLCR (%)	Covered Rate (%/NC)
NC	90.2±2.97	53.20±2.63	58.88±1.46	100
5-HT	89.00±1.80	55.60±1.47	70.05±1.33 <sup>**</sup>	+18.98
Lope +5-HT	67.40±1.29	33.20±1.98	51.38±1.40 <sup>**b</sup>	-21.23
WECj25+5-HT	76.80±2.15	37.00±1.79	48.09±1.40 <sup>**b</sup>	-18.32
WECj50+ 5-HT	79.20±1.62	38.00±1.73	47.93±1.63 <sup>**b</sup>	-18.59
WECj100+5-HT	87.00±0.71	41.20±1.16	47.34±1.17 <sup>**b</sup>	-19.59

Values are mean ± S.E.M. (n=5). Significant difference: <sup>\*\*</sup>P < 0.01 compared with normal control group (NC); <sup>b</sup>P < 0.01 compared with Serotonin control. ITL: Intestine total length; CCL: Charcoal covered length; TLCR: Total length covered rate.

### Discussion

This study was designed to determine the antisecretory and antispasmodic activities of *Crinum jagus* water/ethanol extract. In the Western Region of Cameroon *C. jagus* is used against poison and in hyperactive gut disorders, like diarrhea and abdominal colic.

In castor oil-induced intestinal fluid accumulation models, *C. jagus* dose-dependently showed antisecretory activity with the effect of the 100 mg/kg dose, comparable to that of loperamide, which is known for its spasmolytic, antidiarrheal and antisecretory activities [9]. Castor oil is known to cause increased intestinal fluid contents and promotes diarrhea indirectly through the effect of its active constituent, ricinoleic acid, formed by the hydrolysis of oil, which changes the electrolytes and water transport by reducing active Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> absorption as well as Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> ATPase activity [10]. The effect of water/ethanol *C. jagus* extract on castor oil-induced intestinal fluid accumulation was reported to be highly significant at all tested doses compared to control group. This may be attributed to inhibition of active secretion of ricinoleic acid via the reduction of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ATPase activity. The retardation in castor oil-induced fluid accumulation was well supported by PGE<sub>2</sub>-induced enteropooling study which demonstrated an antienteropooling effect of *C. jagus*. PGE<sub>2</sub> stimulates gastrointestinal motility and secretion of water and electrolytes [11], thus inducing an increase in the peristalsis and an intestinal hyper secretion of fluid. The varied biological functions exerted by PGE<sub>2</sub> are through the pharmacologically distinct, G-protein coupled plasma membrane receptors [12]. Activation of EP<sub>2</sub> and EP<sub>4</sub> prostaglandins receptors leads to an increase of cAMP, and thus increased intestine secretion [13]. Water/ethanol *C. jagus* extract reduction of PGE<sub>2</sub>-induced intestinal secretion may have been through a decrease of cAMP level via the blockage of EP<sub>2</sub> and EP<sub>4</sub> prostaglandins receptors.

The role of multiple types of physiological mediators, such as, acetylcholine, substance-P, cholecystokinins and 5-hydroxytryptamine, is well established in regulatory function of gastrointestinal system [9]. It has also been documented that most of the spasmolytic agents have therapeutic potential in diarrhea by causing relaxation of the smooth muscle of the gut. Carbachol unlike acetylcholine in various gastrointestinal smooth muscles produces contractions by activating M<sub>3</sub> muscarinic receptors. The M<sub>3</sub> receptor is coupled preferentially to Gq-type G proteins, resulting in the activation of phospholipase C (PLC) and the formation of inositol trisphosphate (IP<sub>3</sub> which causes Ca<sup>2+</sup> release from intracellular stores and can also mobilize Ca<sup>2+</sup> secondarily through Ca<sup>2+</sup>-sensitive or store-dependent mechanisms [14]. *C. jagus* extract substantially reduced charcoal meal propulsion compared to carbachol control. This may be due to anticholinergic effect. Naloxone, a μ-



opioid competitive antagonist, works by competing with other relevant drugs on the receptor [15]. *C. jagus* extract on naloxone-pretreated intestine did not show any significant effect. The action was almost comparable to loperamide, a well-known peripheral opioid agonist. Activation of  $\mu$  receptors by loperamide inhibits release of acetylcholine and thus relaxes smooth muscular tone in the gut wall. The physiological consequence of this is to enhance phasic colonic segmentation and inhibit peristalsis, thus increasing intestinal transit time [16]. Pretreatment with naloxone reversed the antispasmodic effect of *C. jagus* extracts confirming that its action may occur by opioid receptors. 5-HT<sub>3</sub> serotonin receptor elicits contraction of ileum via acetylcholine [17]. *C. jagus* extract antagonized intestine motility induced by 5-HT. 5-HT<sub>3</sub> receptors are located on pre- and postganglionic autonomic neurons of enteric nervous systems where they mediate effects in the control of intestinal motility [17]. *C. jagus* extract as such behave like 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist.

Phytochemical studies revealed that water/ethanol extract of *Crinum jagus* contains volatile oils, fatty acids, catechic tannins, carbohydrates, alkaloids, sterols, triterpenes, flavonoids, coumarines, anthocyanidines, polyphenols and saponins [5]. Amongst these phytochemical constituents, alkaloids have been reported to possess antidiarrheal activity, tannins as a protein denaturing agent producing protein tannates which make intestinal mucosa more resistant reducing secretion [10]. Thus, the pharmacological activities obtained may be attributed to the conjugation action of these phytoconstituents.

## Conclusion

The present study shows that the antidiarrheal activity of *Crinum jagus* may be due to a possible antisecretory effect via prostaglandins receptors, to its antispasmodic compounds which may act by blocking muscarinic or serotonergic receptors on smooth muscles and which may reduce gastrointestinal secretion by decreasing diarrheal faeces. This work also confirmed the involvement of opiate receptors in the anti-diarrheal action of *Crinum jagus*.

## Competing interests

The authors declare that there is no conflict of interests.

## Acknowledgements

Authors sincerely thank the International Foundation for Science (IFS) and the Organization of Islamic Cooperation (OIC/COMSTech) for providing adequate financial support to carry out the research work. We are also thankful to Institute of Medical Research and Medicinal Plants Studies (IMPM), Yaounde, Cameroon for providing laboratory facilities during this study.

## References

- [1] M.G. Ignjatović, D. Kitić, M. Kostić, Spasmolytic effect of anethum graveolens L. methanol extract on isolated rat ileum, *Acta Medica Median.* 52 (2015) 5–10.
- [2] R.K. Kumar et al., Evaluation of antidiarrhoeal activity of aqueous bulb extract of *Allium cepa* against castor oil-induced diarrhoea, *Int. J. Herb. Med.* 1 (2013) 64–67.
- [3] P. Shamkuwar, Role of potassium channels, nitric oxide pathway and adrenergic receptors in antidiarrhoeal effect of mebarid, *Asian J. Pharm. Clin. Res.* 6 (2013) 295–296.
- [4] A.Ogunkunle, O. Olopade, Studies on the asthma Coughs plant *Crinum jagus* L. (Amaryllidaceae) in Nigeria. *African, J. Plant Sci.* 5 (2011) 108–114.
- [5] C. Mvongo et al., Phytochemical studies and in vitro antioxidant potential of two different extracts of *Crinum jagus*, *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 6 (2015) 2354–2359.
- [6] R. Kamgang et al., Antihyperglycemic potential of the water-ethanol extract of *Kalanchoe crenata* (Crassulaceae), *J. Nat. Med.* 62 (2008) 34–40.

- [7] J. Smith et al., Working Grp, and "Principles and Practice in Ethical Review of Animal Experiments across Europe: Summary of the Report of a Felasa. Work, Gr. Ethical Eval. Anim. Exp. Lab. Anim. 41 (2007) 143–160.
- [8] T.A.M. Fokam et al., Activity of *Oxalis barrelieri* aqueous extract on rat secretory diarrhea and intestine transit, *J. Appl. Pharm. Sci.* 5 (2015) 58–62.
- [9] M.H. Mehmood et al., Antidiarrhoeal, antisecretory and antispasmodic activities of *Matricaria chamomilla* are mediated predominantly through K<sup>+</sup> -channels activation, *BMC Complement. Altern. Med.* 15 (2015) 1–9.
- [10] S.K. Prasad et al., Antidiarrhoeal evaluation of rhizomes of *Cryptocoryne spiralis* Fisch . ex Wydler : Antimotility and antisecretory effects, *Indian J. Exp. Biol.* 52 (2014) 139–146.
- [11] S.L. Wansi et al., Antidiarrheal activity of aqueous extract of the stem bark of *sapium ellipticum* (Euphorbiaceae ), *Trop. J. Pharm. Res.* 13 (2014) 929–935.
- [12] I. Dey, M. Lejeune, K. Chadee, Prostaglandin E<sub>2</sub> receptor distribution and function in the gastrointestinal tract, *Br. J. Pharmacol.* 149 (2006) 611–623.
- [13] S. Karaki, A. Kuwahara, Regulation of intestinal secretion involved in the interaction between neurotransmitters and prostaglandin E<sub>2</sub>, *Neurogastroenterol Motil* 16 (2004) 96–99.
- [14] T. Unno et al., M(2) and M(3) muscarinic receptor-mediated contractions in longitudinal smooth muscle of the ileum studied with receptor knockout mice, *Br. J. Pharmacol.* 146 (2005) 98–108.
- [15] J. Strang, R. McDonald, Emergency naloxone in regular clinical practice, in: *European Monitoring Centre for Drugs and Drugs Addiction*, 2016, pp. 29–36.
- [16] C. Faure, Role of Antidiarrheal Drugs as Adjunctive Therapies for Acute Diarrhea in Children, *International Journal of Pediatrics.* (2013) 1–14.
- [17] N. Chetty, H.R. Irving, I.M. Coupar, Activation of 5-HT<sub>3</sub> receptors in the rat and mouse intestinal tract: a comparative study, *Br. J. Pharmacol.* 148 (2006) 1012-1021.

**Antidiarrheal, Antimicrobial and Cytotoxic Activities of *Crinum  
Jagus* Extracts**

Noubissi P. A., Mvongo C., Fokam T. M. A., Manfo T. F. P., Fankem G. O. and Kamgang R.

*J Phys Pharm Adv* 2016, 6(11): 938-949

DOI: 10.5455/jppa.1969123104000010



Online version is available on: [www.grjournals.com](http://www.grjournals.com)



# Antidiarrheal, Antimicrobial and Cytotoxic Activities of *Crinum Jagus* Extracts

<sup>1,3</sup>Noubissi P. A., <sup>1</sup>Mvongo C., <sup>2</sup>Fokam T. M. A., <sup>4</sup>Manfo T. F. P., <sup>1</sup>Fankem G. O. and <sup>\*1,5</sup>Kamgang R.

<sup>1</sup>Animal Physiology Laboratory, Faculty of Science, University of Yaoundé I, Cameroon.

<sup>2</sup>Department of Biological Science, Faculty of Science, University of Ngaoundéré, Cameroon.

<sup>3</sup>Department of Zoology and Animal Physiology, Faculty of Science, University of Buea, Cameroon.

<sup>4</sup>Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Science, University of Buea, Cameroon.

<sup>5</sup>Laboratory of Endocrinology and Radioisotopes, Institute of Medical Research and Medicinal Plants studies (IMPM), Yaoundé, Cameroon.

## Abstract

*Crinum jagus* is used in Cameroon against poison and in the treatment of gastrointestinal disorders. This work was undertaken to evaluate the antidiarrheal activities, The antimicrobial effect was assayed by disc diffusion and agar dilution methods (on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Salmonella choleraesuis*, *Shigella dysenteriae* A<sub>1</sub>, *Candida albicans*) and the cytotoxicity, of its water, ethanol and water/ethanol extracts, as well as its flavonoids, alkaloids and saponins fractions. To induce diarrhea, rats received castor oil 30 minutes after one single dose of the plant extract or fraction. The antimicrobial effect was assayed by the disc diffusion and the agar dilution methods, and the cytotoxicity assay performed on LLC-MK2 monkey kidney cells. Tested samples significantly ( $p < 0.01$ ) and dose-dependently increased the latent period of diarrhea induction and decreased total weight and frequencies of wet stools. Extract/fraction showed concentration-dependent activity against tested microbial strains with the inhibition zone ranged from 7 to 15 mm. Flavonoids showed the lowest minimum inhibitory concentration (0.10 mg/mL on *E. coli*). No extract/fraction induced up to 50% reduction in cell viability, even at high concentration (500  $\mu\text{g/mL}$ ), suggesting the  $\text{IC}_{50} > 500 \mu\text{g/mL}$ . Thus, *Crinum jagus* might possess antimicrobial and antidiarrheal activities and so could be safely used for diarrhea treatment.

**Keywords:** *Crinum jagus*, flavonoids, alkaloids, saponins, antidiarrheal activities, antimicrobial activities, cytotoxicity.

\*Corresponding author: Laboratory of Endocrinology and Radioisotopes, Institute of Medical Research and Medicinal Plants studies (IMPM), Yaoundé (Cameroon). - Animal Physiology Laboratory, Faculty of Science, University of Yaoundé I (Cameroon).

Received on: 02 Sep 2016

Revised on: 12 Sep 2016

Accepted on: 25 Nov 2016

Online Published on: 30 Nov 2016

938 J. Phys. Pharm. Adv., 2016, 6(11): 938-949

## Introduction

Diarrhea is the second leading cause of death in children under five and is responsible for 3 million child deaths per year (Kumar *et al.*, 2013). It is one of the principal causes of death in the malnourished infants. Diarrhea is the passage of more than three unformed stools in 24 hours (Shamkuwar, 2013). It involves an increase in the motility of the gastrointestinal tract along with increased secretion and a decreased absorption of fluid, leading to electrolytes and water loss (Shamkuwar, 2013).

Usually diarrhea is a symptom of an intestinal infection that can be caused by various microorganisms or parasites. In most cases, particularly in malnourished children or in immune deficiency, patients actually die from severe dehydration by water loss and electrolyte imbalance.

Although currently used drugs are important in the management of diarrhea, they are still associated with adverse effects and contraindications. It is the case with racecadotril and loperamide, used to treat secretory diarrhea which showed to induce bronchospasm, vomiting and fever. Different antibiotics used in infectious diarrhea do have valuable importance to fight this condition but are facing resistance to some microbial strains (Wondmagegn *et al.*, 2014). Also, the cost of conventional antidiarrheal drugs in developing countries is high, coupled with their non-availability, thus raising the need for an alternative remedy available locally for the treatment of the disease.

*Crinum jagus* (Amaryllidaceae) is a plant widely used in Africa traditional medicine as antitumor, antiviral, antiparasitary, immunostimulator, and against mental trouble and snake bite (Ogunkunle and Olopade, 2011). According to traditional medicine practitioners in the Western Region of Cameroon, this plant is used against poison and in the treatment of many gastrointestinal infections (Mvongo *et al.*, 2015). The current study aimed to investigate the antidiarrheal effects of crude extracts and fractions from *C. jagus* in albino rats, alongside with in vitro evaluation of antimicrobial and toxicological/safety assays.

## Materials and Methods

### *Plant Collection and Identification*

Fresh *Crinum jagus* plants were collected from Batié (West Region, Cameroon) in August 2012. The specimen was confirmed at the National Herbarium of Yaoundé, Cameroon with the voucher number HNC 14049. The whole plant was cleaned, sliced into small pieces, shade dried and powdered.

### *Preparation of Crude Extracts*

The plant powder was extracted with water, ethanol or water/ethanol (4:1) mixture. For each extract, 1000 g powder were macerated at room temperature in 5 L solvent for 48 hours (with occasional stirring), followed by filtration using Whatman filter paper N° 1.

The residues of the water/ethanol, water and ethanol mixture after filtration were macerated again in the correspondent solvent for 48 hours and filtered. Water/ethanol and ethanol filtrates obtained in each case were pooled, concentrated in a rotary evaporator at 45°C to yield 291.60 g of dry dark (hydro-ethanolic) or 250.20 g (ethanolic) extracts. The water filtrate was dehydrated in a hot air oven; the residue was re-macerated for 48 hours, filtered and dehydrated. The whole dried aqueous extract obtained was weighed (179.00 g).

The extracts were kept in a well-closed container at +4°C until use. Prior to *in vitro* assays or to the oral administration to rats, the extract was dissolved in distilled water or in 2% DMSO solution (for ethanolic extract).

### *Extraction of Total Saponins*

Total saponins was obtained by the adsorption method (Jian-Guo *et al.*, 2007) with some modifications. *C. jagus* powder (500 g) was defatted by twice soxhlet extraction (24 h x 2) with petroleum ether, and the defatted power extracted with 75% ethanol (10 mL/g) for 3 h with constant stirring. After suction filtration, the extraction was repeated. The extracts were combined and evaporated under vacuum.

The dried extract was dissolved in distilled water at a concentration of 100 g/L and then fractionated on a macroporous adsorption resin AB-8 column with distilled water, and 50% ethanol respectively. The ethanol extracted saponins were



obtained from the 50% ethanol fraction, and evaporated under vacuum. The extraction yielded 1.84% (w/w) total saponins from *C. jagus*.

