

SOMMAIRE

	Pages
INTRODUCTION.....	1
PREMIÈRE PARTIE : Rappels.....	3
I. Physiologie de la diarrhée.....	3
I.1. Rôle physiologique de l'intestin.....	3
I.1.1. Donnée anatomique.....	3
I.1.2. Donnée histologique.....	4
I.2. Digestion et absorption de l'intestin.....	5
I.2.1. Au niveau de l'intestin grêle.....	5
I.2.2. Au niveau du gros intestin.....	6
I.3. Motricité intestinale.....	7
I.3.1. Motricité de l'intestin grêle.....	7
I.3.2. Motricité du gros intestin.....	8
I.4. Contrôle de la motricité intestinale.....	8
I.4.1. Contrôle nerveuse	8
I.4.2. Contrôle hormonale.....	9
II. Étiologie de la diarrhée.....	9
II.1. Cause infectieuse.....	9
II.1.1. Étiologie virale.....	9
II.1.2. Étiologie bactérienne.....	9
II.2.3. Étiologie parasitaire.....	10

II.2.	Cause non infectieuse.....	10
III.	Type de la diarrhée.....	11
III.1.	Diarrhée osmotique	11
III.2.	Diarrhée sécrétoire.....	11
III.3.	Diarrhée par troubles de la motricité.....	11
III.3.1.	Ralentissement du transit intestinal.....	11
III.3.2.	Accélération du transit intestinal.....	12
IV.	Traitement de la diarrhée.....	12
IV.1.	Antimicrobiens.....	12
IV.2.	Antiparasitaire.....	13
IV.3.	Anti sécrétoire et/ou ralentisseur du transit.....	13
IV.4.	Phytothérapie.....	14
DEUXIÈME PARTIE : méthodes et résultats.....		15
I.	Méthodes.....	15
I.1.	Préparation de la plante.....	15
I.2.	Préparation de l'extrait	15
I.2.1.	Choix de la plante.....	15
I.2.2.	Lieu d'étude.....	15
I.2.3.	Extraction.....	15
I.2.3.1.	Décoction.....	15
I.2.3.2.	Macération.....	16
I.2.4.	Calcul de rendement.....	16

I.3.	Évaluation de l'effet antibactérien de l'extrait méthanolique de RAF0306 <i>in-vitro</i>	17
I.3.1.	Lieu d'étude.....	17
I.3.2.	Souche bactérienne.....	17
I.3.3.	Protocole	17
I.3.3.1.	Test de sensibilité avec l'extrait méthanolique	17
I.3.3.2.	Concentration minimale inhibitrice.....	20
I.4.	Évaluation de l'effet anti-diarrhéique <i>in-vivo</i> de RAF0306	20
I.4.1.	Activité de l'extrait méthanolique de RAF0306 sur le transit intestinal.....	20
I.4.1.1.	Choix de l'étude.....	20
I.4.1.2.	Lieu d'étude	20
I.4.1.3.	Animaux d'expérience.....	21
I.4.1.4.	Protocole opératoire	21
I.4.2.	Activité de l'extrait décocté de RAF0306 sur la diarrhée expérimentale des porcelets	23
I.4.2.1.	Choix de l'étude.....	23
I.4.2.2.	Lieu d'étude	23
I.4.2.3.	Type d'étude.....	23
I.4.2.4.	Animaux d'expérience	23
I.4.2.5.	Critère d'inclusion	25
I.4.2.6.	Critère d'exclusion.....	25

I.4.2.7.	Protocole opératoire	25
I.4.3.	Analyse statistique	28
I.4.3.1.	Variables étudiées	28
I.4.3.2.	Hypothèses.....	28
I.4.3.3.	Anova.....	28
I.4.3.4.	Test « t » de student.....	28
I.4.3.5.	Interprétation.....	29
II.	Résultats.....	31
II.1.	Rendement de l'extraction chimique.....	31
II.2.	Résultats pharmacologiques	32
II.2.1.	Diamètre d'inhibition <i>in vitro</i> de la croissance bactérienne.....	32
II.2.1.1.	Diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne en fonction de la quantité de l'extrait.....	32
II.2.1.2.	Concentrations minimales inhibitrices d'EMM en fonction de la souche	35
II.2.2.	Distance parcourue par le charbon et pourcentage d'inhibition de EMM sur le transit intestinal chez la souris	36
II.2.3.	Durée de la diarrhée et pourcentage d'inhibition de la diarrhée.....	37
TROISIÈME PARTIE : Discussion.....		40
CONCLUSION.....		45
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES		

LISTE DES TABLEAUX

	Pages
Tableau I : Liste de quelques antimicrobiens.....	13
Tableau II : Rendement des extractions.....	31
Tableau III : Diamètres d'inhibition de la croissance bactérienne en fonction de la quantité de l'extrait.....	34
Tableau IV : Concentration minimale inhibitrice d'EMM sur les différentes Souches bactériennes testées	35
Tableau V : Distance parcourue par le charbon actif et pourcentage d'inhibition du transit intestinal en fonction du lot traité chez la souris (n=5).....	36
Tableau VI : Durée de la diarrhée en fonction du traitement.....	37
Tableau VII : Nombre d'émission des selles liquides pendant 24h et pourcentage d'inhibition de la diarrhée en fonction du lot traité (n=5).....	38

LISTE DES FIGURES

	Pages
<u>Figure 1</u> : Photo montrant la méthode utilisée pour la mesure de l'intestin et de la distance parcourue par le marqueur	22
<u>Figure 2</u> : Photo montrant la disposition des porcelets pour le test	24
<u>Figure 3</u> : Photo montrant l'administration par gavage du décocté de RAF0306 chez le porcelet.....	27
<u>Figure 4</u> : Photo de l'antibiogramme montrant l'inhibition de la prolifération de <i>E. coli</i> en fonction de la quantité de l'extrait EMM testée.....	32
<u>Figure 5</u> : Photo de l'antibiogramme du lot témoin montrant l'absence de la zone claire autour de disque sur l' <i>Escherichia coli</i>	33

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

API: Appareil et Procédé d'identification des bactéries

ATP : Adénosine Tri phosphate

AMPc : Adénosine mono phosphate cyclique

Ca: Calcium

Cl : Chlore

Cm : Centimètre

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice

D: Diamètre

DCI: Dénomination Commune Internationale

°C: Dégrée Celsius

e.s.m: erreur standard à la moyenne

EMM :Extrait par Macération Méthanolique

GMPc : Guanosine-Monophosphate cyclique

LEPC: Laboratoire d'Evaluation Pharmaco Clinique

g : Gramme

h : Heure

IMRA: Institut Malgache de Recherches Appliquées

IPM: Institut Pasteur de Madagascar

j : Jour

Kg: kilogramme

K: Potassium

LFL:Livestock Feed Ltd

Mg SO4: Sulfate de magnésium

MH: Müller Hinton

mm : Millimètre

ml : Millilitre

μ g: Microgramme

μ l: Microlitre

Na : Sodium

ND: Nom Déposé

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

OIE : Office Internationale de l'Epizootie

p : Probabilité

SNE: Système Nerveux Entéral

% : Pourcentage

< : Inferieur

\leq : Inferieurs ou égale

/ : Par

\pm : Plus ou moins

INTRODUCTION

La diarrhée animale est une maladie digestive largement rependue [1]. Elle constitue la pathologie la plus fréquente et est devenue un motif de consultation vétérinaire [2, 3]. Elle est présente de par le monde, notamment dans les pays où elle persiste et entraîne un taux élevé et rapide de mortalité, engendrant dans son sillage des graves pertes économiques dans le domaine de l'élevage contaminé [4, 5]. La cause de la mortalité c'est surtout la déshydratation. Les principales cibles ont été les jeunes animaux tels les veaux, les porcelets sous sevrage et en post sevrage [6, 7]. Une déclaration officielle à l'Office Internationale de l'Epizootie (OIE) a été le fruit de la vision de la diarrhée devenue problème majeur mondial frustrant les éleveurs et les vétérinaires [5-8].

Madagascar n'est pas épargné par cette situation. Une étude publiée en 2008 l'a montré pour l'économie Malagasy [9]. La grande majorité des éleveurs n'ont pas accès aux médicaments modernes pour plusieurs raisons dont l'insuffisance budgétaire et le manque de services offerts [9]. L'apparition des bactéries, virus, parasites et champignons résistants aux médicaments classiques aggrave la situation [10, 11].

Madagascar dispose plusieurs espèces végétales [9] dont bon nombre de ces plantes ont été usitées empiriquement comme anti-diarrhéique chez les humains mais très peu ont fait l'objet d'étude pharmacologique surtout chez les animaux [12]. Parmi elles figurent la plante que nous avons désigné par le nom de code RAF0306.

Ainsi, pourrions-nous envisager l'utilisation de RAF0306 par sa vertu anti-diarrhéique chez l'homme dans le traitement de la diarrhée animale ?

L'objectif de l'étude est de démontrer scientifiquement l'effet thérapeutique de RAF0306 comme anti-diarrhéique chez les animaux.

Les objectifs spécifiques sont de :

- Préparer l'extrait de la plante.
- Evaluer *in vitro* son effet antibactérien.
- Evaluer son effet sur le transit intestinal des souris.
- Mettre en évidence l'effet du décocté sur la diarrhée des porcelets.

La présente étude comporte trois parties. Dans la première partie, les généralités de la diarrhée. La seconde partie contenant des essais *in vitro* et *in vivo* de l'extrait de RAF0306 et la troisième partie est consacrée aux discussions.

PREMIÈRE PARTIE : Rappels

RAPPELS

I.Physiopathologie de la diarrhée

La meilleure connaissance des phénomènes physiopathologiques de la diarrhée a permis une amélioration incontestable dans sa prise en charge thérapeutique.

On entend par diarrhée, une émission de selles liquides de plus de trois fois et plus de 300g par jour chez l'homme [13-15]. Elle peut être aiguë, apparaissant parfois de façon soudaine avec une durée limitée [16] ou chronique dans une période excédant les trois semaines de selles liquides. Elle est due essentiellement à l'interruption du cycle entéro-systémique de l'eau par dérèglement des processus d'absorption et/ou de sécrétion des électrolytes, essentiellement du sodium [5] et dans certains cas à une hyperstimulation de la motricité intestinale. Toute perturbation de ce bilan hydroélectrique entraîne une réduction d'absorption de fluide et/ou une augmentation de la sécrétion d'eau et d'électrolytes [17, 18]. Cela favorise une augmentation du volume d'eau dans les selles [19].

Chez les animaux d'élevage, la diarrhée se définit comme une augmentation de la teneur en eau des fèces associée à une augmentation de leur fréquence, de leur fluidité ou de leur volume [3]. Les caractéristiques d'une diarrhée varient selon la zone du tube digestif affectée : intestin grêle ou gros intestin. La principale région affectée est l'intestin grêle. Les troubles intestinaux peuvent provoquer toute une série de signes cliniques dont la diarrhée profuse est la plus fréquente [3]. Elle peut être le résultat d'un certain nombre de mécanismes pour choisir le traitement approprié, un diagnostic de certitude est nécessaire.

Les étiologies possibles chez les animaux sont l'excès alimentaire, la consommation d'aliments avariés, les infections entérales : bactériennes, virales, parasitaires et les causes médicamenteuses [4, 5].

I.1. Rôle physiologique de l'intestin

I.1.1. Données anatomiques

L'appareil digestif chez les mammifères est constitué par la bouche, le pharynx, l'œsophage, l'estomac (ou les estomacs chez les poly-gastriques) et l'intestin.

Ce dernier est formé de deux parties anatomiquement et fonctionnellement distinctes, l'intestin grêle et le gros intestin étant séparés par la valvule iléo-caecale. L'intestin grêle est fixe dans sa première portion (le duodénum) et flottant dans sa deuxième portion (le jéjuno-iléon). Le gros intestin, encore appelé côlon, est composé de trois segments que sont successivement le caecum, le côlon et le rectum qui se termine par le canal anal dont le diamètre est supérieur à celui de l'intestin grêle, et contrairement à celui-ci, on n'y trouve plus de villosités.

I.1.2. Données histologiques

Histologiquement, le tube digestif présente 4 couches fonctionnelles de l'intérieur vers l'extérieur [20].

- Une musculaire muqueuse qui est délimitée par un épithélium dont le type correspond à la fonction du segment, composé d'un tissu conjonctif lâche, très vascularisé et se termine par la musculaire de la muqueuse formée de cellules musculaires lisses.
- Une sous-muqueuse, c'est le tissu de soutien de la muqueuse, composée d'un tissu conjonctif plus dense avec des vaisseaux sanguins et des fibres nerveuses (plexus de Meissner) qui commandent les sécrétions du tube digestif.
- Une musculeuse : formée d'une couche interne de cellules musculaires lisses à disposition circulaire, et d'une couche externe à disposition longitudinale qui va permettre les contractions pour le brassage des aliments.
- Une séreuse de nature conjonctive qui est une couche mince conjonctive dans laquelle circulent les vaisseaux et les nerfs qui vont pénétrer dans les couches les plus externes de la paroi.

