

**RECHERCHES
POUR
LE DEVELOPPEMENT**

Série Sciences Biologiques

N°31-2022

Antananarivo - Madagascar

**Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique**



ISSN 1025 - 3467

**RECHERCHES
POUR
LE DEVELOPPEMENT**

Série Sciences Biologiques

N°31

2022

**RECHERCHES
POUR
LE DEVELOPPEMENT
Série
Sciences Biologiques
N° 31
2022**

Membres du Comité de lecture :

- Pr RAMIARISON Claudine
- Pr RAKOTOARIVELO Marie Laure
- Pr ANDRIAMPARANY Marius
- Dr RAHAINGO-RAZAFIMBELO Marcelline
- Dr RAHARIJAONA Nivoniaina Fahendrena

Ce numéro a été édité avec le concours de
Université d'Antananarivo
et
Centre d'Information et de Documentation
Scientifique et Technique

Toute correspondance concernant les publications
RECHERCHES POUR LE DEVELOPPEMENT
doit être adressée au :

Centre d'Information et de Documentation
Scientifique et Technique
BP 6224 – Email : edition.cidst@gmail.com
Antananarivo - Madagascar

ISSN 1025-3467

NOS PRINCIPALES REALISATIONS

**Fonds Documentaire consultable
gratuitement sur place**

24261 Ouvrages
1584 Titres de périodique

Production documentaire : Fiches techniques
66 thèmes sur l'agriculture et l'élevage

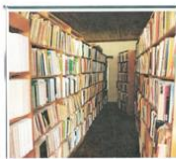
Base de données en ligne : MADADOC
(sur l'Environnement et le Développement Rural)
12642 Références

Base de données bibliographiques : MIREMBY
41537 Références multidisciplinaires

Edition de la Collection
"Revue Recherche pour le Développement"
42 numéros dont :

Série Sciences Biologiques : 25
Série Sciences de l'Homme et Société : 9
Série Sciences Technologiques : 2
Série Médecine : 6

Promotion de l'innovation :
Organisation de l'évènement Science Hack Day :
5 éditions
Mise en place de CATI et FABLAB



MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Centre d'Information et de Documentation
Scientifique et Technique



**Votre partenaire
pour le développement durable
et l'innovation**

21, rue Fernand Kassanga
Andoharano - Tsimbazaza - BP 6224
Antananarivo 101
Tél : (261)20 22 566 37
E-mail : cidst@cidst.mg
Site Web : [http : www.cidst.mg](http://www.cidst.mg)
FB : [facebook.com/cidst](https://www.facebook.com/cidst)

SOMMAIRE

| | |
|--|----|
| Analyse par télédétection de la dynamique hydrogéomorphologique dans la vallée de l'Onive | |
| ANDRIANIRINOLOSOA Tsiarofy, RAZAFIMAHEFA Rasoanimanana | 7 |
| Etudes physico-chimiques et microbiologiques de ressource en eau : Cas de l'Ikopa | |
| RAHAJANAHARIMAMONJY Fabrice Mario, RAZANAMPARANY Bruno, RAMINOSO A Andrianary Lala | 21 |
| Effet antiascaridiose intestinale de <i>Poivrea Phaneropetalla</i>, utilisée traditionnellement dans la Région Boeny | |
| RANDRIAMAHAROA Benjamin, OMARY Housseny, ROUKIA Djoudi RAJAONARISON Jean François | 37 |
| <i>Mantidactylus pauliani</i>, espèce bio-indicateur de la durabilité des cours d'eau d'Ankaratra | |
| ONINJATOVO RADONIRINA Herizo, ANDRIAMAHANTANTSOA Bernard, RAZANAJATOVO Kanto, RABIBISOA Nirhy Harinelina C. | 47 |
| Kobahy, solution innovante pour le traitement des eaux insalubres | |
| VAOSOLOMALALA Yvette Maria, ANDRIAMAMONJISOA Dimbiniala, RALAMBONDRAHETY Rahanira, RAKOTOSAONA Rianasoambolanoro, RANDRIANA Nambinina Richard Fortuné | 57 |
| Métabolites secondaires isolés de <i>Vaccinium secundiflorum</i> Hook (Ericaceae). Une plante anti-diarrhéique, endémique de Madagascar | |
| RASOANIRINA Mampionona Michela, RALAMBOMANANA Dimby , RAZAKARIVONY Andrianambinina, RAMIARISON Hariliva, ANDRIAMBELOSON Herivony Onja, RANDRIANASOLO Rivoarison | 69 |
| La tuberculose bovine dans la station régionale de recherche de Kianjasoa | |
| RAZANANORO Erlina, RAZAFINARIVO Tsirinirina Donnah, MICHELLE Reine Lucie, RASOANOMENJANAHARY Auldine, RAMAROSON Herilantonirina S., MAMINIAINA Olivier Fridolin, HEVIDRAZANA Jean Lys, RANDRIANARIVELOSEHENO Arsène J., RAKOTOMANANA Olga Rachel, RALINIAINA Modestine | 81 |
| Mongroves face à la variabilité climatique et ses enjeux économiques | |
| RAKOTONIRAINY Nianjatiana Esther, RAMANAKOTO Toky Nandrasana | 95 |

| | |
|---|-----|
| Etude de l'effet de l'extrait de <i>Psidium cattleianum</i> sur la diarrhée ANDRIAMAMPIANINA Tianarilalaina, ANDRIAMALALA Solofoniaina, RALAMBONDRAHETY Tsilavina, RANDIMBIVOLOLONA Fanantenainy RANDRIANAVONY Patricia | 109 |
| Infection à <i>Plasmodium vivax</i> chez les enfants dans le district de Vatondry ANDRIANARANJAKA, Voahangy H., RAZAFIARINELINA Mahandry, RAKOTOMANGA Tovonahary A., RAVAOARISOA Elisabeth, RATSIMBASOA Arsène | 112 |
| Performance du système d'identification bactérienne Bis NEG-D dans l'identification des bacilles à Gram négatif RAKOTOVAO-RAVAHATRA Zafindrasoa Domoina, RANDRIATSARAFARA Fidiniaina Mamy, RAKOTOVAO-RAVAHATRA Joely Nirina, RASOARAHONA Jean Roger, RAONIZAFINIMANANA Béatrice, RAKOTOVAO Andriamiadana Luc | 129 |
| The rainy seasons over the west and central part of Madagascar (1979-2017) RAZANATOMPOHARIMANGA Niry Havana | 139 |
| Traitement du sol par les biomasses végétales traitées thermiquement MAHALEO Tahirimanankasina B., LANTOVOLOLONA Jeanne E. R. RASOLOFONIAINA Rolland, RAJERISON Wilson A. | 147 |
| Etude de l'effet de l'extrait d'<i>Annonamuricata</i> sur l'hypertension artérielle ANDRIAMALALA Solofoniaina, ANDRIAMAMPIANINA Tianarilalaina, RABARIMANANTENA H.N., RANDIMBIVOLOLONA Fanantenainy, RANDRIANAVONY Patricia | 155 |
| Performance du système d'identification bactérienne API 20 E dans l'identification des entérobactéries RAKOTOVAO-RAVAHATRA Zafindrasoa Domoina, RANDRIATSARAFARA Fidiniaina Mamy, RAKOTOVAO-RAVAHATRA Joely Nirina, RASOARAHONA Jean Roger, RAONIZAFINIMANANA Béatrice, RAKOTOVAO Andriamiadana Luc | 167 |

ANALYSE PAR TELEDETECTION DE LA DYNAMIQUE HYDROGEOMORPHOLOGIQUE DANS LA VALLEE DE L'ONIVE

par

ANDRIANIRINOLOSOA Tsiarofy⁽¹⁾, RAZAFIMAHEFA Rasoanimanana⁽²⁾

(1) Ecole Doctorale Sciences Humaines et Sociales, Université d'Antananarivo, Madagascar

(2) Professeur, Faculté des Lettres et Sciences Humaines, Mention Géographie, Université d'Antananarivo, Madagascar

RESUME

L'analyse de la dynamique d'un cours d'eau est essentielle pour la planification des aménagements dans une vallée. C'est ainsi que l'évolution de l'aménagement de la vallée de l'Onive (agriculture, orpaillage) et le contexte environnemental actuel montrent l'importance de cette recherche afin de favoriser un développement durable dans la plaine de l'Onive. Elle vise à expliquer les caractéristiques hydrogéomorphologiques et humaines caractérisant cette vallée dans le cadre d'une étude liée aux risques d'inondation. Pour atteindre cet objectif, une analyse a été réalisée à partir d'images satellites prises à différentes dates, avec l'appui des systèmes d'information géographique (SIG), le logiciel SNAP et QGIS. La méthode basée sur l'indice spectral de l'eau, notamment le MNDWI (Modified Normalized Difference Water Index), a été utilisée pour déterminer les zones inondables et non inondables. En ce qui concerne l'analyse de l'évolution de l'occupation du sol, l'identification des pixels par la méthode supervisée a été employée. Trois résultats ont été obtenus : (i) des cartes représentant les zones inondables et l'occupation du sol dans la vallée, (ii) la rivière Onive est caractérisée par une charge sédimentaire élevée, marquée par la morphologie de son lit à méandres et par la formation de bancs de sable longitudinaux sur certaines sections ainsi que l'existence de terrasses alluviales anciennes et actuelles le long de son cours (iii), le lit majeur de la rivière, qui constitue une zone à risques face aux crues exceptionnelles, connaît actuellement une forte croissance de mise en valeur à travers la pratique de l'agriculture et l'orpaillage.

Mots-clés : Rivière Onive, Dynamique fluviale, Inondation, Télédétection, Aménagement

ABSTRACT

The analysis of the dynamics of a river is essential for the planning of developments in a valley. Thus, the evolution of development in the Onive Valley (agriculture, gold panning) and the current environmental context show the importance of this research in order to promote sustainable development in the research area. This research aims to explain the hydrogeomorphological and human characteristics of the Onive valley for a flood risk study. To achieve this objective, the analysis is carried out from satellite images, Sentinel 2 and Landsat 8, of different dates and with the support of geographic information systems (GIS), SNAP and QGIS software. The method based on the spectral index of water, the MNDWI (Modified Normalized Difference Water Index), is used to detect water on the images and to highlight the flood and non-flood areas. For the analysis of land use evolution, the identification of the pixels by the supervised method was used. In response, three results were obtained. First, maps representing the flood zones and land use in the valley were developed. Second, the Onive river is characterized by a high sediment load marked by the morphology of its meandering bed and by the formation of sediment bar over a certain section as well as the existence of old and current alluvial terraces along its course. And thirdly, the major bed or flood bed of the river, which is an area risk from exceptional floods, is currently experiencing land use growth through the practice of agriculture and gold panning.

Key-words : Onive river, Fluvial dynamic, Floodplain, Remote sensing, Planification

INTRODUCTION

L'inondation est classée au premier rang des catastrophes les plus destructrices dans le monde (Wulamu M., et *al.*, 2013). Selon la Banque mondiale, en 2020, 1,47 milliards de personnes sont exposées à un risque d'inondation dans le monde. C'est une catastrophe influencée par l'hydrodynamique produite dans la plaine et par la connectivité hydrologique de la rivière (Thoms M.C., 2003 ; Saco P.M., et *al.*, 2018 ; Saskia, K., et *al.*, 2018). Elles sont liées aux caractéristiques régionales du climat. En raison des dégâts causés, elles sont considérées comme un grand problème pour les aménagements dans les plaines comme pour la riziculture en zone rurale.

Afin de gérer ces risques d'inondation, les connaissances actuelles et les progrès technologiques offrent aux décideurs et aux populations de plus en plus d'outils (nombreux modèles hydrologiques et hydrauliques) et d'informations utiles (données géospatiales à haute résolution) (Fortin G. et *al.*, 2020). C'est dans ce cadre de gestion des inondations que cet article s'inscrit. L'étude porte sur la vallée de

l'Onive qui est caractérisée par des inondations fréquentes (Ramamonjisoa J., 1989 ; Razafindrakoto M. P., 2008). Ces dernières constituent un frein pour le développement de la région dans la mesure où elles provoquent une chute de rendement ou même des pertes de récoltes. De plus, les inondations influencent l'érosion qui s'active dans la région.

Face à ces constats, la problématique suivante est posée : dans quelle mesure l'analyse de la dynamique fluviale par télédétection permet-elle de déterminer les risques d'inondation et favorise-t-elle le développement de la vallée ? L'objectif de l'étude est de spécifier les caractéristiques hydrogéomorphologiques et humaines axées sur la représentation de l'aléa d'inondation de la vallée.

Deux hypothèses sont émises dans cette question à savoir l'analyse par télédétection de la dynamique fluviale constitue un outil pour la planification des aménagements et la télédétection rend compte de la dynamique hydrogéomorphologique de la vallée.

MATERIELS ET METHODES

Zone de recherche

La zone d'étude correspond à la vallée de l'Onive à Antanifotsy, qui se trouve à 112km au sud d'Antananarivo. Elle est localisée entre les latitude 19°26'25''S et 19°37'12''S et longitude 47°20'24''E et 47°38'24''E. Administrativement, la vallée est à cheval entre les Districts d'Antanifotsy et d'Ambatolampy. La plus grande partie du territoire se situe dans le district d'Antanifotsy.

C'est une large plaine, d'environ 8 000 ha¹, drainée par la rivière Onive. Elle est formée, en général, par des alluvions anciennes. Le lit d'inondation de la rivière, quant à lui, est constitué par des alluvions plus récentes et souvent tourbeuses (Ramamonjisoa J., 1989). La vallée est caractérisée par un climat du type des Hautes pluviométrie d'environ 1365mm par an et une température moyenne annuelle de 12,3°C (Andriamparany M., 2016).

La rivière Onive qui draine la vallée prend sa source dans le massif volcanique du Vontovorona, au sud de l'Ankaratra. Elle est aussi alimentée par des sources montagnardes de l'Ankaratra (Razanadrakoto M. P., 2008) qui déborde fréquemment chaque année durant la saison des pluies (Ramamonjisoa J., 1989 ; Razafindrakoto M. P., 2008). Morphologiquement, le lit de la rivière est marqué par des méandres qui renseignent déjà sur la dynamique de la rivière et dans la vallée, des méandres

¹ Calculé à partir sur QGIS à partir des données de MNT de la région.

abandonnés peuvent aussi être observés, ceux-ci sont d'un grand intérêt pour comprendre l'évolution de la rivière dans le temps.

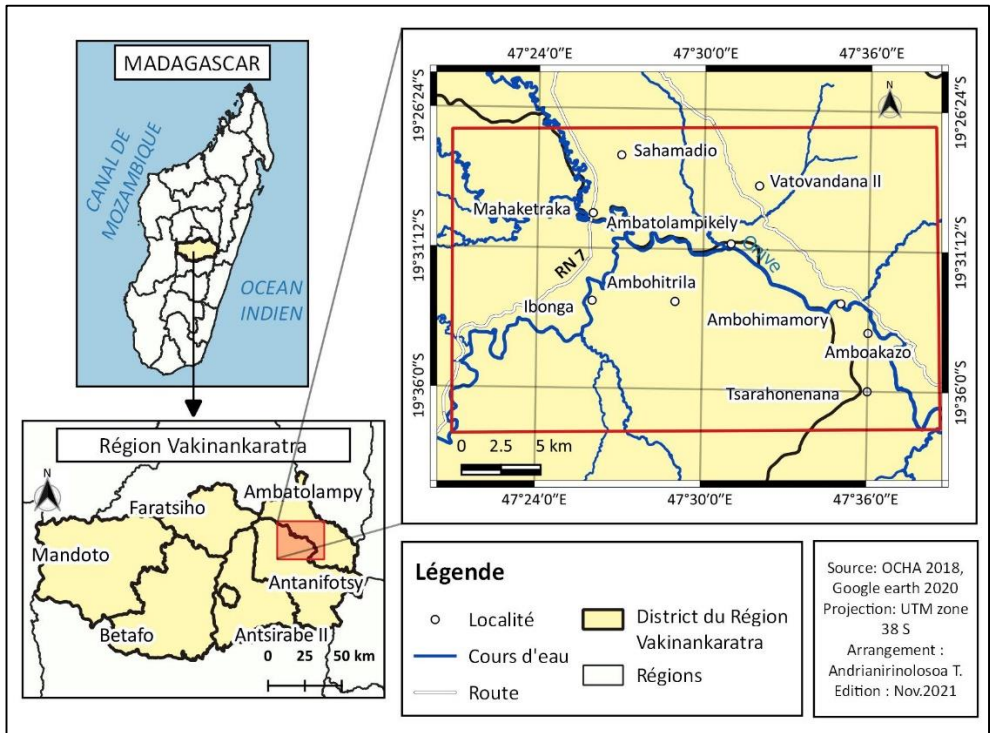


Figure 1 : Localisation de la zone de recherche

Données

Les données utilisées pour cette recherche sont basées sur les images satellites Sentinel-2Level-1C, images produites avec des corrections géométrique et radiométrique, et Landsat 8. Ces images utilisées datent de différentes époques, 2016 et 2020, et de différentes périodes, périodes de crue et d'étiage. Les images Sentinel-2 sont utilisées dans cette recherche pour leur haute résolution (10 m de résolution), elles donnent plus de détails sur les zones inondables et les zones d'aménagement. Quant aux images Landsat 8, elles ont été utilisées pendant la période de crue de janvier 2016, dans la mesure où l'image Sentinel-2 ne s'appropriait pas à cette période.

Les images de 2016 ont été utilisées, car c'était une année de sécheresse très marquée à Madagascar. Elle est aussi caractérisée par la présence d'une Zone de Convergence Intertropicale (ZCIT) qui a touché la partie Nord du pays (Cf. Photo) et en début d'année, certaines zones de la Grande Ile subissent des inondations. C'est le cas de la vallée de l'Onive. Par ailleurs, l'année 2020 a été choisie pour faire

ressortir les caractéristiques actuelles de la vallée, en termes d'aménagement mais aussi d'évolution de la rivière. Sur ces deux années, deux périodes ont été prises afin de mieux analyser les caractéristiques hydrologiques de la rivière. Ces deux périodes correspondent à la période des pluies et à la période d'étiage. La période des pluies correspond à la période de crue de la rivière. Elle présente un risque d'inondation dans la vallée. La période d'étiage, quant à elle, correspond à la période où la rivière coule dans son lit mineur et fait apparaître une grande partie de son lit majeur.