#### **Extraction of Total Alkaloids**

To obtain the alkaloids, *C. jagus* powder (500 g) was extracted with ethyl acetate for 72 h at room temperature. The extract was filtered and the solvent evaporated in a rotary evaporator under reduced pressure at 40 °C. The residue, dissolved in H<sub>2</sub>O and acidified with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> to pH 3-4, was extracted with petroleum ether and diethyl ether to remove lipophilic, acidic and neutral material.

After basifying the aqueous solution to pH 9-10 with NH<sub>4</sub>OH (25%, m/m), it was extracted with chloroform, the extract washed with distilled water to neutral pH, dried with Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated to dryness under reduced pressure to obtain crude alkaloids (192.14 g) (Abdelouaheb *et al.*, 2006).

#### **Extraction of Total Flavonoids**

The powdered dried leaves and bulb of *C. jagus* (500 g) was defatted with petroleum ether (1:1 v/v) in a Soxhlet apparatus. The defatted powders were macerated with methyl alcohol (80%) using Soxhlet until exhaustion to obtain alcoholic extract and the solvent dried under reduced pressure conditions.

The residue was then chromatographed over AB-8 resin column, and eluted with water-alcohol gradient (40%) giving 36 fractions. The eluted fractions were combined and then lyophilized to yield 133.80 g powder (A). Thereafter, following chromatographic separation of A powder (96.18 g) on a Si gel column and elution with gradient mixtures of cyclohexane and acetoacetate, 36 fractions were obtained. The 36 fractions were pooled to give flavonoids fraction (61.84 g) flavonoid fraction (61.84 g) (Jian-Guo *et al.*, 2007).

#### **Animals of Experiment**

Apparently healthy *Wistar* albino rats (130 – 170 g) of either sex obtained from the animal house of the Department of Animal Physiology, Faculty of Science of the University of Yaoundé I were used. Animals were housed in clean metabolic cages placed in a ventilated house and allowed free access to standard rat diet: carbohydrates 50-55%, fats 15-20% and proteins 25-30% (Kamgang *et al.*, 2008).

*In vivo* experiments were done according to the guidelines of the European Union on Animal Care (CEE Council 86/609) (Smith *et al.*, 2007) that were adopted by the Institutional Committee of the Cameroon Ministry of Scientific Research and Innovation.

#### **Microbial Strains**

All microbial strains used in this study namely *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Salmonella typhi*, *Salmonella choleraesuis* and *Shigella dysenteriae* A1 were isolated from local hospitals patients and identified by the Centre Pasteur of Yaoundé, Cameroon.

#### **Mammalian Cell Line**

Monkey kidney epithelial cells (LLC-MK2 cells, from American type culture collection, Virginia, USA) were cultured in a complete culture medium [RPMI-1640 medium supplemented with 0.29 g/L L-glutamine, sodium bicarbonate (NaHCO<sub>3</sub>), 25 mM HERPES, 200 U/mL penicillin and 200 µg/mL streptomycin and 0.25 µg/mL amphotericin B, and 10% new-born calf serum], at 37°C under 5% CO<sub>2</sub> in humidified air.

#### **Castor Oil-Induced Diarrhea in Rats**

Groups of five rats each were fasted for 18 h with free access to water. The first group (Diarrheic Control DC) orally received 1 mL/100 g bw distilled water when the other groups were given the plant extract or fraction at 25, 50 and 100 mg/kg bw or 6, 12 and 24 mg/kg bw respectively. Reference group animals were given 5 mg/kg bw loperamide (ELDOPER, Micro Labs. 92, sipcot, Hosur-635126, India). Thirty minutes later, castor oil was orally given (1 mL/100 g bw) to all animals to induce diarrhea (Doherty, 1981).

All animals were placed separately in individual cages lined with filter paper. The paper was changed every hour and the severity of the diarrhea assessed hourly for four hours. During the 4 h follow-up period, onset time of diarrhea, number of wet faeces and the diarrheal faeces weight were observed (Sairam *et al.*, 2003). The results were expressed as percentage of inhibition of diarrhea (Fokam *et al.*, 2015).



### *In Vitro Antimicrobial Studies*

#### *Antimicrobial Susceptibility*

The susceptibility screenings of the extracts and fractions were done using the serial dilution method (Kamgang *et al.*, 2015). Muller-Hinton agar medium was autoclaved (121°C, 15 min) and poured into sterile petri dishes (4 mL/petri dish, 3-4 mm depth). After solidification, culture media were inoculated with 1 mL of the microorganism suspensions at 10<sup>5</sup> CFU/mL (matched to McFarland barium sulphate standard). Discs of 6 mm diameter were impregnated with 10 µL of plant extract or fraction at various dilutions (0.39, 0.78, 1.56, 3.12, 6.25, 12.50, 25.00, 50.00, 100.00 and 200.00 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 (37°C, 18-24 h for antibacterial activity; 25°C, 48 h for antifungal activity). Each assay in this experiment was replicated three times (Abhijit and Ramkrishna, 2015).

#### *Determination of Minimal Inhibitory Concentration*

Minimum inhibitory concentration (MIC) is the lowest concentration which presents no visible microbial growth (Olajuyigbe Olufunmiso *et al.*, 2012). It was determined by serial tube dilution technique (Vats *et al.*, 2009; Alam *et al.*, 2007). Two-fold dilutions of the extracts were prepared and 2 mL aliquot of different concentrations of the solution added to 18 mL of pre-sterilized molten Muller-Hinton agar at 40°C to give final concentration regimes of 0.05 to 50 mg/mL. The medium was then poured into sterile petri dishes and allowed to solidify. The surfaces of the media were streaked with 18 h-old microorganism cultures. The plates were later incubated at 37°C for 18-24 h for bacteria and at 25°C for 48 h for fungi. After the incubation period, the tubes were observed for the MICs by identifying the concentration of the first tube in the series (ascending extract and fraction concentrations) that showed no visible trace of growth. The plant extract or fraction concentration in the latter tube was considered as the MIC (Hasan *et al.*, 2009). All inhibition assays were conducted in triplicate.

#### *Minimum Bactericidal Concentration and Minimum Fungicidal Concentration Assessment*

To determine the minimum bactericidal concentration (MBC) and minimum fungicidal concentration (MFC) of the plant extract or fraction 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 (37°C for 18-24 h and at 25°C for 48 h for bacteria and fungi respectively), and the MBC and MFC values determined as the lowest concentrations of the extract that showed no microbial growth on the agar plates (Kamgang *et al.*, 2015). All the antimicrobial assays were performed under strict aseptic conditions.

#### *Cell Viability Assay*

In order to investigate safety of *Crinum jagus* in mammals, cytotoxicity of its extracts and fractions was investigated on LLC-MK2 monkey kidney epithelial cells. The cells were proliferated in a complete culture medium at 37°C under 5% CO<sub>2</sub> in humidified air. Cells were distributed in 96-well plates at 22,000 cells in 150 µL per well and incubated to enable attachment. After 18-24h of incubation, the culture medium was carefully pipetted out of the wells and cell layers incubated with different concentrations of the extracts or products. The following 8 different concentrations were tested for each plant extract or fraction: 3.9, 7.8, 15.6, 31.3, 62.5, 125, 250 and 500 µg/mL. Wells used as negative and positive controls were incubated with 0.5% DMSO and 0.1% Triton X-100, respectively. The culture plates were then incubated for 24 hours at 37°C under 5% CO<sub>2</sub> in humidified air. After 24 h incubation, the culture media were removed from wells, and cell layers washed using RPMI 1640 medium without serum (150 µL/well). The cells were then incubated with 0.5 mg/mL 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide solution (MTT; Sigma, St Louis, MO, USA) at 37°C for 4 h. Conversion of MTT into purple colored MTT formazan by the living cells indicated the extent of cell viability. The medium with MTT was carefully removed from the wells, the crystals dissolved with dimethyl sulfoxide (100 µL/well) and the optical

densities measured at 595 nm, with a background at 650 nm. The negative control wells were considered as reference (100% viability). To determine cell viability in wells incubated with plant fractions or extracts, the following formula was used (Nondo *et al.*, 2015):

(The formulae): Viability (%) = Optical Density Test / Optical Density Control x 100

It should be noted that each treatment was tested in triplicates, and the experiment conducted 3 times.

### Statistical Analysis

Data were expressed as mean ( $\bar{X}$ )  $\pm$  standard error of mean (S.E.M) ( $\bar{X} \pm$  S.E.M) per group. The

statistical significant differences were determined by means of one-way analysis of variance (ANOVA), followed by Dunnett's t-test. A value of  $p < 0.05$  was considered significant.

### Results

#### Castor Oil-Induced Diarrhoea in Rats

*C. jagus* water/ethanol extract, flavonoids, alkaloids and saponins fractions significantly increased the diarrhoea onset latency time and decreased the frequency of diarrheal stools defecation when compared to the control group. The extract and fractions also provoked significant decrease in the diarrheal stools weight (Table 1).

**Table 1:** Effect of water/ethanol extract (WECj), flavonoids (Fla), alkaloids (Alk) and saponins (Sap) on castor oil-induced diarrhea in rats.

Treatment	Dose (mg/kg)	Number of diarrheal stools	Weight of diarrheal stools (g)	Inhibition of diarrhea	Onset time (min)
DW	10 mL/kg	8.00 $\pm$ 0.32	6.04 $\pm$ 0.35	-	35.4 $\pm$ 0.51
Lop 5	5	1.2 $\pm$ 0.20**	1.18 $\pm$ 0.13**	80.46	204.2 $\pm$ 2.42**
	25	4.2 $\pm$ 0.20**	2.72 $\pm$ 0.36**	54.97	87.6 $\pm$ 2.42**
	50	3.8 $\pm$ 0.58**	2.5 $\pm$ 0.25**	58.61	80.2 $\pm$ 1.46**
WECj	100	2.8 $\pm$ 0.20**	1.74 $\pm$ 0.21**	71.2	125.2 $\pm$ 4.19**
	6	4.00 $\pm$ 0.32**	3.00 $\pm$ 0.24**	50.33	60.00 $\pm$ 2.01**
	12	2.20 $\pm$ 0.37**	2.50 $\pm$ 0.31**	58.61	64.60 $\pm$ 2.05**
Fla	24	2.00 $\pm$ 0.00**	2.24 $\pm$ 0.26**	62.91	112.20 $\pm$ 3.47**
	6	3.00 $\pm$ 0.32**	2.13 $\pm$ 0.23**	64.74	50.80 $\pm$ 2.03**
Alk	12	3.20 $\pm$ 0.37**	2.25 $\pm$ 0.16**	62.75	43.20 $\pm$ 2.31
	24	3.80 $\pm$ 0.20**	2.49 $\pm$ 0.24**	58.77	69.00 $\pm$ 2.70**
	6	4.80 $\pm$ 0.37**	3.84 $\pm$ 0.15**	36.42	114.06 $\pm$ 3.89**
Sap	12	3.20 $\pm$ 0.20**	3.52 $\pm$ 0.35**	41.72	75.80 $\pm$ 2.84**
	24	4.60 $\pm$ 0.51**	3.53 $\pm$ 0.25**	41.56	64.00 $\pm$ 4.01**

Values are Mean  $\pm$  SEM, n=5; significant difference: \*\* $p < 0.01$  compared to control, DW: distilled water, Lop 5: loperamide.

#### Antimicrobial Susceptibility

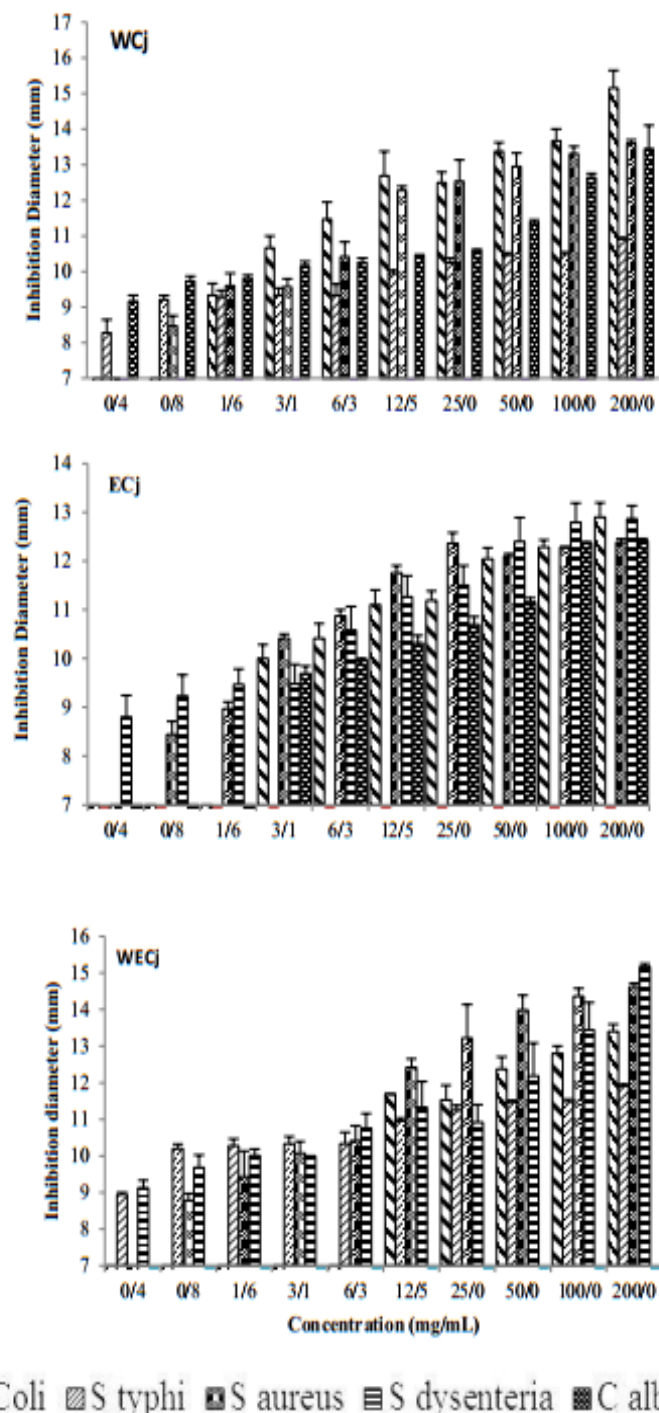
Water/ethanol, water and ethanolic extract, as well as the 3 fractions of *C. jagus*, inhibited microbial growth. The antimicrobial activity against the tested microorganisms was dose-dependent. Ethanol/water extract was effective almost on all tested bacteria and not on *Candida albicans* (Fig. 1 EWCj). The highest activities were on *Shigella dysenteriae* A1 (15.16  $\pm$  0.09 mm), *Staphylococcus aureus* (14.62  $\pm$  0.10 mm), and on *Escherichia coli* (13.40  $\pm$  0.20 mm). On *Candida albicans* water

extract was more effective (13.45  $\pm$  0.66 mm). On the tested positive gram bacteria *Staphylococcus aureus*, and negative gram bacteria *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, inhibition diameter with 200 mg/mL water extract was 13.60  $\pm$  0.10, 15.15  $\pm$  0.50 and 10.91  $\pm$  0.05 mm respectively (Fig. 1 WCj). *Salmonella typhi* was not sensitive to ethanol extract (ECj). The inhibition diameter at 200 mg/mL ECj was 12.90  $\pm$  0.30, 12.38  $\pm$  0.07, 12.87  $\pm$  0.27 and 12.42  $\pm$  0.04 mm respectively on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella*

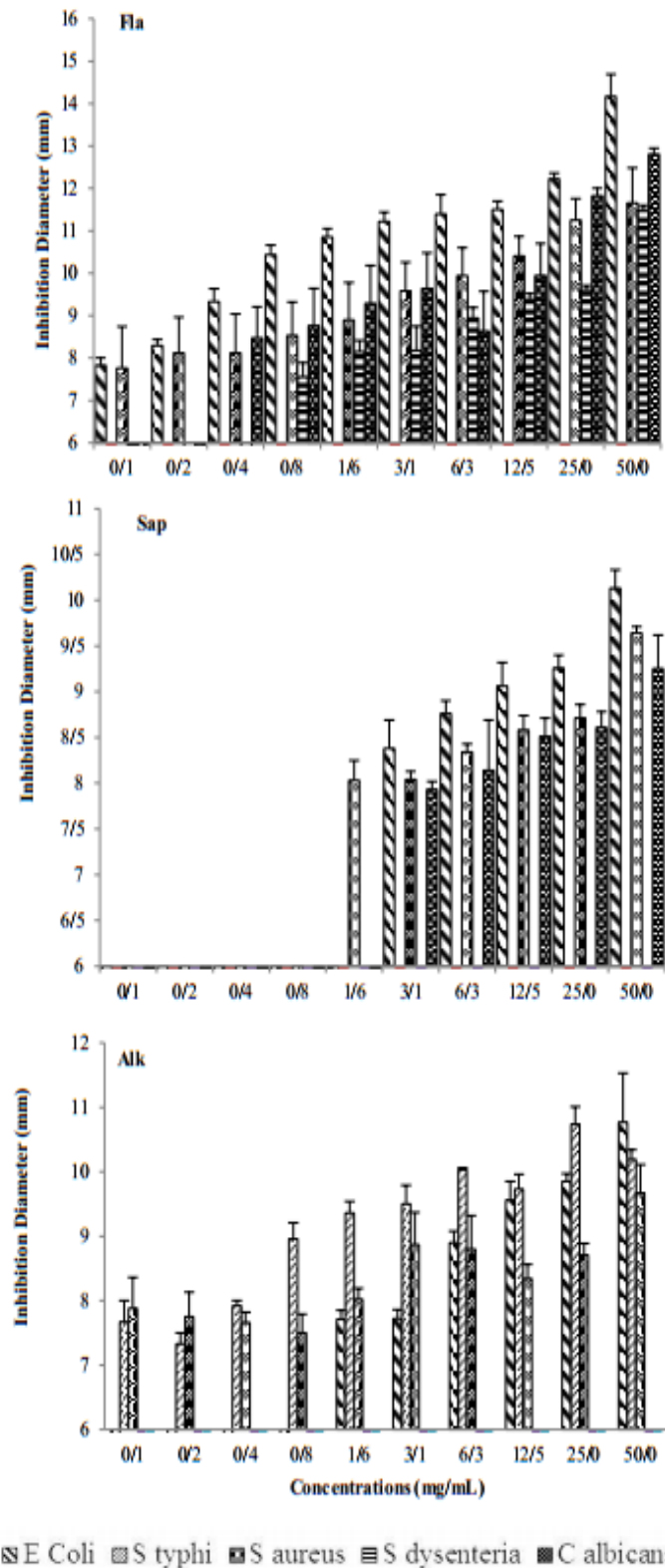


*dysenteriae* A1 and *Candida albicans* (Fig. 1 ECj). *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella dysenteriae* A1 and *Candida albicans* growth was inhibited by the flavonoids fraction: the inhibition diameter was  $14.17 \pm 0.52$ ,  $11.65 \pm 0.83$ ,  $11.49 \pm 0.11$  and  $12.80 \pm 0.15$  mm respectively at 50

mg/mL (Fig. 2 Fla). Saponins fraction (Fig. 2 Sap) inhibited *Escherichia coli* growth and slightly inhibited *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* growth. Alkaloids fraction (Fig. 2 Alk) was effective on *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* and *Staphylococcus aureus*.