L'intestin est le siège permanent de mouvements d'eau et d'électrolytes qui résultent de l'équilibre entre sécrétion et absorption.

L'intestin grêle présente une structure musculo-glandulaire de longueur variable selon l'espèce. C'est le lieu privilégié de la digestion, l'absorption des éléments nécessaires à la nutrition et l'élimination. L'intestin grêle comprend le duodénum, le jéjunum et l'iléon. La muqueuse de l'intestin grêle présente des villosités dont

l'épithélium comprend des entérocytes, des cellules mucipares et des glandes de Lieburkühn [21]. Les villosités et les microvillosités de l'intestin grêle constituent une énorme surface d'absorption et d'assimilation des nutriments.

L'intestin dans son ensemble comporte une double innervation:

- Une innervation intrinsèque représentée par le plexus d'Auerbach et le plexus Sous-muqueux de Meissner.
- Une innervation extrinsèque composée de fibres nerveuses parasympathiques stimulatrices de la motricité et des sécrétions intestinales et de fibres nerveuses sympathiques inhibitrices [17, 18].

Globalement le principal rôle de l'intestin est d'assurer la digestion, l'absorption des nutriments et l'élimination des déchets.

I.2. Digestion et absorption intestinale

I.2.1 Au niveau de l'intestin grêle

A ce niveau, la digestion est liée à l'activité sécrétoire exocrine du pancréas et de l'intestin grêle, tandis que les phénomènes d'absorption concernent les aliments assimilables qui traversent alors la muqueuse et gagnent le sang et la lymphe.

Le suc digestif de l'intestin grêle est constitué d'eau, d'électrolytes, de bicarbonates, de mucus et d'enzymes digestifs, en particulier des enzymes protéolytiques et glycolytiques qui achèvent la digestion des protides et glucides respectivement avant leur absorption [22]. Le suc pancréatique et la sécrétion biliaire agissent en conjonction avec ces dernières pour une digestion complète du bol alimentaire. Ainsi les aliments sont transformés en chyme formé de substances directement assimilables : les acides aminés, les acides gras, les monoglycérides.

Les entérocytes assurent la fonction d'absorption par des phénomènes soit actifs faisant appel à une dépense énergétique et nécessitant la présence d'un transporteur membranaire, soit passifs par diffusion simple suivant un gradient électrochimique, ou par courant de convection [23]. Toute absorption est possible grâce au processus critique de la maintenance de ce gradient électrochimique en particulier le sodium à travers l'épithélium. Toutes les cellules doivent maintenir ce gradient grâce aux pompes ioniques Na^+/K^+ à travers la membrane cellulaire.

L'eau est le constituant principal de l'organisme, 80% de l'eau sont absorbée par processus d'osmose. L'absorption de l'eau est totalement dépendante de l'absorption des solutés, surtout le sodium. Il existe en permanence un équilibre entre absorption et excrétion du sodium et donc d'eau, réalisant le cycle entéro-systémique de l'eau et toute rupture du cycle entéro-systémique de l'eau entraîne la diarrhée.

L'absorption des électrolytes a lieu au niveau des villosités avec comme moteur principal le sodium. L'absorption intestinale du sodium peut se faire de trois manières différentes :

- Système de l'antiport Na^+/H^+ .
- Système de Co-transport Na^+/Cl^- .
- Système de Co-transport $\text{Na}^+/\text{glucose}$, $\text{Na}^+/\text{acide aminé}$, $\text{Na}^+/\text{peptide}$ [24].

Cette absorption se fait de manière active à travers la membrane apicale des entérocytes grâce au gradient de concentration entretenu entre le milieu interstitiel et l'espace intracellulaire par la Na^+/K^+ -ATP ase (Adénosine Tri phosphate), localisée sur la paroi baso-latérale des entérocytes, qui expulsent en permanence le sodium de la cellule vers le milieu interstitiel.

Le Chlore suit globalement les mouvements du sodium. Son absorption est passive dans l'intestin proximal et active dans l'intestin distal. Il peut être sécrété activement dans la lumière intestinale par un canal qui lui est spécifique, localisé dans la membrane apicale. L'ouverture de ces canaux est dépendante de l'augmentation de la concentration intracellulaire d'AMPc (Adénosine mono phosphate cyclique), elle-même déterminée par l'activation des protéines G membranaires.

Le transfert d'eau à travers la muqueuse intestinale est un phénomène passif selon un gradient osmotique qui dépend des mouvements des électrolytes [23, 24].

Ce passage d'eau a lieu principalement au niveau de l'espace intercellulaire, à travers l'espace jonctionnel. La sécrétion d'eau dans la lumière intestinale suit le chlore et siège au niveau des cryptes.

I.2.2. Au niveau du gros intestin

C'est au niveau du gros intestin que se fait essentiellement l'absorption d'eau, d'ions Na^+ , Cl^- et de vitamines. Dans sa lumière que se font les transformations d'une partie des nutriments sous l'action de bactéries qui y sont présentes.

L'action des germes aboutit à la formation de métabolites dont des gaz. C'est également la formation des matières fécales [17, 18].

Le rôle du gros intestin est différent selon le régime alimentaire de l'espèce animale considérée. Ainsi chez les carnivores, il est très réduit contrairement aux herbivores chez lesquels il occupe un volume considérable dans l'abdomen et joue un rôle important dans la digestion des substrats alimentaires, en particulier la cellulose dont l'herbivore tire profit contrairement aux carnivores et à l'homme pour qui les fibres végétales représentent surtout un aliment de lest [24].

De manière générale, la digestion et l'absorption intestinale des aliments sont favorisées par la motricité intestinale qui assure en même temps le transit des nutriments.

I.3. Motricité intestinale

I.3.1. Motricité de l'intestin grêle

La motricité intestinale est composée de trois activités, la segmentation rythmique, le mouvement pendulaire et l'onde péristaltique [25]. Ils sont dus à l'intervention des fibres musculaires lisses de la paroi disposées en deux couches, l'une externe composée de fibres longitudinales, l'autre interne comprenant des fibres circulaires.

- La segmentation rythmique est une succession de contractions et de relaxations stationnaires [26]. C'est une contraction circulaire de l'intestin grêle et sert à découper, mélanger le contenu intestinal et à mieux exposer les enzymes à leurs cibles. Elle implique l'inhibition et la désinhibition réciproque des cellules musculaires adjacentes. Ce phénomène est commandé par le Système Nerveux Entéral (SNE).
- Les mouvements pendulaires sont des contractions périodiques et alternées des muscles longitudinaux des côtés opposés [27]. Ces contractions ne modifient pas sensiblement le calibre de l'intestin, mais assurent le glissement des anses les unes sur les autres. Elles n'ont pas de rôle physiologique bien défini et leur importance varie selon les espèces.

- L'onde péristaltique est un phénomène complexe qui coordonne et propage l'activité contractile des 2 couches musculaires. Ce sont des contractions sur la longueur qui permettent un déplacement tout au long de l'appareil digestif. La combinaison de la contraction à un endroit et de la relaxation de l'autre côté permet de propulser le bol alimentaire [28].

I.3.2. Motricité du gros intestin

La progression du contenu colique est relativement lente. Les contractions du gros intestin sont assez différentes de celles observées au niveau de l'intestin grêle. Lorsqu'un potentiel d'action est déclenché en un point du muscle, il est transmis dans toutes les directions aux autres fibres musculaires et se propage comme des ondes. Le comportement moteur du côlon se particularise par certains faits:

- Haustrations ou divisions coliques : ces mouvements du côlon ont pour but de faciliter le malaxage et la réabsorption hydro-sodée. Ils résultent des contractions de la musculature circulaire associées à un raccourcissement des bandelettes coliques.
- Mouvements de propulsion encore appelés mouvements en masse qui ont comme fonction d'assurer le transport d'importantes fractions de la masse fécale, effaçant alors les haustrations [29].

I.4. Contrôle de la motricité intestinale

Le contrôle de la motilité gastro-intestinale implique les mécanismes neurologiques et hormonaux qui sont interdépendants et complémentaires.

I.4.1. Contrôle nerveuse

L'ensemble du tube digestif est innervé par le nerf vague (système parasympathique) et le nerf splanchnique (système sympathique). La contraction des fibres musculaires est modulée par des structures nerveuses extrinsèques et intrinsèques.

- Innervation intrinsèque

Le contrôle neurologique intrinsèque est principalement assuré par le plexus myentérique d'Auerbach, localisé entre la couche musculaire circulaire et la couche musculaire longitudinale et dotée des neurones afférents et efférents excitateurs

(acétylcholine) ou inhibiteur et le plexus sous-muqueux de Meissner. Cette innervation est responsable de l'automatisme de l'intestin [23].

- Innervation extrinsèque

Des fibres nerveuses parasympathiques cholinergiques la composent et causent généralement une stimulation des muscles lisses et l'activité sympathique noradrénergique qui inhibe les muscles [26]. Le fonctionnement neuromusculaire intrinsèque est placé sous le contrôle de l'innervation extrinsèque. L'excitation des fibres cholinergiques (pneumogastriques) se traduit par un effet positif sur la motricité : tonus renforcé, contractions plus énergiques. L'excitation des fibres adrénergiques (splanchniques) provoque au contraire une inhibition de la motricité : diminution du tonus, atténuation ou suppression des mouvements automoteurs.

I.4.4. Contrôle hormonale

De nombreux médiateurs hormonaux modulent également la motilité gastro-intestinale. Ils sont sécrétés par le tube digestif lui-même tel adrénalines.

II. Étiologies de la diarrhée

II.1. Causes infectieuses

II.1.1. Étiologies virales

Quatre-vingt pour cent des diarrhées des animaux d'élevage sont d'origine virale [30]. En médecine vétérinaire, les diarrhées trouvent leurs sources dans divers virus parmi lesquels le rotavirus, les parvovirus et les coronavirus [16].

II.1.2. Étiologies bactériennes

Des complications bactériennes déterminent souvent les liens avec la diarrhée. Certaines souches sont responsables d'affections particulières chez l'homme et l'animal [31], entre autres :

- Les colibacilles entéropathogènes (*Escherichia coli*) sont impliqués dans des infections intestinales chez les animaux du fait qu'elles soient un hôte commensal, présentes normalement dans le tube digestif et peuvent être responsables d'une affection

systématique. Chez les porcs, elles sont responsables de diarrhée néonatale mais aussi de diarrhée post-sevrage [4].

- Les *Salmonelles* [32] sont des bactéries pathogènes responsables de Gastro-entérites qui constituent un problème très important en santé publique dans le monde. Ils sont responsables de pertes animales importantes dans les élevages suite à la contamination notamment de poules pondeuses par *Salmonella gallinarum* ou *Salmonella pullorum*. De très nombreux travaux ont contribué à la compréhension des mécanismes d'interaction des salmonelles avec leurs hôtes animaux. Dans les élevages, les volailles s'infectent par voie orale et l'intestin est le lieu privilégié de colonisation puis de persistance des salmonelles. On assiste également à une colonisation transitoire d'organes systémiques comme la rate et le foie.

Dans l'intestin et plus particulièrement les caeca qui sont deux « sacs » présents dans la partie la plus distale de l'intestin grêle, les bactéries vont pouvoir persister pendant plusieurs semaines à un niveau très élevé. Cette persistance caecale est accompagnée dans la majorité des cas d'une excrétion forte des bactéries dans l'environnement via les fientes contaminées.

- La *Shigelle* est l'une des bactéries causant une infection la plus grave, voire mortelle chez les animaux. Elle est présente normalement dans le tube digestif et peut être responsable de nombreuses affections systémiques telles que la diarrhée chez les agneaux nouveau-nés [8].

II.1.3. Étiologies parasitaires

La diarrhée peut être aussi le symptôme d'une infection par les parasites tels que : l'amibiase intestinale, *Giardia lamblia*, les helminthiases.

II.2. Cause non infectieuse

Il s'agit d'une cause alimentaire de mauvaise digestion [5] et/ou de causes émotionnelles entraînant parfois une accélération du transit.

Les causes les plus fréquentes sont des changements brutaux d'alimentation telle la quantité de lait tété chez les jeunes animaux en post sevrage ou sa composition (changement de ration des mères ou passage sous les tentes sans transition), lors de changement brutal d'alimentation, lors d'excès alimentaires, ou dans le cas d'une ration

contenant des protéines de mauvaise qualité [33], ou parfois des traitements médicamenteuses par exemple les corticostéroïdes, l'érythromycine [34, 35].