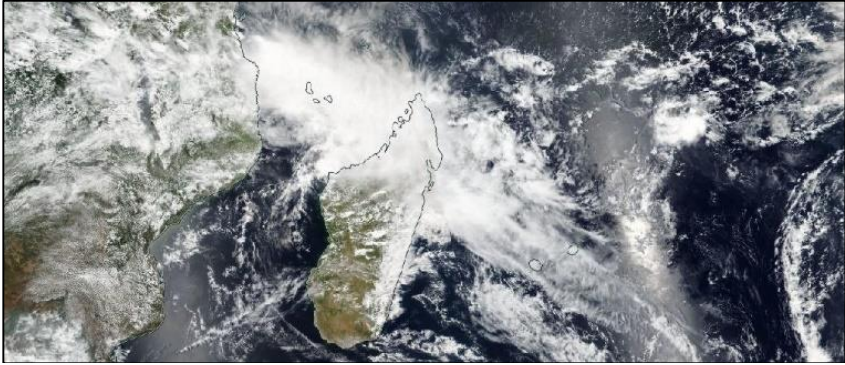


Photo 1 : Image du satellite TERRA haute résolution du 19 Janvier 2016

Les images Sentinel-2 Level-1C pour les dates du 23 septembre 2016 (période d'étiage) et du 11 janvier 2020 (période humide), ont été téléchargées à partir de l'ESA Sentinel-2 Pre-Operations Hub (<https://scihub.copernicus.eu/>). Et l'image de Landsat 8, sur la crue de janvier 2016, a été obtenue à partir du site des U.S. Geological Survey. Elle correspond à la date du 25 janvier 2016.

L'utilisation des logiciels de Système d'Information Géographique (SIG) a été indispensable à l'analyse des images satellites et leur traitement. Le logiciel SNAP a été utilisé pour le traitement des images satellites. La mise en page a été effectuée à l'aide du logiciel QGIS.

Méthode

Identification de l'espace d'évolution de la rivière

Pour analyser la morphologie des cours d'eau à partir des images satellite, plusieurs méthodes peuvent être utilisées, telles que le NDWI (Mcfeters, 1996), MNDWI (Xu, 2005) et WRI (Miranda et *al.*, 2021). Mais, pour cet article, la méthode MNDWI a été utilisée pour extraire la morphologie de la rivière Onive et délimiter les zones inondables de la vallée. Ce choix a été dicté pour une meilleure précision et une moindre marge d'erreur dans l'identification de la morphologie des

cours d'eau qu'elle offre. Cette méthode utilise les bandes vertes et l'infrarouge court (SWIR).

$$MNDWI = \frac{(Green - SWIR)}{(Green + SWIR)}$$

Afin de diminuer toutes les erreurs qui peuvent se trouver dans le tracé de la rivière, l'image rendue par MNDWI est vérifiée visuellement à l'aide d'une image à haute résolution de Google Earth. Cette méthode a permis de distinguer les zones inondables durant les périodes de crue et d'étiage de 2016 ainsi que celles de 2020.

Chaque image obtenue à partir de MNDWI sur différentes dates et périodes renseigne sur les éventuels lits de la rivière. Ces images correspondent à la période de crue de 2016, à la période d'étiage de cette même année et à la période de crue de 2020.

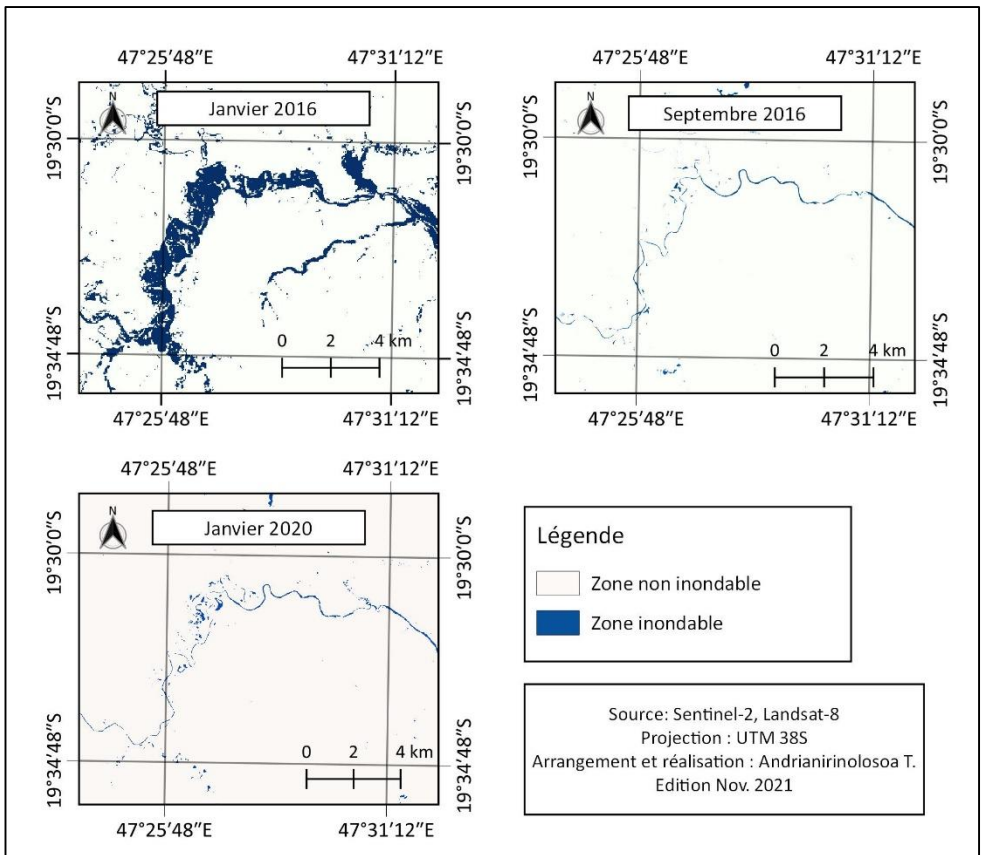


Figure 2 : Image en MNDWI représentant les zones inondables et non inondables

Identification de l'occupation du sol

Dans la perspective d'une planification pour le développement, il est important d'analyser l'occupation du sol qui se développe dans la région. Pour cette étude l'analyse est tirée des images de 2020. Puisque cette année montre les aménagements actuels de la vallée. La méthode de classification supervisée sur une image en fausse couleur de 2020 a été utilisée pour la réaliser. L'image en fausse couleur infrarouge consiste à superposer trois bandes de l'image. L'image Sentinel-2, utilisée consiste à superposer 3 bandes : la Bande 8 en rouge, la bande 4 en vert et la bande 3 en bleu. L'image obtenue permet de discerner la végétation, les aménagements, la culture et l'eau.

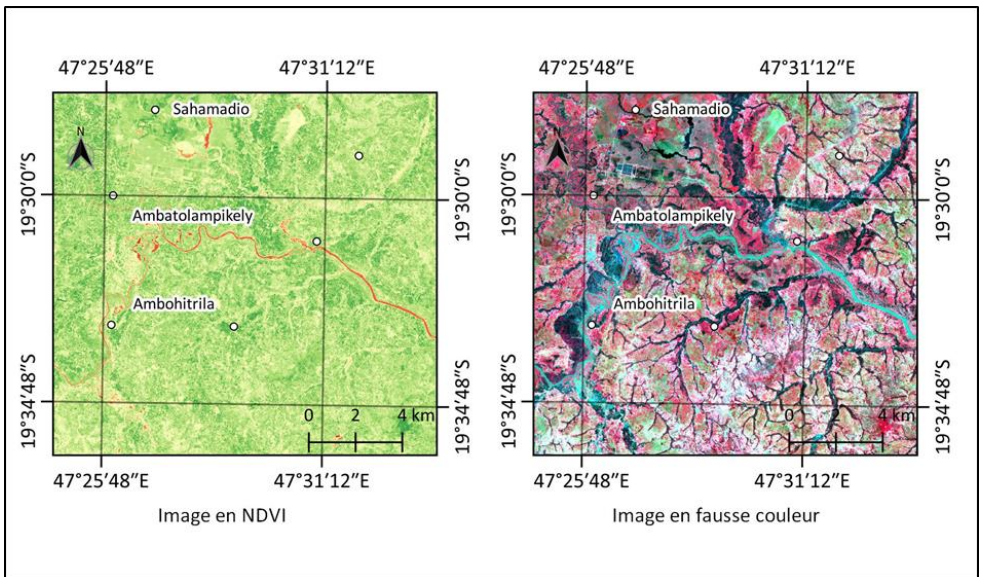


Figure 3 : Image en NDVI et image en fausse couleur de la vallée

Pour avoir plus de précisions sur la végétation et la culture, l'image classifiée est couplée avec une image Sentinel-2 de la même date mais en exploitant la Normalized Different Vegetation Index (NDVI). Ce dernier est obtenu de la manière suivante :

$$NDVI = \frac{(NIR - Red)}{(NIR + Red)}$$

Détermination des aménagements vulnérables

L'identification des aménagements vulnérables liée à l'inondation dans la vallée a été réalisée à partir de la superposition des cartes représentant les zones inondables et les cartes d'occupation des sols. En se basant sur l'espace d'évolution de la rivière et les différentes zones inondables, une catégorisation de la vulnérabilité de la vallée a été réalisée. Cette catégorisation est dictée par les caractéristiques hydrogéomorphologiques de la zone inondable. Elle est de trois ordres variant de 1 à 3 où le plus élevé se réfère au lit moyen et le plus faible se réfère à la zone non inondable dans la vallée.

Réalisation de cartes

À partir des images obtenues à travers les différentes méthodes de traitement, la mise en page des cartes a été réalisée à l'aide d'un logiciel SIG, notamment le QGIS. Ainsi, les différentes cartes sur la vallée, notamment les zones inondables, l'occupation des sols et la carte de vulnérabilité, ont été réalisées.

RESULTATS

Différentes zones inondables de la rivière

La superposition des trois images en MNDWI obtenues de différentes dates et périodes représente le développement horizontal de la rivière, qui est toujours accompagné d'une montée de sa hauteur. La carte obtenue montre qu'en période de crue la rivière peut s'étendre jusqu'à des centaines de mètres² de largeur dans la vallée. Par contre en période d'étiage, elle mesure environ 10 à 15m de large (Ramamonjisoa J., 1989) et parfois simplement quelques mètres dans certaines sections. La carte obtenue (Cf. Figure 4) montre les différents lits de la rivière : le lit mineur correspond à l'écoulement en période d'étiage, le lit moyen est inondé durant la période de crue, enfin, le lit majeur est inondé mais à des périodes exceptionnelles comme le passage d'un cyclone ou dans le cas de phénomène de la ZCIT qui descend plus au Sud, touchant la moitié Nord de Madagascar, et provoquant de grandes précipitations.

² Mesuré à partir du logiciel QGIS

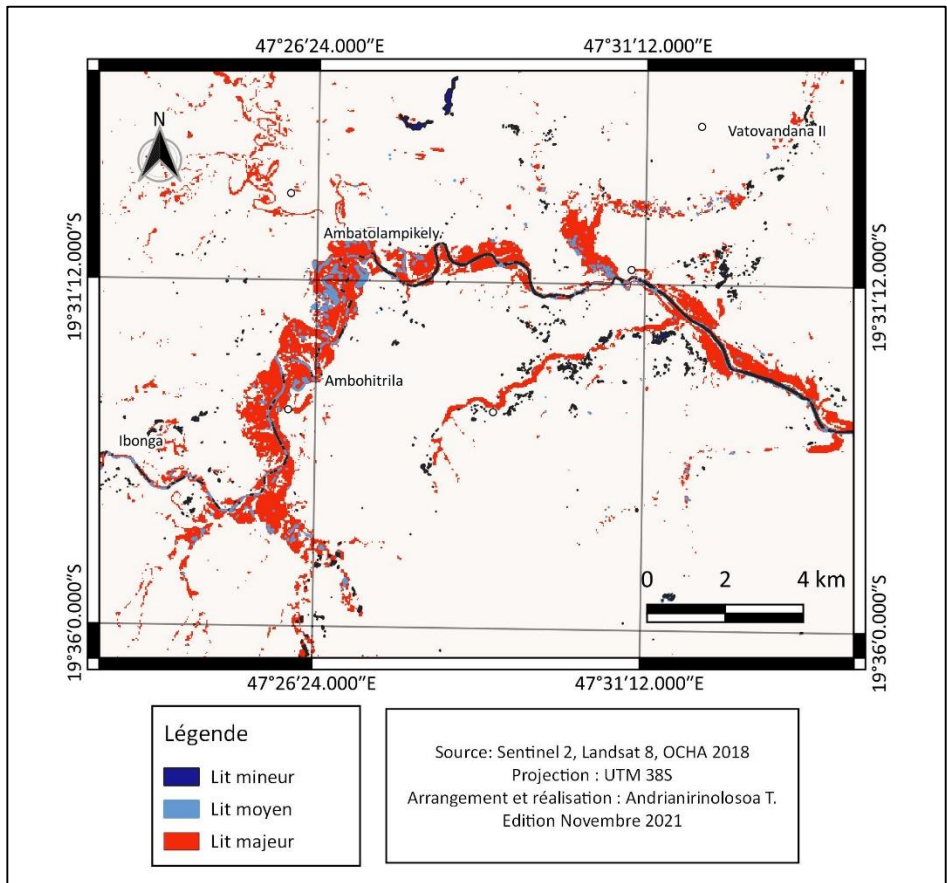


Figure 4 : Les différents lits de la rivière Onive durant les différentes périodes

Charge sédimentaire de la rivière

La morphologie de la rivière observée à partir du résultat précédent renseigne sur la charge sédimentaire de la rivière. L'observation des images montre que la morphologie de la rivière est caractérisée par un lit à méandres. De plus, l'analyse des images amène aussi à distinguer la formation de bancs longitudinaux sur certaines sections de la rivière. Les résultats de certains auteurs, tel que Andriamparany (2016), sur la morphologie de la vallée montre qu'elle est caractérisée par l'existence de terrasses alluviales anciennes et récentes. Ces observations montrent que la rivière est caractérisée par une charge sédimentaire élevée. Transportés et déposés par la rivière, ces sédiments provoquent des ensablements qui sont des problèmes liés à l'inondation.

Carte de vulnérabilité des aménagements

Sans se préoccuper des risques d'inondation, les habitants de la vallée mettent en valeur le lit majeur et même le lit moyen de la rivière, en y aménageant des rizières et des sites d'orpaillage, sans penser aux conséquences de l'inondation sur leurs activités. Ainsi, la réalisation d'une carte de la vulnérabilité des aménagements dégage qu'environ 2600 ha sont situés dans la zone inondable. Ces zones sont comprises dans la catégorie 1 à 3. Les zones situées dans la catégorie 2 sont les zones qui sont inondées mais en période de crue exceptionnelle. La catégorie 3 concerne les zones qui sont inondées à chaque saison de pluie mais constituent des champs de mine pour l'orpaillage.

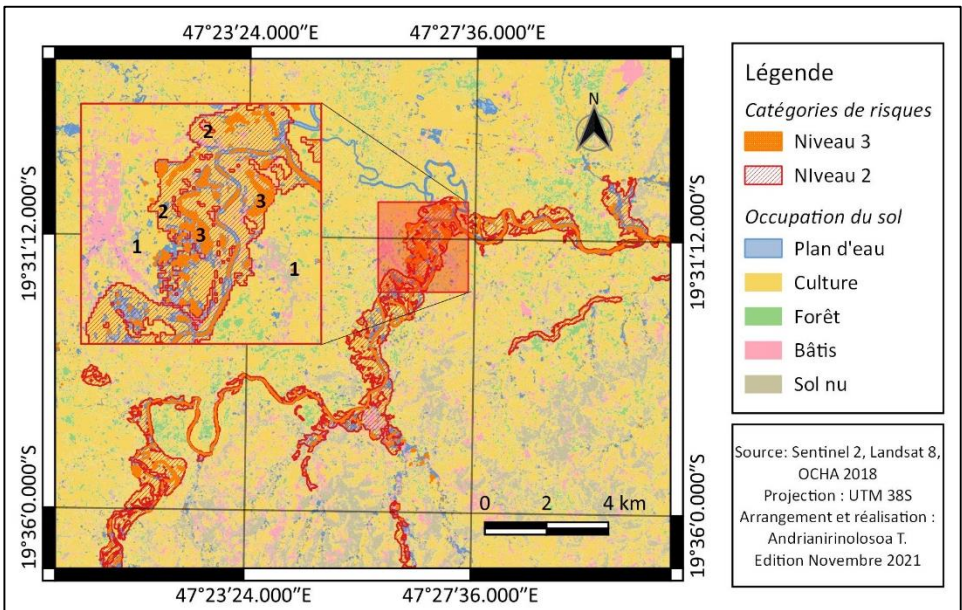


Figure 5 : Carte représentant les catégories de zones vulnérables aux inondations

DISCUSSION

L'analyse de la dynamique fluviale est un outil pour planifier les aménagements afin de diminuer les risques d'inondation. L'approche hydrogéomorphologique est basée sur la télédétection. L'analyse a permis d'établir une carte de vulnérabilité qui est un outil essentiel pour la planification des aménagements. Elle permet aussi d'identifier la charge sédimentaire de la rivière mais aussi de différencier ses différents lits.

Analyse de la dynamique hydrogéomorphologique au service du développement

Les lits représentent l'espace d'évolution de la rivière donc des unités morphologiques associées à la fréquence des inondations (Lelièvre M. A, et *al.*, 2008). L'identification des trois lits montre que la rivière peut être inondée à différentes périodes : inondation annuelle ou inondation exceptionnelle, comme le phénomène de crue cinquantennale ou centennale. L'identification de ces trois unités morphologiques dans la vallée illustre que la rivière est au moins d'ordre 3 dans cette section suivant l'ordination de Strahler (Ballais J. L., et *al.*, 2011). Ces identifications se basent, en général, sur les observations de terrain et les prélèvements et analyses sédimentologiques dans les zones à étudier (Wulamu M., et *al.*, 2013). Dans le cadre de cet article l'identification a été réalisée à partir des interprétations diachroniques d'images sur différentes périodes avec un choix de périodes précises.

Par ailleurs, l'analyse a montré à quel point la vallée est victime du phénomène d'ensablement. Ce phénomène est une adversité pour l'agriculture ou plutôt pour la riziculture dans la vallée (Razanadrakoto M. P., 2008) et est accentuée par les inondations (Andriamifidiniaina J. H., et *al.*, 2020).

Toutes ces analyses ont conduit à la réalisation de la carte de vulnérabilité dans la vallée. Cette carte présente les zones à risque en cas d'inondation. Cette catégorisation de zones permet de planifier les aménagements de la vallée et par conséquent de gérer les risques d'inondation (Garry G. et *al.*, 2002). La planification, qu'elle soit liée à l'aménagement ou la gestion des risques, est indispensable au développement durable d'une région. Pour identifier et gérer les risques d'inondation, l'approche hydraulique statistique est souvent utilisée. Par contre, l'approche développée dans cet article trace une autre manière de gérer les risques d'inondation, l'hydrogéomorphologie.