**Fig. 1:** Antimicrobial susceptibility (inhibition diameter in mm) of *Crinum jagus* water (WCj), ethanolic (ECj) and water/ethanol (WECj) extracts on *E. coli* (*Escherichia coli*), *S. typhi* (*Salmonella typhi*), *S. aureus* (*Staphylococcus aureus*), *C. albicans* (*Candida albicans*) and *S. dysenteriae* (*Shigella dysenteriae* A<sub>1</sub>).



**Fig. 2:** Antimicrobial susceptibility (inhibition diameter in mm) of *Crinum jagus* flavonoid (Fla), saponins (Sap) and alkaloid (Alk) fractions on *E. coli* (*Escherichia coli*), *S. typhi* (*Salmonella typhi*), *S. aureus* (*Staphylococcus aureus*), *C. albicans* (*Candida albicans*) and *S. dysenteriae* (*Shigella dysenteriae* A<sub>1</sub>).

#### Minimal Inhibitory Concentration

The water/ethanol extract and the flavonoids fraction showed the lowest minimal inhibitory concentration (MIC). Water/ethanol extract MIC was 0.5, 0.5 and 1.0 mg/mL on *S. typhi*, *S.*

*dysenteriae* A1 and *S. aureus* respectively (Table 2). The lowest flavonoids fraction MICs were 0.1, 0.15, 0.3 and 1.0 mg/mL on *E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans*, and *S. dysenteriae* A1, respectively (Table 2).

**Table 2:** Minimum Inhibitory Concentration (MIC), Minimum Bactericidal Concentration (MBC) and Minimum Fungicidal Concentration (MFC) of *Crinum jagus* extracts and fractions on *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* and *Shigella dysenteriae* A1.

Extract	Microbial strains								
	<i>E. coli</i>			<i>S. typhi</i>			<i>S. aureus</i>		
	MIC	MBC	MBC/MIC	MIC	MBC	MBC/MIC	MIC	MBC	MBC/MIC
WCj	3.00	5.00	1.67	1.00	4.00	4.00	1.50	4.00	2.67
ECj	5.00	7.00	1.40	1.50	3.00	2.00	3.00	5.00	1.67
WECj	9.00	15.00	1.67	0.50	3.00	6.00	1.00	3.00	3.00
Fla	0.10	1.50	15.00	-	-	-	0.15	2.00	13.33
Sap	2.00	5.00	2.50	-	-	-	2.00	5.00	2.50
Alk	5.00	8.00	1.60	1.00	2.00	2.00	2.00	3.00	1.50

Extract	Microbial strains					
	<i>S. dysenteriae</i>			<i>C. albicans</i>		
	MIC	MBC	MBC/MIC	MIC	MFC	MFC/MIC
WCj	-	-	-	1.00	3.00	3.00
ECj	1.00	3.00	3.00	4.00	6.00	1.50
WECj	0.50	3.00	6.00	-	-	-
Fla	1.00	3.00	3.00	0.50	1.00	3.33
Sap	-	-	-	2.00	6.00	3.00
Alk	2.00	5.00	2.50	-	-	-

*E. coli*: *Escherichia coli*, *S. typhi*: *Salmonella typhi*, *S. aureus*: *Staphylococcus aureus*, *C. albicans*: *Candida albicans* and *S. dysenteriae*: *Shigella dysenteriae* A1, WECj: water/ethanol extract, WCj: water extract, ECj: ethanolic extract, Fla: flavonoids fraction, Sap: saponins fraction, and Alk: alkaloids fraction.

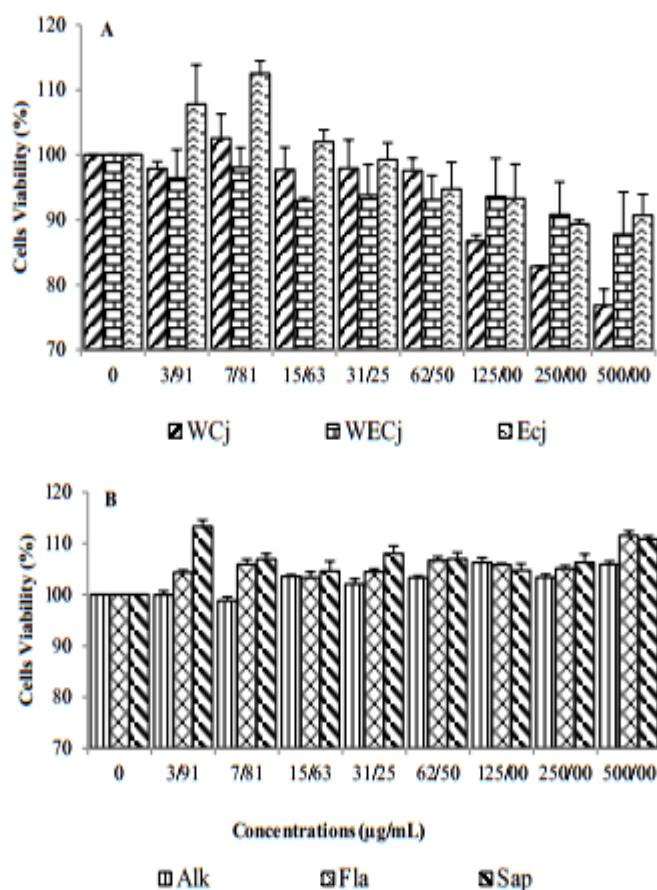
#### Minimum Bactericidal Concentration and Minimum Fungicidal Concentration

The lowest Minimum Bactericidal concentration (MBC) was observed with the flavonoids fraction: 1.5 and 2 mg/mL respectively on *E. coli* and *S. aureus*. The minimum fungicidal concentration (MFC) were observed with the flavonoid fraction (1 mg/mL) and the water extract (3 mg/mL) on *C. albicans* (Table 2).

#### Cell Viability

The monkey kidney epithelial (LLC-MK2) cells incubated with 3.91-500 µg/mL of each extract or fraction did not show any significant reduction in cell viability when compared to the negative control (Fig. 3). However, when compared to the other plant fractions at the highest investigated concentrations (125, 250 and 500 µg/mL), the water extract apparently stood as the one inducing higher cytotoxic effect (the lowest viability recorded was 76.86±2.49% at 500 µg/mL extract concentration).





**Fig. 3:** Monkey kidney epithelial cells (LLC-MK2) viability after 24 h incubation with *Crinum jagus* extracts (A) or fractions (B) followed by MTT assay. WCj: aqueous extract, WECj: water/Ethanol extract, ECj: Ethanol extract, Alk: Alkaloid fraction; Fla: Flavonoid fraction, Sap: (Saponins fraction). Results are means  $\pm$  SEM of three different experiments expressed as % cell survival relative to the negative control treated with DMSO 0.5%.

### Discussion

In the Western Region of Cameroon *Crinum jagus* is used against poison and in the treatment of many gastrointestinal disorders. This work was undertaken in order to verify the *in vivo* activities on castor oil-induced diarrhea, the *in vitro* antimicrobial effects on negative gram bacteria *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae A<sub>1</sub>*, on positive gram bacteria *Staphylococcus aureus* and on the fungi *Candida albicans*, as well as the cytotoxicity of this plant.

The water/ethanol extract and flavonoids, alkaloids and saponins fractions of *C. jagus* significantly prolonged the time of diarrhea induction along with decrease of number and total faeces weight during the 4 hours of observation. Secretory diarrhea occurs as a result of intestinal secretion increase, or the intestinal fluid and

electrolytes absorption decrease of the intestinal fluid and electrolytes absorption, or a combination of these mechanisms. Oral administrated castor oil releases ricinoleic acid which induces changes in mucosal fluid and electrolyte transport resulting in hypersecretory response and diarrhea (Wansi *et al.*, 2014). Ricinoleic acid-induced water and electrolyte secretion in the small intestine is mediated through release of prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) (Saifuzzaman *et al.*, 2013). Ricinoleic acid also activates adenylate cyclase or mucosal cAMP mediated active secretion, and nitric oxide formation (Majumder *et al.*, 2013). In addition to the prolongation of the onset of castor oil-induced diarrhea in rats, pre-treatment with *Crinum jagus* extract and its fractions reduced the number and the weight of diarrheal stools. Best antidiarrheal drugs must increase intestinal absorption, decrease intestinal secretion as well as the gastrointestinal motility.

Loperamide was used as referent drug. It is a synthetic opiate agonist activating the  $\mu$  receptors in the myenteric plexus of the large intestine (Faure, 2013; Wood and Galligan, 2004). Activation of  $\mu$  receptors inhibits release of acetylcholine and thus relaxes smooth muscular tone in the gut wall (Regnard *et al.*, 2011). The physiological consequence of this is to enhance phasic colonic segmentation and inhibit peristalsis, thus increasing intestinal transit time. The  $\mu$  receptors also mediate the stimulation of water and electrolytes secretion by the secretory epithelial cells of the gut wall into the intestinal lumen. Thus, the inhibition of acetylcholine release by loperamide also has an antisecretory activity. Water/ethanol extract, saponins and flavonoids fractions preserved the occurrence of diarrhoea. The extract and fractions could contain molecules which may react with PGE<sub>2</sub>, adenylate cyclase, mucosal cAMP or nitric oxide pathway, or with acetylcholine  $\mu$  receptors to reduce intestinal secretion and motility or to increase intestinal absorption.

Various microorganisms induce diarrhea generally through altering the intestinal absorption or by increasing intestinal secretion and motility (Ramig, 2004). Good antidiarrheal drugs may thus reduce gastrointestinal motility and also possess antimicrobial activities so as to avoid microbial overgrowth. The diminishing efficacy and increasing toxicity of synthetic drugs further aggravate the emerging of multi drug resistant bacteria. Thus, scientists are directed to seek more natural or organic materials for solutions (Demetrio *et al.*, 2015). The antimicrobial properties of water, ethanol and water/ethanol extracts, as well as various fractions (flavonoids, alkaloids and saponins), of *Crinum jagus* showed concentration-dependent activities against all microbial strains. Water/ethanol extract was the most active on almost all the tested bacteria strain but was found to be ineffective on *C. albicans*. Flavonoids fraction showed significant activity against all tested microbial strain (with highest action on *C. albicans* and *S. dysenteriae* A1) except on *Salmonella typhi*, whereas saponins fraction was found to be ineffective against *Shigella dysenteriae* A1 but more effective on *C. albicans* and on *S. aureus*. Alkaloids fraction showed significant antibacterial

activity against *E. coli*, *S. aureus*, *S. choleresus* and *Salmonella typhi* but was inactive on *C. albicans* and *S. dysenteriae* A1. Where effective, the tested extracts or fractions MBC/MIC ratio was lower than 4 on *E. coli* (except the flavonoids), *S. typhi* (except the hydroethanolic extract), *S. aureus* (except the flavonoids fraction) and on *S. dysenteriae* A1 (except the hydroethanolic extract) and could thus indicate their probable bactericidal activity; whereas flavonoids fraction on *E. coli* and on *S. aureus*, water/ethanol extract on *S. typhi* and on *S. dysenteriae* A1, with MBC/MIC ratio > 4, could have bacteriostatic activity (Kamgang *et al.*, 2015). Phytochemical studies revealed that ethanol/water and water extracts of *Crinum jagus* contain volatile oils, fatty acids, catechic tannins, carbohydrates, alkaloids, sterols, triterpenes, flavonoids, coumarines, anthocyanidines, polyphenols and saponins (Mvongo *et al.*, 2015). The antimicrobial susceptibility of those extracts may be attributed to some of these phytochemical compounds. The antimicrobial effect can also be attributed to a combined action of many compounds contained in the extracts, since none of the fractions (flavonoids, alkaloids, and saponins fractions), taken separately, were not as active as the various *Crinum jagus* extracts.

Monkey kidney epithelial (LLC-MK2) cell cultures were used to investigate the safety of the extracts. These cells were chosen with respect to their origin, from an organ implicated in elimination of xenobiotics from the organism (Kelly *et al.*, 2013). The LLC-MK2 cell lines are more sensitive, and may be good candidate for assessment of safety of compounds to be used *in vivo*. *Crinum jagus* extracts and fractions did not induce up to 50% reduction in cell viability, even at high concentration (500  $\mu\text{g/mL}$ ) suggesting an IC<sub>50</sub> (concentration inducing 50% of cytotoxicity) > 500  $\mu\text{g/mL}$ . This could indicate the absence of significant cytotoxic effect of the extract and fractions, thus suggests its safe use in humans, though further toxicological studies are needed.

### Conclusion

The results of this study revealed that ethanol/water extract, flavonoids, alkaloids and



saponins fractions of *Crinum jagus* were effective antimicrobial agents against some microorganisms implicated in either typhoid fever and/or other gastrointestinal infectious diseases such as diarrhea and dysentery. Water/ethanol extract showed the best bactericidal and antidiarrheal effects while flavonoids showed the best fungicidal activity. The results support the use of the plant by traditional healers in the treatment of gastrointestinal disorders and other infectious diseases.

### Acknowledgements

Authors sincerely thank the International Foundation for Science (IFS) for providing adequate financial support to carry out the research work. We are also thankful to Institute of Medical Research and Medicinal Plants Studies (IMPM), Yaoundé, Cameroon for providing laboratory facilities during this study.