Plusieurs de ces agents peuvent agir ou entrer en action simultanément. C'est pourquoi il n'est pas toujours facile en pratique d'identifier le type de diarrhée auquel on a affaire.

Une diarrhée peut résulter d'une sécrétion intestinale accrue, d'un effet osmotique exercé par une molécule non absorbée, d'une accélération du transit, d'une mauvaise digestion, malabsorption pathologique ou bien d'une association de ces éléments [34, 35].

III. Type de la diarrhée

III.1. Diarrhée osmotique

La diarrhée osmotique est hydro-électrolytique, secondaire à la présence intraluminale de substances hyper-osmotiques contenues dans l'aliment ou le médicament ingéré et entraînent un afflux liquide dans la lumière intestinale. Elle cesse à jeun [36]. Les composantes étio-pathogéniques sont les surcharges intestinales, la mal digestion, la malabsorption.

III.2. Diarrhée sécrétoire

Cette diarrhée peut résulter d'une augmentation de l'activité sécrétrice des cellules épithéliales au niveau de la muqueuse intestinale sans altération de sa morphologie et favorise la sécrétion électrolytique dans l'intestin dépassant ses capacités d'absorption. Elle est secondaire à l'inhibition de l'absorption au niveau de l'intestin.

Le plus souvent, il s'agit d'une stimulation du système de l'adénosine-5'-monophosphate cyclique (AMP'c) produit par l'adénylatecyclase ou du guanosine-monophosphate cyclique (GMPc) produit par la guanylatecyclase avec mobilisation du calcium intracellulaire [37, 38].

III.3. Diarrhée par trouble de la motricité intestinale

III.3.1. Ralentissement du transit intestinal

Il est favorable à la prolifération microbienne chronique responsable de plusieurs effets parmi lesquels la diarrhée [39].

III.3.2. Accélération du transit intestinal

Une diarrhée peut être induite par une accélération du transit où le temps nécessaire à l'absorption et à la fermentation n'est pas respecté. Elle se caractérise par des selles de volume modéré, le besoin impérieux. Ce type de diarrhée est supprimé par le jeûne et les frénateurs du transit [40].

En résumé, l'intestin dans son ensemble est le principal siège de la digestion, de l'absorption des aliments et l'élimination des déchets. Ce rôle est le résultat d'une action enzymatique favorisée par une motricité intestinale sous contrôle essentiellement nerveux. Toute perturbation de ces mécanismes qui sous-tendent les fonctions intestinales, se traduit par des diarrhées qui sont d'origines diverses.

IV. Traitement de la diarrhée

Le meilleur traitement d'une diarrhée c'est celui de sa cause. En médecine vétérinaire moderne, de nombreuses molécules ont été mises au point dans le but du traitement de la diarrhée elle-même ou encore de ses origines.

IV.1. Antimicrobiens

Tout usage de substances antimicrobiennes, comme les antibiotiques, peut entraîner la sélection de souches de microorganismes résistants. En ce qui concerne les usages vétérinaires, ils contribuent au problème de la résistance, situation toutefois moins élucidée. L'usage des substances antimicrobiennes en production animale a une importance cruciale pour la santé des animaux. Malgré la diversité des antimicrobiens, la liste ci-après (Tableau I) pourrait tenir compagnie aux usages vétérinaires [15].

Tableau I : Liste de quelques antimicrobiens

Famille	Dénomination Commune International
β-LACTAMINE	Amoxicilline (souvent en association avec acide clavulanique)
TETRACYCLINES	Doxycycline, Oxytetracycline
QUINOLONE	Enrofloxacine
AMINOSIDES	Gentamycine, Streptomycine

IV.2. Antiparasitaires

La grande famille des antiparasitaires nous permet de distinguer ceux que nous jugeons d'une portée efficiente en médecine vétérinaire [15]:

- LE TETRAHYDROPYRIMIDINE
 - ✓ Pyrantel seul : STRONGID®
- LES AZOLES
 - ✓ Benzimidazoles : FENBENDAZOLE®, FEBANTEL®
- LES DERIVES HALOGENOPHENOLIQUES.
 - ✓ Niclosamide : STROMITEN®
 - ✓ Avermectines : IVERMECTINE®

IV.3. Anti-sécrétaires intestinaux et/ou ralentisseurs de transit

Le Lopéramide est un dérivé opiacé synthétique dépourvu d'effets centraux qui agit comme anti-diarrhéique en diminuant l'hydratation du contenu digestif et en ralentissant le transit. Il entraîne une constipation lors de surdosage.

Chez le chien, le médicament vétérinaire contenant ce principe actif est proposé pour le traitement symptomatique de la diarrhée aiguë, en association avec des mesures diététiques (diète de 12 heures et entreprise progressive de l'alimentation). La posologie recommandée est 0,093 mg de Lopéramide par kg de poids corporel, soit 1 comprimé pour 10 kg de poids corporel, matin et soir, par voie orale, pendant 3 jours consécutifs. Le médicament doit être administré en dehors des repas [41].

La biodisponibilité du Lopéramide par voie orale est d'environ 20% chez le chien. Il existe un cycle entéro-hépatique important qui entraîne une distribution quasi exclusive au niveau du tube digestif. Chez le rat, le Lopéramide est métabolisé au niveau du foie et de l'intestin. L'élimination se fait essentiellement par voie fécale sous forme de métabolites et sous forme inchangée. La demi-vie plasmatique varie de 6 à 14h. L'élimination est presque exclusivement digestive.

Le Dipropyline est un antispasmodique pur, ou encore la Sulfguanidine associée avec Alvérine (INTESTIDOG ND) [42].

I.V. Phytothérapie

Il est à noter qu'une intervention rapide est obligatoirement imposable en vue d'un traitement efficace d'une diarrhée afin de supprimer les causes, de stopper les mauvaises conséquences ou surprises.

Madagascar dispose de plusieurs plantes utilisables dans le traitement de la diarrhée, parmi lesquelles [31, 43] :

- *Psidiumgoyavina*(MYRTACEES)
- *Desmodiumsalicifolium*(PAPILIONACEES)
- *Manguiferaindica* Linn. (ANACARDIACEES)
- *Adansoniadigitata* Linn (BOMBACACEES)

DEUXIÈME PARTIE: Méthodes et Résultats

I. Méthodes

I.1. Préparation de la plante

L'étude a porté sur une plante codée RAF0306 appartenant à la famille des *Euphorbiacées*. La partie aérienne a été récoltée dans l'enceinte de l'Institut Malgache de Recherches Appliquées (IMRA) en février 2014. L'identification botanique a été assurée par le professeur RAFATRO, chef responsable du Laboratoire d'Evaluation Pharmaco-Clinique (LEPC) de l'IMRA.

Après la récolte, tiges et feuilles fraîches obtenues de la plante adulte ont été nettoyées à l'eau de robinet et découpées finement pour optimiser l'extraction chimique. Deux types d'extraction ont été réalisés.

I.2. Préparation de l'extrait

I.2.1. Choix de la plante

Le choix de cette plante a été justifié car elle n'étant pas encore utilisée dans la diarrhée animale.

I.2.2. Lieu d'étude

L'étude a été effectuée auprès de l'IMRA, dans le Laboratoire d'Evaluation Pharmaco Clinique (LEPC) durant février 2014.

I.2.3. Extraction

I.2.3.1. Décoction

- Principe :

Une extraction à chaud des principes actifs de la plante a été réalisée, utilisant l'eau comme solvant [44].

- Mode opératoire :

La décoction a été faite selon les indications traditionnelles [45].

Ainsi, 200g de la plante fraîche découpée ont été mis dans une casserole où l'on a ajouté 1L d'eau, portée à ébullition. Celle-ci a été maintenue pendant 15 à 20 min. La solution a été refroidie pendant plus ou moins 12 h puis le décocté a été récupéré dans une fiole

après filtration sur papier filtre Whatman pour éliminer le résidu. Une partie du décocté filtré a été séchée sur une plaque chauffante pour pouvoir calculer le rendement de cette méthode d'extraction. Et le reste a été conservé dans un récipient stérile à température ambiante jusqu'à l'utilisation pour le test chez les porcelets.

I.2.3.2. Macération

- Principe

Cette technique consiste à macérer les plantes dans un solvant pendant quelques jours pour en solubiliser et en extraire les molécules organiques.

- Mode opératoire

Quinze kg de la matière fraîche ont été macérés trois fois avec le méthanol pur pendant 24 h à température ambiante. Les trois solutions obtenues ont été filtrées sur un papier filtre Whatman. Le filtrat a été évaporé sous vide avec un Rotavapor, sous pression réduite. Le résidu sec a été nommé EMM (Extrait par Macération Méthanolique) et conservé par la suite dans un petit tube en verre bouché et étiqueté. La conservation a eu lieu à -4°C et à l'abri de lumière jusqu'à son utilisation [46].

I.2.4. Calcul du rendement

Le rendement de l'extraction a été le rapport entre le poids de l'extrait et le poids de la plante à traiter [47]. Le rendement est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante:

$$R = (P_E \times 100) / P_A$$

Où : **R**= Rendement de l'extrait en pourcentage

P_E = Poids de l'extrait en gramme

P_A = Poids de la plante fraîche en gramme

I.3. Évaluation de l'effet antibactérien *in vitro* de l'extraitméthanolique de RAF0306

I.3.1. Lieu d'étude

L'étude a été réalisée dans le Laboratoire de l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) sis à Avaradoha Antananarivo au mois de juin 2015.

I.3.2. Souche bactérienne

Trois souches bactériennes GRAM négatif, *Escherichia coli*, *Shigella sp* et *Salmonella sonnei*, appartenant toutes à la famille des Entérobactéries ont été utilisées [48].

Les souches utilisées ont été fournies par l'IPM. Ces souches appartenant à la collection de l'institut pasteur (CIP) ont été choisies du fait de leur sensibilité vis à vis des antibiotiques déjà étudiés et pour leurs fréquences élevées rencontrées en pathologies humaine et vétérinaire concernant la diarrhée [49, 50].

I.3.3. Protocole

1.3.3.1. Test de sensibilité avec l'extrait méthanolique

- **Principe**

Un disque imprégné d'une substance à étudier a été placé sur la surface d'une boîte de pétri contenant de la gélose préalablement ensemencée de la bactérie à tester [51].

Le principe actif de cette substance se diffuse radialement dans la gélose réalisant un gradient de concentration décroissante autour du disque [52], la croissance des bactéries augmente jusqu'à la limite où la concentration de ce principe actif est suffisante pour inhiber la croissance. Le diamètre d'inhibition peut être alors mesuré.

- **Technique de diffusion**

Elle a été utilisée pour déterminer la sensibilité des différentes souches testées vis-à-vis de l'extrait [53]. Toutes les manipulations ont été effectuées sous une hotte à flux laminaire en position maximum de ventilation [54]. Pour chacune des souches, un pré-enrichissement a été effectué avant le ré-isolement des souches [55].

- Le ré-isolement a été effectué sur le milieu Muller Hinton (MH).

A l'aide d'une anse de platine préalablement stérilisée à la flamme du bec bunsen, quelques colonies de la souche bactérienne pré-enrichies ont été prélevées et ensemencées en effectuant des striations serrées à la surface du milieu d'isolement MH stérilement coulée dans une boîte de pétri. L'ensemencement terminé, toutes les boîtes ont été refermées et immédiatement placées en position renversée à l'étuve pour incubation pendant 24 h.

- Identification et confirmation des souches

Une coloration Gram a été réalisée pour l'identification des souches testées. L'identification a été confirmée à l'aide du test API20E (Appareil et Procédé d'Identification des bactéries telles que l'entérobactérie et autres bactéries gram négatifs).

- Préparation des suspensions d'inoculum

Une colonie bien isolée issue d'une culture de 18-24 h a été introduite dans un tube à essai contenant 10ml d'eau physiologique [56]. Les colonies ont été émulsionnées sur le bord du tube en dehors de l'eau puis peu à peu dans le liquide. L'inoculum a été fait de telle sorte que leur turbidité fût approximativement égale à 0,5 Mac Farland (tube standard servant à mesurer la turbidité) permettant ainsi d'obtenir des suspensions bactériennes fraîches de 10^8 germes/ml. Cet inoculum a été utilisé pour ensemencer les boîtes d'expérimentation et à inoculer les bouillons de MH [55]. Toutes ces manipulations ont été effectuées dans une ambiance stérile le plus strictement possible.