Science de la dynamique fluviale

La télédétection a énormément contribué à la réalisation de cette étude. En effet, l'utilisation de l'approche par télédétection pour analyser la dynamique fluviale de la vallée a donné des résultats à travers la réalisation de la carte de vulnérabilité mais aussi à travers la caractérisation de la morphologie de la rivière. L'approche utilisée ne s'adapte pas uniquement à la vallée étudiée mais peut être reproduite sur toutes les plaines de Madagascar avec facilité.

L'analyse s'est basée sur la reconnaissance des unités géomorphologiques du lit de la rivière qui révèlent les limites spatiales et les mécanismes régulateurs des inondations potentielles (Garry G. et *al.*, 2002 ; Ballais et *al.*, 2005 ; Lelièvre M.-A.,

et *al.*, 2008). Cela montre que l'approche utilisée s'inscrit effectivement dans un cadre hydrogéomorphologique.

Par contre, les résultats obtenus sont discutables au niveau de leur précision. En effet, ce souci se pose par le fait que l'approche préconisée n'est qu'une partie de la méthode hydrogéomorphologique. Elle s'est basée essentiellement sur l'analyse d'images, qui est un outil essentiel de l'hydrogéomorphologie (Arnaud-Fassetta G., 2007). Ainsi, pour la suite de nos travaux, afin d'avoir plus de précisions dans la réalisation des cartes, des observations sur terrain doivent être réalisées avec des analyses en laboratoire : granulométriques, sédimentologiques.

CONCLUSION

Ce travail propose un outil de planification pour l'aménagement de la vallée de l'Onive afin de gérer les risques liés à l'inondation. Sa réalisation propose de déceler le lien qui existe entre le développement de la vallée et l'analyse de la dynamique fluviale par l'intermédiaire de la télédétection. Ainsi, en utilisant les images satellites et la méthode basée sur l'indice spectral de l'eau, le MNDWI, les caractéristiques de la dynamique de la rivière ont été dégagées. Analysée avec les caractéristiques de l'occupation du sol dans la vallée, la carte de vulnérabilité a été réalisée.

Les résultats obtenus montrent bien la contribution de l'étude de la dynamique fluviale dans le développement durable. Ainsi, ce travail peut participer à la gestion des inondations dans la vallée et à l'appui de la planification des aménagements. Il permet également le développement de l'hydrogéomorphologie en tant qu'outil de planification.

Dans le cadre d'une suite de ce travail, il est envisagé de réaliser des travaux de terrain afin que les cartes soient plus précises pour être utilisées dans la planification de l'aménagement de la vallée, bien que les résultats obtenus soient déjà très intéressants.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) Andriamifidiniaina, J. H., Razafindraibe R., Ramananarivo R., Ranaivoson R., Ratovo A., Rabemananjara A. (2020). Les mesures à l'encontre de la dégradation conjointe du contexte et des pratiques des usagers dans le milieu rizicole de Marovoay, *In Recherches pour le développement*, Série Sciences de l'Homme et de la Société n°12 : 7-22, Antananarivo : CIDST
- 2) Arnaud-Fassetta G. (2007). L'hydrogéomorphologie fluviale, des hauts bassins montagnards aux plaines côtières : entre géographie des risques, géoarchéologie et géosciences. *Dossier d'habilitation à diriger des recherches*, 435p.
- 3) Ballais, J.L. et Garry, G., (2005). Contribution de l'hydrogéomorphologie à l'évaluation du risque d'inondation : le cas du midi méditerranéen français. *Comptes Rendus Geoscience*, vol. 337, 1120-1130.
- 4) Ballais, J.-L., Chave, S., Dupont, N., Masson, E., Penven, M.-J., 2011. La méthode hydrogéomorphologique de détermination des zones inondables, *PHYSIO-GEO Géographie Physique et Environnement*.
- 5) Dong, X., Hu, C., (2021). A new method for describing the inundation status of floodplain wetland. *Ecological Indicator*, Volume 131. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2021.108144>.
- 6) Garry G., Ballais, J.L. et Masson, M., (2002). La place de l'hydrogéomorphologie dans les études d'inondation en France Méditerranéenne. *Géomorphologie : relief, processus, environnement*, no. 1, 297-306
- 7) Fortin, G., Poirier, C., Duhamel, F., Germain, D., (2020). Risques d'inondation et vulnérabilité : l'exemple du bassin versant de la rivière Kennebecasis, Nouveau-Brunswick, Canada. », *IdeAs*. <http://journals.openedition.org/ideas/7999>
- 8) Lelièvre, M.A., Buffin-Bélanger, T., Morneau, F. (2008) - L'approche hydrogéomorphologique pour la cartographie des zones à risque d'inondation dans les vallées de petites et moyennes tailles : un exemple commenté pour la vallée de la Rivière-au-Renard. *In : Comptes rendus de la 4e Conférence canadienne sur les géorisques: des causes à la gestion*, J. Locat, D. Perret, D. Turmel, D. Demers Et S. Leroueil édit., Édit. Presses de l'Université Laval, Québec, 8 p.
- 9) McFeeters, S.K., (1996). The use of the normalized difference water index (NDWI) in the delineation of open water features. *Int. J. Remote Sens.* 17 (7), 1425–1432. <https://doi.org/10.1080/01431169608948714>.
- 10) Mirauda, D., Caniani, D., Colucci, M.T., Ostoich, M., 2021. Assessing the fluvial system resilience of the river Bacchiglione to point sources of pollution in

- Northeast Italy: a novel Water Resilience Index (WRI) approach. *Environ SciPollutRes* 28 (27), 36775–36792. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13157-5>
- 11) Ramamonjisoa, J., (1989). Perdre sa terre et espérer la retrouver A Madagascar, l'aménagement de rizières dans la plaine de l'Onive. *Tropiques* 259.
 - 12) Razanadrakoto M.P., (2008). Les activités de la population dans la commune rurale d'Antanifotsy et leurs impacts sur l'aménagement de la plaine de l'Onive. Mémoire de Maîtrise, Mention Géographie. Université d'Antananarivo. 89p.
 - 13) Saco, P.M., Mariano, M., Saskia, K., Baartman, J., Yetemen, O., Rodríguez, J.F. (2018). Vegetation and soil degradation in drylands: Nonlinear feedbacks and early warning signals. *Curr. Opin. Environ. Sci. Health* 5, 67–72. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2018.06.001>.
 - 14) Saskia, K., Pedro, N.J., Patricia, S., Parsons, T., Poepl, R., Masselink, R., et al. (2018). The way forward: Can connectivity be useful to design better measuring and modelling schemes for water and sediment dynamics? *Sci. Total Environ.* 664, pp. 1557–1572. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.342>.
 - 15) Thoms, M.C. (2003). Floodplain–river ecosystems: Lateral connections and the implications of human interference. *Geomorphology* 56 (3/4), 335–349.
 - 16) Wulamu, M., Ballais, J.-L., Delorme V., (2013). L'applicabilité de la méthode hydrogéomorphologique au domaine aride du Xinjiang (Chine) : le cas du bassin versant du Karakash », *Physio-Géo*, Volume 7. <http://physio-geo.revues.org/3633>
 - 17) Xu, H.Q., (2005). A study on extracting water body information using improved normalized difference water index (MNDWI). *J. Remote Sens.* 5, 589–595

ETUDES PHYSICO-CHIMIQUES ET MICROBIOLOGIQUES DE RESSOURCE EN EAU : CAS DE L'IKOPA

par

RAHAJANAHARIMAMONJY Fabrice M.⁽¹⁾, RAZANAMPARANY Bruno⁽¹⁾
RAMINOSOA Andrianary Lala⁽²⁾

(1) Laboratoire de Chimie Minérale, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, Madagascar

(2) Institut pour la Maitrise de l'Energie, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, Madagascar

RESUME

L'objectif de cette étude est de déterminer les concentrations des paramètres physiques comme : la température et le pH de l'eau en amont et en aval de la rivière Ikopa. La température varie de 15,52 °C à 23,5°C en hiver avec un pH = 8. La valeur de la conductivité est de 37.86 et 26.78, respectivement en amont et en aval. La valeur de la turbidité en amont est de 84.5 NTU et en aval de 62.8 NTU. Les paramètres chimiques donnent un taux de nitrite qui varie de 0.003 à 0,013 mg/l. La concentration des nitrates en amont est de 0.12 et en aval de 0.30mg/l, la concentration de phosphate varie entre 2.3mg/l en amont et 0,50 mg/l en aval, la concentration de sulfate est de 8mg/l en amont et 5mg/l en aval. Ces valeurs sont très faibles par rapport aux normes de l'eau potable. Il en est de même pour le chlorure où les valeurs varient respectivement de 1 mg/l à et 0.4 mg/l. La concentration de cuivre en amont et en aval, varie respectivement de 0 à 0,28 mg/l et de 0 à 0,14 mg/l. Les mesures ont été réalisées avec le photomètre wagtech 7100. En matière de microbiologie, les coliformes totaux (UFC/100ml) représentent une valeur de 242 000 en amont et en aval, escherichia coli (UFC/100ml) de 16 260 en amont et 5 409 en aval, entérocoques intestinaux (UFC/100ml) de 1 500 en aval et 7 800 en amont. Il y a donc une forte contamination fécale du fleuve.

Mots-clés : Eau, Paramètres physico-chimie et microbiologie

ABSTRACT

The objective of this study is to determine the concentrations of physical parameters such as: the temperature and the pH of the water do not represent too much variation, either upstream or downstream of the river. The temperature varies

from 15.52°C and 23.5°C in winter with pH = 8, have were measured by the pH meter. The value of conductivity is 37.86 and 26.78, upstream and downstream by the conductivity meter. The turbidity value upstream is 84.5 NTU and downstream is 62.8 NTU by the turbidimeter. For the chemistry parameters: The nitrite levels vary from 0.003 and 0.013 mg/l. The concentration of nitrates upstream is 0.12 and downstream 0.30mg/l, the concentration of phosphate upstream varies between 2.3mg/l and downstream 0.50 mg/l, the concentration of sulfate upstream 8mg/l and downstream 5mg/l, very low compared to the standards of drinking potable water, as well as for chloride 1 mg/l and 0.4 mg/l. The concentration of copper in upstream and downstream, varies respectively from 0 to 0, 28 mg/l and from 0 to 0, 14 mg/l. The measurements were made with the wagtech 7100 photometer. For the microbiological: total coliforms (UFC/100ml) is 242000 upstream and downstream. Escherichia coli (UFC/100ml) is 16260 and 5409 downstream. Intestinal Enterococci (UFC/100ml) is 1500 and 7800 upstream. This means that there is a strong fecal contamination of the river.

Key-words : Water, Physico-chemical and microbiological parameters

INTRODUCTION

Dans de nombreuses régions du monde, l'approvisionnement en eau et assainissement demeure un défi : la gestion de l'eau souterraine et la réduction des risques de santé en Inde, le règlement de conflits en Bolivie, la réduction de la pauvreté en Afrique du Sud et la maîtrise de la pollution en Colombie (Morarty, 2007).

Dans la vision de la gestion intégrée, les différentes utilisations des ressources en eau doivent être prises en compte ensemble. Les attributions et les décisions de gestion de l'eau prennent en compte les effets de chaque utilisation sur les autres. Elles sont, de ce fait, en mesure de tenir compte des objectifs sociaux et économiques globaux, y compris la réalisation du développement durable (Taylor & Jonker et *al.*, 2005).

A Madagascar, la JIRAMA est le fournisseur d'eau destinée principalement à la consommation humaine, et dessert 28% des 232 communes urbaines du pays. Cette eau est aussi utilisée pour d'autres usages, notamment industriels. En ce qui concerne la ville d'Antananarivo, l'Ikopa constitue une ressource pour assurer son alimentation en eau potable ainsi que de sa périphérie.

Il est cependant à noter que les ressources en eau sont souvent agressées par les activités anthropiques favorisant la dégradation spatio-temporelle de leur qualité,

d'où la nécessité de la contrôler. En effet, la pollution de l'eau est un problème clé de la gestion de la ressource.

Tenant compte de ce contexte, la problématique émise est la suivante : les paramètres relatifs à l'eau potable correspondent-ils aux normes de qualité requises ?

L'objectif est d'évaluer la qualité physico-chimique et le niveau de contamination fécale mais aussi d'identifier les espèces bactériennes isolées des sites en amont et en aval de l'Ikopa.

MATERIELS ET METHODES

Le bassin versant de l'Ikopa au droit d'Antananarivo couvre une superficie de près de 1 500km². La rivière Ikopa est la rivière qui traverse la ville, elle coule entre, en amont, Ambohimanambola passe par Mandroseza, à côté du lac, et, en aval, Ambohitrimanjaka. Par ailleurs, seuls les sites d'Ambohimanambola et Mandroseza ont été considérés dans la constitution des échantillons.

Matériels

Photomètre Wagtech 7100

Le photomètre Wagtech 7 100 a été utilisé pour la détermination de la quantité des éléments chimiques.



Figure 1 : Photomètre Wagtech 7100

PH-mètre

Le pH-mètre a été utilisé pour déterminer le pH et la température.



Figure 2 : pH- mètre

Turbidimètre

Le turbidimètre a servi à déterminer la quantité de particules de l'eau trouble.



Figure 3 : Turbidimètre

Conductimètre

Il a permis d'apprécier le degré de minéralisation de l'eau et mesurer la capacité de l'eau à conduire le courant électrique.



Figure 4 : Conductimètre

Rampe de filtration

Cette méthode par filtration a été appliquée sur membrane favorable aux eaux pouvant être filtrées comme pour celles destinées à la consommation.



Figure 5 : Appareil de filtration

Méthode d'analyse microbiologique et physico-chimique

Méthode d'analyse microbiologique

- Méthode par filtration sur membrane

Mode opératoire

La première étape a consisté à stériliser la rampe de filtration par flambage où une membrane filtrante de $0,45\mu\text{m}$ (diamètre des pores) y a été déposée à l'aide d'une pince stérile. Un volume de l'échantillon a ensuite été versé sur la rampe en suivant les normes d'analyses. Après filtration de l'eau, la membrane a été récupérée à l'aide d'une pince en prenant soin de ne pas écraser les bactéries présentes. Enfin, la membrane a été déposée sur un milieu de culture solide.

- *Escherichia coli*

Le genre *Escherichia* fait partie de la famille des entérobactéries, il est utilisé à titre d'indicateur de la qualité des eaux. La presque totalité de ses souches ne sont pas pathogènes puisque cette bactérie est un hôte normal de l'intestin des mammifères.

Parmi les coliformes fécaux, l'*Escherichia coli* est le seul qui soit sans équivoque et à ce titre il est de plus en plus considéré comme un indicateur spécifique d'une pollution fécale. Sa détection dans l'eau est considérée comme reflétant la présence possible de micro coliformes qui comprennent des bacilles grams.

Mode opératoire :

Après filtration de l'échantillon, la membrane composée de colonies de coliformes se développe pendant un temps d'incubation de 18 à 24h et à 37°C. Les colonies considérées comme lactose positif sont celles qui se situent à l'envers de la membrane et sont de couleur jaune. 10 colonies typiques ont été repiquées sur gélose TSC. Le repiquage a par la suite été incubé à 37°C pendant 24h dans un bouillon tryptophane qui a été incubé à 44°C pendant 24h. Les colonies oxydase- et indole+ sont considérés comme *Escherichia coli*.



Figure 6 : Absence et présence de bactéries (*E-coli*)

- Coliformes totaux

Ce sont des bactéries à Grams négatifs, non sporulés, il s'agit d'oxydases facultatives capables de se multiplier en production d'acide et de gaz en 48h à une température de 37°C. Elles sont présentes dans les matières fécales, le sol et les végétaux. Elles indiquent la qualité bactériologique de l'eau et la présence possible de bactéries et de virus pathogènes.

Mode opératoire :

Après prélèvement de 100mL de l'échantillon, l'eau sur la membrane est filtrée et analysée à. La membrane est ensuite retirée de l'appareil de filtration et mise dans une boîte de pétri contenant le milieu de culture spécifique. Après incubation dans l'étuve la dernière étape consiste à dénombrer les colonies sur la membrane.

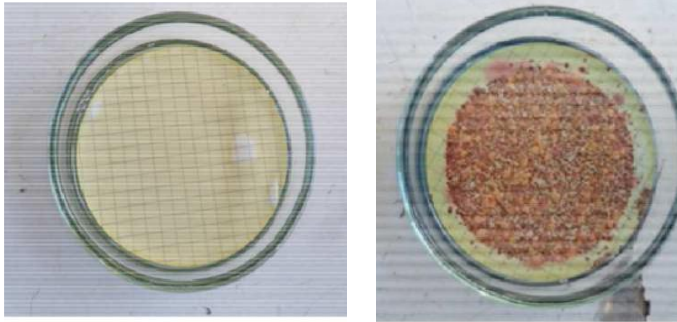


Figure 7 : Coliformes totaux

- Streptocoques fécaux

Ce sont des bactéries à grams positifs, sphériques ou ovoïdes formant des chainettes non sporulées, catalases négatives. Elles possèdent l'antigène D et se cultivent en aérobiose à 37°C.

Mode opératoire :

100mL de l'échantillon sont filtrés sur la membrane. La membrane est ensuite retirée de l'appareil de filtration et mise dans une boîte de pétri contenant le milieu de culture spécifique. Après incubation dans l'étuve, les colonies de la membrane sont dénombrées.

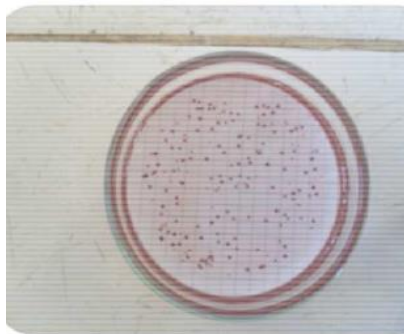


Figure 8 : Streptocoques fécaux

Méthodes d'analyse physique

- Le pH (potentiel Hydrogène)

Il mesure la concentration en ion H⁺ de l'eau. Il est mesuré à l'aide d'un pH-mètre. L'analyse est caractérisée par une recherche d'équilibre physico-chimique qui dépend de facteurs multiples, dont l'origine de l'eau.

- La température

La température est un facteur qui peut déterminer un grand nombre de processus biologique et chimique. Elles intensifient les odeurs et saveurs. Sa détermination se fait à l'aide du pH mètre, le résultat est indiqué par l'appareil en degré Celsius (°C).

- La conductivité

Elle mesure la salinité de l'eau, elle est également fonction de la température, elle est plus importante lorsque cette dernière augmente. Les résultats de mesure doivent donc être présentés en termes de conductivité équivalente à 20°C ou 25°C.