### References

- Abdelouahab D, Belgacem L, Rachid S, Amadou D, Chaffique Y (2006). New extraction technique for alkaloids. *J. Braz. Chem. Soc.*, 17(3): 518-520.
- Abhijit SB, Ramkrishna YM (2015). Phytochemical analysis and antibacterial properties of some selected indian medicinal plants. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.*, 4(3): 228-235.
- Alam K, Moizur R, Shariful I (2007). Antibacterial, antifungal and cytotoxic activities of tuberous roots of *Amorphophallus campanulatus*. *Turkish J. Biol.*, 31: 167-172.
- Demetrio VLJ, Andrade IJ, Puzon JJM, Cabrera EC, Rivera WL (2015). Antibacterial activities of ethanol extracts of Philippine medicinal plants against multidrug-resistant bacteria. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, 5(7): 532-540. DOI: 10.1016/j.apjtb.2015.04.005.
- Doherty S (1981). Inhibition of arachidonic acid release, mechanism by which glucocorticoids inhibit endotoxin-induced diarrhoea. *Br. J. Pharmacol.*, 73: 549-554.
- Faure C (2013). Role of antidiarrhoeal drugs as adjunctive therapies for acute diarrhoea in children. *Int. J. Pediatr.*, 2013: 1-14.
- Fokam TAM, Kamgang R, Noubissi PA, Essame OJ (2015). Activity of *Oxalis barrelieri* aqueous extract on rat secretory diarrhea and intestine transit. *J. Appl. Pharm. Sci.*, 5(1): 58-62. DOI: 10.7324/JAPS.2015.50111.
- Hasan M, Das R, Khan A, Hossain M, Rahman M (2009). The determination of antibacterial and antifungal activities of *Polygonum hydropiper* (L.) Root Extract. *Adv. Biol. Res. (Rennes)*, 3(2): 53-56.
- Jian-Guo J, Xiao-Juan H, Jian C, Qing-Sheng L (2007). Comparison of the sedative and hypnotic effects of flavonoids, saponins, and polysaccharides extracted from *Semen Ziziphus jujube*. *Nat. Prod. Res.*, 21(4): 310-320.
- Kamgang R, Fokam TAM, Gonsu KH, Noubissi PA, Fonkua MC, Essame OJL (2015). Activity of aqueous ethanol extract of *Euphorbia scordifolia* on *Shigella dysenteriae* type A1-induced diarrhea in rats. *Int. J. Pharm. Sci. Drug Res.*, 7(1): 40-45.
- Kamgang R, Youmbi MR, Foyet F A, Fokam TMA, Mengue NG, Ngongang YJ (2008). Antihyperglycemic potential of the water-ethanol extract of *Kalanchoe crenata* (Crassulaceae). *J. Nat. Med.*, 62: 34-40.
- Kelly EJ, Zhican W, Voellinger JL, Yeung CK, Shen DD, Thummel KE, Ying Z, Ligresti G, Eaton DL, Muczynski KA, Duffield JS, Neumann T, Tourovskaia A, Fauver M, Kramer G, Asp E, Himmelfarb J (2013). Innovations in preclinical biology: ex vivo engineering of a human kidney tissue microperfusion system. *Stem Cell Res. Ther.*, 4(1): S17.
- Kumar RK, Shaik A, Venu GJ, Raveesha P (2013). Evaluation of antidiarrhoeal activity of aqueous bulb extract of *Allium cepa* against castor oil-induced diarrhoea. *Int. J. Herb. Med.*, 1(3): 64-67.
- Majumder R, Jami MSI, Alam MEK, Alam MB (2013). Antidiarrheal activity of *Lamea coromandelica* Linn bark extract. *Am. J. Sci. Res.*, 8(3): 128-134. DOI: 10.5829/idosi.ajejr.2013.8.3.75139.
- Mvongo C, Noubissi PA, Kamgang R, Minka MCS, Mfopa A, Essame OJL (2015). Phytochemical studies and in vitro antioxidant potential of two different extracts of *Crinum jagus*. *Int. J. Pharm. Sci. Res.*, 6(5): 2354-2359. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.
- Nondo R, Moshi M, Erasto P, Zofou D, Njouendou A, Wanji S, Ngemenya M, Kidukuli A, Masimba P, Titanji V (2015). Evaluation of the cytotoxic activity of extracts from medicinal plants used for the treatment of malaria in Kagera and Lindi regions. *Tanzania J. Appl. Pharm. Sci.*, 5(4): 007-012.
- Ogunkunle A, Olopade O (2011). Studies on the asthma coughs plant *Crinum jagus* (Amaryllidaceae) in Nigeria. *African. J. Plant Sci.*, 5(2): 108-114.
- Olajuyigbe OJ, Olusola, Afolayan A (2012). In vitro antibacterial and time-kill assessment of crude methanolic stem bark extract of *Acacia mearnsii* De Wild against bacteria in shigellosis. *Mol.*, 17: 2103-2118.
- Ramig RF (2004). Pathogenesis of intestinal and systemic rotavirus infection. *J. Virol.*, 78(9): 10213-10220.
- Regnard C, Twycross R, Mihalyo M, Wilcock A (2011). "Loperamide". *J. Pain Symptom Manag.*, 42(2): 319-323.
- Saifuzzaman M, Hossain M, Shahinul A, Islam M, Eumus SA (2013). Antidiarrheal and cytotoxic activities of *Alstonia scholaris* bark. *Int. Res. J. Pharm.*, 4(3): 101-103.
- Sairam K, Hemalatha S, Kumar A, Srinivasan T, Ganesh J, Shankar M, Venkataraman S (2003). Evaluation of antidiarrhoeal activity in seed extracts of *Mangifera indica*. *J. Ethnopharmacol.*, 84: 11-15.



- Shamkuwar P (2013). Role of potassium channels, nitric oxide pathway and adrenergic receptors in antidiarrhoeal effect of mebanid. *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, 6(2): 295-296.
- Smith J, Van den Broek FAR, Canto J, Martorel, Hackbarth H, Ruksenas O, Zeller W (2007). "Principles and practice in ethical review of animal experiments across Europe: Summary of the report of a FELASA Working group on ethical evaluation on animal experiments. *Lab. Anim.*, 41(2): 143-160.
- Vats M, Neha S, Sardana S (2009). Antimicrobial activity of stem bark extracts of *Nyctanthes arbortristis* linn. (Oleaceae). *Int. J. Pharmacogn. Phytochem. Res.*, 1(1): 12-14.
- Wansi SL, Nguenefack-mbuyo EP, Nchouwet ML, Nyadjeu P, Wabo JP, Mbiantcha M, Nkeng-Efouet PA, Nguenefack TB, Kamanyi A (2014). Antidiarrheal activity of aqueous extract of the stem bark of *Sapium Ellipticum* (Euphorbiaceae). *Trop. J. Pharm. Res.*, 13(6): 929-935.
- Wondmagegn TT, Abebe EH, Abyot EG, Abraham FM (2014). Experimental assessment of antidiarrheal and antisecretory activity of 80% methanolic leaf extract of *Zehneria scabra* in mice. *BMC Complement. Altern. Med.*, 14(460): 1-8.
- Wood J, Galligan J (2004). Function of opioids in the enteric nervous system. *Neurogastroenterol. Motil.*, 16(2): 17-28.

# ANNEXES

**Annexe 1 :** Effets des extraits à l'eau/éthanol (WECj), à l'eau (WCj) et à l'éthanol (ECj) de *C. jagus* sur les diarrhées induites à l'huile de castor chez les rats. FSD : Fréquence des selles diarrhéiques ; MSD : Masse des selles diarrhéiques ; TL : Temps de latence ; (n = 5).

		WECj				WCj				ECj		
		NSD	MSD (g)	TL (min)		NSD	MSD (g)	TL (min)		NSD	MSD (g)	TL (min)
25 mg/kg	1	5,00	3,04	91,00	25 mg/kg	4,00	4,97	43,00	25 mg/kg	4,00	3,08	57,00
	2	4,00	2,35	94,00		5,00	4,80	52,00		3,00	2,69	60,00
	3	4,00	1,50	80,00		5,00	4,33	53,00		4,00	3,00	60,00
	4	4,00	3,59	88,00		4,00	3,41	50,00		4,00	2,53	58,00
	5	4,00	3,10	85,00		4,00	5,60	46,00		3,00	2,46	64,00
	M	4,20	2,72	87,60		4,40	4,62	48,80		3,60	2,75	59,80
	ESM	0,20	0,36	2,42		0,24	0,36	1,88		0,24	0,12	1,20
50 mg/kg	1	2,00	2,06	83,00	50 mg/kg	2,00	3,37	47,00	50 mg/kg	3,00	2,33	115,00
	2	4,00	2,13	77,00		4,00	2,89	49,00		3,00	1,65	118,00
	3	5,00	3,42	84,00		3,00	4,65	54,00		3,00	2,01	112,00
	4	3,00	2,57	77,00		2,00	3,62	50,00		4,00	2,50	109,00
	5	5,00	2,33	80,00		3,00	3,80	55,00		3,00	2,35	106,00
	M	3,80	2,50	80,20		2,80	3,67	51,00		3,20	2,17	112,00
	ESM	0,58	0,25	1,46		0,37	0,29	1,52		0,20	0,15	2,12
100 mg/kg	1	3,00	2,15	129,00	100mg/kg	2,00	2,00	102,00	100mg/kg	2,00	1,46	115,00
	2	3,00	2,07	120,00		2,00	2,84	99,00		1,00	1,93	121,00
	3	3,00	2,00	118,00		2,00	1,77	80,00		1,00	1,83	125,00
	4	3,00	1,45	140,00		1,00	1,88	100,00		2,00	1,79	123,00
	5	2,00	1,04	119,00		1,00	2,29	98,00		3,00	2,15	119,00
	M	2,80	1,74	125,20		1,60	2,16	95,80		1,80	1,83	120,60
	ESM	0,20	0,21	4,19		0,24	0,19	4,00		0,37	0,11	1,72
Eau distillée	1	9,00	6,63	34,00								
	2	7,00	6,37	35,00								
	3	8,00	6,64	35,00								
	4	8,00	4,78	37,00								
	5	8,00	5,77	36,00								
	M	8,00	6,04	35,40								
	ESM	0,32	0,35	0,51								
Lopéramide	1	1,00	1,50	210,00								
	2	1,00	1,00	200,00								
	3	2,00	1,50	210,00								
	4	1,00	1,00	202,00								
	5	1,00	0,90	199,00								
	M	1,20	1,18	204,20								
	ESM	0,20	0,13	2,42								

**Annexe 2 :** Effets des fractions flavonoïdes, alcaloïdes et saponines de *C. jagus* sur les diarrhées induites à l'huile de castor chez les rats. FSD : Fréquence des selles diarrhéiques ; MSD : Masse des selles diarrhéiques ; TL : Temps de latence ; (n = 5).

		Flavonoïdes				Alcaloïdes				Saponines		
		NSD	MSD (g)	TL (min)		NSD	MSD (g)	TL (min)		NSD	MSD (g)	TL (min)
6 mg/kg	1	3,00	3,40	48,00	6 mg/kg	4,00	1,61	47,00	6 mg/kg	5,00	4,12	102,00
	2	4,00	3,51	52,00		3,00	1,92	52,00		4,00	3,70	110,00
	3	4,00	2,45	55,00		3,00	2,80	47,00		6,00	4,27	120,00
	4	4,00	2,37	56,00		2,00	2,55	58,00		5,00	3,59	124,00
	5	5,00	3,26	60,00		3,00	1,77	50,00		4,00	3,54	117,00
	M	4,00	3,00	54,20		3,00	2,13	50,80		4,80	3,84	114,60
	ESM	0,32	0,24	2,01		0,32	0,23	2,03		0,37	0,15	3,89

12 mg/kg	1	3,00	3,00	60,00	12 mg/kg	2,00	2,32	45,00	12 mg/kg	3,00	3,94	70,00
	2	2,00	2,27	68,00		3,00	2,05	46,00		3,00	3,54	80,00
	3	2,00	1,71	70,00		4,00	2,60	40,00		3,00	3,26	82,00
	4	3,00	3,42	60,00		3,00	1,75	36,00		3,00	2,37	68,00
	5	1,00	2,10	65,00		4,00	2,51	49,00		4,00	4,48	79,00
	M	2,20	2,50	64,60		3,20	2,25	43,20		3,20	3,52	75,80
	ESM	0,37	0,31	2,04		0,37	0,16	2,31		0,20	0,35	2,84
24 mg/kg	1	2,00	2,72	120,00	24 mg/kg	3,00	3,43	72,00	24 mg/kg	4,00	4,00	71,00
	2	2,00	1,56	120,00		4,00	2,32	75,00		5,00	3,46	70,00
	3	2,00	2,4	109,00		4,00	2,26	70,00		6,00	4,00	60,00
	4	2,00	2,78	110,00		4,00	2,14	69,00		3,00	2,65	69,00
	5	2,00	1,71	102,00		4,00	2,30	59,00		5,00	3,53	50,00
	M	2,00	2,24	112,20		3,80	2,49	69,00		4,60	3,55	64,00
	ESM	0	0,26	3,47		0,20	0,24	2,70		0,51	0,25	4,01
Eau distillée	1	9,00	6,63	34,00								
	2	7,00	6,37	35,00								
	3	8,00	6,64	35,00								
	4	8,00	4,78	37,00								
	5	8,00	5,77	36,00								
	M	8,00	6,04	35,40								
	ESM	0,32	0,35	0,51								
Lopéramide	1	1,00	1,50	210,00								
	2	1,00	1,00	200,00								
	3	2,00	1,50	210,00								
	4	1,00	1,00	202,00								
	5	1,00	0,90	199,00								
	M	1,20	1,18	204,20								
	ESM	0,20	0,13	2,42								

**Annexe 3 :** Viabilité des cellules de l'épithélium rénal de singe (LLC-MK2) après 24 h d'incubation avec l'extrait à l'éthanol/eau (WECj), l'extrait éthanolique (ECj), et à l'extrait aqueux (WCj) de *Crinum jagus* suivi du test au MTT, (n=3).

	Con. (µg/mL)	0	3,91	7,81	15,63	31,25	62,50	125,00	250,00	500,00
WECj	1	100	105,06	102,34	93,86	103,25	100,22	104,10	100,88	100,75
	2	100	93,25	99,62	92,56	89,00	91,39	92,88	86,33	81,04
	3	100	91,03	92,18	92,39	89,11	87,68	83,78	85,15	81,52
	M	100	96,44	98,05	92,94	93,79	93,10	93,58	90,78	87,77
	ESM	0	4,35	3,04	0,46	4,73	3,72	5,88	5,06	6,49
ECj	1	100	105,48	108,73	98,51	96,09	97,76	91,35	89,52	96,15
	2	100	119,23	113,99	102,50	104,36	99,91	103,27	90,31	90,91
	3	100	98,69	114,88	104,96	97,35	86,46	85,19	88,27	85,09
	M	100	107,80	112,54	101,99	99,26	94,71	93,27	89,37	90,72
	ESM	0	6,04	1,92	1,88	2,57	4,17	5,31	0,59	3,19
WCj	1	100	95,87	96,06	91,75	90,32	94,20	85,15	82,97	81,17
	2	100	99,82	109,02	103,70	105,50	100,92	88,33	82,66	72,56
	3	100	97,85	102,54	97,72	97,91	97,56	86,74	82,81	76,86
	M	100	97,85	102,54	97,72	97,91	97,56	86,74	82,81	76,86
	ESM	0	1,14	3,74	3,45	4,38	1,94	0,92	0,09	2,49

**Annexe 4 :** Viabilité des cellules de l'épithélium rénal de singe (LLC-MK2) après 24 h d'incubation avec les fractions flavonoïdes, alcaloïdes et saponines de *Crinum jagus* suivi du test au MTT, (n=3).

	Con. (µg/mL)	0	3,91	7,81	15,63	31,25	62,50	125,00	250,00	500,00
Alcaloïdes	1	100	101,00	100,18	103,98	103,62	103,80	108,17	102,67	107,10
	2	100	100,46	97,68	103,81	102,32	103,62	105,55	103,01	105,63
	3	100	98,51	98,61	102,83	100,20	102,44	105,14	104,50	105,00
	M	100	99,99	98,83	103,54	102,05	103,29	106,28	103,39	105,91
	ESM	0	0,76	0,73	0,36	1,00	0,43	0,95	0,56	0,62

Flavonoïdes	1	100	104,53	104,12	101,36	103,85	105,18	105,81	104,81	111,33
	2	100	105,01	107,68	105,16	105,58	106,91	106,26	106,13	113,20
	3	100	103,36	105,91	103,48	103,93	107,86	105,49	104,32	110,08
	M	100	104,30	105,90	103,33	104,46	106,65	105,85	105,09	111,54
	ESM	0	0,49	1,03	1,10	0,56	0,78	0,22	0,54	0,91
Saponines	1	100	110,70	104,99	100,85	105,98	104,72	105,18	109,21	110,08
	2	100	114,60	107,24	105,72	110,99	108,99	106,75	106,18	112,12
	3	100	114,55	108,59	107,27	107,05	107,33	102,23	103,42	110,23
	M	100	113,29	106,94	104,61	108,01	107,01	104,72	106,27	110,81
	ESM	0	1,29	1,05	1,93	1,52	1,24	1,33	1,67	0,66

**Annexe 5 :** Susceptibilité antimicrobienne (diamètre d'inhibition en mm) de l'extrait à l'eau (WCj) de *C. jagus* sur *E. coli* (*Escherichia coli*), *S. typhi* (*Salmonella typhi*), *S. aureus* (*Staphylococcus aureus*), et sur *C. albicans* (*Candida albicans*)

	Con. (mg/ml)	200	100	50	25	12,5	6,25	3,13	1,56	0,78	0,39
<i>E. Coli</i>	1	14,26	14	13,73	13	13,96	12	10	9		
	2	15,2	13	12,89	12	12,5	11,9	11	10		
	3	16	14	13,5	12,5	11,6	10,5	11	9		
	M	15,15	13,67	13,37	12,50	12,69	11,47	10,67	9,33		
	ESM	0,50	0,33	0,25	0,29	0,69	0,48	0,33	0,33		
<i>S. typhi</i>	1	10,86	10,48	10,36	10	9,8	8,71	9	8,95	9	8
	2	10,87	10,59	10,54	10,42	10,06	9,78	9,7	9,6	9,41	7,84
	3	11	10,4	10,5	10,32	10	9,5	9,3	9,3	9,2	9
	M	10,91	10,49	10,47	10,25	9,95	9,33	9,33	9,28	9,20	8,28
	ESM	0,05	0,06	0,05	0,13	0,08	0,32	0,20	0,19	0,12	0,36
<i>S. auréus</i>	1	13,5	13,02	13,7	13,6	12,04	11	10	9,5	9	
	2	13,8	13,7	12,5	11,52	12,39	10,63	9,25	10,25	8	
	3	13,5	13,2	12,65	12,48	12,4	9,61	9,45	9,05	8,4	
	M	13,60	13,31	12,95	12,53	12,28	10,41	9,57	9,60	8,47	
	ESM	0,10	0,20	0,38	0,60	0,12	0,42	0,22	0,35	0,29	
<i>C albican</i>	1	13,55	12,45	11,48	10,55	10,43	10,12	10	9,7	9,6	9
	2	12,25	12,67	11,26	10,57	10,5	10,5	10,4	9,7	9,6	9,5
	3	14,54	12,82	11,41	10,65	10,4	10,16	10,1	10	10	9
	M	13,45	12,65	11,38	10,59	10,44	10,26	10,17	9,80	9,73	9,17
	ESM	0,66	0,11	0,06	0,03	0,03	0,12	0,12	0,10	0,13	0,17

**Annexe 6 :** Susceptibilité antimicrobienne (diamètre d'inhibition en mm) de l'extrait à l'éthanol (ECj) de *C. jagus* sur *E. coli* (*Escherichia coli*), *S. typhi* (*Salmonella typhi*), *S. aureus* (*Staphylococcus aureus*), *C. albicans* (*Candida albicans*) et sur *S. dysenteriae* (*Shigella dysenteriae*) A1.