- Ensemencement sur des milieux MH gélosés

L'ensemencement a été fait selon la technique de stries serrées avec un écouvillon stérile. La suspension bactérienne a été étalée sur la gélose MH à la veille de l'expérience [57]. Chaque boîte a été ensemencée avec l'inoculum d'une seule souche à raison de trois boîtes par souche. L'écouvillon a été introduit dans le tube contenant l'inoculum, l'excès a été retiré par pression sur les bords internes du tube avant l'ensemencement de la surface de chaque boîte par des stries serrées. Une fois la surface couverte, l'écouvillon a été jeté et la boîte a été mise à sécher quelques minutes près de la flamme, puis les boîtes recouvertes de leurs couvercles ont été mises à l'incubation 24 h à l'étuve [54].

- Préparation de la solution mère 500mg/ml

La solution mère a été préparée avec l'extrait EMM et dissout dans du méthanol (96°) puis dilué avec de l'eau distillée pour que le taux final en méthanol soit 20% et pour avoir une concentration de 500mg/ml.

- Préparation des disques et dépôt des extraits

Des disques en papier stériles, de 6 mm de diamètre, ont été préparés et repartis en groupe de témoins imprégnés de méthanol 20% et en groupe de traités imprégnés de RAF0306 à la concentration de 500mg/ml [57].

Pour le groupe de référence, des disques imbibés de gentamycine (15 μ g/disque), de ciprofloxacine (5 μ g/disque) et d'acide nalidixique (30 μ g/disque) ont été choisis. Trois volumes différents ont été utilisés pour l'extrait de RAF0306 : 20 μ l, 40 μ l et 60 μ l correspondant respectivement à 10, 20 et 30mg d'extrait/disque et les disques ont été ensuite déposés soigneusement sur la gélose déjà ensemencée des souches bactériennes.

- Incubation

Le milieu ensemencé a été incubé à 37 °C à l'étuve pendant 18-24 h.

- Lecture des résultats

Les diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse et la moyenne des diamètres d'inhibition a été calculée [58].

- Expression des résultats

L'activité antibactérienne a été exprimée en diamètre (D en mm) de zone d'inhibition autour de chaque disque.

Le paramètre à étudier a été le diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne.

La classification des diamètres de croissance de la souche a été comme suit [59] :

- Très résistant avec un diamètre $D < 8$ mm
- Moyennement résistant avec $8\text{mm} \leq D \leq 14$ mm
- Peu résistant avec $D > 14$ mm

I.3.3.2. Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) par dilution

- Principe

C'est la plus faible concentration observée d'une gamme des dilutions d'antibiotique capable d'inhiber toute croissance bactérienne visible après 18 à 24 h d'incubation à 37°C [60].

- Technique

Une solution mère a été préparée avec l'extrait EMM solubilisé dans du méthanol 20% pour avoir une concentration égale à 500 mg/ml.

À l'aide d'une pipette graduée, 1ml de la solution mère a été prélevé et introduit dans un tube à essais. Puis, 0,5ml de cette solution mère a été prélevé et introduit dans un deuxième tube contenant déjà 0,5ml de bouillon de MH. Après agitation de la nouvelle solution ainsi formée, l'opération a été renouvelée jusqu'à obtention d'une dilution de 1/128, le dernier prélèvement étant rejeté. Une série de dilutions 1/2, 1/4 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 ,1/128 a été faite à partir de la solution mère [58].

Les bactéries ont été mises en culture sur un milieu gélosé pendant 18 à 24 h puis mises en suspension dans une eau physiologique stérile. Ensuite, chaque série de dilution a reçu 0,5ml de la suspension. Après 24 h d'incubation à 37 °C, les CMI ont été déterminées. Les tests ont été réalisés trois fois pour confirmer le résultat.

- Expression des résultats

Le paramètre à étudier a été le CMI.

Le premier tube de la série de dilution dépourvu de la croissance bactérienne de la souche utilisée indique la concentration minimale inhibitrice de l'extrait.

I.4. Évaluation de l'effet anti-diarrhéique *in vivo* de RAF0306

I.4.1. Activité de l'extrait méthanolique de RAF0306 sur le transit intestinal

I.4.1.1. Choix de l'étude

Le test a été effectué afin de déterminer l'effet de l'extrait RAF0306 sur le transit intestinal en utilisant la suspension du charbon végétal comme traceur [61].

I.4.1.2. Lieu d'étude

Cette phase de notre expérimentation s'est déroulée au laboratoire de bactériologie de l'IMRA.

I.4.1.3. Animaux d'expériences

Des souris, de souche SWISS, de sexe mâle ou femelle, pesant entre 20 à 25g ont été utilisées pour ce travail. Ces animaux ont été élevés dans l'animalerie de l'IMRA. Ils ont été nourris avec de la provende LFL (LivestockFeed Ltd) et ont reçu de l'eau à volonté. Lors de l'expérience, ils ont été placés par cinq dans des cages équipées d'abreuvoirs.

Les animaux ont été mis à jeun 24 h avant l'expérience mais ont eu accès libre à l'eau.

Le choix est porté sur la souris par rapport à son faible coût de revient, sa facilité de manipulation, mais aussi sa sensibilité aux essais thérapeutiques.

I.4.1.3. Protocole opératoire

- Principe

Par application du test du repas d'épreuve, par gavage, contenant du charbon actif comme marqueur l'effet d'un produit sur la motricité intestinale peut être déterminé en mesurant la longueur intestinale parcourue par le marqueur [62].

- Technique

Les souris ont été réparties en lots témoins, traités et lot référence à raison de 5 souris par lot et mises à la diète hydrique 24 h avant le jour de la manipulation [63].

Les 3 lots ont reçu du sulfate de magnésium ($MgSO_4$) la veille de l'expérience. Les animaux du lot témoin ont reçu de l'eau distillée tandis que les animaux du lot traité ont reçu 400mg ou 600mg/Kg d'EMM préparé dans l'eau distillée et administré par voie orale [63]. Le Lopéramide a été utilisé comme produit de référence à la dose de 5mg/kg.

Quarante-cinq minutes après l'administration des produits, une suspension de charbon actif (0,1g/ml) a été administrée à raison de 0,2 ml par voie orale à chaque animal [64, 65].

Vingt minutes après l'ingestion de la suspension du charbon actif, les souris ont été sacrifiées par élévation cervicale [66]. Une laparotomie a été effectuée et l'intestin, du pylore à la jonction iléo-cæcale, a été prélevé. La longueur de l'intestin a été mesurée à l'aide d'une règle graduée en cm (Figure 1) et la distance parcourue par le charbon a été exprimée en pourcentage [67].

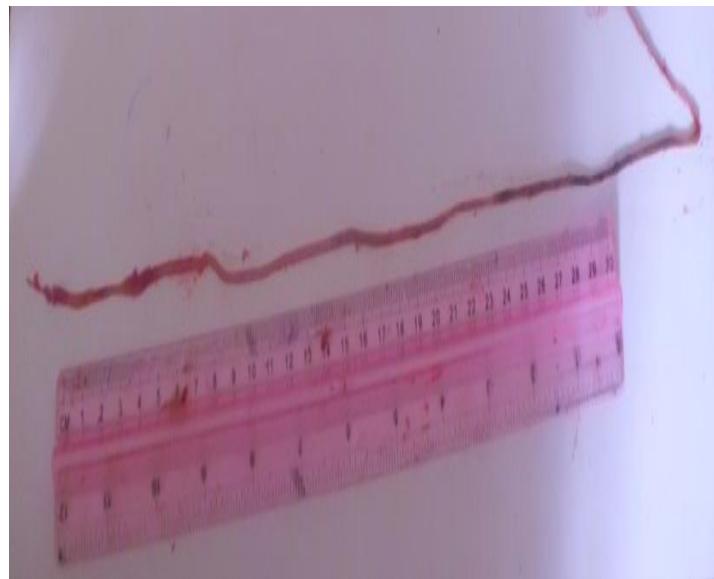


Figure 1: Photo montrant la méthode utilisée pour la mesure de l'intestin et de la distance parcourue par le marqueur (source : auteur)

- Expression des résultats

La longueur totale de l'intestin a été mesurée, suivie de celle parcourue par la suspension de charbon. Les résultats obtenus ont été exprimés en pourcentage d'inhibition du transit.

Les paramètres à étudier ont été la distance parcourue par le transit et le pourcentage d'inhibition du transit de la souris.

I.4.2. Activité de l'extrait décocté de RAF0306 sur la diarrhée expérimentale des porcelets

I.4.2.1. Choix de l'étude

L'étude a été effectuée dans le but de montrer l'activité anti-diarrhéique de l'extrait décocté de RAF0306 chez les porcelets.

I.4.2.2. Lieu d'étude

L'étude a été réalisée chez un éleveur habitant dans la commune d'Ambohitrimanjaka, District d'Ambohidratrimo. Région d'Analamanga.

I.4.2.3. Type d'étude

Il s'agit d'une étude expérimentale prospective.

I.4.2.4. Animaux d'expériences

L'étude a été portée sur 15 porcelets de sexe mâle ou femelle, de race locale, d'environ 3 mois, sevrés, déparasités et ayant un poids moyen de 4kg.

Les porcelets ont été issus d'un élevage amélioré et fermé, en clastration permanente dans des cases munies de murs en briques, au sol cimenté et toiture en tôle (Figure 2), dont les fournisseurs sont des éleveurs locaux.

L'éleveur a distribué de la provende auto-formulée ou parfois fabriquée industriellement. Tous les produits ont été disponibles au niveau des marchés locaux.



Figure 2: Photo montrant la disposition des porcelets pour le test (source : auteur)

I.4.2.5. Critères d'inclusions

Une anamnèse suivie d'un examen clinique a été réalisée avant l'expérience afin de vérifier la santé des animaux et surtout de vérifier si les porcelets n'ont reçu aucun traitement anti-diarrhéique ou antimicrobien auparavant. Seuls les animaux en bonne santé et n'ayant reçu aucun traitement anti-diarrhéique et/ou antimicrobien ont été sélectionnés.

I.4.2.6. Critères d'exclusions

Tous porcelets non déparasités et/ou diarrhéiques ont été exclus.

Les essais ont été démarrés lorsqu'aucun signe inquiétant n'a été relevé. Tous porcelets ont reçu le consentement des propriétaires.

I.4.2.7. Protocole opératoire

- Principe

L'effet anti-diarrhéique d'un produit peut être étudié sur une diarrhée expérimentale provoquée avec le sulfate de magnésium à la dose de 4g/kg de poids vif chez les porcelets [68].

- Technique

Les animaux sélectionnés ont été répartis en 3 lots de 5 porcelets. Ils ont été numérotés afin de permettre leur identification. Les animaux ont été mis à jeun 24 h avant l'expérience mais ont eu accès libre à l'eau [71].

Chaque porcelet a subi en début d'expérience une pesée pour le calcul de la quantité de $MgSO_4$ et de Lopéramide à administrer. Le sulfate de magnésium a été dilué dans de l'eau distillée et administré dans un volume de 250ml/porcelet.

Dès l'apparition de la diarrhée chez les porcelets après l'administration de $MgSO_4$, le traitement a commencé. Les animaux du lot témoin ont reçu de l'eau distillée alors que ceux du lot traité ont reçu le décocté de RAF0306 précédemment préparé (Chap. I.2.3.1.) par gavage (Figure 3) à la dose de 750ml par porcelet par jour répartie en 3 prises conformément à l'utilisation [69]. Le Lopéramide (*IMODIUM* ®) a été donné

par voie orale chez les animaux du lot référence [70]. A cause du problème des porcelets disponible, nous n'avons pas pu utiliser un lot de porcelet sans diarrhée.

Après le traitement, l'animal a été placé dans un box individuel afin de pouvoir compter la fréquence d'émission de selles liquides ou molles et la durée de la diarrhée.

L'observation des animaux a été réalisée jusqu'à l'arrêt de la diarrhée.



Figure 3: Photo montrant l'administration par gavage du décocté de RAF0306 chez le porcelet (source : auteur)

- Expression des résultats

Les nombres de fèces molles ou liquides excrétées par chaque lot de porcelets jusqu'à l'arrêt de la diarrhée ont été comptés et comparés avec celui du lot témoin montrant 100% de diarrhée, ainsi que la durée de la diarrhée pour chaque lot.

Les paramètres à étudier ont été la durée et le nombre d'émission des selles liquides des porcelets pendant 24h.

I.4.3. Analyse statistique

Les données obtenues ont été exprimées en moyenne \pm e.s.m (erreur standard à la moyenne) avec $n = 5$ expériences et statistiquement analysées par Anova. Le test "t" de Student a été utilisé pour comparer les moyennes des différents groupes. Une valeur de $p < 0,05$ a été considérée comme une différence statistiquement significative.

I.4.3.1. Variables étudiées

- La distance parcourue par le charbon actif
- Le pourcentage d'inhibition du transit intestinal
- La durée de la diarrhée des porcelets
- Le nombre d'émission des selles liquides des porcelets pendant 24h.