La détermination de la conductivité se fait à l'aide d'un conductimètre. Le résultat est indiqué par l'appareil en microsiemens par centimètre ($\mu\text{s}/\text{cm}$).

Mode opératoire pour le pH, la température et la conductivité :

Une fois l'appareil sous tension, il est procédé au rinçage de l'électrode avec de l'eau distillée. La phase suivante consiste à plonger l'électrode, séchée, dans la solution à une profondeur minimum de quatre centimètres. Il faut ici attendre que la valeur soit stable avant la lecture. Rincer à nouveau l'électrode avec de l'eau distillée et la sécher pour réaliser la mesure suivante.

- La turbidité

Elle consiste en une mesure de la réduction de l'intensité lumineuse d'un rayon traversant un liquide contenant des matières en suspension. Cette mesure permet de préciser les informations visuelles de l'eau. Elle est mesurée à l'aide d'un turbidimètre, la méthode consiste à l'immerger dans un récipient gradué, jusqu'à un niveau préconisé, la valeur de la turbidité est alors affichée.

Mode opératoire :

10 ml de l'échantillon sont prélevés, et insérés dans l'appareil, après une minute la valeur en NTU peut être lue (Tableau 1).

Tableau 1 : Relation entre turbidité et aspect de l'eau

| Turbidités | Unités | Aspects |
|-------------------|---------------|------------------------|
| $T < 5$ | NTU | Eau claire |
| $5 < T < 30$ | NTU | Eau moins trouble |
| $30 < T < 50$ | NTU | Eau légèrement trouble |
| $50 < T < 200$ | NTU | Eau trouble |
| $T > 200$ | NTU | Eau très trouble |

Source : [http : www.oiseau.Fr/Analyse eau/physicochimie](http://www.oiseau.Fr/Analyse_eau/physicochimie)

Méthodes d'analyses chimiques

La détermination de la quantité des éléments chimiques (Fluor, Manganèse, Chlore, Azote ammoniacal, ammonium, nitrite, ...) s'effectue par la méthode photométrique en utilisant le photomètre (7100/ Wagtech Wag – WE1044).

Mode opératoire :

10 ml d'eau ont été prélevées et mélangées avec une pastille puis agitées jusqu'à la dissolution du réactif. Le tube de mesure est placé dans le photomètre. La lecture du résultat donne la concentration en mg.

RESULTATS

Les paramètres physiques

Tableau 2 : Mesure de température

| Mois : | Sites | Température (°C) | OMS |
|--------|-----------------|------------------|-----|
| Avril | Ambohimanambola | 23.6 | <25 |
| | Mandroseza | 23.5 | |

La valeur de la température est de 23,6 °C pour les deux cas et correspond à la norme requise relative à l'eau potable [3]

Tableau 3 : Mesure de turbidité

| Mois : | Sites | Turbidité (NTU) | OMS |
|--------|-----------------|-----------------|-----|
| Avril | Ambohimanambola | 62.8 | 5 |
| | Mandroseza | 84.5 | |

Les résultats de la mesure de la turbidité sont de 62.8 et 84.5 NTU, ces valeurs sont très supérieures à 5 NTU, il n'est donc pas recommandé de boire cette eau. [4]

Tableau 4 : Mesure de pH

| Mois : | Sites | pH | OMS |
|--------|-----------------|------|-----------|
| Avril | Ambohimanambola | 8.03 | 6.5 à 8.5 |
| | Mandroseza | 7.89 | |

Les valeurs de pH trouvées sont de 8.03 et 7.89 et se situent donc entre 6,5 et 9 en moyenne pour les standards de potabilité, l'eau est bonne.

Tableau 5 : Mesure de conductivité

| Mois : | Sites | Conductivité | OMS |
|--------|-----------------|--------------|----------|
| Avril | Ambohimanambola | 26.78 | 180-1000 |
| | Mandroseza | 37.857 | |

Le résultat de la mesure de conductivité est de 26.67 $\mu\text{s} / \text{cm}$ pour Ambohimanambola et 37.857 $\mu\text{s} / \text{cm}$ pour Mandroseza. Les valeurs préconisées par l'OMS affichent celles entre 180 et 1 000 $\mu\text{s} / \text{cm}$, il n'est donc pas recommandé de boire l'eau. [5,6]

Les paramètres chimiques

Tableau 6 : Mesure d'ammonium

| Mois : | Sites | Ammonium (mg/l NH_4) | OMS |
|--------|-----------------|--------------------------------|------|
| Avril | Ambohimanambola | 0.20 | <0.2 |
| | Mandroseza | 0.058 | |

La concentration en ammonium est de 0,2 mg / L et 0.058 pour Mandroseza. Ces valeurs sont inférieures à celles requises en matière de norme relative à l'eau potable. [2]

Tableau 7 : Mesure de Nitrates

| Mois : | Sites | Nitrates (mg/l NO_3) | OMS |
|--------|-----------------|--------------------------------|-----|
| Avril | Ambohimanambola | 0.30 | 44 |
| | Mandroseza | 0.12 | |

La concentration en nitrates est très faible par rapport à la norme internationale. [8]

Tableau 8 : Mesure de nitrites

| Mois : | Sites | Nitrates (mg/l NO_3) | OMS |
|--------|-----------------|--------------------------------|------|
| Avril | Ambohimanambola | 0.003 | <0.1 |
| | Mandroseza | 0.0132 | |

La concentration en nitrites est acceptable quant à la norme relative à l'eau potable. [7,12]

Tableau 9 : Mesure de chlorure

| Mois : | Sites | Chlorure (mg/l) | OMS |
|--------|-----------------|-----------------|------|
| Avril | Ambohimanambola | 0.4 | <250 |
| | Mandroseza | 0 | |

La concentration de chlorure est très faible par rapport à la valeur requise pour l'eau potable. [10, 11]

Tableau 10 : Mesure de sulfate

| Mois : | Sites | Sulfate (mg/l) | OMS |
|--------|-----------------|----------------|------|
| Avril | Ambohimanambola | 5 | <250 |
| | Mandroseza | 8 | |

La concentration en sulfates est également très faible par rapport à la norme relative à l'eau potable. [12,13]

Tableau 11 : Mesure de magnésium

| Mois : | Sites | Magnésium (mg/l) | OMS |
|--------|-----------------|------------------|-----|
| Avril | Ambohimanambola | 0 | 50 |
| | Mandroseza | 0 | |

La concentration de magnésium est de 0 mg / L, Il n'y a pas de magnésium. [14]

Tableau 12 : Mesure d'aluminium

| Mois : | Sites | Aluminium (mg/l) | OMS |
|--------|-----------------|------------------|-----|
| Avril | Ambohimanambola | 0.09 | 0.2 |
| | Mandroseza | 0.08 | |

La concentration en aluminium est faible par rapport à la norme internationale. [1]

Tableau 13 : Mesure de cuivre

| Mois : | Sites | Cuivre (mg/l) | OMS |
|--------|-----------------|---------------|-----|
| Avril | Ambohimanambola | 0.12 | 0.2 |
| | Mandroseza | 0.25 | |

La concentration en cuivre est acceptable par rapport à la norme internationale.

Tableau 14 : Mesure de phosphate

| Mois : | Sites | phosphate (mg/l) | OMS |
|--------|-----------------|------------------|-------|
| Avril | Ambohimanambola | 0.50 | < 0.5 |
| | Mandroseza | 2.3 | |

La norme relative à l'eau potable est inférieure à 0,5mg/l, ceci indique que l'eau est polluée par des activités anthropiques. [15]

Les paramètres microbiologiques

Tableau 15 : Mesures microbiologiques

| | Date | Coliformes totaux (UFC/100ml) | Escherichia coli (UFC/100ml) | Entérocoques intestinaux (UFC/100ml) |
|-----------------|-------|-------------------------------|------------------------------|--------------------------------------|
| Ambohimanambola | avril | 242 000 | 16 260 | 1 500 |
| Mandroseza | avril | 242 000 | 5 409 | 78 000 |
| OMS | | 0 | 0 | 0 |

Les résultats montrent que la rivière Ikopa est contaminée par des matières fécales. La concentration des Escherichia coli est de 16260 UFC/100ml au niveau de la station d'Ambohimanambola et de 5409 pour celle de Mandroseza. La contamination fécale provient des eaux de vanne. La concentration d'entérocoques intestinaux dans la rivière Ikopa est respectivement de 1 500 et 7 800 pour Ambohimanambola et Mandroseza. Il y a donc une contamination fécale importante de la rivière Ikopa.

DISCUSSIONS

Paramètres physiques

La température est de 23.6 C ; la turbidité est de 62.8 en amont et de 84.5 NTU en aval ; le pH est d'environ à 8 pour les deux ; la turbidité en amont est de 84.5 NTU, et de 62.8 NTU en aval, ceci est dû à de fortes précipitations, ainsi, l'eau est chargée de matière organique. La conductivité est de 27.677 $\mu\text{s} / \text{cm}$ en amont et de 37.857 en aval. Les valeurs affichées ne sont pas toutes inférieures aux valeurs requises par la norme de l'eau potable, néanmoins, les paramètres physiques de l'eau de la rivière IKOPA ne sont pas bons.

Paramètres chimiques

En général, Les résultats issus de l'analyse de la rivière montrent que cette rivière ne contient pas de magnésium.

- La concentration de cuivre en amont de la rivière est plus élevée que celle trouvée en aval, leurs valeurs respectives varient de 0 à 0,28 mg/l et 0 à 0,14 mg/l, ceci est dû à l'érosion des sols, et les versants de la rivière

- La concentration de phosphate varie entre 2.3mg/l en amont et 0,50 mg/l en aval, la norme sur les eaux potables est inférieure à 0,5mg/l, ceci indique que l'eau est polluée par des activités anthropiques.

- Le chlorure enregistré est de 0.4 mg / L à Ambohimanambola et de 1mg/l à Mandroseza. Les concentrations trouvées sont inférieures à 250 mg / L, requis pour l'eau potable.

- La concentration de sulfate est de 8mg/l en amont et de 5mg/l en aval. Ces valeurs sont très faibles par rapport à la norme internationale de l'eau potable.

- L'ammonium équivaut à 0,20mg / L et 0.058, ces valeurs sont inférieures à 0,5 mg / L, elles correspondent aux valeurs requises pour que l'eau ne soit pas polluée.

- Le nitrite affiche des valeurs comprises entre 0,003 et 0, 0132mg / L, l'eau de l'échantillon correspond à une eau potable selon les normes y afférentes.

- La concentration de nitrates est de 0,30 mg / L et 0.12 ; ces valeurs sont très faibles par rapport à la norme internationale.

CONCLUSION

Les paramètres physiques ne répondent pas vraiment aux exigences relatives aux normes liées à la consommation de l'eau. Les paramètres chimiques, quant à eux, correspondent à 80% des conditions requises pour que l'eau soit potable. L'eau de la rivière IKOPA affiche un caractère microbien. Elle doit être désinfectée avant d'être utilisée.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) G.WAUER et al. (2004). *Analysis of toxic Aluminum Species in Natural Waters*. *Microchimica Acta*, 146; 149.
- 2) C. MOLINS-LEGUA et al. (2006). *A guide for selecting the most appropriate method for ammonium determination in water analysis*. *Trends in Analytical Chemistry*, 25; 282.
- 3) Abai, E. A., Ombolo, A., Ngassoum, M. B., & Mbawala, A. (2014). Suivi de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux des cours d'eau de Ngaoundéré, au Cameroun. *Afrique Science : Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 10(4), 135-145.
- 4) Saout, C. (2003). Les normes de qualité d'eau potable : chimie, turbidité. *La Houille Blanche*, (3), 27-29.
- 5) DALMAS, P. (2000). Mesures de conductivité sur une eau pure ou comment appliquer la norme USP24-NF19. *Article paru dans la Gazette du Laboratoire*, 4p.
- 6) Lamizana-Diallo, M. B. (2008). *Évaluation de la qualité physico-chimique de l'eau d'un cours d'eau temporaire du Burkina Faso-Le cas de Massili dans le Kadiogo*.
- 7) Bourre, J. M., Buson, C., & L'hirondel, J. L. (2011). Nitrates, nitrites, oxyde nitrique (NO) : nouvelles perspectives pour la santé ? *Médecine & Nutrition*, 47(2), 43-50.
- 8) Amira, W., & Houhamdi, M. R. (2008). *Degré de contamination des eaux de la mare Redjla (Taher, Jijel) par les nitrates : détermination de la qualité physico-chimique et microbiologique de l'eau* (Doctoral dissertation).
- 9) Kahoul, M., & Touhami, M. (2014). Évaluation de la qualité physico-chimique des eaux de consommation de la ville d'Annaba (Algérie). *LARHYSS Journal P-ISSN 1112-3680/E-ISSN 2521-9782*, (19).
- 10) DIOP, C., TOURE, A., CABRAL, M., THIANDOUM, M., & FALL, M. (2019). Évaluation des pratiques de potabilisation des eaux de boisson en zone rurale : cas de Sindia au Sénégal. *Afrique SCIENCE*, 15(3), 253-260.

- 11) GONE, D. L. (2017). Chlorine demand and parameters determining chlorine consumption in traditional shallow well water of Agboville (Côte d'Ivoire). *Environmental and Water Sciences, public Health and Territorial Intelligence Journal*, 1(4), 23-33.
- 12) ZOUAOUI, S. (2014). *Détermination des nitrites, nitrates, sulfates et orthophosphates dans les eaux de quelques forages de la ville de Djelfa* (Doctoral dissertation).
- 13) El Ouedghiri, K., El Oualti, A., El Ouchy, M., Zerrouq, F., Chahdi, F. O., & Lalami, A. E. O. (2014). Risques sanitaires liés aux composés chimiques contenus dans l'eau de boisson dans la ville de Fès : Cas des ions nitrates et nitrites (Health risks of the chemicals in drinking water in the city of Fez : nitrate and nitrite ions). *J. Mater. Environ. Sci*, 5, 2284-2292.
- 14) Bouchelaghem, S., Benzara, S., Méradi, W., & Souhir, R. (2014). Etude comparative de la qualité chimique et microbiologique des eaux de l'oued El Kebir (Région d'El Taref) [Comparative study of chemical and microbial quality of waters of Oued El Kebir (city of El Taref)]. *International Journal of Innovation and Scientific Research*, 3(1), 71-74.
- 15) El-Fadeli¹, S., Bouhouch, R. R., Benmazhar¹, H., Barouche, Y., Zimmermann, M. B., & Sedki¹, A. (2015). *Caractérisation de la qualité physico-chimique et minéralogique de l'eau de consommation de quatre zones de la ville de Marrakech-Maroc* (Characterization of physico-chemical and mineralogical quality of drinking water from four areas of the city of Marrakech, Morocco).

EFFET ANTIASCARIDIOSE INTESTINALE DE *POIVREA PHANEROPETALLA*, UTILISEE TRADITIONNELLEMENT DANS LA REGION BOENY

par

RANDRIAMAHAROA Benjamin^(1,2), OMARY Housseny^(1,2),
ROUKIA Djoudi^(1,2,3), RAJAONARISON Jean François^(1,2,3)

(1) Ecole Doctorale Génie du Vivant et Modélisation (EDGVM), Université de Mahajanga, Madagascar

(2) Laboratoire de Recherche en Biotechnologies, Environnement et Santé (LRBES), Université de Mahajanga

(3) Faculté des Sciences de Technologies et de l'Environnement (FSTE), Université de Mahajanga

RESUME

L'ascaridiose est une maladie commune de tous les âges. Elle est souvent traitée par des plantes médicinales. A Madagascar, *Poivrea phaneropetalla* est utilisée pour traiter la jaunisse, le paludisme et la parasitose. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antiascaridiose de *Poivrea phaneropetalla* en vue de découvrir un nouveau phytomédicament à potentialité antihelminthique. Des enquêtes ethnopharmacologiques ont été menées auprès de la population de Marovoay. Les vers intestinaux adultes de porcs élevés traditionnellement ont été prélevés dans un abattoir dans le but d'une analyse coproscopique. Le temps de l'hypermobilité, la lyse des vers et le taux de mortalité des vers ont été déterminés. L'effet inhibiteur de l'extrait sur le développement des œufs a été étudié pendant 18 jours. Des analyses phytochimiques de l'extrait ont permis de détecter différents composés : les Tannins galliques, Tannins catéchiques, Saponine, Stéroïdes insaturés et Alcaloïdes. Les résultats obtenus montrent que l'extrait de *Poivrea phaneropetalla* tue jusqu'à M= 63,8 ± 5,55 % et M= 86,6 ± 5,77 % d'*Ascaris*, après 6 h d'incubation dans un milieu contenant 150 et 300 mg/ml (p= 0,009 et 0,005 < 0,05). Après 18 jours de traitement, l'extrait inhibe le développement larvaire des œufs. A la fin de la manipulation, une larve a été observée dans les œufs du lot non traité mais les œufs incubés dans l'extrait à 150 et à 300 mg/ml restent non embryonnés. Ce travail apporte une justification de l'utilisation traditionnelle de la plante *Poivrea phaneropetalla*, dans le traitement de parasitose intestinale.

Mots-clés : *Ascaris*, Antihelminthique, Œufs, Inhibition, *Poivrea phaneropetalla*

ABSTRACT

Ascariasis is a disease of all ages especially in third world countries. In the rural world, she is treated by medicinal plants. In Malagasy traditional medicine, the plant *Poivrea phaneropetalla* is used to treat the jaundice, malaria and parasitosis. The main objective of this study is to evaluate the Ascariasis activity of *Poivrea phaneropetalla* in order to discover news phytomedicaments which has a better activity antihelminthic. Ethnopharmacologic investigation were carried out near the population of Marovoay. The adult intestinal worms of traditionally raised pigs were removed from an abattoir using direct coprology. Hypermobility time, worm lysis and worm mortality were collected. During 18 days, the inhibitor activity of *Poivrea phaneropetalla* on the development of eggs was studied. We detected differents compounds during the phytochemical analyzes such as Gallic tannins, Catechin tannins, Steroids unsaturated, Alkaloids and Saponins. According to the results obtained, the extract kills $M= 63,8 \pm 5,57 \%$ and $M= 86.6 \pm 5,77\%$ of the adult worms after 6 hours of incubation in the medium containing the 150 and 300 mg / ml concentration (with $p= 0,009$ and $0,005 < 0,05$ is significant). After 18 days of treatment, *Poivrea phaneropetalla* inhibits egg embryogenesis. At the 18th day of incubation, there is an appearance of a larva in eggs of the batch untreated; however the eggs remain not embryonné in the mediums containing 150 and 300 mg/ml. The results obtained also provide a justification for the traditional use of aqueous extracts of this plant in the treatment of intestinal parasitosis.