Ecj	Con. (mg/ml)	200	100	50	25	12,5	6,25	3,13	1,56	0,78	0,39
<i>E Coli</i>	1	13,36	12,36	11,73	10,84	10,56	10	9,5			
	2	12,34	12	11,89	11,24	11,15	11	10,5			
	3	13	12,5	12,5	11,5	11,6	10,25	10			
	M	12,90	12,29	12,04	11,19	11,10	10,42	10,00			
	ESM	0,30	0,15	0,23	0,19	0,30	0,30	0,29			
<i>S. typhi</i>	1	10,5	10,6	10,15	10	10,8	9,71	9,5	9,34	9	8,5
	2	11,6	11,59	11,45	11,42	11,06	10,78	10,7	10,6	10	9
	3	11,5	11,4	11,15	11	10,9	10,5	10,4	10,3	10,2	9
	M	11,20	11,20	10,92	10,81	10,92	10,33	10,20	10,08	9,73	8,83
	ESM	0,35	0,30	0,39	0,42	0,08	0,32	0,36	0,38	0,37	0,17

<i>S. auréus</i>	1	12,4	12,3	12	12,67	12	11	10,5	9	8	
	2	12,5	12,25	12,15	11,92	11,5	10,63	10,25	9,2	8,93	
	3	12,25	12,28	12,15	12,48	11,78	11	10,5	8,7	8,4	
	M	12,38	12,28	12,10	12,36	11,76	10,88	10,42	8,97	8,44	
	ESM	0,07	0,01	0,05	0,23	0,14	0,12	0,08	0,15	0,27	
<i>C albican</i>	1	12,4	12,35	11	10,45	10	9,9	9,5			
	2	12,35	12,3	11,16	11	10,5	10	10			
	3	12,5	12,42	11,31	10,65	10,45	10	9,58			
	M	12,42	12,36	11,16	10,70	10,32	9,97	9,69			
	ESM	0,04	0,03	0,09	0,16	0,16	0,03	0,16			
<i>S. dysenteriae</i>	1	13,25	13,28	13	12,5	12	11,55	11	10	10	9,53
	2	12,35	12,3	11,8	11	10,5	10,2	9,97	9,5	9,19	8,87
	3	13	12,8	12,5	12	11,3	10	9	8,9	8,5	8
	M	12,87	12,79	12,40	11,50	11,27	10,58	9,49	9,47	9,23	8,80
	ESM	0,27	0,40	0,49	0,41	0,43	0,49	0,40	0,32	0,43	0,44

**Annexe 7** : Susceptibilité antimicrobienne (diamètre d'inhibition en mm) de l'extrait à l'éthanol/eau (WEC<sub>j</sub>) de *C. jagus* sur *E. coli* (*Escherichia coli*), *S. typhi* (*Salmonella typhi*), *S. aureus* (*Staphylococcus aureus*) et sur *S. dysenteriae* (*Shigella dysenteriae*) A1.

	Con. (mg/mL)	200	100	50	25	12,5	6,25	3,13	1,56	0,78	0,39
<i>E. Coli</i>	1	12,36	13,03	11,73	10,84	10,96					
	2	14,34	12,42	12,89	12,24	12,5					
	3	13,5	13	12,5	11,5	11,6					
	M	13,40	12,82	12,37	11,53	11,69					
	ESM	0,57	0,20	0,34	0,40	0,45					
<i>S. typhi</i>	1	11,86	11,48	11,36	11	10,8	9,71	10	9,95	10	9
	2	11,87	11,59	11,54	11,42	11,06	10,78	10,70	10,6	10,41	8,84
	3	12	11,4	11,5	11,32	11	10,5	10,3	10,3	10,2	9
	M	11,91	11,49	11,47	11,25	10,95	10,33	10,33	10,28	10,20	8,95
	ESM	0,05	0,06	0,05	0,13	0,08	0,32	0,20	0,19	0,12	0,05
<i>S. aureus</i>	1	14,51	14,02	14,79	14,67	12,04	11	10,5	10	9	
	2	14,82	14,77	13,51	11,52	12,39	10,63	10,25	10,25	8,93	
	3	14,53	14,28	13,65	13,48	12,84	9,61	9,45	8,05	8,4	
	M	14,62	14,36	13,98	13,22	12,42	10,41	10,07	9,43	8,78	
	ESM	0,10	0,22	0,41	0,92	0,23	0,42	0,32	0,70	0,19	
<i>S. dysenteriae</i>	1	15,3	14,25	13,28	12,76	12,56	11,55	11,29	10,38	10,35	9,53
	2	15,19	12,42	11,07	10,33	10,14	10,2	9,97	9,86	9,19	8,87
	3	15	12,8	12,2	11,5	11,3	10,5	10	9,8	9,5	9
	M	15,16	13,34	12,18	10,92	11,33	10,75	9,99	10,01	9,68	9,13
	ESM	0,09	0,75	0,90	0,48	0,70	0,41	0,01	0,18	0,35	0,20

**Annexe 8** : Susceptibilité antimicrobienne (diamètre d'inhibition en mm) de la fraction flavonoïdes de *C. jagus* sur *E. coli* (*Escherichia coli*), *S. aureus* (*Staphylococcus aureus*), *C. albicans* (*Candida albicans*) et sur *S. dysenteriae* (*Shigella dysenteriae*) A1

Flavonoïde	Con. (µg/mL)	50,00	25,00	12,50	6,25	3,13	1,56	0,78	0,39	0,20	0,10
<i>E. Coli</i>	1	13,38	12,12	12,10	11,68	11,67	11,20	10,78	9,75	8,38	8,00
	2	15,14	12,04	11,50	12,00	11,00	10,50	10,00	8,75	8,00	8,00
	3	14,00	12,50	11,50	10,50	11,00	10,85	10,50	9,50	8,50	7,50
	<b>M</b>	<b>14,17</b>	<b>12,22</b>	<b>11,70</b>	<b>11,39</b>	<b>11,22</b>	<b>10,85</b>	<b>10,43</b>	<b>9,33</b>	<b>8,29</b>	<b>7,83</b>
	<b>ESM</b>	<b>0,52</b>	<b>0,14</b>	<b>0,20</b>	<b>0,46</b>	<b>0,22</b>	<b>0,20</b>	<b>0,23</b>	<b>0,30</b>	<b>0,15</b>	<b>0,17</b>

<i>S. aureus</i>	1	10,55	10,27	9,94	9,16	8,86	8,00	8,18	7,16	6,96	6,84
	2	11,12	11,49	9,92	9,39	8,95	8,00	7,37	7,25	7,64	6,73
	3	13,27	12,00	11,35	11,26	10,93	10,66	10,04	9,96	9,75	9,71
	<b>M</b>	<b>11,65</b>	<b>11,25</b>	<b>10,40</b>	<b>9,94</b>	<b>9,58</b>	<b>8,89</b>	<b>8,53</b>	<b>8,12</b>	<b>8,12</b>	<b>7,76</b>
	<b>ESM</b>	<b>0,83</b>	<b>0,51</b>	<b>0,47</b>	<b>0,66</b>	<b>0,68</b>	<b>0,89</b>	<b>0,79</b>	<b>0,92</b>	<b>0,84</b>	<b>0,98</b>
<i>C. albicans</i>	1	12,73	13,87	10,82	9,32	10,55	10,39	9,50	9,40		
	2	12,57	11,83	10,58	9,00	10,42	9,94	9,78	9,00		
	3	13,09	9,77	8,43	9,94	7,93	7,50	7,00	7,00		
	<b>M</b>	<b>12,80</b>	<b>11,82</b>	<b>9,94</b>	<b>9,42</b>	<b>9,63</b>	<b>9,28</b>	<b>8,76</b>	<b>8,47</b>		
	<b>ESM</b>	<b>0,15</b>	<b>1,18</b>	<b>0,76</b>	<b>0,28</b>	<b>0,85</b>	<b>0,90</b>	<b>0,88</b>	<b>0,74</b>		
<i>S. dysenteriae</i>	1	11,67	9,81	9,65	9,35	9,24	8,65	8,16			
	2	11,29	9,49	9,19	8,48	7,29	7,80	7,00			
	3	11,50	9,50	9,30	9,00	8,00	8,00	7,50			
	<b>M</b>	<b>11,49</b>	<b>9,60</b>	<b>9,38</b>	<b>8,94</b>	<b>8,18</b>	<b>8,15</b>	<b>7,55</b>			
	<b>ESM</b>	<b>0,11</b>	<b>0,11</b>	<b>0,14</b>	<b>0,25</b>	<b>0,57</b>	<b>0,26</b>	<b>0,34</b>			

**Annexe 9** : Susceptibilité antimicrobienne (diamètre d'inhibition en mm) de la fraction alcaloïdes (Alk) de *C. jagus* sur *E. coli* (*Escherichia coli*), *S. typhi* (*Salmonella typhi*), et sur *S. aureus* (*Staphylococcus aureus*).

		Con. (µg/ml)	50,00	25,00	12,50	6,25	3,13	1,56	0,78	0,39	0,20	0,10
<i>E. Coli</i>	1		10,02	10,01	9,68	9,14	7,55	7,55				
	2		12,30	10,00	10,00	8,55	8,00	7,59				
	3		10,00	9,55	9,00	9,00	7,60	8,00				
	<b>M</b>		<b>10,77</b>	<b>9,85</b>	<b>9,56</b>	<b>8,90</b>	<b>7,72</b>	<b>7,71</b>				
	<b>ESM</b>		<b>0,76</b>	<b>0,15</b>	<b>0,29</b>	<b>0,18</b>	<b>0,14</b>	<b>0,14</b>				
<i>S. typhi</i>	1		10,37	10,26	10,19	10,08	10,00	9,57	9,38	7,77	7,50	8,00
	2		10,00	11,20	9,50	10,00	9,00	9,00	8,50	8,00	7,00	7,00
	3			10,75	9,50	10,00	9,50	9,50	9,00	8,00	7,50	8,00
	<b>M</b>		<b>10,19</b>	<b>10,74</b>	<b>9,73</b>	<b>10,03</b>	<b>9,50</b>	<b>9,36</b>	<b>8,96</b>	<b>7,92</b>	<b>7,33</b>	<b>7,67</b>
	<b>ESM</b>		<b>0,15</b>	<b>0,27</b>	<b>0,23</b>	<b>0,03</b>	<b>0,29</b>	<b>0,18</b>	<b>0,25</b>	<b>0,08</b>	<b>0,17</b>	<b>0,33</b>
<i>S. aureus</i>	1		10,50	8,38	8,61	8,26	8,56	7,73	7,50	7,50	8,16	7,98
	2		9,50	8,74	7,90	9,85	9,84	8,32	7,00	7,99	8,10	8,65
	3		9,02	9,00	8,50	8,30	8,20	8,00	8,00	7,50	7,00	7,00
	<b>M</b>		<b>9,67</b>	<b>8,71</b>	<b>8,34</b>	<b>8,80</b>	<b>8,87</b>	<b>8,02</b>	<b>7,50</b>	<b>7,66</b>	<b>7,75</b>	<b>7,88</b>
	<b>ESM</b>		<b>0,44</b>	<b>0,18</b>	<b>0,22</b>	<b>0,52</b>	<b>0,50</b>	<b>0,17</b>	<b>0,29</b>	<b>0,16</b>	<b>0,38</b>	<b>0,48</b>

**Annexe 10** : Susceptibilité antimicrobienne (diamètre d'inhibition en mm) de la fraction Saponine de *C. jagus* sur *E. coli* (*Escherichia coli*), *S. aureus* (*Staphylococcus aureus*) et sur *C. albicans* (*Candida albicans*).

		Con. (µg/ml)	50,00	25,00	12,50	6,25	3,13	1,56	0,78	0,39	0,20	0,10
<i>E. Coli</i>	1		10,10	9,29	9,09	8,79	8,14					
	2		10,50	9,00	8,60	8,50	8,00					
	3		9,80	9,50	9,50	9,00	9,00					
	<b>M</b>		<b>10,13</b>	<b>9,26</b>	<b>9,06</b>	<b>8,76</b>	<b>8,38</b>					
	<b>ESM</b>		<b>0,20</b>	<b>0,14</b>	<b>0,26</b>	<b>0,14</b>	<b>0,31</b>					
<i>S. aureus</i>	1		9,72	8,62	8,35	8,31	8,22	8,47				
	2		9,69	9,01	8,90	8,50	7,91	7,83				
	3		9,50	8,50	8,50	8,20	8,00	7,80				
	<b>M</b>		<b>9,64</b>	<b>8,71</b>	<b>8,58</b>	<b>8,34</b>	<b>8,04</b>	<b>8,03</b>				
	<b>ESM</b>		<b>0,07</b>	<b>0,15</b>	<b>0,16</b>	<b>0,09</b>	<b>0,09</b>	<b>0,22</b>				

<i>C. albicans</i>	1	9,10	8,94	8,80	8,24	8,05				
	2	9,96	8,40	8,12	8,10	8,00				
	3	8,69	8,50	8,60	8,08	7,75				
	<b>M</b>	<b>9,25</b>	<b>8,61</b>	<b>8,51</b>	<b>8,14</b>	<b>7,93</b>				
	<b>ESM</b>	<b>0,37</b>	<b>0,17</b>	<b>0,20</b>	<b>0,05</b>	<b>0,09</b>				

**Annexe 11 :** Viabilité des cellules de l'épithélium rénal de singe (LLC-MK2) après 24 h d'incubation avec les extraits (A) ou les fractions (B) de *Crinum jagus* suivi du test au MTT. WECj : extrait éthanol/eau, WCj: extrait aqueux, ECj : extrait éthanolique.

	Con. (µg/ml)	0	3,91	7,81	15,63	31,25	62,50	125,00	250,00	500,00
WECj	1	100,00	105,06	102,34	93,86	103,25	100,22	104,10	100,88	100,75
	2	100,00	93,25	99,62	92,56	89,00	91,39	92,88	86,33	81,04
	3	100,00	91,03	92,18	92,39	89,11	87,68	83,78	85,15	81,52
	<b>M</b>	<b>100,00</b>	<b>96,44</b>	<b>98,05</b>	<b>92,94</b>	<b>93,79</b>	<b>93,10</b>	<b>93,58</b>	<b>90,78</b>	<b>87,77</b>
	<b>ESM</b>	<b>0</b>	<b>4,35</b>	<b>3,04</b>	<b>0,46</b>	<b>4,73</b>	<b>3,72</b>	<b>5,88</b>	<b>5,06</b>	<b>6,49</b>
ECj	1	100,00	105,48	108,73	98,51	96,09	97,76	91,35	89,52	96,15
	2	100,00	119,23	113,99	102,50	104,36	99,91	103,27	90,31	90,91
	3	100,00	98,69	114,88	104,96	97,35	86,46	85,19	88,27	85,09
	<b>M</b>	<b>100,00</b>	<b>107,80</b>	<b>112,54</b>	<b>101,99</b>	<b>99,26</b>	<b>94,71</b>	<b>93,27</b>	<b>89,37</b>	<b>90,72</b>
	<b>ESM</b>	<b>0</b>	<b>6,04</b>	<b>1,92</b>	<b>1,88</b>	<b>2,57</b>	<b>4,17</b>	<b>5,31</b>	<b>0,59</b>	<b>3,19</b>
WCj	1	100,00	95,87	96,06	91,75	90,32	94,20	85,15	82,97	81,17
	2	100,00	99,82	109,02	103,70	105,50	100,92	88,33	82,66	72,56
	3	100,00	97,85	102,54	97,72	97,91	97,56	86,74	82,81	76,86
	<b>M</b>	<b>100,00</b>	<b>97,85</b>	<b>102,54</b>	<b>97,72</b>	<b>97,91</b>	<b>97,56</b>	<b>86,74</b>	<b>82,81</b>	<b>76,86</b>
	<b>ESM</b>	<b>0</b>	<b>1,14</b>	<b>3,74</b>	<b>3,45</b>	<b>4,38</b>	<b>1,94</b>	<b>0,92</b>	<b>0,09</b>	<b>2,49</b>

**Annexe 12 :** Viabilité des cellules de l'épithélium rénal de singe (LLC-MK2) après 24 h d'incubation avec les extraits (A) ou les fractions (B) de *Crinum jagus* suivi du test au MTT. Fla : fraction flavonoïdes, Sap : fraction saponines, et alk : fraction alcaloïdes.