I.4.3.2. Hypothèses

L'hypothèse a été nulle (H_0) s'il n'y a pas eu de différence entre les moyennes des lots (témoin, référence et extrait) mais elle a été alternative (H_1) contrairement à H_0 s'il y a une différence entre les moyennes des lots.

I.4.3.3. Anova

Anova a été utilisée pour comparer les moyennes des deux groupes afin d'inférer une relation entre les variables étudiées et pour permettre de rejeter ou non l'hypothèse nulle, de prendre une décision quant à la valeur de cette hypothèse (vraie ou fausse).

I.4.3.4. Test « t » de Student

Le test « t » de Student a été un test de comparaison de deux moyennes selon les démarches suivantes:

- Ranger les valeurs sous forme de tableau. Noter le nombre N1 de données de la première série et N2 celui de la deuxième série.
- Calculer les moyennes et les écarts types de chacune des séries à partir des formules suivantes:

$$\text{Moyenne} = \frac{\sum x_i}{N}$$

$$\text{Ecart type} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \text{moyenne})^2}{N-1}}$$

1- Calculer la variance totale

$$S^2 = \frac{(N_1 \times \sigma_1^2) + (N_2 \times \sigma_2^2)}{(N_1 + N_2) - 2}$$

2- Calcul du t de Student

$$t = \frac{|moyenne_1 - moyenne_2|}{S \sqrt{\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2}}}$$

- Comparer le « t » calculé au “t” de la table, avec un degré de liberté $v = N_1 + N_2 - 2$

1.4.3.5. Interprétation

Si la valeur de p a été inférieure à un seuil préalablement défini à 0,05, l'hypothèse nulle a été rejetée, et le résultat du test a été déclaré statistiquement significatif. Dans le cas contraire, si la valeur de la p est supérieure au seuil, l'hypothèse nulle n'a pas été rejetée.

Si la valeur de la p a été inférieure à un seuil préalablement défini à 0,05, il y a en vue une différence significative entre les moyennes des lots témoin négatif et le lot traité avec l'extrait. Le résultat du test a été déclaré statistiquement significatif.

Ce qui signifie, l'extrait présente un effet sur la motilité intestinale des souris et aussi sur la diarrhée sécrétoire des porcelets.

Dans le cas contraire, si la valeur de la p a été supérieure au seuil, la différence statistique n'a pas été significative.

Ce qui a voulu dire que le lot témoin négatif et le lot traité avec l'extrait ont été identique signifiant que l'extrait n'a pas eu d'effet sur la motilité intestinale des souris et sur la diarrhée sécrétoire des porcelets.

II. Résultats

II.1. Rendement de l'extraction chimique

Le rendement se calcule par rapport au poids total de la plante fraîche de RAF0306. Nous réalisons deux extractions aqueuses : décoction et macération. Les rendements de ces deux méthodes d'extraction sont présentés sur le tableau II.

Tableau II : Rendement des extractions

Extrait	Rendement (%)
Décocté	5
Méthanolique	2,11

L'extraction à froid par macération dans méthanol présente un rendement assez faible par rapport à l'extraction à chaud par décoction aqueuse. La première méthode donne un rendement de 2,1% tandis que par décoction aqueuse, un rendement de 5% a été obtenu.

II.2. Résultats pharmacologiques

II.2.1. Diamètre d'inhibition *in vitro* de la croissance bactérienne

II.2.1.1. Diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne en fonction de la quantité de l'extrait.

L'observation de la croissance bactérienne permet d'identifier des zones claires, plus ou moins rondes autour des disques (Figure 4) dont les diamètres varient en fonction de la quantité de l'extrait EMM utilisée (Tableau 3). Ces zones délimitent la croissance bactérienne.



Figure 4: Photo de l'antibiogramme montrant l'inhibition de la prolifération de *E. coli* en fonction de la quantité de l'extrait EMM testée (source : auteur)

Sur cette figure, des zones claires, plus ou moins rondes autour des disques indiquent une inhibition de la prolifération bactérienne et leurs diamètres augmentent proportionnellement à la quantité de l'extrait EMM testée. La première ligne montre le disque avec 10mg d'extrait EMM tandis que la deuxième ligne fait état de 20mg d'extrait et la troisième ligne pressente un disque avec 30mg de l'extrait.

L'extrait méthanolique de RAF0306 inhibe donc de façon quantité-dépendante la prolifération bactérienne.

Les tests effectués avec l'acide nalidixique, la ciprofloxacine et la gentamycine ont montré que ces souches bactériennes sont sensibles à ces antibiotiques de référence.

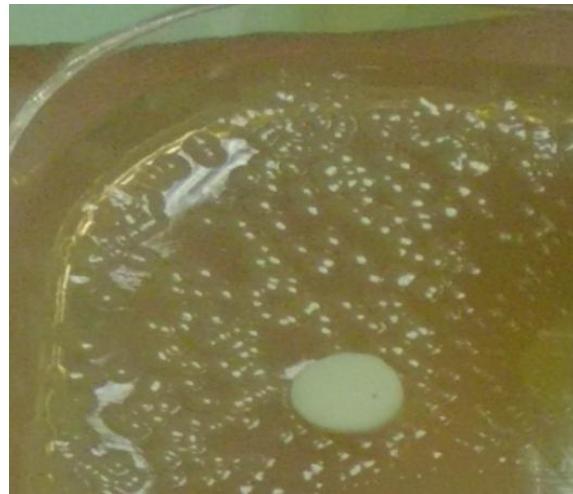


Figure 5: Photo de l'antibiogramme du lot témoin montrant l'absence de la zone claire autour de disque sur *Escherichia coli* (source : auteur)

Cette figure montre qu'*Escherichia coli* pousse sur toute la surface du milieu et autour du disque imbibé de méthanol 20%. Les diamètres de la zone d'inhibition sont tous inférieurs à 8mm pour ce lot.

Tableau III : Diamètres d'inhibition de la croissance bactérienne en fonction de la quantité de l'extrait (n=3)

Quantité d'EMM	Diamètre d'inhibition (mm)			
	0mg	10 mg	20 mg	30 mg
Souches				
<i>Escherichia coli</i>	6	9,2±1,7	16±1,7	20,7±0,6
<i>Shigella sonnei</i>	6	10,8±0,3	17,2±1	20,3±0,6
<i>Salmonella sp</i>	6	12±1,5	20±1,7	22,2±0,8

D'après ce tableau, les diamètres des zones d'inhibition autour des disques imbibés d'EMM sont tous supérieurs à 8mm. Ces résultats montrent que l'extrait EMM inhibe de façon significative la croissance bactérienne. Le diamètre de la zone d'inhibition est augmenté en fonction de la quantité d'EMM testée. L'effet est donc quantité-dépendante. L'inhibition la plus importante s'observe sur *Salmonella sp* et qu'*Escherichia coli* et *Shigella sonnei* présentent des diamètres d'inhibition à peu près semblables.

II.2.1.2. Concentrations minimales inhibitrices d'EMM en fonction de la souche

Les CMI de l'extrait méthanolique de RAF0306 sur les différentes souches bactériennes testées sont montrées sur le tableau IV.

Tableau IV: Concentrations Minimales Inhibitrices d'EMM sur les différentes souches bactériennes testées

Souches	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella sp</i>	<i>Shigelle sonnei</i>
CMI (mg/ml)	31,25	31,25	7,81

Ces tests ont permis de déterminer la CMI de EMM sur les différentes souches bactériennes testées. Elle est de 31, 25mg/ml sur *Escherichia coli* et *Salmonella sp* et de 7,81mg/ml sur *Shigelle sonnei*.

Escherichia coli et *Salmonella sp* présentent donc une sensibilité identique à l'extrait méthanolique de RAF0306 tandis que *Shigella sonnei* en est la plus sensible.

II.2.2. Distance parcourue par le charbon et pourcentage d'inhibition de EMM sur le transit intestinal chez la souris

L'extrait méthanolique de RAF0306 et le Lopéramide réduisent la distance parcourue par le charbon actif par rapport à celle des animaux témoins (Tableau V). Ils inhibent donc le transit intestinal. L'effet inhibiteur d'EMM sur le transit intestinal est proportionnel à la dose utilisée chez la souris.

Tableau V: Distance parcourue par le charbon actif et pourcentage d'inhibition du transit intestinal en fonction du lot traité chez la souris (n=5)

Traitement	Distance parcourue par le charbon (cm)	Pourcentage d'inhibition du transit (%)
MgSO ₄ (4g/kg)	43,2±4,5	0
MgSO ₄ + Loperamide (5mg/kg)	13,6±3,6 (p<0,05)	70,7
MgSO ₄ + Extrait (400mg/kg)	33,8±3,7 (p<0,05)	24,5
MgSO ₄ + Extrait (600mg/kg)	22,6±5,0 (p<0,05)	47,4

Mg SO₄ : sulfate de magnésium

La distance parcourue par le charbon actif est de 43,2±4,5cm, soit 87,10% de la longueur totale de l'intestin chez les animaux témoins. Elle est de 13,6±3,6cm chez le lot traité avec le Lopéramide (5mg/Kg) et de 33,8±3,7cm et de 22,6±5,0cm chez les lots traités avec EMM respectivement avec la dose de 400mg/Kg et 600mg/Kg. Ces valeurs sont statistiquement différentes ($p < 0,05$) par rapport à celle des animaux témoins. Ces deux produits ralentissent donc le transit intestinal.

En considérant qu'il n'y ait aucune inhibition du transit intestinal chez les animaux témoins, la distance parcourue par le charbon actif est donc de 100% chez eux. Le Lopéramide à 5mg/Kg inhibe donc de 70,7% le transit intestinal. Cette inhibition est de 24,5% et de 47,4% chez les lots traités respectivement avec 400mg/kg et 600mg/Kg de EMM.

II.2.3. Durée de la diarrhée et pourcentage d'inhibition de la diarrhée

Le sulfate de magnésium provoque une diarrhée caractérisée par une émission fréquente de selles liquides, $13\pm1,5$ pendant 24h. Le Lopéramide et le décocté de RAF0306 permettent de réduire la durée de la diarrhée (Tableau VI) et le nombre des selles liquides pendant 24h (Tableau VII).

Tableau VI: Durée de la diarrhée en fonction du traitement (n=5)

Traitement	Durée de la diarrhée (h)
Témoin	24
Lopéramide (5mg/kg)	2
Décocté (750 ml/animal)	6

Les résultats rapportés dans ce tableau montrent que le décocté de RAF0306 réduit très significativement la durée de la diarrhée. Elle est d'environ 6h pour les porcelets traités contre 24h pour les animaux témoins rendus diarrhéiques par administration de sulfate de magnésium. Pour les animaux traités avec le Lopéramide, la diarrhée ne dure qu'en moyenne 2h.

Tableau VII: Nombre d'émission des selles liquides pendant 24h et pourcentage d'inhibition de la diarrhée en fonction du lot traité (n=5)

Traitement	Nombre d'émission des selles liquides pendant 24h	Pourcentage d'inhibition de la diarrhée (%)
Témoin	15,5±2,5	0
Loperamide (5mg/kg)	4,2±0,8 (p<0,05)	72,9
Décocté (750 ml/animal)	7,2±1,6 (p<0,05)	53,5

Les résultats rapportés dans ce tableau montrent que RAF0306 réduit significativement la fréquence d'émission des selles liquides chez les porcelets rendus diarrhéiques par administration de sulfate de magnésium.

Les observations relevées par lot ont été les suivantes :

- Pour le lot témoin

Les porcelets ont émis des selles liquides irrégulièrement environ 3h après la réception de MgSO₄. A cause de la difficulté du gavage pour un porcelet de ce lot témoin, la quantité de MgSO₄ administrée n'était pas suffisante ; ce qui est à l'origine du retard d'apparition de la diarrhée pour cet animal. Elle apparaissait 6h après l'administration.

- Lot traité avec le Lopéramide

Après la provocation de la diarrhée et après l'emploi du médicament de référence, la durée et le nombre d'émission de selles liquides sont largement inférieurs à ceux du lot témoin. Pour ce lot, la diarrhée n'a duré qu'environ 2h et le nombre d'émissions de selles liquides est de 4 en moyenne pendant 24 h.

- Lot traité avec le décocté de RAF0306

Les entités de ce lot ont été traitées avec le décocté de RAF0306 à la dose de 750ml par porcelet par jour, répartie en 3 prises jusqu'à la fin de la diarrhée. Chaque prise est espacée de 4h. Les variables étudiées ont été évaluées après chaque prise du décocte. Après la première prise, la majorité des porcelets ont encore émis des selles à consistance liquide.

Après la deuxième prise, la consistance est devenue pâteuse et la diarrhée s'est arrêtée environ 2h après cette 2^e prise, avec un nombre total de 7 selles en moyenne pendant 24h.