Key-words : Ascaris, antihelminthic, Eggs, Inhibition, *Poivrea phaneropetalla*

INTRODUCTION

Depuis très longtemps, les plantes médicinales jouent un rôle déterminant dans la conservation de la santé des hommes et dans la survie de l'humanité (Chevalier A., 2001). La phytothérapie offre des possibilités de cure de longue durée avec peu d'effets secondaires indésirables lorsqu'elle est bien conduite (Schneider., 1975).

Les produits d'origine naturels occupent une place importante dans la découverte des médicaments. 60% des remèdes vendus actuellement en pharmacie ont une origine végétale. Mais, ces ressources restent encore insuffisamment exploitées. Seuls, 10% des espèces végétales ont été étudiées pour leurs activités biologiques. Ces chiffres indiquent que beaucoup de plantes, notamment celles qui sont utilisées traditionnellement pour leur vertu thérapeutique, méritent une étude scientifique approfondie pour les valoriser (Balunas M., Kighorn A., 2005)

Parmi les pathologies couramment rencontrées à Madagascar, les parasitoses intestinales sont habituellement traitées avec des plantes. Elles font partie des

maladies tropicales négligées (OMS ,2010). Ce sont des maladies fréquentes, très répandues dans les pays tropicaux. Souvent, l'évolution est chronique, elles sont responsables de graves morbidités. Ce sont des maladies couramment appelées « des mains sales », liées au péril fécal et au manque d'hygiène (Ramanankoraisina O., 1995).

Selon l'OMS, environ 1,5 milliards, soit 25% de la population mondiale sont atteintes de cette pathologie en particulier dans les pays tropicaux surtout dans des zones d'Afrique, d'Amérique du Sud, de Chine et d'Asie orientale (OMS, 2010) et ce fléau est un problème majeur de santé publique à Madagascar.

Les parasitoses intestinales sont des maladies dues généralement à des vers ou helminthes, à des protozoaires mais aussi à des mycoses intestinales. (Ramanankoraisina O., 1995). D'après les enquêtes ethno-pharmacologiques, menées auprès de la population et des tradipraticiens de la ville de Mahajanga, la plante *Poivreia phaneropetalla* est utilisée traditionnellement, en décocté, pour soigner les helminthiases et les douleurs abdominales. Aucune étude scientifique n'a été faite sur cette plante présumée antihelminthiase. Ainsi ce travail a pour objectif d'étudier l'activité antihelminthique de la plante *Poivreia phaneropetalla* par des tests pharmacologiques visant à évaluer la mortalité des *Ascaris sp* adultes et l'inhibition de développement des œufs de *Ascaris sp*.

MATERIELS ET METHODES

Partie Chimie

Préparation de l'extrait

Les feuilles de la plante ont été récoltées au mois d'Avril 2018 à Amparihimanga, dans le district de Marovoay situé dans la région Boeny. Elles ont été séchées à l'ombre, à une température ambiante pendant trois semaines. Elles ont ensuite été broyées à l'aide d'un broyeur à marteau électrique. 500g de poudre de la plante ont été macérés dans le méthanol, ensuite ils ont été homogénéisés pendant 24 heures puis filtrés à l'aide d'un papier Wattman. La macération a été répétée trois fois pour optimiser le rendement. Durant cette période, le mélange a été agité par un agitateur (Heudoph 91) tous les jours pendant 1h 30mn. Après 72 h, le macérât a été filtré. Le filtrat a été recueilli dans un ballon, puis, évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif (BUCHI Water bath B-4B1) ces étapes ont été suivies d'un processus de bain-marie à une température de 40°C pour avoir un extrait brut (EB).

Criblage phytochimique

Un criblage phytochimique a été fait à partir de l'extrait de *Poivreia phaneropetalla* pour déterminer les familles chimiques qu'il contient. Ce test a été

basé sur des réactions de coloration de précipitation, pour ce faire, des réactifs spécifiques pour chaque famille chimique ont été utilisés (Fong et coll., 1997). La teneur en familles chimiques présentes dans l'extrait a été quantifiée par la précipitation ou par l'intensité de la coloration formée.

Test Pharmacologique

Préparation des vers adultes

Ascaris adultes mâles et femelles ont été collectés pendant l'examen macroscopique direct du contenu intestinal du porc élevé traditionnellement. Ils ont été récupérés au laboratoire et répartis en 5 lots de 5 vers contenant 5 ml du contenu intestinal de porc lui-même qui joue un rôle de milieu de culture. Ils ont ensuite été placés dans un incubateur à une température de 37°C, et un taux d'humidité supérieure à 50% (Aubry, 2014).

Préparation des œufs

L'examen microscopique direct a été effectué pour déterminer la présence d'œufs d'*Ascaris* dans la matière fécale d'un porc élevé traditionnellement. L'échantillon de matière fécale a été posé au fond d'un récipient à l'aide d'une fine baguette. L'étalement de l'échantillon a été effectué sur une lame en verre dans une goutte de solution de Chlorure de Sodium 0,9% (Na Cl) puis observé sous microscope (LEICA ICC 50) au grossissement X10 et X40. Pour obtenir une quantité suffisante d'œufs, une méthode d'enrichissement par sédimentation a été effectuée. 5g de matières fécales ont été mélangés avec 20 ml d'eau distillée puis filtrés. Les résidus ont été triturés à l'aide d'une baguette, avec 40ml d'eau distillée et le tout a été filtré de nouveau. Le filtrat obtenu a été décanté pendant une durée de 3 heures. Le culot a été récupéré et homogénéisé manuellement dans un Becher tandis que le surnageant a été rejeté. Ensuite, 1ml de cette préparation a été prélevée à l'aide d'une pipette et versé dans une boîte de pétri avec quelques gouttes d'eau distillée. Ce mélange a été observé sous microscope au grossissement X10 afin de répartir les œufs en 5 lots de 3 œufs. Ces œufs ont été incubés à une température comprise entre 28° et 32°C et à un taux d'humidité de plus de 50% pendant 18 jours (Rousset J., 1993).

Etude de l'effet de l'extrait sur les vers adultes

Le but de cette manipulation a été de déterminer si l'extrait serait capable de tuer les vers adultes (*Ascaris sp.*). L'effet antihelminthique de l'extrait a été déterminé en comparant le taux de mortalité des vers dans les lots traités par rapport au lot témoin. Des vers adultes (*Ascaris sp.*) ont été répartis en 5 lots de 5 vers. Ces vers ont été placés dans un incubateur. Les vers dans le lot témoin ont été mis en

contact avec de l'Eau Distillée. Le lot de Référence a été incubé avec du Levamisole à une concentration de 20 mg/ml. L'extrait de la plante *Poivrea phaneropetalla* à 75, 150, 300 mg/ml a été mis en contact avec les vers des 3 derniers lots. Des observations ont été effectuées après 4, 8, 12 et 24 heures d'incubation à une température de 37°C et à une humidité de plus de 50% (Aubry, 2014).

Etude de l'effet de l'extrait sur les œufs

Cette manipulation a pour but d'étudier l'activité de l'extrait sur l'inhibition du développement des œufs d'*Ascaris* sp. L'effet inhibiteur du processus de l'embryogenèse des œufs a été déterminé en observant sous microscope l'évolution journalière des œufs du lot traité par rapport à celle du lot témoin. L'extrait de *Poivrea phaneropetalla* aurait une activité sur le développement des œufs d'*Ascaris* si les œufs des lots traités ne sont pas embryonnés. Des œufs d'*Ascaris* sp. non embryonnés, isolés lors de la coproculture ont été répartis en 5 lots. Dans le lot témoin, les œufs ont été mis en contact avec de l'Eau distillée tandis que le Levamisole a été utilisé comme produit de référence. Dans les 3 autres lots, les œufs ont été mis en contact avec l'extrait à une concentration de 75, 150 et 300 mg/ml à une température comprise entre 28 et 32°C, et un taux d'humidité de plus de 50%. Ils ont été laissés dans la pénombre pendant 18 jours, dans un incubateur. Des observations journalières ont été effectuées pendant les 18 jours d'incubation (Rousset J., 1993).

RESULTATS

Partie Chimique

Rendement de l'extraction

A partir de 500 g de poudre de feuilles, 40 g d'extrait méthanolique ont été obtenus, soit un rendement d'extraction de 8 %.

Résultats du criblage phytochimique de l'extrait

Le criblage phytochimique effectué sur l'extrait de *Poivrea phaneropetalla* révèle la présence de tannins galliques en forte quantité tandis que les tannins catéchiques et les alcaloïdes sont de moyenne quantité et les stéroïdes, Leucoanthocyanes et Polysaccharides de faible quantité.

Tableau I : Familles chimiques présentes dans l'extrait

| Composés chimiques | Quantités |
|---------------------|-----------|
| Tannins galliques | +++ |
| Tannins catéchiques | ++ |
| Alcaloïdes | ++ |
| Stéroïdes | + |
| Leucoanthocyanes | + |
| Polysaccharides | + |
| Saponines | + |

Partie pharmacologie

Effet de l'extrait de Poivre phaneropetalla sur Ascaris sp. adulte

Après 3h40 min d'incubation dans l'extrait à une concentration de 150mg/ml, les vers meurent. Le taux de mortalité est de $M= 63,8 \pm 5,55 \%$ (avec $p= 0,009 < 0,05$). Il est de 100% après 6h. Par contre en utilisant l'extrait à une concentration de 300mg/ml, le taux de mortalité des vers atteint $M= 86,6 \pm 5,77 \%$ (avec $p=0,005 < 0,05$) après 5h et 100% après 6h. Avec l'utilisation du Lévamisolé à une concentration de 20 mg/ml tous les vers meurent après 4h d'incubation.

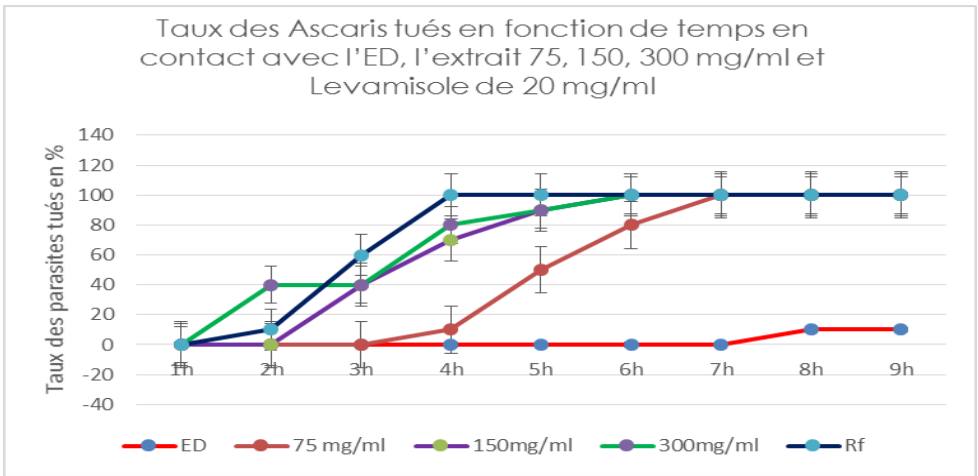
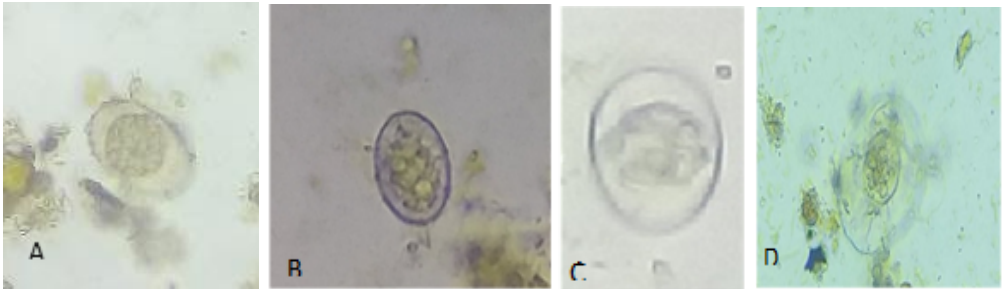


Figure 1 : Taux de mortalité des vers en fonction du temps passé en contact avec l'extrait de *Poivre phaneropetalla* pendant 9 h d'incubation ; à 300 mg/ml ● ; 150mg/ml ● et de Levamisole à 20mg/ml ● .

Effet de l'extrait de *Poivrea phaneropetalla* sur les œufs

Après observation microscopique des matières fécales au grossissement X10, des œufs typiques (embryonnés) (Figure 2) et atypiques (non embryonnés) (Figure 3) ont été constatés.



- A : Œuf d'*Ascaris* incubé dans l'Eau Distillée au 10^{ème} jour (J10) ;
B : Œuf d'*Ascaris* en contact avec l'extrait à 300 mg/ml au 10^{ème} jour (J10) ;
C : Œuf d'*Ascaris* embryonné incubé dans l'Eau Distillée au 18^{ème} jour (J18) ;
D : Œufs d'*Ascaris* non embryonnés, coquille déstructurée, traités avec l'extrait à 300 mg/ml au 18^{ème} jour (J18).

Au 10^{ème} jour d'incubation, les œufs des lots traités deviennent atypiques ou non embryonnés (B). Par contre au niveau du lot témoin, les œufs commencent à s'embryonner et une division dans la partie interne des œufs est constatée.

À la fin de la manipulation c'est-à-dire au 18^{ème} jour, une larve au stade 2 (L2) est observée dans le lot témoin (C). Le développement larvaire des œufs incubés dans les milieux contenant de l'extrait à 300 mg/ml sont inhibés. L'œuf reste unicellulaire et sa coquille est déstructurée (D).

DISCUSSION

L'objectif a été de mettre en évidence l'activité antihelminthique des feuilles de la plante *Poivrea phaneropetalla* utilisées dans la médecine traditionnelle comme vermifuge et vermicide intestinale. Pour étudier cette activité, des tests *in-vitro* sur des vers adultes et sur des œufs ont été effectués.

Les résultats du criblage phytochimique montrent que l'extrait méthanolique de *Poivrea phaneropetalla* contient des tanins galliques et catéchiques en forte et moyenne teneur. Ces composés sont responsables de la destruction du tégument des vers en se fixant aux protéines et en dénaturant les agents protecteurs ou les téguments (Brunet ; 2008). Alors, l'extrait de *Poivrea phaneropetalla* pourrait être classé comme un antihelminthique.

En ce qui concerne le test sur les vers adultes, dans un milieu contenant de l'extrait de *Poivrea phaneropetalla* aux concentrations de 150 et 300 mg/ml ; les vers meurent et leurs téguments sont détruits après incubation. Par contre, il n'y a aucun signe de paralysie chez le lot témoin.

L'intoxication de l'extrait de *Poivrea phaneropetalla* pourrait être due aux tannins qui provoquent l'apparition de l'irritation, la paralysie puis la mort des vers. D'après Klouz, 2007, sous l'action de tannin, les vers meurent après leur contact avec l'extrait. Il agit sur le système neuromusculaire ou système nerveux qui empêchent les vers de se nourrir et entraîne leur mort.

Par ailleurs, Vidyadhar, 2010 a travaillé sur les tannins contre les vers adultes. Il a démontré que les tannins inhibent la phosphorylation oxydative des helminthes. En outre, Ils se fixent sur une glycoprotéine et le collagène qui jouent le rôle protecteur de la cuticule du parasite. Cette fixation induit un dommage de la cuticule, puis la mort de l'helminthe. Donc l'effet vermicide de l'extrait de *Poivrea phaneropetalla* pourrait être attribué à la présence de Tannin catéchique et de Tannin gallique.

Les œufs embryonnés d'*Ascaris* sp. favorisent l'Ascarirose chez l'homme. Ceci explique l'étude *in vitro* de l'effet de l'extrait de *Poivrea phaneropetalla* sur l'inhibition de l'embryogenèse des œufs. D'après les résultats, il a été observé que les œufs du lot témoin sont embryonnés contrairement à ceux des lots traités avec l'extrait de *Poivrea phaneropetalla* aux concentrations de 150 et 300 mg/ml où les œufs restent toujours non embryonnés. Après 18 jours d'incubation, la coque se déstructure. Cet effet pourrait être dû aux tannins qui sont présents dans l'extrait de *Poivrea phaneropetalla*, car Athanasiadou, et al., 2001 ont démontré que les tannins inhibent l'éclosion des œufs, paralysent les larves par la diffusion facile de l'extrait à travers les coquilles des œufs jusqu'aux cuticules des larves. D'autre part, Brunet, 2008 a démontré que les tannins pourraient également être liés aux protéines libres en les rendant toxiques et entraînant, de ce fait, la mort des larves dans les œufs. Ils inhibent aussi l'embryogenèse en se liant aux tubulines, utiles dans la division cellulaire de l'embryogenèse. Il peut donc être dit que grâce aux tannins catéchiques et galliques, l'extrait méthanolique de l'extrait de *Poivrea phaneropetalla* pourrait avoir une activité ovicide vis-à-vis d'*Ascaris* sp.

D'après les analyses statistiques relatives au test effectué sur les vers adultes le taux de mortalité des vers traités avec l'extrait aux concentrations de 150 et 300 mg/ml est supérieur à celui du lot témoin. Donc il y a une différence significative entre le taux de mortalité des vers dans les lots traités avec l'extrait de *Poivrea phaneropetalla* et le lot témoin où $p < 0,05$. Cela veut dire que l'extrait a une activité vermicide. Par rapport au produit de référence, le Lévamisolé à une concentration de 20 mg/ml et les lots traités à l'extrait de *Poivrea phaneropetalla* avec des

concentrations de 150 et 300 mg/ml représentent une différence significative quant au taux de mortalité avec $p < 0,05$. Ceci veut dire que l'extrait méthanolique de la plante a la même activité que le produit de référence.