	Con. (µg/ml)	0,00	3,91	7,81	15,63	31,25	62,50	125,00	250,00	500,00
Alcaloïdes	1	100,00	101,00	100,18	103,98	103,62	103,80	108,17	102,67	107,10
	2	100,00	100,46	97,68	103,81	102,32	103,62	105,55	103,01	105,63
	3	100,00	98,51	98,61	102,83	100,20	102,44	105,14	104,50	105,00
	<b>M</b>	<b>100,00</b>	<b>99,99</b>	<b>98,83</b>	<b>103,54</b>	<b>102,05</b>	<b>103,29</b>	<b>106,28</b>	<b>103,39</b>	<b>105,91</b>
	<b>ESM</b>	<b>0,00</b>	<b>0,76</b>	<b>0,73</b>	<b>0,36</b>	<b>1,00</b>	<b>0,43</b>	<b>0,95</b>	<b>0,56</b>	<b>0,62</b>
Flavonoïdes	1	100,00	104,53	104,12	101,36	103,85	105,18	105,81	104,81	111,33
	2	100,00	105,01	107,68	105,16	105,58	106,91	106,26	106,13	113,20
	3	100,00	103,36	105,91	103,48	103,93	107,86	105,49	104,32	110,08
	<b>M</b>	<b>100,00</b>	<b>104,30</b>	<b>105,90</b>	<b>103,33</b>	<b>104,46</b>	<b>106,65</b>	<b>105,85</b>	<b>105,09</b>	<b>111,54</b>
	<b>ESM</b>	<b>0,00</b>	<b>0,49</b>	<b>1,03</b>	<b>1,10</b>	<b>0,56</b>	<b>0,78</b>	<b>0,22</b>	<b>0,54</b>	<b>0,91</b>
Saponine	1	100,00	110,70	104,99	100,85	105,98	104,72	105,18	109,21	110,08
	2	100,00	114,60	107,24	105,72	110,99	108,99	106,75	106,18	112,12
	3	100,00	114,55	108,59	107,27	107,05	107,33	102,23	103,42	110,23
	<b>M</b>	<b>100,00</b>	<b>113,29</b>	<b>106,94</b>	<b>104,61</b>	<b>108,01</b>	<b>107,01</b>	<b>104,72</b>	<b>106,27</b>	<b>110,81</b>
	<b>ESM</b>	<b>0,00</b>	<b>1,29</b>	<b>1,05</b>	<b>1,93</b>	<b>1,52</b>	<b>1,24</b>	<b>1,33</b>	<b>1,67</b>	<b>0,66</b>

**Annexe 13 :** Effets de l'extrait hydroéthanolique de *Crinum jagus*, de l'atropine sulfate et du lopéramide sur le transit des rats normaux et des rats prétraités au carbachol, à la sérotonine et au naloxone. LTI : Longueur totale de l'intestin ; DPC : Distance parcourue par le charbon ; % DPC : Pourcentage de la distance parcourue par le charbon ; (n=5).

Rats normaux					Rats prétraités au carbachol					Rats prétraités à la sérotonine					Rats prétraités au naloxone				
		LTI (Cm)	LPC (Cm)	% P			LTI (Cm)	LPC (Cm)	% P			LTI (Cm)	LPC (Cm)	% P			LTI (Cm)	LPC (Cm)	% P
Eau distillée	1	88	55	62,50	Eau distillée + Carbachol	1	80	74	92,50	Eau distillée + 5-HT	1	80	55	68,75	Eau distillée + Naloxone	1	80	54	67,50
	2	82	44	53,66		2	75	63	84,00		2	75	51	68,00		2	70	43	61,43
	3	98	58	59,18		3	77	68	88,31		3	81	55	67,90		3	81	53	65,43
	4	87	51	58,62		4	81	72	88,89		4	76	57	75,00		4	84	54	64,29
	5	96	58	60,42		5	75	69	92,00		5	85	60	70,59		5	72	52	72,22
	M	90,2	53,2	58,88		M	77,6	69,2	89,14		M	89	55,6	70,05		M	77,4	51,2	66,17
	ESM	2,97	2,63	1,46		ESM	1,25	1,88	1,53		ESM	1,81	1,47	1,33		ESM	2,71	2,08	1,80
Atropine	1	97	24	24,74	Atropine + Carbachol	1	81	29	35,80	Lopéramide + 5-HT	1	68	36	52,94	Lopéramide + Naloxone	1	100	52	52,00
	2	93	23	24,73		2	83	26	31,33		2	65	33	50,77		2	93	57	61,29
	3	91	20	21,98		3	81	28	34,57		3	64	35	54,69		3	93	55	59,14
	4	95	22	23,16		4	91	31	34,07		4	71	37	52,11		4	99	60	60,61
	5	96	21	21,88		5	83	25	30,12		5	69	32	46,38		5	100	60	60,00
	M	94,4	22	23,30		M	83,8	27,8	33,18		M	67,4	34,6	51,38		M	97	56,8	58,61
	ESM	1,08	0,71	0,63		ESM	1,85	1,07	1,06		ESM	1,29	0,93	1,40		ESM	1,64	1,53	1,69
WECj25	1	89	28,5	32,02	WECj25+Carbal	1	89	42	47,19	WECj25+5-HT	1	78	38	48,72	WECj25+Naloxone	1	93	55	59,14
	2	100	28	28,00		2	85	36	42,35		2	80	39	48,75		2	90	57	63,33
	3	99	32	32,32		3	90	40	44,44		3	82	40	48,78		3	88	56	63,64
	4	96	29	30,21		4	80	40	50,00		4	70	30	42,86		4	96	51	53,13
	5	90	32	35,56		5	81	38	46,91		5	74	38	51,35		5	94	52	55,32
	M	94,8	29,9	31,62		M	85	39,2	46,18		M	76,8	37	48,09		M	92,2	54,2	58,91
	ESM	2,27	0,87	1,25		ESM	2,02	1,02	1,30		ESM	2,15	1,79	1,40		ESM	1,43	1,16	2,10
WECj50	1	95	24	25,26	WECj50+Carbachol	1	74	29	39,19	WECj50+5-HT	1	78	33	42,31	WECj50+Naloxone	1	84	48	57,14
	2	98	20	20,41		2	76	25	32,89		2	79	41	51,90		2	89	54	60,67
	3	92	22	23,91		3	80	30	37,50		3	75	35	46,67		3	80	45	56,25
	4	100	25	25,00		4	76,5	25	32,68		4	79	39	49,37		4	84	48	57,14
	5	104	23	22,12		5	87	30	34,48		5	85	42	49,41		5	80	49	61,25
	M	97,8	22,8	23,34		M	78,7	27,8	35,35		M	79,2	38	47,93		M	83,4	48,8	58,49
	ESM	2,06	0,86	0,92		ESM	2,29	1,16	1,29		ESM	1,62	1,73	1,63		ESM	1,66	1,46	1,03
WECj100	1	95	21	22,11	WECj100+Carbachol	1	77	25	32,47	WECj100+5-HT	1	88	41	46,59	WECj100+Naloxone	1	73	40	54,79
	2	90	20	22,22		2	75	20	26,67		2	85	38	44,71		2	80	47	58,75
	3	95	19	20,00		3	79	28	35,44		3	86	40	46,51		3	84	50	59,52
	4	94	18,5	19,68		4	85	29	34,12		4	89	42	47,19		4	73	41	56,16
	5	100	20	20,00		5	80	26	32,50		5	87	45	51,72		5	84	49	58,33
	M	94,8	19,7	20,80		M	79,2	25,6	32,24		M	87	41,2	47,34		M	78,8	45,4	57,51
	ESM	1,59	0,44	0,56		ESM	1,69	1,57	1,50		ESM	0,71	1,16	1,17		ESM	2,48	2,06	0,88
Atropine+	1	84	23	27,38															
	2	85	19	22,35															
	3	82	22	26,83															
	4	86	21	24,42															
	5	81	20	24,69															
	M	83,6	21	25,13															
	ESM	0,93	0,71	0,90															

**Annexe 14 :** Viabilité des cellules de l'épithélium rénal de singe (LLC-MK2) après 24 h d'incubation avec les extraits (A) ou les fractions (B) de *Crinum jagus* suivi du test au MTT. Effet de l'isosorbide dinitrite (ISO) ; du glibenclamide (GLIB) et de la yohimbine (YOHI) sur l'activité anti diarrhéique de l'extrait eau/éthanol de *Crinum jagus*, (n = 5).

		TN	Lop 5	WECj100	GLIB	GLIB+WECj100	ISO	ISO+WECj100	YOHI	YOHI+WECj100
Fréquence des selles	1	9	1	3	6	4	7	5	7	3
	2	7	1	3	6	4	5	6	8	3
	3	8	2	3	7	4	6	5	7	3
	4	8	1	3	6	3	6	5	7	2
	5	8	1	2	7	4	6	5	6	2
	M	8,00	1,20	2,80	6,40	3,80	6,00	5,20	7,00	2,60
	ESM	0,32	0,20	0,20	0,24	0,20	0,32	0,20	0,32	0,24
Masse des selles diarrhéiques (g)	1	6,63	1,5	2,15	5,15	3,14	5,65	4,2	6,7	2,17
	2	6,37	1	2,07	5,3	3,6	6,27	5,12	5,2	2,29
	3	6,64	1,5	2	5	2,93	6,95	4,65	5,75	2,5
	4	4,78	1	1,45	4,52	3,2	5,15	3,95	5,15	2,85
	5	5,77	0,9	1,04	6,34	2,81	6,64	2,79	5,15	2,04
	M	6,04	1,18	1,74	5,26	3,14	6,13	4,14	5,59	2,37
	ESM	0,79	0,29	0,48	0,67	0,30	0,73	0,88	0,67	0,32



Temps de latence (min)	1	34	210	110	59	95	38	95	110	35
	2	35	200	90	50	88	40	80	90	35
	3	35	210	100	47	90	45	70	100	35
	4	37	202	85	46	110	45	90	85	45
	5	36	199	95	50	75	42	100	95	40
	M	35,40	204,20	96,00	50,40	91,60	42,00	87,00	96,00	38,00
	ESM	0,51	2,42	4,30	2,29	5,66	1,38	5,39	4,30	2,00

**Annexe 15 :** Viabilité des cellules de l'épithélium rénal de singe (LLC-MK2) après 24 h d'incubation avec les extraits (A) ou les fractions (B) de *Crinum jagus* suivi du test au MTT. Sécrétion intestinale induite par l'huile de castor et à la prostaglandine E<sub>2</sub> chez les rats traités à l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* 25 (WECj25), 50 (WECj50), 100 mg/kg (WECj100) et au lopéramide 5 mg/kg (Lop5). (n=5).

		TN	TD	Lop 5	WECj25	WECj50	WECj100
Huile de Castor	1	0,80	2,90	0,60	1,19	1,20	0,75
	2	0,70	2,80	0,60	1,15	1,00	0,50
	3	0,85	2,70	0,65	1,15	1,20	0,60
	4	1,00	2,79	0,65	1,20	1,15	0,50
	5	0,65	2,85	0,55	1,25	1,10	0,65
	M	0,80	2,81	0,61	1,19	1,13	0,60
	ESM	0,06	0,03	0,02	0,02	0,04	0,05
	% d'inhibition	71,46	0,00	78,24	57,69	59,73	78,67
Prostaglandine E <sub>2</sub>		TN	TD	Lop 5	WECj25	WECj50	WECj100
	1	0,85	3,06	-	2,45	1,40	1,10
	2	0,80	3,30	-	2,73	1,30	1,30
	3	0,90	3,30	-	2,70	1,40	1,00
	4	0,95	3,15	-	2,70	1,35	1,00
	5	0,80	3,15	-	2,68	1,30	1,00
	M	0,86	3,19	-	2,65	1,35	1,08
	ESM	0,03	0,05	-	0,05	0,02	0,06
	% d'inhibition	73,03	0,00	-	16,92	57,66	66,17

**Annexe 16 :** Effets de l'extrait eau/éthanol de *Crinum jagus* à 25(WECj25), 50 (WECj50) ou 100 mg/kg (WECj100) et du lopéramide 5 mg/kg (Lop5) sur quelques sécrétions ioniques induites par l'huile d castor ; (n=5). TN = témoins normaux, TD = témoins diarrhéiques.

	N°	TN	TD	Lop 5	WECj25	WECj50	WECj100
Na+	1	50,00	133,33	66,67	66,67	66,67	66,67
	2	66,67	116,67	50,00	83,33	50,00	33,33
	3	50,00	133,33	66,67	83,33	66,67	66,67
	4	33,33	150,00	50,00	66,67	50,00	50,00
	5	50,00	150,00	50,00	83,33	83,33	50,00
	M	50,00	136,67	56,67	76,67	63,33	53,33
	ESM	5,27	6,24	4,08	4,08	6,24	6,24
	K+	1	2,68	4,46	3,57	4,11	3,75
2		3,39	4,64	3,75	4,29	3,93	3,39
3		3,21	4,46	3,93	3,93	3,75	3,57
4		3,21	4,11	3,57	3,75	3,57	3,75
5		2,86	4,46	4,11	4,11	3,75	4,11
M		3,07	4,43	3,79	4,04	3,75	3,68
ESM		0,13	0,09	0,10	0,09	0,06	0,12
Ca++		1	1,91	3,12	1,95	2,00	1,95
	2	2,18	2,54	1,93	2,04	1,86	1,95
	3	1,84	2,36	1,88	2,00	1,93	1,93
	4	1,83	2,32	1,99	1,99	1,99	1,91
	5	1,86	2,70	1,81	1,99	2,00	1,90
	M	1,93	2,61	1,91	2,00	1,95	1,92
	ESM	0,01	0,09	0,04	0,00	0,02	0,01

Cl-	1	47,87	74,47	42,55	69,15	66,49	45,21
	2	42,55	69,15	45,21	66,49	63,83	50,53
	3	47,87	74,47	45,21	69,15	63,83	47,87
	4	45,21	71,81	42,55	66,49	66,49	50,53
	5	39,89	66,49	45,21	66,49	61,17	47,87
	M	44,68	71,28	44,15	67,55	64,36	48,40
	ESM	1,55	1,55	0,65	0,65	1,00	1,00

**Annexe 17 :** Densité de shigelles dans les selles chez les rats diarrhéiques à shigellose traités pendant 7 jours aux extraits hydroéthanolique de *C. jagus* 25 mg/kg (WECj25), 50 mg/kg (WECj50) et 100 mg/kg (WECj100) et à la ciprofloxacine 2,5 mg/kg (n =5).

		Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 4	Jour 5	Jour 6	Jour 7
Témoins Diarrhéiques	0	600	800	1480	900	580	600	800
	1	600	850	1220	840	800	650	900
	2	680	1000	800	875	750	800	750
	3	500	928	960	950	870	750	800
	4	500	820	800	800	700	700	850
	5	500	868	1160	1080	560	700	800
	M	563	878	1070	908	710	700	817
	ESM	33,37	29,21	80,33	45,06	47,66	23,27	23,27
Ciprofloxacine	1	500	600	344	400	424	300	250
	2	450	450	380	332	300	280	280
	3	600	360	320	350	280	250	200
	4	500	600	500	400	320	200	250
	5	520	350	420	388	240	300	270
	M	514	472	392,8	374	312,8	266	250
	ESM	24,41	55,08	31,68	13,94	30,79	18,87	13,78
WECj25	1	400	300	272	200	156	250	200
	2	800	400	200	240	240	220	240
	3	372	180	250	208	196	190	200
	4	600	400	200	288	200	300	190
	5	440	200	300	200	200	240	210
	M	522,4	296	244,4	227,2	198,4	240	208
	ESM	47,07	79,84	19,78	13,30	16,89	18,17	8,60
WECj50	1	700	300	250	127	254	150	140
	2	600	534	280	348	200	180	160
	3	460	336	304	240	194	120	200
	4	800	300	304	160	360	300	190
	5	500	368	360	100	113	90	100
	M	612	367,6	299,6	195	224,2	168	158
	ESM	62,80	43,49	18,07	44,89	40,74	36,25	18,00
WECj100	1	640	488	450	400	100	100	100
	2	400	480	508	400	260	150	150
	3	400	600	400	240	220	150	190
	4	500	460	400	144	150	120	140
	5	600	450	440	240	100	80	125
	M	508	495,6	439,6	284,8	166	120	141
	ESM	49,64	26,97	19,90	50,19	32,19	13,78	14,87

**Annexe 18 :** Variation pondérale des rats diarrhéiques à shigellose traités pendant 7 jours aux extraits hydroéthanolique de *C. jagus* 0 mg/kg (témoins diarrhéiques), 25 mg/kg (WECj25), 50 mg/kg (WECj50) et 100 mg/kg (WECj100) et à la ciprofloxacine 2,5 mg/kg, (n =5).