Les résultats obtenus sur la diarrhée expérimentale provoquée au sulfate de magnésium montrent que le décocté RAF0306 inhibe la diarrhée chez les porcelets de façon significative.

Le test d'évaluation statistique utilisé est ANOVA puis appuyé par le test de Student.

Interprétation :

Le degré de la diarrhée a été évalué par rapport à sa durée et au pourcentage de la fréquence d'émission des selles liquides par porcelet. Ces variables ont été des éléments suffisants pour notre étude et retenus par le modèle statistique afin d'expliquer l'efficacité du décocté de RAF0306.

D'après le test ANOVA, le traitement avec le décocté RAF0306 lors des essais a permis de réduire significativement le nombre d'émissions des selles liquides pendant 24h ($p<0,05$). La plante présente donc un effet thérapeutique sur la diarrhée.

Avec les deux doses utilisées, le Lopéramide présente un effet thérapeutique plus important et plus rapide que le décocté de RAF0306 sur la diarrhée expérimentale provoquée au sulfate de magnésium. Cette efficacité pourrait être due au fait que le médicament de référence est une molécule pure. Mais à travers nos résultats, le Lopéramide peut être remplacé par le décocté de RAF0306 dans le traitement de la diarrhée.

TROISIÈME PARTIE : DISCUSSION

DISCUSSION

Ce travail a pour objectif de valoriser scientifiquement l'activité anti-diarrhéique de l'extrait de RAF0306 (EUPHORBIACEES). La plante est utilisée traditionnellement pour le traitement de la diarrhée chez l'homme. Mais son utilisation chez les animaux d'élevage n'a jamais été étudiée.

Pour atteindre cet objectif, nous avons effectué des tests *in vitro* sur 3 souches d'entérobactérie différentes, responsables de la diarrhée, pour déterminer l'activité antibactérienne de RAF0306 et des tests *in vivo* chez la souris pour étudier son effet sur le transit intestinal et chez les porcelets pour évaluer son effet sur la diarrhée osmotique provoquée au sulfate de magnésium.

Le rendement d'extraction chimique a été calculé à partir du poids total de la plante fraîche et l'extrait obtenu. L'extraction par décoction de la partie aérienne de RAF0306 a donné un rendement 3,5 fois moins important que celui trouvé par *Soroet al.* en 2009 [72] utilisant le même protocole d'extraction pour les écorces de *Ximenia americana*. La différence de rendement pourrait être due aux parties de la plante utilisée. L'extraction par décoction a donné un rendement plus important que l'extraction par macération méthanolique de RAF0306. Cette différence pourrait s'expliquer par la technique d'extraction à chaud pour la décoction et à froid pour la macération et à la différence de polarité de solvants utilisés.

La diarrhée est une maladie très répandue dans le monde et aussi considérée comme un des problèmes fondamentaux des animaux d'élevage. Ceci a été prouvé par des faits survenus dans le monde et engendrant l'augmentation du taux de mortalité et de morbidité. Les cibles les plus vulnérables à cette maladie ont été les jeunes animaux.

La diarrhée épidémique porcine ou DEP a épargné l'Amérique jusqu'en 2013 mais elle est réapparue avec un taux de mortalité préoccupant de 100% chez les porcelets [6-7]. Au Québec en 2000, un taux de mortalité de 30-50 % a été relevé, suivi d'une recrudescence du taux de diarrhée [4, 8]. En Coré du sud où la diarrhée a frappé et a provoqué une réduction de 25% de l'effectif d'élevage [6].

Les résultats obtenus lors de cette étude indiquent que l'extrait méthanolique de RAF0306 inhibe la croissance de 3 souches bactériennes utilisées et l'importance de l'inhibition est proportionnelle à la quantité testée.

Ce qui indique que l'extrait contiendrait une ou plusieurs molécules capable(s) d'inhiber la prolifération bactérienne et que l'inhibition de la croissance bactérienne augmente avec la quantité du principe actif du produit. Parmi ces 3 souches, c'est la *Salmonelle* qui est la plus sensible à RAF0306 avec une zone d'inhibition plus importante. *Escherichia coli* et *Shigella sonnei* présentent la même sensibilité à l'extrait méthanolique de RAF0306. Elles sont donc sensibles à l'extrait méthanolique de RAF0306. D'après nos résultats, ces souches sont sensibles à l'acide nalidixique, à la ciprofloxacine et à la gentamycine.

Les plantes de la famille d'*Euphorbiacées* ont été largement et universellement usitées en médecine traditionnelle pour guérir bon nombre de maladies [73]. Plusieurs études ont mis en exergue la présence des composés poly-phénoliques (tannin, flavonoïdes), la terpénoides (diterpènes et triterpènes) dans cette famille d'*Euphorbiacées* [74]. Les flavonoïdes possèdent plusieurs activités pharmacologiques [75]. Des études pharmacologiques ont montré que les tannins possèdent une activité anti-diarrhéique et une propriété antibactérienne [74-76]. D'autres plantes de cette famille sont aussi douées de cette activité telles *Phyllanthus niruri*, *Phyllantusschum* et *Phyllanthus thann*[77]. Puisque RAF0306 appartient à la famille d'*Euphorbiacée*, il est fort probable selon le principe de chimio-phyllo taxonomique qu'elle contienne ces composés chimiques qui pourraient être à l'origine de son effet inhibiteur de la croissance bactérienne [75, 78].

L'effet de RAF0306 sur les germes témoigne son pouvoir antimicrobien avec un spectre d'action antibactérien au moins sur trois souches [75, 79].

L'extrait méthanolique de RAF0306 possède un pouvoir antiprolifératif bactérien. Sa faible CIM sur *Shigella sonnei* est d'une grande importance dans le soin de la santé animale, car il peut être utilisé comme une alternative aux antibiotiques dans le traitement des infections dues à ce micro-organisme qui est la cause fréquente de la diarrhée. Toutefois, son pouvoir antiprolifératif bactérien est moins important que celui des antibiotiques de référence utilisés comme l'Acide Nalidixique, la Gentamycine et la Ciprofloxacine. Cette activité moindre de l'extrait méthanolique de RAF0306 par rapport à celui enregistré avec les antibiotiques standards peut s'expliquer par le

fait qu'il est encore à l'état brut non purifié alors que les antibiotiques standards sont des molécules pures.

Le sulfate de magnésium appartient à la famille des laxatifs salins dont l'activité diarrhéique est basée sur son effet osmotique [80], c'est-à-dire par provocation d'un appel d'eau de la paroi intestinale vers le contenu fécal. Il modifie donc la réabsorption d'eau au niveau de l'intestin et augmente le volume de son contenu. A cela s'ajoute l'augmentation secondaire du péristaltisme du fait du mécanisme osmotique décrit plus haut.

L'extrait méthanolique de RAF0306 est capable d'inhiber la diarrhée provoquée avec le sulfate de magnésium. Il pourrait être impliqué sur le mécanisme d'échange d'eau au niveau intestinal favorisant ainsi la diminution du volume du liquide intestinal et empêchant la réabsorption d'eau et de chlorure de sodium. Cette absorption de chlorure de sodium (NaCl) et l'inhibition de la sécrétion de chlore (Cl^-) aboutissent à une faible quantité de liquide du contenu intestinal.

Rappelons aussi que la motricité intestinale a été sous contrôle des mécanismes nerveux. Le système nerveux central contrôle la fonction gastro-intestinale [81].

Le MgSO_4 intervient aussi dans la libération de l'acétylcholine qui est un neurotransmetteur excitateur des cellules musculaires par utilisation du calcium au niveau du site de stockage. Il mobilise le mouvement des calciums extracellulaires et intracellulaires par activation du récepteur muscarinique et augmentation la concentration de Ca^{2+} intracellulaire à l'origine de la contraction cellulaire [82].

Nos résultats montrent que l'administration orale de l'extrait méthanolique de RAF0306 chez les souris provoque un ralentissement dose-dépendant du transit intestinal. L'extrait de RAF0306 à 400 mg/Kg et 600mg/Kg a réduit significativement ($p<0,05$) le transit intestinal par rapport au témoin chez la souris. Selon une étude, l'extrait brut de *Vinca major* exerce un effet anti diarrhéique sur la diarrhée induite par MgSO_4 chez le rat [83]. Il réduit la contraction des muscles lisses déclenchée par plusieurs spasmogènes. RAF0306 pourrait avoir le même effet et empêche la contraction des muscles intestinaux.

La diminution de la contraction des muscles lisses de l'intestin peut expliquer en partie l'action anti-diarrhéique de la plante car la diarrhée se caractérise par une accélération du transit intestinal liquide.

Certains auteurs ont montré que les flavonoïdes ont un effet antispasmodique. Ils inhibent la kinase dans la contraction musculaire et perturbent la mobilisation du calcium intracellulaire par l'inhibition de sa libération du réticulum sarcoplasmique [84]. Ils réduisent ainsi la contraction des muscles lisses déclenchée par plusieurs spasmogènes, mais aussi par un mécanisme lié aux mouvements de calcium à travers les membranes cellulaires [85]. Les flavonoïdes pourraient donc être responsables de cette activité anti-diarrhéique de RAF0306 du fait qu'ils modifient la perméabilité des muqueuses intestinales, inhibent la motilité intestinale et la sécrétion hydro-électrolytique [86].

Un autre chercheur a démontré que les tanins ont été à l'origine de l'effet anti-diarrhéique de *P. karka*[87]. Les tanins rendent la muqueuse intestinale plus résistante et diminuent la contraction du tractus gastro-intestinal [88]. D'après cet auteur, les tanins sont des substances chimiques reconnues pour leur pouvoir de fixation aux protéines avec une tendance à l'imperméabilité des couches externes et la protection des couches sous-jacentes. Ceci est ajouté à leur propriété de retenir le tissu et de drainer les sécrétions excessives pourraient expliquer leur activité anti diarrhéique. De nombreuses plantes contenant ces composées ont des propriétés anti-motilité telle que *Carumcopticum*[89].

Cette étude justifie que l'extrait méthanolique de RAF0306 est capable d'inhiber la diarrhée causée par l'accélération du transit intestinal chez les souris de manière significative.

Quant à l'étude menée chez les porcelets, les essais cliniques ont été effectués sur des porcelets rendus diarrhéiques par l'administration du MgSO₄. Durant le traitement, l'animal a été mis jeun afin d'éviter toute interaction entre l'aliment et l'extrait qui pourrait modifier le profil pharmacologique de ce dernier. Les porcelets ont été déparasités pour éviter toute confusion avec la diarrhée d'origine parasitaire.

L'essai a été effectué en vue de déterminer notamment l'efficacité du décocté de RAF0306 sur la diarrhée expérimentale chez les porcelets. Le degré de la diarrhée a été évalué par rapport à la durée de la diarrhée et le nombre d'émission des selles liquides par porcelet pendant 24h. Ces variables ont été des éléments suffisants pour notre conclusion et retenus par le modèle statistique afin d'expliquer l'efficacité du

décocté de RAF0306. La quantification de selle n'a pas été entreprise au cours de cette étude.

Il est nécessaire de rappeler que durant la manipulation, les animaux ont été très stressés. Certains auteurs pensent que le stress favorise la diarrhée de type émotionnel liée à l'accélération du transit intestinal. Lors d'une émotion, on observe la fermeture du pylore et l'interruption du transit gastro-intestinal. Il y a accélération du péristaltisme gastro-intestinal entraînant ainsi une diarrhée [28]. Cet effet peut changer d'un porcelet à l'autre. Tous ces facteurs pourraient être des sources de variation pouvant expliquer la différence des résultats trouvés.

L'administration par voie orale de MgSO₄ à la dose de 4mg/kg a permis de provoquer une diarrhée franche et persistante chez les porcelets. Elle apparaît à partir de la 3^e h suivant l'administration de MgSO₄ et persiste pendant 24 h. Le traitement avec le Lopéramide ou avec le décocté de RAF0306 réduit significativement ($p < 0,05$) la durée de la diarrhée et le nombre d'émission des selles liquides pendant 24h. L'effet du décocté de RAF0306 peut être attribué à sa capacité de ralentir le péristaltisme intestinal prouvé chez la souris.

Au regard de ces résultats, les porcelets présentent une tolérance au décocté de RAF0306.

CONCLUSION

La diarrhée animale est une maladie non négligeable qui entraîne une lourde perte économique chez les élevages touchés. Cette étude a eu pour but de démontrer scientifiquement l'effet thérapeutique de RAF0306 sur la diarrhée animale.

L'extrait méthanolique a une activité antiproliférative *in vitro* sur les souches d'entérobactéries les plus impliquées dans l'étiologie de la diarrhée et un effet ralentisseur du péristaltisme intestinal *in vivo* chez la souris. Ces deux activités ont expliqué, au moins en partie, la vertu anti-diarrhéique de cette plante. Cette vertu est d'ailleurs confirmée par l'efficacité du décocté entraînant la réduction de la durée et le nombre d'émission de selles liquides chez les porcelets.