CONCLUSION

Les résultats obtenus démontrent que l'extrait de la plante *Poivre* peut intervenir dans le traitement de parasitose intestinale. Ils apportent également une justification de l'utilisation traditionnelle des extraits aqueux de cette plante dans le traitement des maladies parasitaires dans le district de Marovoay. Cette étude présente une grande opportunité sur la valorisation durable des ressources végétales. Les perspectives sont focalisées sur la protection de cette plante afin de la valoriser durablement sous forme de phytomédicament.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) Athanasiadou S., Kyriazakis I., Jackson F., Coop R. L., (2001). Direct anthelmintic effects of condensed tannins towards different gastrointestinal nematodes of sheep: *in vitro* and *in vivo* studies. *Veterinary Parasitology*, 99 : 205-219.
- 2) Aubry P. (2014). Parasitoses digestives due à des nématodes. *Rev. Méd. Trop. (Pays de l'océan Indien)* : 1-3.
- 3) Brunet S. (2008). Analyse des mécanismes d'action antiparasitaires de plantes riches en substances poly phénoliques sur les nématodes du tube digestif des ruminants. Thèse de doctorat, Univ. Toulouse (France) : 52-55.
- 4) Chevalier A., (2001). Encyclopédia of medicinal plants. Dorling Kindersley Limited, 2nd edition Londres, 335p.
- 5) Fong H., Tin-wa M., Farnsworth N. R. (1977). Phytochemical screening. *Rev. College of pharmacy, University of Illinois. Chicago (USA)*. **275**: 6-7
- 6) Klouz A., 2007. Antiparasitaire, mécanisme d'action. *Rev. Faculté de Médecine (Tunis)*: 7-23.
- 7) Organisation Mondiale de la Santé (OMS), (2010). Evaluation de l'efficacité des antihelminthiques contre la *Schistosoma* et les Géo helminthiases.
- 8) Ramanankoraisina O. H. (1995). Interaction entre malnutrition et les parasitoses intestinales à propos des cas observés à l'hôpital pédiatrique d'Ambohimandra. Thèse Médecine, Antananarivo, 1995; n°3814.
- 9) Schneidere, (1975). Des plantes pour votre santé. Editions SdT. 77190 Dammarie les Lys, France, 9-10,518p

- 10) Vidyadhar S, Saidulu M., Gopalt.Kchamundeeswari D., Umamaheswararao, Banji D., (2010). In vitro anthelmintic activity of the whole plant of *Enicostemma littorale* by using various extracts. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*; I (3): 1119-1125.

MANTIDACTYLUS PAULIANI, ESPECE BIO-INDICATEUR DE LA DURABILITE DES COURS D’EAU D’ANKARATRA

par

ONINJATOVO R. Herizo⁽¹⁾, ANDRIAMAHANTANTSOA Bernard⁽¹⁾,
RAZANAJATOVO Kanto⁽¹⁾, RABIBISOA Nirhy Harinelina^(1,2)

(1) Ecole Doctorale Écosystèmes Naturels » (E.D.E.N.), Université de Mahajanga, Madagascar

(2) Faculté des Sciences, de Technologies et de l’Environnement (FSTE), Université de Mahajanga

RESUME

Mantidactylus pauliani est une espèce amphibienne typiquement aquatique vivant dans les ruisseaux des hautes montagnes de l’Ankaratra. Cette espèce, endémique locale, est en perpétuelle déclinaison du fait de la dégradation de son milieu naturel. Sa viabilité et sa pérennisation dépendent de la disponibilité et de la qualité des sources d’eau. Elle constitue ainsi un bio-indicateur du milieu. De plus, l’eau qui est son habitat, est une ressource naturelle indispensable à la subsistance de la population environnante. Cependant, les activités anthropiques modifient cet environnement impactant négativement sa viabilité et son habitat. L’objectif de cette recherche consiste à promouvoir une conservation durable en intégrant une stratégie alliant conservation et bien être humain. Pour ce faire, neuf sites ont été choisis selon différents types de formation, état de dégradation et altitude. Pour chaque site, un transect de 100 m a été mis en place pour la collecte des données à travers des techniques d’observation directe et de fouilles systématiques des microhabitats. Des paramètres écologiques et physicochimiques sont aussi été collectés pour analyser les données bioécologiques dans les 9 sites. Cette espèce est recensée entre 1900 et à 2400 m d’altitude. L’abondance est plus élevée dans le milieu forestier et l’effectif des individus recensé varie suivant la profondeur de l’eau. Six types de pression liée aux activités humaines ont été fréquemment constatés. L’intensité de ces différentes pressions varie en fonction du site étudié dont Manotongana présente le degré de menace le plus élevé. Ainsi, afin de conserver cette espèce, un renforcement de l’éducation environnementale, de la sensibilisation et de la conscientisation au sein de la communauté villageoise est à entreprendre. Cela permettra de marquer l’importance de la forêt et de faire prendre conscience que la conservation de la biodiversité leur sera bénéfique à long terme.

Mots-clés : *Mantidactylus pauliani*, Cours d'eau, Habitat, Bien être, Conservation, Ressource naturel

ABSTRACT

Mantidactylus pauliani is a typically aquatic amphibian species living in the high mountain streams of Ankaratra. This species is a local endemic one and is in perpetual decline due to the degradation of their natural environment. Its viability and its perpetuation depend on the availability and the quality of the water sources. Thus it is a good bio-indicator of the environment. Moreover, the water, which is its habitat, is an essential natural resource for the subsistence of the surrounding population. However, anthropic activities modify its environment negatively impacting its viability and its water habitat. The objective of this research is to promote sustainable conservation by integrating a strategy combining conservation and human well-being. For this purpose, nine sites were selected according to the different types of formations, state of degradation and altitude. For each site, a 100 m transect was set up for data collection through direct observation techniques and systematic excavation of microhabitats. Ecological and physicochemical parameters were also collected to analyze the bioecological data in the 9 sites. This species is recorded between 1900 and 2400 m of altitude. The abundance is higher in the forest environment and the number of individuals recorded varies according to the depth of the water. Six types of pressure linked to human activities have been frequently observed. The intensity of these different pressures varies according to the site studied of which Manotongana presents the highest degree of threat. Thus, in order to conserve this species, a reinforcement of environmental education, sensitization and awareness within the village community is to be undertaken. This will allow to expose them the importance of the forest and to make them aware that the conservation of the biodiversity will be beneficial to their well-being in the long term.

Key-words : *Mantidactylus pauliani*, Stream, Habitat, Welfare, Conservation, Natural resource

INTRODUCTION

Nombreuses espèces d'Amphibiens de Madagascar sont menacées d'extinction. La plupart des groupes endémiques sont parmi les plus sensibles à la dégradation et la perturbation de leur milieu naturel (Vallan, 2003). Leurs exigences écologiques telles que leurs types d'habitat, leurs préférences climatiques, les rendent très sensibles au changement de leur environnement et constituent ainsi un indicateur du

milieu. De plus, les populations de petite taille et celles des zones de haute altitude sont vraisemblablement les plus vulnérables et menacées d'extinction (Raxworthy, C. J., 2008).

Le Massif de l'Ankaratra, qui recense une des forêts restantes dans les hautes terres, a été gravement touché par la déforestation et les incendies généralisées ces dernières années (Rabemananjara et *al.*, 2014). Il est parcouru par des cours d'eau de type ruisseau, clairs, froids, à fond sableux et rocailleux. *Mantidactylus pauliani* est une espèce d'amphibien endémique locale, qui vit dans les ruisseaux de haute altitude du massif et qui présente une distribution très restreinte (Rabibisoa et *al.*, 2012). Cette espèce est gravement menacée et est en perpétuelle déclinaison du fait de la dégradation de son milieu naturel. Sa viabilité et sa durabilité dépendent de la disponibilité et la qualité des sources d'eau, ceci lui permet d'être un indicateur du milieu. De plus, ces cours d'eau sont aussi des ressources naturelles indispensables à la population locale environnante pour subvenir à leurs moyens de subsistance. La conservation de cette espèce est donc essentielle pour assurer le bien-être de la population locale par la durabilité et la disponibilité en quantité et en qualité d'eau qui est aussi son habitat.

L'objectif de l'étude consiste à promouvoir une conservation durable, en intégrant une stratégie alliant conservation et bien être humain. La recherche consiste à développer une base d'informations sur la structure, la distribution de la population, la préférence en termes d'habitats ainsi que les types de pressions et menaces qui pèsent sur la population.

MATERIEL ET METHODE

Site d'étude

Le massif de l'Ankaratra est une forêt montagnarde qui est situé dans les hautes terres du centre de Madagascar, à 17 km à l'est de la ville d'Ambatolampy, de la région du Vakinankaratra. Ce massif fait partie des sites prioritaires en matière de conservation des Amphibiens. Il se situe entre 19°19' et 19°24' de latitude Sud et 47°14' et 47°22' de longitude Est (Figure 1). Ce site est la dernière relique importante des Hautes Terres et elle est un site AZE (Alliance for Zero Extinction) quant à la faune et la flore (Randrianasolo, 2012 ; Andriamaro, 2016). Il est aussi un site KBA (Carret et *al.*, 2014), autrement dit une priorité mondiale en matière de conservation en raison de la présence de cette espèce gravement menacée. Depuis 2015, ce site a obtenu un statut de conservation de Nouvelle Aire Protégée (NAP).

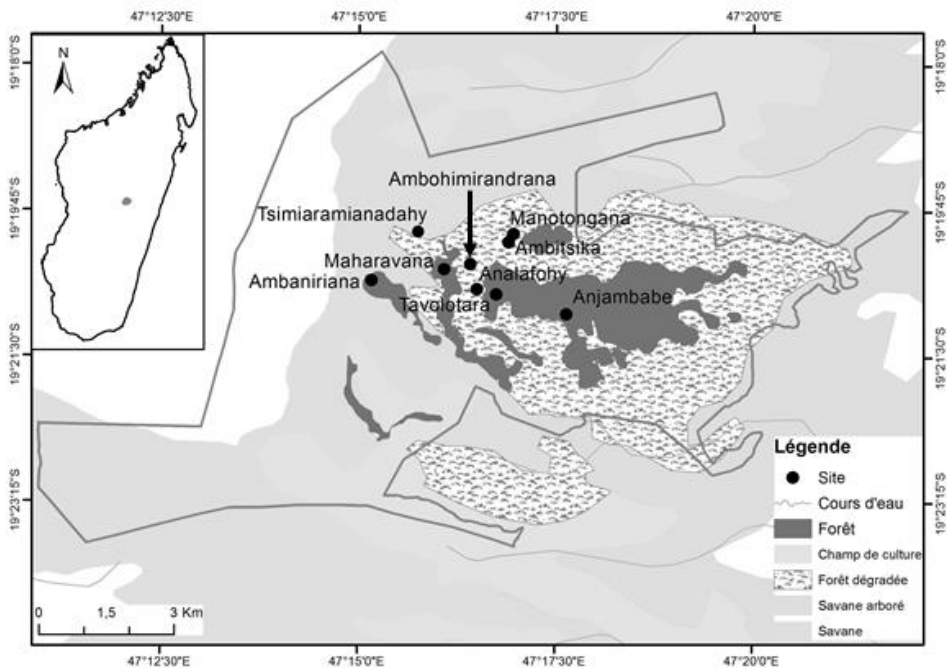


Figure 1 : Localisation de la Nouvelle Aire Protégée

Méthodologie

Neuf sites d'étude (Tableau 1) ont été choisis selon différents types de critères et milieux, à savoir : la présence de cours d'eau rocheux permanent, le type d'habitat existant et leur état de dégradation. Les sites recouvrent différentes parties de la montagne (crête, vallée et versant). L'échantillon s'est basé sur une ligne droite de 100 m au minimum, longeant les ruisseaux. Des informations relatives au dénombrement, à la biologie et à l'écologie de l'espèce ont été réalisées à travers la méthode d'observation directe et de la fouille systématique des microhabitats (Raxworthy et Nussbaum, 1994). La description de l'habitat a été faite le long du transect en déterminant la profondeur de l'eau (Inger, 1994). En outre, elle précise la localisation de cet habitat en déterminant s'il s'agit d'un milieu forestier ou d'une savane. Les mêmes techniques que celles de Moisan et Pelletier (2008) ont été appliquées pour la mesure de la vitesse du courant et de la profondeur de l'eau. L'identification des menaces pesant sur l'espèce ainsi que son habitat a été faite à partir de l'observation directe sur le long du transect.

Tableau 1 : Distribution altitudinale et description de chaque transect visité

| Transect | Altitude en m (début-fin) | Description |
|------------------|----------------------------------|---|
| Anjambabe | 1 900 | Forêt plus ou moins intacte et ombragée |
| Tavolotara | 1 993 | Forêt plus ou moins intacte et ouverte |
| Maharavana | 2 100 | Forêt naturelle avec clairière |
| Analafohy | 2 126 | Forêt dégradé |
| Manotongana | 2 167 | Lisière : cours d'eau séparant une forêt écrémée et un sol dénudé |
| Ambaniriana | 2 166 | Forêt de galerie |
| Ambitsika | 2 202 | Forêt dégradée (forêt exotique auparavant) |
| Ambohimirandrana | 2 244 | Savane e arbustive |
| Tsimiamianadahy | 2 378 | Savane |

L'analyse des données a consisté à déterminer la distribution des individus par classe d'âge suivant l'altitude, sa répartition selon les types de formation et la variation de l'effectif total des individus suivant la profondeur moyenne de l'eau afin d'en déduire la préférence écologique de l'espèce. Le test du X^2 a été utilisé pour effectuer une comparaison de l'effectif. Une analyse de corrélation de Pearson a été réalisée afin de déterminer la relation entre l'effectif des individus et la profondeur de l'eau. La pression a été analysée à partir de la valeur calculée de la somme des paramètres de perturbation de chaque pression, Ppi (durée, intensité et importance) Salafsky et Margoluis (1999).

RESULTATS

Distribution de l'espèce

La Figure 2 représente l'effectif des individus pour chaque classe d'âge par site et selon l'altitude. *Mantydactilus pauliani* est recensé à une altitude comprise entre 1900 à 2378m et elle est abondante entre 1993 et 2202 m d'altitude. Selon la classe d'âge, les adultes et les juvéniles sont dominants en nombre dans cette intervalle d'altitude et surtout entre 1993 et 2166 m. Pourtant, une seule espèce d'adulte est inventoriée dans les sites de Manotongana (2167 m) et d'Ambohimirandrana (2 244 m). Les têtards sont abondants à Tsimiamianadahy (2378 m) alors que seuls 3 individus adultes et un individu juvénile y sont répertoriés. D'après le test du X^2 effectué, les individus pour chaque classe d'âge varie significativement selon

l'altitude ($\chi^2= 134,15$; $p < 0,0001 < 0,05$ et $ddl=16$). Autrement dit, l'effectif des individus par classe d'âge dépend de l'altitude.

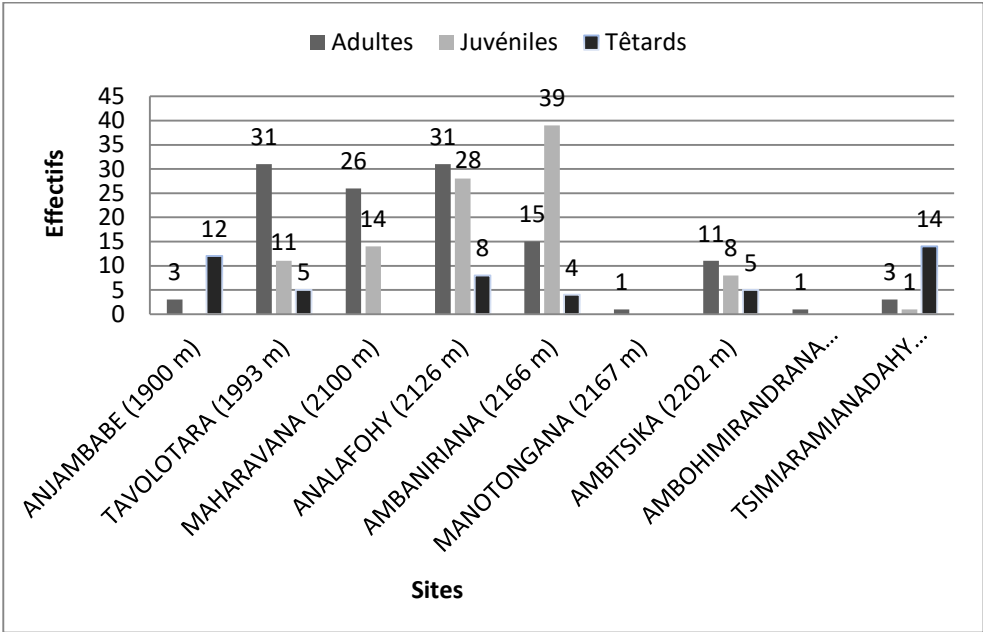


Figure 2 : Effectif des individus recensés par classe d'âge suivant l'altitude

Pour chaque classe d'âge, la préférence des individus, pour la forêt, est significativement remarquable (Figure 03).

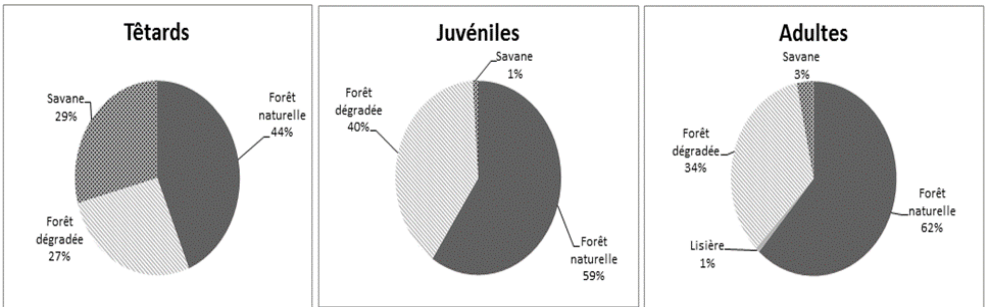


Figure 3 : Distribution des individus par classe d'âge selon le type de formation

Par contre, les têtards affichent un taux notable pour le milieu savanien ($\chi^2=43,57$, $p < 0,0001$ et $ddl=6$).

Variation des individus observés suivant la profondeur de l'eau

L'effectif des individus varie de 1 à 67, et ce, en fonction de la profondeur moyenne de l'eau, qui varie de 4 à 22 cm (Figure 04). Cette corrélation est significativement positive ($p=0,0019$, $r=0,88$), autrement dit, l'effectif des individus augmente avec la profondeur moyenne de l'eau.

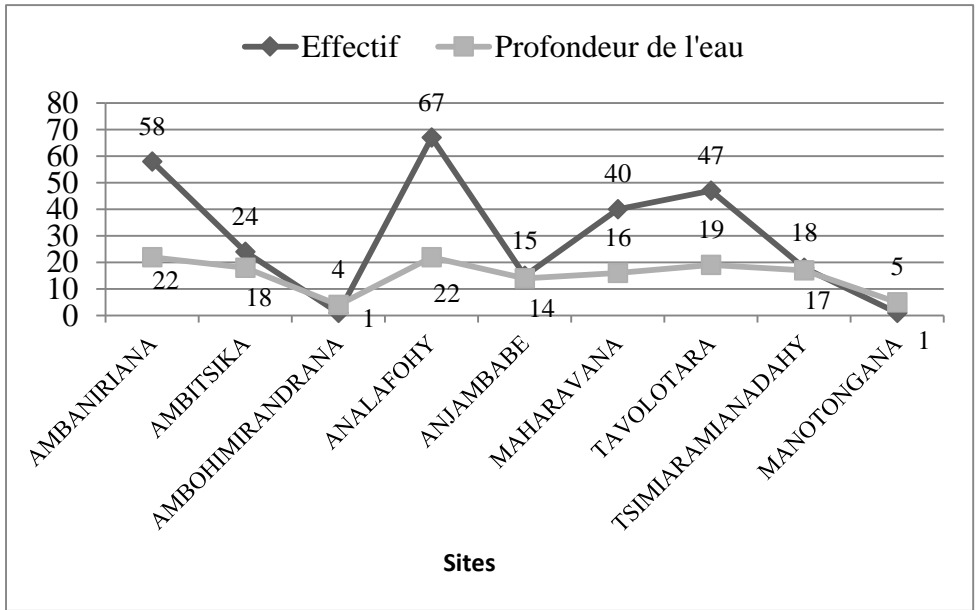


Figure 4 : Variation du nombre d'individus et profondeur moyenne des cours d'eau de chaque site.