		Jour 0	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 4	Jour 5	Jour 6	Jour 7
		Témoins Diarrhéiques	0	149	150	149	148	145	143
1	215		182	180	178	175	170	168	165
2	199		188	187	184	180	178	175	170
3	207		190	188	185	180	180	178	175
4	176		196	194	190	188	185	180	178
5	149		152	155	156	155	152	149	145
M	189,2		181,6	180,8	178,6	175,6	173	170	166,6
ESM	11,98		7,73	6,82	5,96	5,56	5,78	5,63	5,84
Ciprofloxacine	1	218	221	218	225	227	231	261	240
	2	172	180	178	184	183	185	186	186
	3	179	194	188	195	195	199	200	201
	4	190	191	194	199	202	204	205	215
	5	164	172	174	176	180	181	187	189
	M	184,6	191,6	190,4	195,8	197,4	200	207,8	206,2
	ESM	9,38	8,33	7,76	8,35	8,41	8,84	13,80	9,88
WECj25	1	236	228	230	233	235	238	240	242
	2	186	189	190	192	195	198	200	202
	3	216	217	220	223	225	228	230	232
	4	207	210	208	211	215	219	221	222
	5	178	168	160	150	156	160	162	165
	M	204,6	202,4	201,6	201,8	205,2	208,6	210,6	212,6
	ESM	10,43	10,70	12,35	14,64	13,97	13,83	13,83	13,61
WECj50	1	187	196	192	201	202	204	207	213
	2	189	195	194	200	199	206	207	213
	3	183	185	181	174	178	171	173	176
	4	193	194	194	205	204	203	204	215
	5	139	135	138	143	144	146	145	150
	M	178,2	181	179,8	184,6	185,4	186	187,2	193,4
	ESM	9,93	11,67	10,73	11,76	11,35	11,91	12,35	13,08
WECj100	1	188	192	192	200	197	201	198	204
	2	166	166	169	172	174	176	174	180
	3	186	185	187	194	196	199	202	208
	4	201	193	199	201	204	210	207	212
	5	149	153	151	150	149	145	140	140
	M	178	177,8	179,6	183,4	184	186,2	184,2	188,8
	ESM	9,16	7,87	8,70	9,86	10,09	11,73	12,42	13,41

**Annexe 19 :** Concentration de l'immunoglobuline M chez les rats diarrhéiques à shigellose traités à l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* 25 mg/kg (WECj25), 50 mg/kg (WECj50) ou 100 mg/kg (WECj100) et à la ciprofloxacine 2,5 mg/kg (Cipro), (n =5). TN = témoin normal, TD = Témoin diarrhéique.

		Con (ng)	DO	Logit (DO)	Log (conc)
		Standard	1	7,8	0,033
2	15,625		0,07	-7,26372998	1,19
3	31,25		0,149	-6,50748805	1,49
4	62,5		0,311	-5,77001771	1,80
5	125		0,558	-5,18297088	2,10
6	250		1,016	-4,57908487	2,40
7	500		1,309	-4,32273027	2,70

		DO 1	DO 2	DO	Logit (DO)	Con (ng)
Témoins Normal	1	0,036	0,056	0,046	-7,68382396	9,39412821
	2	0,049	0,049	0,049	-7,62061505	10,065582
	3	0,019	0,046	0,0325	-8,03136032	6,42697599
	4	0,027	0,06	0,0435	-7,73972943	8,83768214
	5	0,021	0,062	0,0415	-7,78681695	8,39465715
	M			0,0425	-7,7629963	8,61592702
	ESM			0,00279732	-10,4842356	0,44107656
Témoins Diarrhéique	1	0,04	0,04	0,04	-7,82364593	8,06368527
	2	0,053	0,053	0,053	-7,54210341	10,9668011
	3	0,055	0,063	0,059	-7,43479785	12,3304551
	4	0,047	0,061	0,054	-7,52340127	11,1931187
	5	0,05	0,06	0,055	-7,50504213	11,4198278
	M			0,0522	-7,55732083	10,7860334
	ESM			0,00321559	-10,3448834	0,51358708
Ciprofloxacine	1	0,046	0,046	0,046	-7,68382396	9,39412821
	2	0,046	0,044	0,045	-7,70581287	9,17120287
	3	0,039	0,048	0,0435	-7,73972943	8,83768214
	4	0,046	0,046	0,046	-7,68382396	9,39412821
	5	0,045	0,045	0,045	-7,70581287	9,17120287
	M	0,044	0,046	0,0451	-7,70359212	9,19347481
	ESM			0,00045826	-12,2932448	0,06115496
WECj25	1	0,044	0,053	0,0485	-7,63087655	9,95340026
	2	0,056	0,055	0,0555	-7,49598729	11,5333271
	3	0,07	0,012	0,041	-7,79894331	8,28420745
	4	0,045	0,045	0,045	-7,70581287	9,17120287
	5	0,05	0,05	0,05	-7,60040233	10,2902649
	M			0,048	-7,64124434	9,84132625
	ESM			0,00243413	-10,6233108	0,37891806
WECj50	1	0,043	0,046	0,0445	-7,71699118	9,05991249
	2	0,035	0,052	0,0435	-7,73972943	8,83768214
	3	0,047	0,051	0,049	-7,62061505	10,065582
	4	0,052	0,052	0,052	-7,56116161	10,7408817
	5	0,046	0,046	0,046	-7,68382396	9,39412821
	M	0,04275	0,05025	0,047	-7,66230775	9,61750554
	ESM			0,00155724	-11,0699941	0,2326303
WECj100	1	0,022	0,065	0,0435	-7,73972943	8,83768214
	2	0,037	0,053	0,045	-7,70581287	9,17120287
	3	0,039	0,07	0,0545	-7,51417961	11,3064247
	4	0,046	0,044	0,045	-7,70581287	9,17120287
	5	0,045	0,045	0,045	-7,70581287	9,17120287
	M			0,0466	-7,67085882	9,52810093
	ESM			0,00199625	-10,8216368	0,30512069

**Annexe 20 :** Concentration de l'immunoglobuline A chez les rats diarrhéiques à shigellose traités à l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* 25 mg/kg (WECj25), 50 mg/kg (EWCj50) ou 100 mg/kg (EWCj100) et à la ciprofloxacine 2,5 mg/kg, (n =5).

		Concentration (ng/mL)	DO	Logit (DO)	Log (conc)
Standard	1	15,625	0,033	-8,01608785	1,19382003
	2	31,25	0,07	-7,26372998	1,49485002
	3	62,5	0,149	-6,50748805	1,79588002
	4	125	0,311	-5,77001771	2,09691001
	5	250	0,558	-5,18297088	2,39794001
	6	500	1,016	-4,57908487	2,69897
	7	1000	1,309	-4,32273027	3

		DO 1	DO 2	DO	Logit (DO)	Log (conc)	conc (ng/mL)
Témoins Normal	1	0,008	0,082	0,045	-7,70581287	1,26390057	18,3611791
	2	0,049	0,049	0,049	-7,62061505	1,30430358	20,1513236
	3	0,041	0,041	0,041	-7,79894331	1,21973571	16,5857726
	4	0,03	0,058	0,044	-7,72829573	1,25323861	17,9158994
	5	0,047	0,03	0,0385	-7,86188215	1,18988849	15,4841898
	M			0,0435	-7,74310982	1,24621339	17,6996729
	ESM			0,0018	0,04113377	0,01950669	0,7951124
Témoins Diarrhéique	1	0,06	0,073	0,0665	-7,3150583	1,44920648	28,1323803
	2	0,059	0,071	0,065	-7,33788798	1,43838005	27,4397438
	3	0,059	0,069	0,064	-7,35340218	1,43102282	26,978812
	4	0,061	0,061	0,061	-7,40144141	1,40824137	25,600083
	5	0,074	0,074	0,074	-7,2081201	1,49991934	31,6169036
	M			0,0661	-7,32318199	1,44535401	27,9535845
	ESM			0,0022	0,03206189	0,01520458	1,00511337
Ciprofloxacine	1	0,05	0,05	0,05	-7,60040233	1,31388897	20,6010316
	2	0,044	0,044	0,044	-7,72829573	1,25323861	17,9158994
	3	0,035	0,046	0,0405	-7,81121841	1,21391454	16,3649446
	4	0,039	0,039	0,039	-7,84897374	1,19600999	15,7039891
	5	0,045	0,045	0,045	-7,70581287	1,26390057	18,3611791
	M	0,037	0,04625	0,0437	-7,73894062	1,24819053	17,7894088
	ESM			0,0019	0,04343673	0,02059882	0,85516715
WECj25	1	0,058	0,058	0,058	-7,45190229	1,38431153	24,2276631
	2	0,048	0,034	0,041	-7,79894331	1,21973571	16,5857726
	3	0,05	0,05	0,05	-7,60040233	1,31388897	20,6010316
	4	0,054	0,054	0,054	-7,52340127	1,35040486	22,408091
	5	0,05	0,05	0,05	-7,60040233	1,31388897	20,6010316
	M	0,0505	0,046	0,0506	-7,59501031	1,31644601	20,884718
	ESM			0,0028	0,05798904	0,0274999	1,26763233
WECj50	1	0,054	0,044	0,049	-7,62061505	1,30430358	20,1513236
	2	0,034	0,034	0,034	-7,98622488	1,13092195	13,518296
	3	0,06	0,04	0,05	-7,60040233	1,31388897	20,6010316
	4	0,054	0,038	0,046	-7,68382396	1,27432828	18,807379
	5	0,054	0,032	0,043	-7,75129526	1,24233165	17,4715585
	M			0,0444	-7,7284723	1,25315488	18,1099177
	ESM			0,0029	0,06963686	0,0330236	1,27180838
WECj100	1	0,046	0,04	0,043	-7,75129526	1,24233165	17,4715585
	2	0,044	0,044	0,044	-7,72829573	1,25323861	17,9158994
	3	0,045	0,045	0,045	-7,70581287	1,26390057	18,3611791
	4	0,044	0,044	0,044	-7,72829573	1,25323861	17,9158994
	5	0,046	0,046	0,046	-7,68382396	1,27432828	18,807379
	M			0,0444	-7,71950471	1,25740754	18,0943831
	ESM			0,0005	0,01145815	0,00543375	0,2270646

**Annexe 21** : Concentration de l'interleukine 2 chez les rats diarrhéiques à shigellose traités à l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* 25 mg/kg (WECj25), 50 mg/kg (EWCj50) ou 100 mg/kg (EWCj100) et à la ciprofloxacine 2,5 mg/kg, (n =5).

		Concentration (ng)	DO	Logit (DO)	Log (conc)
Standard	1	62,5	0,04	-7,82364593	1,79588002
	2	125	0,061	-7,40144141	2,09691001
	3	250	0,135	-6,60629977	2,39794001
	4	500	0,196	-6,23284888	2,69897
	5	1000	0,484	-5,32598881	3
	6	2000	1,032	-4,5632979	3,30103
	7	4000	1,866	-3,96253679	3,60205999

		DO 1	DO 2	DO	Logit (DO)	Log (conc)	conc (pg/mL)
Témoins Normal	1	0,025	0,025	0,025	-8,29379961	1,65084579	44,7554354
	2	0,019	0,019	0,019	-8,56829647	1,5260518	33,5777659
	3	0,018	0,018	0,018	-8,62237369	1,50146677	31,7297588
	4	0,017	0,017	0,017	-8,67954211	1,4754764	29,8865925
	5	0,025	0,025	0,025	-8,29379961	1,65084579	44,7554354
	M			0,0208	-8,47776446	1,56721019	36,9156223
	ESM			0,0017	-10,9569793	0,44008944	2,75479597
Témoins Diarrhéique	1	0,037	0,037	0,037	-7,90163748	1,82913371	67,4735738
	2	0,03	0,03	0,03	-8,11142804	1,73375703	54,1697747
	3	0,034	0,04	0,037	-7,90163748	1,82913371	67,4735738
	4	0,029	0,029	0,029	-8,14533959	1,71833988	52,2805181
	5	0,032	0,032	0,032	-8,04686951	1,76310715	57,9571673
	M			0,033	-8,01608785	1,77710136	59,8551274
	ESM			0,0017	-10,9805531	0,42937213	2,68764639
Ciprofloxacine	1	0,021	0,02	0,0205	-8,49229556	1,56060395	36,3583317
	2	0,023	0,023	0,023	-8,37720122	1,61292907	41,0137111
	3	0,029	0,029	0,029	-8,14533959	1,71833988	52,2805181
	4	0,019	0,025	0,022	-8,42166299	1,5927155	39,1485336
	5	0,025	0,025	0,025	-8,29379961	1,65084579	44,7554354
	M			0,0239	-8,33880798	1,63038372	42,6956585
	ESM			0,0015	-11,1278567	0,36240377	2,30358252
WECj25	1	0,026	0,036	0,031	-8,07862821	1,74866875	56,0620213
	2	0,028	0,028	0,028	-8,18044092	1,70238184	50,3943485
	3	0,035	0,035	0,035	-7,95722734	1,803861	63,6591743
	4	0,033	0,033	0,033	-8,01608785	1,77710136	59,8551274
	5	0,035	0,035	0,035	-7,95722734	1,803861	63,6591743
	M			0,0324	-8,03444299	1,7687566	58,7160183
	ESM			0,0013	-11,2302553	0,31585048	2,06942874
WECj50	1	0,033	0,033	0,033	-8,01608785	1,77710136	59,8551274
	2	0,025	0,025	0,025	-8,29379961	1,65084579	44,7554354
	3	0,028	0,028	0,028	-8,18044092	1,70238184	50,3943485
	4	0,03	0,024	0,027	-8,21681856	1,68584353	48,5113694
	5	0,02	0,02	0,02	-8,51699317	1,54937572	35,4303724
	M			0,0266	-8,23174821	1,67905609	47,7590957
	ESM			0,0021	-10,76533	0,5272186	3,36680995
WECj100	1	0,019	0,019	0,019	-8,56829647	1,5260518	33,5777659
	2	0,02	0,02	0,02	-8,51699317	1,54937572	35,4303724
	3	0,022	0,022	0,022	-8,42166299	1,5927155	39,1485336
	4	0,021	0,011	0,016	-8,74017673	1,4479102	28,048536
	5	0,029	0,029	0,029	-8,14533959	1,71833988	52,2805181
	M			0,0212	-8,45871226	1,57587186	37,6592666
	ESM			0,0022	-10,7348851	0,54105968	3,47583923

**Annexe 22 :** Concentration de l'interféron-gamma chez les rats diarrhéiques à shigellose traités à l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* 25 mg/kg (WECj25), 50 mg/kg (WECj50) ou 100 mg/kg (WECj100) et à la ciprofloxacine 2,5 mg/kg, (n =5).

		Concentration (ng)	DO	Logit (DO)	Log (conc)
Standard	1	31,25	0,074	-7,208120098	1,494850022
	2	62,5	0,08	-7,13009851	1,795880017
	3	125	0,084	-7,081268313	2,096910013
	4	250	0,179	-6,323748055	2,397940009
	5	500	0,356	-5,634428382	2,698970004
	6	1000	0,75	-4,885323992	3
	7	2000	1,283	-4,343056085	3,301029996

		DO 1	DO 2	DO	Logit (DO)	Log (conc)	Conc (pg/mL)
		1	0,058	0,06	0,059	-7,434797847	1,616126539
2	0,065	0,065	0,065	-7,337887984	1,672338757	47,02607764	
3	0,067	0,047	0,057	-7,469304035	1,596111349	39,455845	
4	0,063	0,063	0,063	-7,36916054	1,654199223	45,10235539	
5	0,069	0,069	0,069	-7,278128722	1,707001901	50,93331008	
M			0,0626	-7,375533991	1,650502325	44,76687498	
ESM			0,0021	-10,7542	-0,3093	2,0415	
Témoins Diarrhéique	1	0,093	0,093	0,093	-6,979395539	1,88028101	75,90685707
	2	0,081	0,081	0,081	-7,117665982	1,800077737	63,10702929
	3	0,083	0,083	0,083	-7,093254513	1,814237522	65,19848762
	4	0,075	0,075	0,075	-7,19468707	1,755401932	56,93796374
	5	0,082	0,082	0,082	-7,105385881	1,807200765	64,15060624
	M			0,0828	-7,095669061	1,812836972	65,06018879
	ESM			0,0029	-10,4464	-0,1307	3,0682
Ciprofloxacine	1	0,072	0,072	0,072	-7,235539087	1,731705866	53,91453529
	2	0,063	0,063	0,063	-7,36916054	1,654199223	45,10235539
	3	0,06	0,06	0,06	-7,417980723	1,625881251	42,25530603
	4	0,064	0,057	0,0605	-7,409676917	1,630697844	42,72655171
	5	0,072	0,072	0,072	-7,235539087	1,731705866	53,91453529
	M			0,0655	-7,330220108	1,67678648	47,58265674
	ESM			0,0027	-10,5190	-0,1728	2,6296
WECj25	1	0,074	0,073	0,0735	-7,214904789	1,743674717	55,42104579
	2	0,069	0,069	0,069	-7,278128722	1,707001901	50,93331008
	3	0,075	0,075	0,075	-7,19468707	1,755401932	56,93796374
	4	0,067	0,067	0,067	-7,307562621	1,689928874	48,96986132
	5	0,079	0,079	0,079	-7,1426873	1,785564211	61,03292879
	M			0,0727	-7,225856816	1,737322032	54,65902195
	ESM			0,0021	-10,7510	-0,3074	2,1523
WECj50	1	0,065	0,066	0,0655	-7,330220108	1,67678648	47,51015863
	2	0,07	0,07	0,07	-7,263729978	1,715353841	51,92229032
	3	0,075	0,075	0,075	-7,19468707	1,755401932	56,93796374
	4	0,069	0,069	0,069	-7,278128722	1,707001901	50,93331008
	5	0,057	0,057	0,057	-7,469304035	1,596111349	39,455845
	M			0,0673	-7,303092002	1,692522041	49,35191355
	ESM			0,0030	-10,4176	-0,1141	2,8981
WECj100	1	0,063	0,063	0,063	-7,36916054	1,654199223	45,10235539
	2	0,069	0,05	0,0595	-7,426353975	1,621024376	41,78538195
	3	0,072	0,072	0,072	-7,235539087	1,731705866	53,91453529
	4	0,064	0,064	0,064	-7,353402177	1,663339805	46,06168327
	5	0,066	0,066	0,066	-7,322610505	1,681200403	47,99548704
	M			0,0649	-7,339428631	1,67144511	46,97188859
	ESM			0,0021	-10,7883	-0,3290	2,0059

**Annexe 23** : Concentration de la motiline gamma chez les rats diarrhéiques à shigellose traités à l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* 25 mg/kg (WECj25), 50 mg/kg (EWCj50) ou 100 mg/kg (EWCj100) et à la ciprofloxacine 2,5 mg/kg, (n =5).