Les travaux ultérieurs consisteront à purifier la ou les molécules actives de la plante codée RAF0306 et de réaliser des essais sur d'autres modèles expérimentaux en vue de son développement thérapeutique. Il sera envisageable de faire ce test pour une étude plus approfondie.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Guliukin MI, Iurov KP, Glotov AG, Donchenko NA. Bovine viral diarrhea control in Russian Federation. Article in Russian. PMID: 247726. Pubmed-index for MEDLINE.2013; 58(6): 13-8.
2. Coccililos S, Collins SM. The long term functional consequences of acute infectious diarrhea. *CurrOpinGastroenterol.* DOI : 10.1097 PMID : 2662810.Pubmed in process.2016; 32 (1) :1-6
3. German A, Zentek J. Affections digestives les plus fréquentes : rôle de la diététique. *Nutrition Encyclopedie de la Clinique Canine.* 2005 ; 99-134.
4. Stevenson GW, Hoang H, Schwartz K.J, Burrough ER, Sun D, Madson D, et al., Emergence of Porcine epidemic diarrhea virus in the United States: clinical signs, lesions, and viral genomic sequences. *J VetDiag Inv. LaboratoryDiagnosticians.* 2013. (25):649-54.
5. Grasland B, Anses, Rose N. Situation épidémiologique actuelle de la diarrhée porcine dans le monde et caractéristiques physiopathologiques de la maladie. *Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, Ploufragan, France.* 2014 ; (36) : 15.
6. Pérès S, Desautels C, Lehoux L. Mise au point d'un modèle de diarrhée colibacillaire post-sevrage chez le porc : caractère pathogène de souches d'Escherichia coli entérotoxinogènes F18 positives. *J Rec Porcine en France.* 2001 ; (33) : 255-61.

7. Roy C, Guerin D. Les diarrhées des veaux sous la mère : il est impossible de les éviter totalement, mais sachez les prévenir et les guérir. Comité interprofessionnel "veau sous la mère". 2006 ; 1-8.
8. Daignault A, Bourassa R, Moreau J. La diarrhée chez l'agneau : un sujet à éviter. 2009 ; 1.
9. Randrianasolo J. Caractérisation technico-économique de l'exploitation agricole familiale associant élevage laitier et cultures en semis direct sous couverture végétale permanente dans la région d'Antsirabe, Madagascar. Consolidation d'une poule de développements durables. Programme Inter Reg. Réunion-Océane indien. juillet 2007 ; 24p.
10. Elbadaoui J, Khalid E, Touria Z, Bouharb, Chakir S. Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Teucriumcapitatum L.* et l'extrait de *Silène vulgaris* sur différentes souches testées .laboratoire de l'Environnement et santé, J App Bio. 1997 ; 7481– 92.
11. Iserin P. Larousse : Encyclopédie des plantes médicinales. 2001.
12. Farnsworth NR, Kass C. An approach utilizing information from traditional medicine to identify tumor inhibiting plants. Bulletin de l'OMS. 1986; 66:159.
13. OMS. Maladie diarrhéique. OMS 2013 ; 330. p4. Disponible sur www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/fr/ , consulté le 01/01/2015.
14. OMS. Le traitement de la diarrhée : manuel à l'usage des médecins et autres personnels de santé qualifiés. 4e Rév. Bibliothèque de l'OMS ; 2006 ; ISBN 978 92 4 2593318 1. 1-40.

15. OMS. Déclaration commune de l'OMS et l'UNICEF. Prise en charge clinique de la diarrhée aiguë.WHO/FCH/CAH/04.07.Genève, Mai 2004.2p. Disponible sur Disponible sur www.unicef.org/french/publications/index_21433.html, consulté le 01/01/2015.
16. Carré D. Conduite à tenir devant une diarrhée aiguë. Étiologies. EMC. 2004 ; 9-001-B-76.
17. Hari J, Lakshmi R. Anti-Diarrhoeal Activity of the Aqueous Extract of the Bark of *Cinnamomumzeylanicum Linn* in Mice. J ClinDiagn Res. 2012; 6(2): 215-9.
18. Lakshminarayana M, Shivkumar H, Rimaben P, Bhargava V. Antidiarrhoeal activity of leaf extract of *Moringaoleiferain* experimentally induced diarrhoea in rats. Int J Phytomed. 2011; 3: 68-74.
19. Ukwuani AN., Salihu S, Anyanwu FC, Yanah YM, Samuel R. Antidiarrhoeal activity of aqueous leaves extract of *Vitexdoniana*. Int J ToxicolPharmacol Res. 2012; 4(3):40-4.
20. Daniel EE, Kwan CY, Janssen L. Pharmacological techniques for in-vitro study of intestinal smooth muscles. J PharmacolToxicol. 2001; 45:141-58.
21. Sallet A, Vincent DS. De l'emploi thérapeutique du baobab. Press Med, 1946; 24 : 353.
22. Chèvremont M. Notions de cytologie et histologie. 3ème éd. 1975; 1402 p.
23. Debray C, Geffroy Y. Précis des maladies du tube digestif. Masson- Paris- Newyork- Barcelone- Milan. 1977; 819 p.

24. Bourillon A, Chouraqui JP, Dehan M, Lecevallier J, Chantepie A, Job C, Deslandre et al. Diarrhée aigüe du nourrisson in : Collection pour le praticien : pédiatrie.5e édition. Elsevier Masson ; 2008 ; p: 324.
25. Fabre R, Rougier G. Physiologie Médicale. Librairie Maloine, Paris Sa ; 1957 ; 1080 p.
26. Joly B, Reyneaud A. Les entérobactéries : systématiques et méthodes de diagnostic. Ed Tec et Doc-Londre-Paris-New York ; 2003 ; 356 p.
27. Nour A, Magboul B, Kherri N. Chemical composition of baobab fruit (*AdansoniaDigitata*). Tropical Sciences ; 1980 ; 1 : 22.
28. Bonfils S, Mignon M. Digestion gastro-entérologie. Ed Flammarion, sciences médecine IV ; 1975 ; 196 p.
29. Buttiaux R, Beerens H, Tacquet A. Manuel de techniques bactériologiques. Flammarion ; 1969 ; 707p.
30. Gendrel D. Diarrhées aigües de l'enfant. In : rémyteyssou : diarrhées infectieuses aigües. Elsevier Masson ; 2003 ; 149-61.
31. Komal. Kumar S, Rana AC. Herbal Approaches for diarrhoea. ReviewInt Res J pharmacy; ISSN 2230-8407; 2012; 31-8.
32. Christenson J. *Salmonella* infections. PedRev. 2013; 34(9): 375-83.

33. Virlogeux-Payant I, Lalmanach AC, Beaumont C, Hirt H, Velge P. *Salmonella, de la plante au tube digestif : des recherches pour élaborer des stratégies de lutte. *Salmonella* de la plante au tube digestif.* Innovations Agronomiques ; 2012 ; 24 : 35-48.
34. Flexions J, Escourrou J, Lazortehes F, Pascal JP, Balas D, Duffaut M. *Diarrhée chronique.* Hépato- gastro-entérologie clinique. 3ème Ed. Paris. 2004 ; 144-5.
35. Kayser H. Physiologie - historique - fonctions de nutrition. 2ème Ed. Médicales flammarion ; 1988 ; 1411 p.
36. Xavier H. Diarrhées d'origine Médicamenteuse. Rev Prat. 2008 ; 58 : 1213-6 .
37. Bouhnik Y, Xavier T. Diarrhée, malabsorption. Rev Prat. 2008 ; 18-32.
38. Belaiche J. Pathophysiology of acute infectious diarrhea. Actaendoscopica. 2000; 30 (3): 177-84.
39. Victoria CG, Bryce J, Fontain O, Monsch R. Reducing deaths from diarrhea through oral rehydration therapy. Bull World Health Organ. 2000; 78 (12): 46-55.
40. Camilleri M. Chronic diarrhea: a review on pathophysiology and management for the clinical gastroenterologist. Clinical Gastroenterology Hepatology. Mars 2004; 2(3): 198-206.
41. Fougères. Etude des effets indésirables observés après exposition au Lopéramide. Rapport d'expertise de Pharmacovigilance relatif à l'AVIS CNPV 26 du 04/12/2007. Commission du 4 décembre 2007; 1-10.

42. Baker D. Loperamide: a pharmacological review. *Rev Gastroenterol Disord* 2007; 7 (suppl. 3): s11-8.
43. Sumeet G, Jyotsana S, Gaur RD, Siddiqi TO, Painuli RM. Plants used for treatment of dysentery and diarrhoea by the bhoxa community of district Dehradun, Uttarakhand, India. *J Ethn. 2013*; 992-1002.
44. Andriamahery. Aperçu sur l'utilisation des plantes médicinales par la communauté rurale de la région d'Andasibe. [thèse]. Médecine Humaine Antananarivo, 1994; n°3458.
45. Association Haïti-Cosmos *BG/JF*. Séminaires *de Phytothérapie Moderne*. Novembre 2000. Table des plantes. 24p. Disponible sur www.antenna.ch/documents/FichesPlantes.pdf. consulté le 01/01/2015.
46. Ziku CD. In-vivo evaluation of anti-diarrheal and anti-nociceptive activities of *phragmiteskarkamethanol* extract (whole plant) on animal model. *Inte J Pharmacy Prac Pharmaceutical Sci*; 2015; 2, ISSN: 0976-822: 7-14.
47. Carrée P. Précis de technologie et de chimie industrielle. Ed Ballière, Paris ; 1953 ; p 475.
48. Hermann H, Cier JF. Précis de physiologie. Paris- New York- Barcelone- Milan Masson; 1979; II; 400
49. Lavigne JP. Diarrhées-Diagnostic, techniques et interprétation des examens bactériologiques. Module de Base Microbiologie; 2005.7p.
50. Archambaud M, Clave D. Laboratoire de Bactériologie- Hygiène. Faculté de Médecine Toulouse-Rangueil. 2008; 1-35 p

51. Bauer AW, Kirby WM, Sherris TC, Truck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Am J ClinPathol. 1966; 45: 493-6.
52. Bolou G, N'guessan AC, Coulibaly A, N'guessan JD, Djaman AJ. Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits de *Terminalia glaucescens* *planch.* sur *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium*. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège ; 2011; (80) :772 – 90.
53. Francois D, Ploy. Bactériologie Médicale. Paris Masson; 2007; 554p
54. Ravelomanantsoa AM. Valorisation pharmacologique de *Phytolacca goudotii*(phytolaccaceae) pour le traitement de la Dermatophilose bovine. [Thèse]. Médecine Vétérinaire : Antananarivo ; 2009; p.20
55. Louise M. Etude de la Sensibilité aux Antimicrobiens. Documentation technique extraite des notices techniques commerciales et de différentes publications. 2011; 1-40p.
56. Burnichon N. L'antibiogramme : la détermination des sensibilités aux antibiotiques. Des bactériologies Juin 2003; 29 p.
57. Elamri. Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Teucrium capitatum* L et l'extrait de *Silene vulgaris* sur différentes souches testées. J ApplBiosc. 2014 ; 82:7481– 92
58. Sourabie TS, Nikiema JB, Lega I, Nacoulma OG, Guissou IP. Etude In Vitro De L'activité Antibactérienne D'extraits d'une Plante De La Pharmacopée Burkinabé: Cas d'*Argemone mexicana* L. (Papaveraceae). Int J Biol Chem. Sci. 2010; 4(6): 2009.

59. Ponce AG, Fritz R, Del Valle C, Roura SI. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Soc Food Sci Tech*. Elsevier; 2003; 36: 679-84.
60. Morel AF, Dias GO, Porto C, Simionatto E, Stuker CZ, Dalcol II. Antimicrobial activity of extractives of *Solidagomicroglossa*. *Fitoterapia*. 2006; 77: 453-5.
61. Izzo AA, Capasso R, Pinto L, Di Carlo G, Mascolo N, Capasso F. Effect of *Vanilloid* drugs on gastrointestinal transit in mice. *Br J Pharmacol*. 2001; 132: 1411-6.
62. Fichelle J. Mesure du transit intestinal chez le rat. *J Pharmacol Paris* 2; 1971; 1: 85-6.
63. Mithun SR, Veena N, Akansha C, Hitesh J, Vikramsingh D. Evaluation of Antidiarrheal Activity of Aerial Parts of *Vinca major* in Experimental Animals. *Middle-East J Scie Res*. 2011; 7 (5): 784-8.
64. Marcais – Collado H, Uchida G, Costentin J, Schwartz JC Lecompte JM, Naloxone. Reversible antidiarrhoeal effects of enkephalinase inhibitors. *J Pharmacol*. 1987; 144: 125-32.
65. Brun Y, Wang X-P, Willemot J, Sevenet T, Demenge P. Experimental study of Antidiarrhoeal activity of *Salicairinefundamclin*. *J Pharmacol*. 1998; 12: 30-6.
66. Otimenyin SO, Uzochukwu DC, Spasmolytic and antidiarrhea effects of the bark of *Erythrinasesnegalensis* and root of *Kigeliaafricana*. *Asian J Pharm Clin Res*. 2010; 3; Issue 4: 1-10.