Menaces et pression

Six types de menaces dont la plupart sont liées aux activités humaines ont été fréquemment constatés : les feux de brousse, le charbonnage, l'exploitation illicite du bois, la divagation des bétails, la pollution de l'eau et l'érosion. L'intensité de ces différentes pressions varie en fonction du site étudié. L'exploitation du bois, le charbonnage ainsi que les feux de brousse se rencontrent sur l'ensemble des sites mais ceux les plus touchés sont les sites de Manongana, Ambitsika et Ambohimirandrana.

DISCUSSION

Une des menaces majeures qui pèsent sur la batracofaune de Madagascar est la destruction de leurs habitats à cause, entre autres, de la déforestation et de la pollution (Andreone et *al.*, 2008b). Les amphibiens possèdent une spécificité écologique remarquable et une distribution altitudinale bien définie (Raxworthy &

Nussbaum, 1996). *Mantidactylus pauliani* est une espèce strictement aquatique. La majorité des individus de cette espèce a été recensée dans les milieux forestiers aux altitudes comprises entre 1993 m et 2166 m. Le regroupement des individus à ces altitudes serait lié à la présence d'un préférendum au niveau de la qualité du cours d'eau et de la présence d'une variété de microhabitats. Les caractéristiques de ces milieux sont favorables à cette espèce. Les observations ont noté des habitats plus fragmentés et plus dégradés dans les transects de Manotongana, et d'Ambohimirandrana et ses environs. Ceci explique le nombre très faibles d'individus car seul un adulte male a été recensé durant l'inventaire. Pour la survie de chaque classe d'âge, il existe un minima et un maxima de tolérance en quantité et qualité d'eau, cela explique la variation du nombre d'individus suivant sa profondeur moyenne. La présence de cette espèce permet donc d'évaluer la qualité de l'environnement, plus précisément son habitat qui est l'eau. Leur perte équivaldrait à une catastrophe. En effet, cela voudrait dire que l'eau est polluée et donc impropre à la consommation des populations locales qui en dépendent.

La conservation de cette espèce permet donc de protéger son habitat et de pérenniser la ressource en eau qui est indispensable à cette dernière et à la population locale de l'Ankaratra. Néanmoins, l'effectivité de la conservation requiert la diminution voire l'abandon des pratiques néfastes à l'environnement (feu de brousse, coupe illégale, ...). En addition, la réussite de la conservation passe inévitablement par la conscientisation de la population locale sur la valeur intrinsèque de cette ressource qui est vitale pour celle-ci et toutes les espèces qui en dépendent, particulièrement *Mantidactylus pauliani*.

CONCLUSION

Le massif de l'Ankaratra est cependant vulnérable aux différentes activités anthropiques qui peuvent avoir des impacts négatifs sur la survie des espèces qui s'y abritent. Pourtant, *Mantidactylus pauliani* est une espèce qui reflète l'état de son environnement car sa présence ou son absence indique la santé du milieu où elle vit. Ainsi, cette espèce dépend de la disponibilité en quantité et en qualité de la ressource en eau de la zone qui assure sa survie ainsi que celle de la population locale qui en dépend également. La qualité de l'eau repose sur la santé de la forêt, de ce fait, la conservation de cette espèce contribue à la fois à la conservation de l'eau et à celle de la forêt.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) Andreone, F., Cox, N. A., Glaw, F., Köhler, J., Rabibisoa, N. H. C., Randriamahazo, H., Randrianasolo, H., Raxworthy, C. J., Stuart, S. N., Vallan, D. et Vences, M., 2008b. Update of the Global Amphibian Assessment for Madagascar in light of species discoveries, nomenclatural changes, and new field information. *A Conservation Strategy for the Amphibians of Madagascar*, ed. Andreone, F., Monografie, 45, Museo Regionale di Scienze Naturali, Turin
- 2) Inger, R. F., 1994. Key to Successful Project: Microhabitat description. In *Measuring and Monitoring Biological Diversity Standard Methods for Amphibians*, eds. W. R. Heyer, M. A. Donnelly, R. W. McDiarmid, L. C. Hayek, M. S. Foster, pp. 60-66. Smithsonian Institution, Washington.
- 3) Moisan, J. & L. Pelletier. 2008. Guide de surveillance biologique basée sur les macroinvertébrés benthiques d'eau douce du Québec: Cours d'eau peu profonds à substrat grossier. Direction du suivi de l'état de l'environnement, ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs, Québec. 86 p.
- 4) Rabemanajara, F. C. E., Randrianirina, J. E., Razafindrabe, T. & G. Tessa. 2014. *Structure des âges, estimation de la population et statut Bd-de deux grenouilles en danger critique d'extinction du massif de l'Ankaratra (Madagascar), Boophis williamsi et Mantidactylus pauliani (Amphibia : Mantellidae)*. Scripta herpetologica, Italie. 29p.
- 5) Rabibisoa, N. H., A. Mirana, M. Randrianantenaina, B. Randrianalison et T. R. Fulgence (2012). La biodiversité d'ankaratra 84 pages.
- 6) Raxworthy, C. J. 2008. Global warming and extinction risks for amphibians in Madagascar: A preliminary assessment of potential upslope displacement. *A conservation strategy for the amphibians of Madagascar*. Monografia XLV, Museo Regionale di Scienze Naturali, Torino. *In press*.
- 7) Raxworthy, C. J. et R. A. Nussbaum, 1994. A rainforest survey of amphibians, reptiles and small mammals at montagne d'Ambre, Madagascar. *Biological Conservation*, 69: 65-73.
- 8) Raxworthy, C. J. et R. A. Nussbaum. (1996). *Montane Amphibians and Reptiles Communities in Madagascar*. *Conservation Biology*, 10: pages 750-756.
- 9) Vallan., D., Vences, M., et F. Glaw 2003. Two new species of the *Boophis mandraka* complex (Anura, Mantellidae) from the Andasibe region in eastern Madagascar. *Amphibia&Reptilia*, 24 : 305–319.
- 10) Salafsky, N. et R. Margoluis (1999). Threat reduction assessment : A practical and costeffective approach to evaluating conservation and development projects. *Conservation Biology* 13 : 1830-1841

KOBAHY, SOLUTION INNOVANTE POUR LE TRAITEMENT DES EAUX INSALUBRES

par

VAOSOLOMALALA Yvette Maria^(1,3), ANDRIAMAMONJISOA Dimbiniala⁽²⁾,
RALAMBONDRAHETY Rahanira⁽¹⁾, RAKOTOSAONA Rianasoambolanoro⁽²⁾,
RANDRIANA Nambinina Richard F.⁽¹⁾

(1) Ecole Doctorale Génie des Procédés et des Systèmes Industriels, Agricoles et Alimentaire, Université d'Antananarivo, Madagascar

(2) Centre National de Recherches sur l'Environnement (CNRE), MESUPRES

(3) Centre National d'Application des Recherches Pharmaceutiques (CNARP), MESUPRES)

RESUME

L'objectif de l'étude est de développer des procédés de traitement des eaux dans le but d'améliorer le taux d'accès à l'eau potable dans le sud de Madagascar. La plante kobahy dont le traitement chimique s'est basé sur la coagulation-floculation a ainsi été utilisée. Les analyses menées en laboratoire ont permis d'améliorer les techniques relatives à la qualité de l'eau dans la mesure où, après traitement, il y a eu une baisse de concentration des paramètres indicateurs de la pollution de l'eau tels que les nitrites, les nitrates, l'ammonium et la turbidité. D'après le screening photochimique, les résultats montrent également que ces plantes contiennent une quantité élevée de tanin qui fonctionne très bien en tant que coagulant. Le test de toxicité de l'extrait brut de Kobahy confirme que cette plante n'affecte aucun organe et ne présente donc pas de danger pour la santé humaine. Une solution pratique est alors proposée pour améliorer l'utilisation de cette plante. Les études préliminaires sont encourageantes et incitent à développer cet axe de recherche pour mettre en place des procédés de traitement des eaux en valorisant les ressources naturelles.

Mots-clés : Traitement des eaux, Kobahy, Bio-floculant, Toxicité

ABSTRACT

The use of the kobahy plant for water treatment in order to meet the marked insufficiency in quantity and quality of water intended for human consumption in the southern regions of Madagascar is based on a chemical phenomenon which is

coagulation flocculation. The analyzes and studies in the laboratory show us that the techniques improve the quality of the water and give satisfactory results, there is a drop in the concentration of the parameters indicating water pollution such as nitrites, nitrates, ammoniums and turbidity. According to the phytochemical screening, the results show us that this plant contains a high quantity of tannin which works very well as a coagulant. The toxicity test of the crude Kobahy extract confirms that this plant does not affect any organ and does not present a health hazard for the populations which use it: no lethal dose up to 5000 mg / kg in mice. A practical solution is then proposed to further improve the use of this plant and following the field technique of the people of the south. The preliminary studies are encouraging and encourage the development of this line of research to set up processes for water treatment and which will allow the development of natural resources and improve the rate of access to drinking water, including the south of Madagascar is currently the main victim.

Key-words : Water treatment, Kobahy, Bio-floculant, Toxicity

INTRODUCTION

L'eau est essentielle à la vie. Aucun être vivant ne peut survivre sans elle. Elle doit donc être potable. La pureté de l'eau entend qu'elle ne doit pas contenir d'éléments chimiques dangereux ni de germes nocifs pour la santé (Kassim, C. 2005). L'accès à l'eau, qui constitue sans aucun doute le bien le plus précieux de notre planète, est aussi celui qui engendre les inégalités les plus criantes. En effet, près de 663 millions de personnes n'ont pas d'accès à l'eau potable, soit un Terrien sur 10 (Le journal numérique 15 nov. 2017).

A Madagascar, le taux d'accès à l'eau en 2012 aura été seulement de 27,7% (INSTAT 2012). Face à ce constat, le Plan National de Développement 2015-2019 se propose d'améliorer la situation par, et entre autres, « *la mise à jour du cadre juridique, légal et réglementaire de l'Eau, de l'Hygiène et de l'Assainissement, la garantie de l'accès à l'eau potable salubre et accessible et un assainissement adéquat pour tous et enfin le développement de la gestion intégrée des ressources en eau* ».

Le Sud de Madagascar est composé de plusieurs régions : Anosy, Androy, Atsimo Andrefana où l'accès à l'eau est un problème. Ces difficultés d'accès impactent de manière importante l'alimentation et l'hygiène. En 2018, le taux d'accès à l'eau potable des régions du Sud de Madagascar était en dessous de la barre des 50% et la moyenne nationale était estimée à 41% (UNICEF, INSTAT 2018). Dans la région Androy, plusieurs Sihanake ou mare ont été observées. A

cause de l'éloignement du pipe-line qui alimente la population en eau, elle se doit d'utiliser encore la technique de « purification traditionnelle de l'eau ». Il s'agit d'un traitement de l'eau du Sihanake par des plantes écrasées à l'aide d'une pierre pour libérer la sève. Elles sont ensuite versées dans l'eau. Une poignée de cendre y est ajoutée. Le mélange est remué durant environ 1 minute. La sève libérée associée à la cendre provoque une coagulation puis une floculation. La coagulation-floculation apparaît de plus en plus comme non seulement un procédé de clarification mais également comme un traitement d'élimination spécifique capable, dans une certaine mesure, de rivaliser avec des traitements plus coûteux comme l'adsorption sur charbon actif (Fiessinger, 1980). Les flocs générés décantent rapidement pour laisser une eau de plus faible turbidité en surface. Enfin la partie supérieure de l'eau traitée est récupérée.

La plante utilisée, endémique de Madagascar, est le Kobahy ou *Terminalia monoceros*. Sa zone de répartition est le Sud à savoir les régions Anosy, Androy et Atsimo Andrefana (HPERRIER, 1954).

La présente étude présente plusieurs intérêts dans la mesure où il est important de savoir si la plante utilisée présente des formes de toxicité ou pas, mais aussi de déterminer le principe actif de la plante qui provoque le phénomène de coagulation-floculation dans le cadre du traitement de l'eau. Le but est d'améliorer ce mode de traitement et de créer un produit plus facile à manipuler tel une pastille ou une infusette.

MATERIELS ET METHODES

Taxonomie du matériel végétal

Appartenance de la plante utilisée

| | |
|------------------|-----------------------------|
| Classe | Mangnoliopsida |
| Ordre | Myrtale |
| Famille | Combrétaceae |
| Genre | <i>Terminalia</i> |
| Espèce | <i>Terminalia monoceros</i> |
| Nom vernaculaire | kobahy |

Répartition géographique

Elle se localise dans les régions Androy et Anosy (Institut Botanique-Géologique Colonial de Marseille, 1953)

Echantillonnage et prélèvement

Les tiges et les feuilles des plantes ont été collectées à Beloha Androy. Des traitements de l'eau par la plante ont été faits sur terrain puis les eaux avant et après traitement ont été récupérées pour analyser les paramètres physico-chimiques dans le cadre d'une étude minérale, bactériologique et de toxicité. Les plantes ont été mises dans des sacs et les échantillons d'eaux dans des bouteilles en verre. Au laboratoire, les plantes ont été étalées à l'air libre, à l'abri du soleil et les échantillons d'eaux conservés au réfrigérateur.

Préparation des échantillons pour les criblages phytochimiques

L'extrait utilisé au laboratoire a été obtenu par macération à froid pendant 24 h dans une solution hydro alcoolique (alcool 80%), puis a ensuite été lyophilisé.

Criblages phytochimiques

Le screening ou criblage phytochimique est une méthode de détermination des grandes familles chimiques contenues dans un extrait de plante. Pour ce faire, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les leuco anthocyanes, les anthocyanes, les anthraquinones, les tanins et les polyphénols, les stérols insaturés et les triterpènes, les polysaccharides, les coumarines, les hétérosides cyanogènes et les saponosides ont été criblés.

La méthode utilisée est celle de FONG et *al.*, 1974, qui s'associe à des réactifs chimiques spécifiques.

Essai de coagulation floculation avec les extraits de Tanins et les polyphénols

Les extraits lyophilisés de tanin et de polyphénol obtenus à partir de la plante ont été utilisés de la même façon que celle pratiquée par la population de l'Androy. Pour tester son efficacité, la technique de jar a été utilisée.

Préparation du traitement des eaux insalubres

La partie utilisée est la partie aérienne de la plante soit les tiges et les feuilles. Ces dernières sont pilées puis remuées dans l'eau à traiter avec de la cendre (évalué à 4g/litre d'eau). Il a fallu attendre 10mn pour que le phénomène de coagulation floculation se termine et que les floccs décantent.

L'analyse des propriétés physico-chimique des eaux

Ces analyses ont permis de déterminer les concentrations de chaque paramètre physico-chimique contenu dans l'échantillon d'eau à savoir : la turbidité, la conductivité, le nitrate, le nitrite, le phosphate et le Ph.

Le pH a été déterminé avec un PH-mètre EUTECH Instruments. La turbidité et la conductivité ont été mesurées respectivement avec un turbidimètre et un conductimètre.

Les matières en suspension (MES) comprennent les matières décantables qui se déposent au repos pendant une durée fixée. Ce sont les très fines particules en suspension qui donnent un aspect trouble à l'eau.

Les paramètres tels les Chlorures, le nitrite, le nitrate et l'ammonium ont été déterminés par des méthodes colorimétriques. Ils constituent d'importants indicateurs d'arrivée de pollution d'eau.

Toxicité aigue

Elle a consisté à déterminer la dose de produit qui a, par ailleurs, tué la moitié de la population de souris auxquelles on l'a administré (Miller, 1944). La dose létale médiane (DL50), est un indicateur quantitatif de la toxicité d'une substance. L'observation de la mortalité a porté sur 72h de suivi. La détermination de la DL50 a nécessité, au moins, le test de trois doses, en duplicate (répété deux fois).

En fonction des résultats obtenus à partir des essais préliminaires, plusieurs doses ont été choisies de façon à ce qu'elles entraînent des taux de mortalité compris entre 10 et 90%. L'observation a duré 72h (Ouedraogo, 2001).

Les doses testées sur souris ont été de : 50mg/kg ; 100mg/kg ; 500mg/kg ; 1 000mg/kg ; 2 000mg/kg ; 4 000 mg/g et 5 000mg/kg.

Toxicité subaigüe

Elle correspond à l'administration répétée d'un produit, sur une période n'excédant pas 3 mois. Elle a permis d'identifier l'organe ou le système sur lequel le toxique agit préférentiellement. La dose administrée est de 10mg/kg/j sur souris par voie orale (Dose équivalente à 1,11mg/kg/j pour un homme de 70kg). Chaque lot de souris, mâle et femelle, a reçu cette dose journalière pendant 28j. Le lot témoin a reçu 0,5ml/souris d'eau distillée et un lot a reçu 0,5ml de Solution de cendre (témoin véhicule).

Préparation des produits

60g de cendre de bois de chauffe ont été additionnés à 15 litres d'eau afin d'obtenir Sc = 4g de cendre/litre, le tout a été décanté pendant 30min. La concentration des produits a été préparée avec la solution Sc pour avoir 10mg de produit / kg de souris dans un volume de 0,5ml/souris/jour. L'équivalence pratique : (750mg de produit dans 15 litres de solution de cendre Sc, laisser décanter et 1,5litre/j de ce soluté comme eau de boisson pour un homme de 70kg).