		Concentration (ng)		DO	Logit (DO)	Log (conc)	
		1	50		0,875	-4,72991307	1,69897
2	100		0,412	-5,48777361	2		
3	250		0,193	-6,24830341	2,39794001		
4	500		0,152	-6,48752379	2,69897		
5	1000		0,128	-6,65961438	3		
		DO 1	DO 2	DO	Logit (DO)	Log (conc)	Conc (pM/L)



Témoïn Normal	1	0,645	0,655	0,65	-5,02943189	1,75698233	57,1455381
	2	0,664	0,629	0,6465	-5,03486628	1,76064604	57,6296583
	3	0,665	0,623	0,644	-5,03876591	1,76327507	57,9795808
	4	0,665	0,617	0,641	-5,04346538	1,76644332	58,4040978
	5	0,658	0,625	0,6415	-5,04268062	1,76591426	58,3329925
	M	0,6594	0,6298	0,6446	-5,03782863	1,76264318	57,8983735
	ESM			0,0397	-7,8314	3,6460	3,2524
Témoïn Diarrhéique	1	0,636	0,636	0,636	-5,05134659	1,77175662	59,1230211
	2	0,654	0,6288	0,6414	-5,04283752	1,76602004	58,3472022
	3	0,645	0,632	0,6385	-5,04739832	1,7690948	58,7617608
	4	0,69	0,625	0,6575	-5,01788399	1,74919705	56,13026
	5	0,62	0,635	0,6275	-5,06488702	1,7808852	60,378901
	M			0,64018	-5,0447537	1,76731187	58,548229
	ESM			0,00491196	-9,92120228	5,05487918	0,69333713
Ciprofloxacine	1	0,666	0,65	0,658	-5,01711879	1,74868118	56,0636252
	2	0,661	0,649	0,655	-5,02171868	1,7517823	56,4653857
	3	0,66	0,66	0,66	-5,01406375	1,74662156	55,7983756
	4	0,66	0,663	0,6615	-5,01177851	1,7450809	55,6007826
	5	0,65	0,658	0,654	-5,02325663	1,75281914	56,6003534
	M			0,6577	-5,01757784	1,74899066	56,1057045
	ESM			0,0014	-11,1564	5,8876	0,1904
WECj25	1	0,665	0,616	0,6405	-5,04425074	1,76697279	58,475345
	2	0,648	0,637	0,6425	-5,04111292	1,76485736	58,191206
	3	0,622	0,699	0,6605	-5,01330143	1,74610762	55,7323838
	4	0,664	0,615	0,6395	-5,04582331	1,76803297	58,6182667
	5	0,655	0,649	0,652	-5,02633956	1,75489756	56,8718771
	M	0,6508	0,6432	0,647	-5,03408815	1,76012145	57,5778157
	ESM			0,0040	-10,1173	5,1871	0,5554
WECj50	1	0,648	0,65	0,649	-5,0309816	1,7580271	57,2831774
	2	0,617	0,679	0,648	-5,03253368	1,75907347	57,4213598
	3	0,641	0,678	0,6595	-5,01482665	1,74713588	55,8644953
	4	0,633	0,645	0,639	-5,04661051	1,76856368	58,689942
	5	0,659	0,659	0,659	-5,01559012	1,74765059	55,9307432
	M			0,6509	-5,02803917	1,7560434	57,0379435
	ESM			0,0038	-10,1703	5,2228	0,5263
WECj100	1	0,654	0,644	0,649	-5,0309816	1,7580271	57,2831774
	2	0,647	0,65	0,6485	-5,03175734	1,75855009	57,3522005
	3	0,641	0,649	0,645	-5,03720426	1,76222225	57,8391958
	4	0,642	0,65	0,646	-5,03564501	1,76117104	57,699366
	5	0,639	0,656	0,6475	-5,03331062	1,75959726	57,4906556
	M	0,6446	0,6498	0,6472	-5,03377707	1,75991173	57,5329191
	ESM			0,0008	-11,7984	6,3204	0,1045

**Annexe 24** : Concentration du peptide intestinal vasoactif chez les rats diarrhéiques à shigellose traités à l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* 25 mg/kg (WECj25), 50 mg/kg (WECj50) ou 100 mg/kg (WECj100) et à la ciprofloxacine 2,5 mg/kg, (n =5). B= densité optique échantillon, B<sub>0</sub>= densité optique du standard à 0 pg/mL (liaison totale), B<sub>0</sub>= 0,33.

		Concentration (ng)		B/B <sub>0</sub> X 100	Logit (B/B <sub>0</sub> X100)	Log (conc)		
Standard	1	2,4		92,7272727	2,54553127	0,38021124		
	2	19,5		79,3939394	1,3488368	1,29003461		
	3	156,3		48,4848485	-0,06062462	2,19395898		
	4	1250		39,0909091	-0,4434925	3,09691001		
	5	5000		9,6969697	-2,23135758	3,69897		
	6	10000		2,12121212	-3,83174217	4		
		B 1	B 2	B	B/B <sub>0</sub> X 100	Logit (B/B <sub>0</sub> X100)	Log (conc)	Conc (pg/mL)

Témoïn Normal	1	0,208	0,209	0,2085	63,1818182	0,54002478	1,81688297	65,5968476
	2	0,207	0,21	0,2085	63,1818182	0,54002478	1,81688297	65,5968476
	3	0,206	0,209	0,2075	62,8787879	0,52702031	1,8251508	66,8576024
	4	0,209	0,208	0,2085	63,1818182	0,54002478	1,81688297	65,5968476
	5	0,206	0,209	0,2075	62,8787879	0,52702031	1,8251508	66,8576024
	M	0,2072	0,209	0,2081	63,0606061	0,5348177	1,82019347	66,1011495
	ESM			0,0002	0,0742	-7,2051	6,7410	0,3088
Témoïn Diarrhèique	1	0,205	0,21	0,2075	62,8787879	0,52702031	1,8251508	66,8576024
	2		0,208	0,208	63,030303	0,53351703	1,82102039	66,2247589
	3	0,211	0,205	0,208	63,030303	0,53351703	1,82102039	66,2247589
	4	0,21	0,205	0,2075	62,8787879	0,52702031	1,8251508	66,8576024
	5	0,208	0,207	0,2075	62,8787879	0,52702031	1,8251508	66,8576024
	M	0,2085	0,207	0,2077	62,9393939	0,52961769	1,82349947	66,604465
	ESM			0,0001	0,0371	-7,8986	7,1819	0,1550
Ciprofloxacine	1	0,211	0,206	0,2085	63,1818182	0,54002478	1,81688297	65,5968476
	2	0,206	0,211	0,2085	63,1818182	0,54002478	1,81688297	65,5968476
	3	0,207	0,209	0,208	63,030303	0,53351703	1,82102039	66,2247589
	4	0,206	0,21	0,208	63,030303	0,53351703	1,82102039	66,2247589
	5	0,207	0,209	0,208	63,030303	0,53351703	1,82102039	66,2247589
	M	0,201	0,209	0,2082	63,0909091	0,5361188	1,81936627	65,9735944
	ESM			0,0001	0,0371	-7,8986	7,1819	0,1538
WECj25	1	0,207	0,208	0,2075	62,8787879	0,52702031	1,8251508	66,8576024
	2	0,205	0,21	0,2075	62,8787879	0,52702031	1,8251508	66,8576024
	3	0,207	0,207	0,207	62,7272727	0,52053444	1,82927431	67,4954209
	4	0,206	0,208	0,207	62,7272727	0,52053444	1,82927431	67,4954209
	5	0,207	0,209	0,208	63,030303	0,53351703	1,82102039	66,2247589
	M	0,2064	0,2084	0,2074	62,8484848	0,52572227	1,82597605	66,9861611
	ESM			0,0002	0,0567	-7,4747	6,9124	0,2379
WECj50	1	0,208	0,207	0,2075	62,8787879	0,52702031	1,8251508	66,8576024
	2	0,208	0,209	0,2085	63,1818182	0,54002478	1,81688297	65,5968476
	3	0,207	0,208	0,2075	62,8787879	0,52702031	1,8251508	66,8576024
	4	0,209	0,206	0,2075	62,8787879	0,52702031	1,8251508	66,8576024
	5	0,208	0,208	0,208	63,030303	0,53351703	1,82102039	66,2247589
	M	0,208	0,2076	0,2078	62,969697	0,53091703	1,82267339	66,4788827
	ESM			0,0002	0,0606	-7,4079	6,8699	0,2523
WECj100	1	0,208	0,207	0,2075	62,8787879	0,52702031	1,8251508	66,8576024
	2	0,209	0,21	0,2095	63,4848485	0,55307399	1,8085867	64,3556522
	3	0,209	0,205	0,207	62,7272727	0,52053444	1,82927431	67,4954209
	4	0,207	0,208	0,2075	62,8787879	0,52702031	1,8251508	66,8576024
	5	0,21	0,206	0,208	63,030303	0,53351703	1,82102039	66,2247589
	M	0,2086	0,2072	0,2079	63	0,53221681	1,82184703	66,3582073
	ESM			0,0004	0,1303	-6,6415	6,3827	0,5394

**Annexe 25** : Effets de l'extrait à l'éthanol/eau de *Crinum jagus* à 25(WECj25), 50 (WECj50) ou 100 mg/kg (WECj100) et de la ciprofloxacine 2,5 mg/kg sur la concentration de quelques ions chez les rats diarrhèiques à shigellose

		Témoïn Normal	Témoïn Diarrhèique	Ciprofloxacine	WECj25	WECj50	WECj100
Na <sup>+</sup>	1	150,00	83,33	166,67	133,33	133,33	150,00
	2	150,00	100,00	150,00	116,67	133,33	150,00
	3	133,33	100,00	150,00	116,67	150,00	133,33
	4	133,33	83,33	133,33	133,33	116,67	133,33
	5	150,00	100,00	133,33	100,00	150,00	133,33
	M	143,33	93,33	146,67	120,00	136,67	140,00
	ESM	4,08	4,08	6,24	6,24	6,24	4,08

K <sup>+</sup>	1	5,18	3,93	5,89	4,46	5,00	5,18
	2	5,18	3,57	5,36	4,11	5,18	5,18
	3	5,36	3,75	5,18	4,11	4,82	4,82
	4	4,82	3,93	5,54	4,46	4,82	5,18
	5	5,00	3,57	5,36	4,46	5,18	5,18
	M	5,11	3,75	5,46	4,32	5,00	5,11
	ESM	0,09	0,08	0,12	0,09	0,08	0,07
Ca <sup>++</sup>	1	3,19	2,66	2,71	2,66	2,68	3,03
	2	3,28	2,00	3,01	2,06	2,87	3,10
	3	3,24	2,45	3,10	2,64	2,71	3,24
	4	3,28	2,57	3,30	2,61	3,10	3,28
	5	3,26	2,52	3,19	2,66	2,66	2,93
	M	3,25	2,44	3,06	2,52	2,80	3,12
	ESM	0,01	0,03	0,04	0,01	0,11	0,09
Cl <sup>-</sup>	1	117,02	93,09	114,36	95,74	103,72	109,04
	2	114,36	95,74	109,04	101,06	101,06	111,70
	3	111,70	95,74	106,38	98,40	106,38	106,38
	4	106,38	93,09	111,70	103,72	103,72	103,72
	5	119,68	101,06	101,06	101,06	109,04	109,04
	M	113,83	95,74	108,51	100,00	104,79	107,98
	ESM	2,29	1,46	2,29	1,36	1,36	1,36

**Annexe 26** : Paramètres hématologiques des rats infectés avec *Shigella flexineri* après le traitement à l'extrait hydroéthanolique de *C. jagus* et à la ciprofloxacine, (n=5). WECj25, WECj50, WECj100 : extrait à l'éthanol/eau de *Crinum jagus* à 25, 50 et 100 mg/kg, Cipro : ciprofloxacine 2,5 mg/kg, TN : témoin normal, TD : témoin diarrhéique, (n=5).

		TN	TD	Cipro	WECj25	WECj50	WECj100
Globules blancs (X 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	1	5,41	1,5	3,1	4,8	4,1	5,6
	2	4,8	1,3	4,2	4,5	4,7	4,1
	3	5,2	1,4	4	4,8	6,5	4,9
	4	5,12	4,5	4,4	5	5,8	5,9
	5	5,7	5	3,9	4,86	3,5	5,6
	M	5,246	2,74	3,92	4,792	4,92	5,22
	ESM	0,14	0,87	0,12	0,05	0,70	0,23
Globules rouges (X 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	1	3,79	5,92	7,5	6,15	6,7	9,51
	2	4,68	7,43	6,63	6,95	7,82	7,41
	3	4,13	4,84	6,67	5,85	8,34	7,84
	4	4	7,51	8,24	12,37	8,31	7,74
	5	4,8	6,38	6,29	7,8	5,69	8,77
	M	4,28	6,416	7,066	7,824	7,372	8,254
	ESM	0,19	0,60	0,46	1,50	0,68	0,25
Hémoglobine (g/dL)	1	12,7	10,8	13,6	10,5	12,1	10,6
	2	14,8	12,7	11,7	12,7	12,4	13,2
	3	12	8,2	12	10,7	12,9	13,6
	4	11,57	13,2	14,5	14,2	15,2	11
	5	14,7	10,9	9,1	13,5	13,1	13,1
	M	13,154	11,16	12,18	12,32	13,14	12,3
	ESM	0,8	1,1	1,2	0,8	0,6	0,6
Hématocrite (%)	1	36,2	31,1	39,8	35,2	43	43,6
	2	43,2	39,2	34,8	42	47,1	46,9
	3	37,2	28,4	34,4	43,9	30,6	41,9
	4	38,9	38,8	43,6	43,4	49,9	45,6
	5	44,7	34,1	30,8	38,1	42,6	44
	M	40,04	34,32	36,68	40,52	42,64	44,4
	ESM	1,8	2,3	3,0	1,4	4,4	0,8
Plaquettes sanguines (X10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	1	371	370	366	480	500	834
	2	379	374	360	486	501	830
	3	365	370	362	490	499	818
	4	380	380	375	478	489	822
	5	372	380	346	494,2	497	829
	M	373,4	374,8	361,8	485,64	497,2	826,6
	ESM	3,4	2,6	6,5	3,8	2,4	2,5

Volume Globulaire Moyen ( $\mu\text{m}^3$ )	1	51,1	53	53	54	53	50
	2	59,1	53	52	53	54	53
	3	56,1	50	52	52	53	53
	4	78,3	52	53	57	52	54
	5	65,3	53	49	54	49	56
	M	61,98	52,2	51,8	54	52,2	53,2
	ESM	5,0	0,7	0,9	1,1	0,9	0,7
Teneur Globulaire Moyenne en Hémoglobine ( $\rho\text{g}$ )	1	51,1	53	53	54	53	50
	2	28,4	17,1	17,7	18,2	13,3	17,8
	3	44,3	17	18,1	18,4	15,5	17,3
	4	36,7	17,5	17,6	3,4	18,3	14,2
	5	27,4	17,1	14,4	14,3	17,8	13,3
	M	37,58	24,34	24,16	21,66	23,58	22,52
	ESM	3,8	0,1	0,9	3,5	0,7	0,9
Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine ( $\rho\text{g/dL}$ )	1	51,1	53	53	54	53	50
	2	24,1	32,4	33,8	34,2	35,8	33,9
	3	38,2	34,2	35	35	32,4	32,4
	4	29,1	33,9	33,2	32	35	35,8
	5	22,2	32,1	29,4	36	36,1	34,9
	M	32,94	37,12	36,88	38,24	38,46	37,4
	ESM	3,6	0,5	1,3	0,9	0,8	0,8