67. Mujumdar GD. Antidiarrhoeal activities of *AzadiachtaindicaL* extract. Ind Drug. 1998; 35 (7): 417- 20.
68. Guillermo G, Gomez, Robert S, Sahdler, Elston S. High Levels of Inorganic Sulfate Cause Diarrhea in Neonatal Piglets1'2'3. Hum and ClinNutr. 2015; 2325-31.
69. Doherty NS. Inhibition of arachidonic acid release as the mechanism by which glucocorticoids inhibit endotoxin induced diarrhoea. Br J Pharmacol. 1981; 73: 549-54.
70. Kamgang R, Zintchem R, Dimo, T, PanjoYewah M, Effets des extraits totaux aqueux de *Mallotusoppositifolium* et d'*Euphorbiahirta*(euphorbiaceae) sur l'activité contractile intestinale du rat. Afr J Sci Tech (AJST). Science and Engineering Series. 2000; 2, 2: 8-11
71. Rabaste C, Turgeon MJ, Rivest J, Bergeron R. Évaluation de l'impact du comportement alimentaire en engrangissement sur le contenu stomacal des porcs mis à jeun avant l'abattage. Projet réalisé dans le cadre des activités du réseau de recherche appliquée en production porcine. Canada. 2002 ; p 11.
72. Soro TY, Traore F, Sakande J. Activité analgésique de l'extrait aqueux de *Ximenia americana* (Linné) (Olacaceae). CR Biologie. 2009; 332 : 371-7.
73. Bruneton J. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Ed Techniques et documentation, Paris ; 1999.
74. Haba H. Etude phytochimique de deux Euphorbiaceae sahariennes. *Euphorbiaguyoniana*Boiss et Reut et *Euphorbiaretusa*Forsk. [Thèse] doctorat en sciences spécialité : chimie.Saharah ; 2008; 10-24.

75. Nweze, Okafor JI, Njoku O. Les activités antimicrobiennes des extraits méthanoliques de *Tremaguineensis* (Schumm et Thorn) et *Morindalucida*Benth utilisés dans nigériane HerbalMedicinal Pratique. J Rec Biot Bio. 2004; 2 (1); 39-46.
76. Pousset JL, Rey JP, Levesque J, Corsaget P, Galen FX. Hepatitis B surface antigen (HBs Ag) in actisationangiotensin-convertig enzyme (ACE) inhibition in vitro by *Combretumglutynosum* perr.5 (Combretaceae), extracts. Phytotherary Res. 1993; 7; 1: 101-2.
77. Myriam F. Etude pharmaco thérapeutique du phyto-médicament Anti-drépanocytaire, propriétés pharmacologiques chez l'animal et efficacité thérapeutique chez l'enfantdrépanocytaire au Chnvo de Ouagadougou. [Thèse]. Pharmacie. Ouagadougou. 2001; 65p.
78. Osadebe PO, Ukwueze SE. Une étude comparative de l'photochimique et propriétés antimicrobiennes de la Nigerian espèces de gui Afrique de l'Est (*Loranthus micranthus*) provenant de différents arbres hôtes. J Rech Biot Bio. 2004; 2 (1); 18 - 23.
79. Igoli JO, Ogaji TA, Tor-Anyiin, Igoli NP. Pratique la médecine traditionnelle Parmi les gens Igede du Nigeria. Partie II. Af J trad, médecines complémentaires et alternatives. 2005; 2 (2); 134-52.
80. Cocchetto D, Levy G. Absorption of orally ad ministered sodium sulfate in humans. J Pharm Sci. 1981; 70:331-3
81. Goyal RK, Hirano I. The enteric nervous system. N Engl J Med. 2003; 334:1106-15.
82. Schiller LR. Antidiarrhoeal Pharmacology and therapeutics. Aliment Pharmacol Ther. 1995; 9: 87-106.

83. Mithun SR, Veena N, Akansha C, Hitesh J, Vikramsingh D. Evaluation of Antidiarrheal Activity of Aerial Parts of *Vinca major* in Experimental Animals. Mid-E J Sci; Res 2011; 7 (5): 784-8.
84. Vitali F, Boina FP, Saija, Antonella S, Antonio T, Fonte G, Claudia P, Beatrice T. Studies on antidiarrhoeal activity of an extract of Wine from Jacquez grapes . Phytotherapy. Res 2005.19: 924-7.
85. Capasso A, Sorrentino R, Capasso F. Inhibitory effects of quercetin and other flavonoids on electrically-induced of guinea pig isolated ileum. J Ethopharmacol. 1991; 34: 279-81.
86. Fisseha S, Workineh S. *In vivo* antidiarrheal and *ex-vivo* spasmolytic activities of the aqueous extract of the roots of *EchinopskeberichoMesfin* (Asteraceae) in rodents and isolated guinea-pig ileum. Inter J Pharmacol. 2003; (2): 110-6.
87. Ziku C. *In-vivo* evaluation of anti-diarrheal and anti-nociceptive activities of *phragmiteskarkamethanol* extract (whole plant) on animal model. Int J Pharmacy Prac Pharmaceutical Sci. 2015; ISSN: 0976-822X.; 2(1): 7-14.
88. Mohammed MS, Mohammed M, Ibrahim H, Shamsu G, Mohammed UK, Patricia IK. Antidiarrhoeal effect of the crude methanol extract of the dried fruit of *Adansoniadigitata* L (Malvaceae). Vet World. 2014; 7(7): 495-500.
89. Barimba, Baghama, Babongo, Bakoya. Pharmacopée et médecine traditionnelles chez les Pygmées du Gabon. Plantesmédicinales .2005; 75p.

VELIRANO

“Eto anatrehan’i Zanahary, eto anoloan’ireo mpikambana ao amin’ny Holafitra Nasionalin’ny Dokotera Veterinera Malagasy sy ireo mpampianatra ahy, mianiana aho fa hitandro lalandava ary hitaiza ny haja amam-boninahitry ny Dokotera Veterinera sy ny asa. Noho izany dia manome toky ary mianiana aho fa :

- a. Hanatanteraka ny asako eo ambany fifehezan’ny fitsipika misy ary hanaja ny rariny sy ny hitsiny ;
- b. Tsy hivadi-belirano amin’ny lalàn’ny voninahitra, ny fahamendrehana, ny fanajana ny rariny sy ny fitsipim-pitondran-tena eo am-panatanterahana ny asa maha Dokotera Veterinera ;
- c. Hanaja ireo nampianatra ahy, ny fitsipiky ny haikanto. Hampiseho ny sitraka sy fankatelemana amin’izy ireo ka tsy hivaona amin’ny soa nampianarin’izy ireo ahy ;
- d. Hanaja ny ain’ny biby, hijoro ho toy ny andry iankinan’ny fiarovana ny fahasalaman’izy ireo sy ho fanatsarana ny fiainany ary hikatsaka ny fivoaran’ny fahasalaman’ny olombelona sy ny toe-piainany ;
- e. Hitazona ho ahy samirery ny tsiambaratelon’ny asako ;
- f. Hiasa ho an’ny fiarovana ny tontolo iainana sy hiezaka ho an’ny fisian’ny fiainana mirindra ho an’ny zava-manan’aina rehetra ary hikatsaka ny fanatanterahana ny fisian’ny rehetra ilaina eo amin’ny fiaraha-monina tsy misy raoraon’ny olombelona sy ny biby ;
- g. Hiezaka hahafehy ireo fahalalana vaovao sy haitao momba ny fitsaboana biby ary hampita izany amin’ny hafa ao anatin’ny fitandroana ny fifanakalozana amin’ny hairaha mifandray amin’izany mba hitondra fivoarana ho azy ;
- h. Na oviana na oviana aho tsy hampiasa ny fahalalako sy ny toerana misy ahy hitondra ho amin’ny fahalovana sy hitarika fihetsika tsy mendrika.

Ho toavin’ny mpiara-belona amiko anie aho raha mahatanteraka ny velirano nataoko. Ho rakotry ny henatra sy ho rabirabian’ny mpiray asa amiko kosa aho raha mivadika amin’izany”.

PERMIS D'IMPRIMER

LU ET APPROUVÉ

Le Directeur de Thèse,

Signé : Professeur RAFATRO Herintsoa

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Le Doyen de la Faculté de Médecine d'Antananarivo,

Signé : Professeur SAMISON Luc Hervé

Name and first name: RAKOTOMALALA Simon Mirana

Thesis Title: SCIENTIFIC VALUE OF TRADITIONAL REMEDIES FOR ANIMAL
TREATMENT OF DIARRHEA

Heading : pharmacology

Number of pages : 45

Number of figures : 05

Number of tables : 07

Number of bibliographicalsreferences : 89

ABSTRACT

Introduction: The encoded RAF0306 plant is traditionally used for the treatment of human diarrhea. The study main objective to provide scientific evidence of its therapeutic virtue and the virtue of studying on animal diarrhea.

Method: Two types of extracts of the aerial part of this plant were prepared. The methanolic used in the antibacterial test and in the test on intestinal transit in mice. In addition, the decoded extract was used in piglets.

Results: the methanolic extract is capable of inhibiting in vitro the proliferation of Escherichia coli, Salmonella sp and Shigella sonnei grown on an enriched agar medium the minimal inhibitory concentration is 7,5 mg/ml for Shigella and 31,25 mg /ml for the other two strains studied. It also slows down the intestinal peristalsis in mice. While the decoction is capable of reducing the duration and water stool emission frequency in piglet.

Conclusion: The antidiarrheal effect of this plant is due to its antibacterial effect and its effect retard intestinal peristalsis. And that the use of decoction of RAF0306 is beneficial in animals in order to reduce the duration of diarrhea and liquid stool transmission frequency.

Keywords: Diarrhea, Activity antibacterial, inhibitor intestinal transit ,Effect purge.

Director of thesis : Professor RAFATRO Herintsoa

Reporter of Thesis : DoctorRAMANITRAHASIMBOLA David

Author'saddress : Lot AJO I 22 AmbohimamanjoAmbohitrimanjaka

Nom et prénoms : RAKOTOMALALA Simon Mirana

Titre de la thèse : VALORISATION SCIENTIFIQUE D'UN REMÈDE

TRADITIONNEL POUR LE TRAITEMENT DE LA DIARRHÉE
ANIMALE

Rubrique : Pharmacologie

Nombre de pages : 45

Nombre de figures : 05

Nombre de tableaux : 07

Nombre de référence bibliographiques : 89

RESUMÉ

Introduction : La plante étudiée est traditionnellement utilisée pour le traitement de diarrhée humaine. L'étude a comme objectifs principaux d'apporter des preuves scientifiques de sa vertu thérapeutique et d'étudier cette vertu sur la diarrhée animale.

Méthode : Deux types d'extraits de la partie aérienne de cette plante ont été préparés. L'extrait méthanolique utilisé dans le test antibactérien et dans le test sur le transit intestinal chez la souris. En outre, l'extrait décocté a été utilisé chez les porcelets.

Résultats : L'extrait méthanolique est capable d'inhiber *in vitro* la prolifération d'*Escherichia coli*, de *Salmonella sp* et de *Shigella sonnei* ensemencées sur un milieu gélosé enrichi. Sa concentration minimale inhibitrice est de 7,5 mg/ml pour *Shigella* et de 31,25 mg/ml pour les deux autres souches étudiées. Il ralentit également le péristaltisme intestinal chez la souris. Tandis que le décocté est capable de réduire la durée et la fréquence d'émission des selles liquides chez les porcelets.

Conclusion : L'effet anti-diarrhéique de cette plante est donc dû à son effet antibactérien et à son effet ralentisseur du péristaltisme intestinal. Et que l'utilisation du décocté de RAF0306 est bénéfique chez les animaux dans le but réduire la durée de la diarrhée et la fréquence d'émission de selles liquides.

Mots clés : Diarrhée, Activité Antibactérienne, inhibiteur du transit intestinal, effet anti diarrhéique.

Directeur de thèse : Professeur RAFATRO Herintsoa

Rapporteur de thèse : Docteur RAMANITRAHASIMBOLA David

Adresse de auteur : Lot AJO I 22 AmbohimananjaoAmbohitrimanjaka