RESULTATS

Résultats des criblages phytochimiques de kobahy

Tableau 1 : Criblage phytochimique de la plante kobahy

| Familles chimiques | Résultat | Conclusion |
|----------------------------------|----------|--|
| Alcaloïdes | - | Absence d'alcaloïde |
| Flavonoïdes | ++ | Présence de flavonoïdes et de leucoanthocyanes |
| Stérols insaturés et Triterpènes | +++ | Présence de stérols insaturés et Triterpènes |
| Hétérosides cyanogénique | - | Absence d'hétérosides cyanogénique |
| Saponoside | - | Présence de saponosides mais en quantité faible |
| Cardénolides et bufadiénoïdes | ++ | Présence de désoxy, de sucre et absence de lactones insaturées |
| Anthraquinones | - | Absence d'anthraquinone |
| Tanin et polyphénol | +++ | Présence de tanin et polyphénol |

+ : Quantité faible ou à l'état de trace ; ++ : Présence ; +++ : Présence très abondante

Les stérols insaturés, les triterpènes le tanin et polyphénol sont particulièrement abondants dans la plante. Les anthraquinones, les saponosides, les hétérosides cyanogéniques et les alcaloïdes sont absentes tandis que les flavonoïdes, cardenolides et bufadiénoïdes sont faiblement représentées.

Résultat de la coagulation floculations avec le tanin et le polyphénol

Le tableau II montre le résultat du test de coagulation floculation sur l'extrait de tanin et de polyphénol.

Tableau 2 : Test de coagulation floculation avec le tanin et le polyphénol

| Principe actif | Résultat | Conclusion |
|----------------|----------|--------------------------------|
| Tanin | + | Coagulation floculations |
| Polyphénol | - | Pas de coagulation floculation |

Les tests effectués à partir des deux extraits chimiques montrent que le tanin donne un résultat positif sur la coagulation floculation.

Résultat des analyses physico chimiques avant et après traitement

Les résultats d'analyses physico chimique avant et après traitement de l'eau avec la plante sont présentés dans les figures et tableaux suivants :

Norme = Norme de potabilité de l'eau de la Jirama ;

A = eau avant traitement ;

B = eau après traitement ;

(0, 1, 2, 3) = différents points de prélèvement.

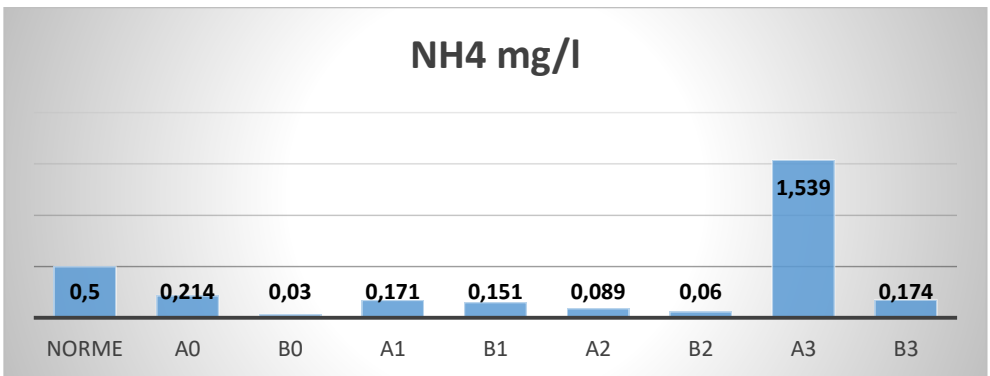


Figure 1 : Ammonium

La concentration en ammonium diminue dans l'eau après traitement.

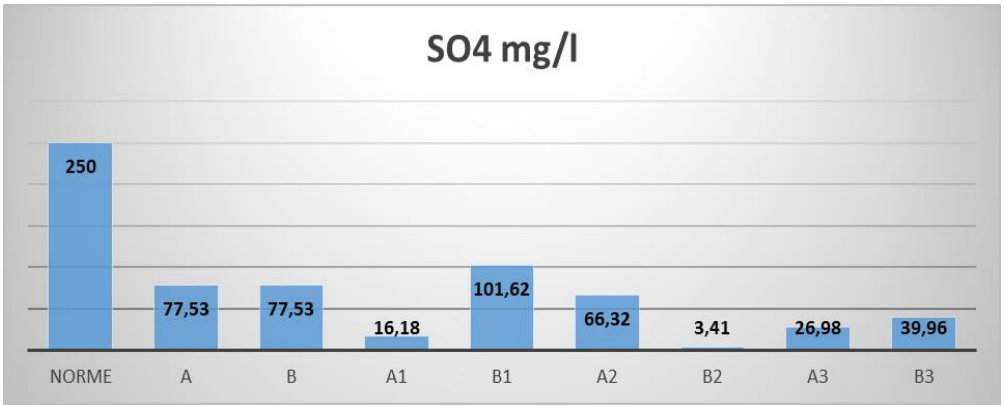


Figure 2 : Sulfate

La quantité de sulfate augmente dans l'eau après traitement.

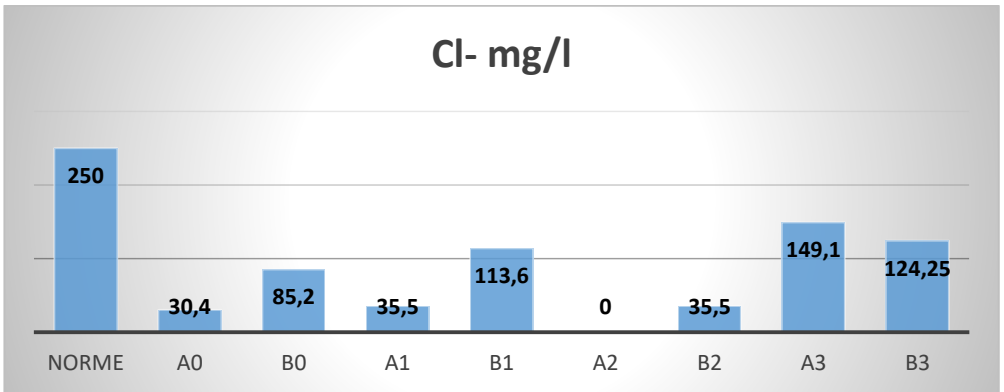


Figure 3 : Chlorure

Toutes les concentrations respectent la norme toutefois, les teneurs en ion et chlorure des eaux brutes et traitées sont inférieures aux teneurs suggérées par la norme malagasy.

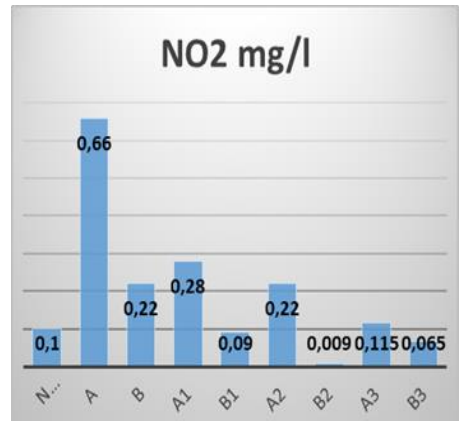
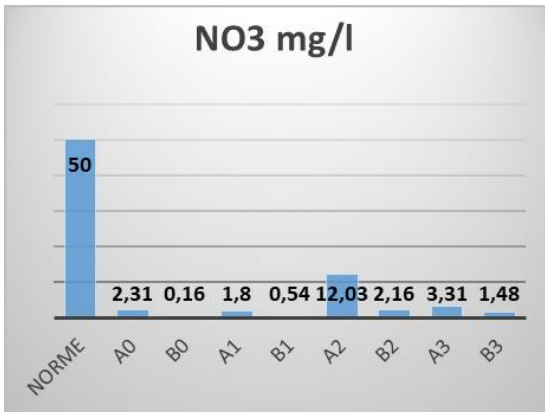


Figure 4 : Nitrite et Nitrate

La Figure 4 montre qu'après traitement, il y a une baisse de la concentration en nitrite et nitrate dans l'eau. Il peut alors être dit que le traitement réagit bien.

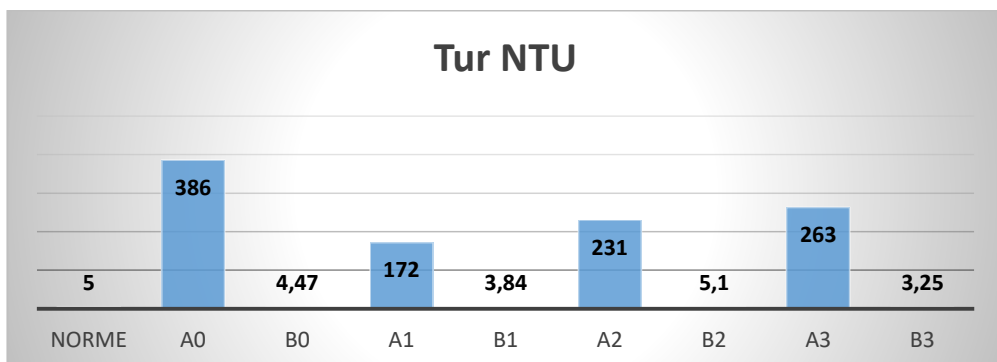


Figure 5 : Turbidité

Une diminution importante du taux de turbidité après traitement est constatée. Le mélange de la plante, la cendre et l'eau entraîne une réaction chimique qui est la coagulation floculation. Les procédés de coagulation et de floculation facilitent l'élimination des matières en suspension et des colloïdes en les rassemblant sous forme de floc dont la séparation est ensuite effectuée. Le résultat est visible après un temps de pause de 30mn.

Tableau 3 : Température, oxygène dissous, matière en suspension, ph

| Type d'eau | Matière en suspension (mg/l) | pH |
|-----------------------|------------------------------|-----------|
| Norme malgache | | 6,5- 9,00 |
| A0 | 4300 | 10,31 |
| B0 | 206 | 12,38 |
| A1 | 874 | 10,07 |
| B1 | 1875 | 13,04 |
| A2 | 234 | 8,11 |
| B2 | 67 | 12,76 |
| A3 | 125 | 6,72 |
| B3 | 23 | 7,61 |

Les valeurs des matières en suspension et du pH sont affichées avant traitement (couleur verte) et après traitement (couleur grise). Le pH augmente après le traitement et en ce qui concerne la matière en suspension il y a une forte diminution des particules dans l'eau après coagulation floculation.

Toxicité aigüe

Le Tableau 4 montre le taux de mortalité observé par voie orale des souris sur 72 heures.

Tableau 4 : La toxicité aigüe

| Doses administrées en (mg)/kg | Nombre total de souris testées | Nombre de morts (72h) | Pourcentage de mortalité |
|-------------------------------|--------------------------------|-----------------------|--------------------------|
| 50mg/kg | 5 | 0 | 0% |
| 100mg/kg | 5 | 0 | 0% |
| 500mg/kg | 5 | 0 | 0% |
| 1 000mg/kg | 5 | 0 | 0% |
| 2 000mg/kg | 5 | 0 | 0% |
| 4 000mg/kg | 5 | 0 | 0% |
| 5 000mg /kg | 5 | 0 | 0% |

Il n'y a pas de doses létales observées pour ces extraits lyophilisés de Kobahy ; par voie orale sur souris.

Toxicité subaigüe

Les doses administrées sur les souris sont de 10mg/kg/j sur souris par voie orale (Dose équivalente à 1,11mg/kg/j pour un homme de 70kg pour une ration journalière de 1.5 litre d'eau).

Variation pondérale et comparaison de poids au dernier jour du traitement

Sur les souris mâles et femelles, la solution de cendre entraîne une diminution du poids par rapport au lot témoin traité par de l'eau distillée. L'extrait de Kobahy entraîne, dans un premier temps, une augmentation de Poids au niveau des souris mâles mais la différence de poids, au 28ème jour, avec le lot témoin est non significative. En d'autres termes, K n'entraîne pas d'excès de poids chez les souris mâles tandis que cet excès est léger chez les souris femelles.

Comparaison de poids de certains organes viscéraux après traitement de 30 jours

D'après les observations des organes, l'extrait de Kobahy n'affecte pas le poids des organes : cœur, rate, foie, et vésicule biliaire et reins. Les différences avec les lots témoins ne sont pas significatives.

Par ailleurs, la solution de cendre, qui est le véhicule utilisé, n'affecte pas le poids des organes : cœur, rate, foie et vésicule biliaire, reins et surrénales. Les différences avec les lots témoins ne sont pas significatives.

Parmi les trois extraits, celui de Kobahy est le meilleur. Il s'agit d'extraits lyophilisés de plantes qui renferment de nombreuses familles chimiques différentes. La dose obtenue à partir de la préparation traditionnelle et son utilisation sur des souris de laboratoire (10mg/kg/j), n'est pas toxique. Les résultats de la toxicité aiguë et la toxicité subaiguë (28 jours de traitement journalier) montrent donc que l'extrait de kobahy semble être inoffensif.

DISCUSSION

Les résultats affichent que la plante kobahy possède la capacité chimique de coagulation floculation puisqu'elle réduit la turbidité et les matières en suspension dans l'eau, après traitement. Les résultats relatifs à *Terminalia catapa* en matière de coagulation floculation semble confirmer l'efficacité de ce genre dans le traitement des eaux (Nor, 2016). L'augmentation du Ph après traitement s'explique par le fait que la plante agit sur l'alcalinité de l'eau. Les mêmes résultats ont été confirmés par des études réalisées sur *Terminalia bellirica* et *Terminalia chebula* (Snisha, 2016) qui sont des plantes de la même espèce

Il peut être confirmé, d'après les résultats du screening phytochimique et les essais de coagulation - floculation par les extraits de tanin et des polyphénols, que le principe actif de la plante qui agit est le tanin. Les travaux de Aouba (2017) expliquent combien le tanin est un bon coagulant. Un extrait riche en tanin pourrait donc être plus actif.

Par voie orale sur souris, ces produits ne sont pas toxiques. L'extrait lyophilisé de Kobahy est une solution alternative pour améliorer la potabilité de l'eau salubre utilisée dans le sud de Madagascar. L'étude montre que l'extrait de cette plante possède une propriété de coagulation floculation de l'eau traitée. La solution de cendre seule n'a pas cet effet. L'étude de toxicité montre que la consommation journalière de cet extrait ne présente pas de danger immédiat (aiguë et subaiguë).

Une étude plus approfondie sur la toxicité : étude de paramètres biochimiques et hématologiques en subaiguë, et une toxicité à long terme : subchronique (1 à 3 mois) et chronique (supérieur à 3 mois à un ou plusieurs années) s'impose.

L'étude du ou des principes actifs responsables de cette propriété intéressante doit être menée.

Dans le cadre d'une perspective immédiate, il est suggéré d'améliorer cette méthode par la préparation d'infusettes ou de pastilles contenant 60g de cendre fin de bois de chauffe et de 750mg d'extrait de Kobahy, pour traiter 15 litres d'eau, et ce, dans le but d'aider les populations qui sont en difficulté d'accès à l'eau potable.

CONCLUSION

Kobahy (*Terminalia monoceros*) est une plante endémique utilisée quotidiennement dans le sud de Madagascar pour potabiliser n'importe quelle eau. Cette étude a tenté de confirmer son utilité en démontrant scientifiquement sa valeur. La recherche de solutions durables, la valorisation et l'utilisation rationnelle d'un produit pour le bien de la population locale, ont motivé la réalisation des travaux dans le but d'améliorer les connaissances traditionnelles.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) Annales de l'Institut Botanique-Géologique Colonial de Marseille 1: 25. 1953.
- 2) Fiessinger, 1980. Les coagulation et floculation. Mécanisme d'agrégation structure et densité des floccs
- 3) HPERRIER DE LA BATHIE, 1954. Flore de Madagascar et des Comores
- 4) INSTAT, 2012. « Enquête nationale sur le suivi des objectifs du millénaire pour le développement à Madagascar »
- 5) Kassim, C., 2005. Etude de la qualité physico-chimique et bactériologique de l'eau des puits de certains quartiers du District de Bamako. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Bamako. 69p
- 6) Miller L.C., Tainter M.L. (1944). Estimation of DL_{50} and its error by means of logarithmic probit paper. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 57: 261-264.
- 7) Nor Suhaili Binti Mohamad Zi et al., 2016. Study The Effectiveness Of *Terminalia Catappa* Linn Leaf, *Zea Mays* And Coconut Husk. In : Coagulation and Flocculation Treatment.
- 8) Nora Aouba, 2017. Etude d'un coagulant organique naturel pour le traitement des eaux potable et usées : le tanfloc.
- 9) Ouédraogo Y., Nacoulma O., Guissou I.P., Guede Guina F., (2001). Evaluation in vivo et in vitro de la toxicité des extraits aqueux d'écorce de tige et de racine de *Mytragina inermis* (Willd). O. Ktz (Rubiaceae). *Pharm. Med. Trad. Afr.* Vol. 11: 13-29.
- 10) Plan National de Développement 2015-2019
- 11) Snisha, S., 2016. pH Stabilization of potable water using selected plant metabolites
- 12) UNICEF, INSTAT, « Services d'eau de boisson, services d'assainissement, et service d'hygiène ». 2018

<https://www.ouest-france.fr/monde/afrique/afrique-320-millions-de-personnes-sans-acces-l-eau-potable-5393217>Le journal numérique (15 nov 2017)

METABOLITES SECONDAIRES ISOLES DE *VACCINIUM SECUNDIFLORUM HOOK* (ERICACEAE), UNE PLANTE ANTI-DIARRHEIQUE, ENDEMIQUE DE MADAGASCAR

par

RASOANIRINA Mampionona M.⁽¹⁾, RALAMBOMANANA Dimby⁽¹⁾,
RAZAKARIVONY Andrianambinina⁽²⁾, RAMIARISON Hariliva⁽¹⁾,
ANDRIAMBELOSON Herivony O.⁽³⁾, RANDRIANASOLO Rivoarison^(1,4)

(1) Laboratoire de Produits Naturels et Biotechnologies (LPNB), Université d'Antananarivo, Madagascar

(2) Laboratoire de Chimie Appliquée aux Substances Naturelles (LaCASN), Université d'Antananarivo, Madagascar

(3) Centre National de Recherches sur l'Environnement (CNRE), MESUPRES

(4) Laboratoire de chimie des substances Naturelles et Chimie Organique biologique (LCSN-CB),
Université d'Antananarivo, Madagascar

RESUME

La plante *Vaccinium secundiflorum Hook* (ERICACEAE) est endémique de Madagascar, sa partie aérienne est utilisée localement pour traiter la diarrhée.

La diarrhée reste l'une des principales causes de décès au niveau mondial surtout dans les pays en voie de développement. Elle affecte les enfants en bas âge et 6900 enfants de moins de 5 ans en meurent chaque année à Madagascar. La découverte de nouvelles molécules antibactériennes s'avère primordiale en vue d'apporter une contribution dans la lutte contre cette maladie. C'est dans cette optique qu'une recherche fondamentale en chimie a été menée. L'objectif étant l'isolement, l'identification des principes actifs de la plante et la détermination des activités antibactériennes de ses extraits et des produits.

À cet effet, cinq extraits ont été préparés à partir de la poudre de la plante : extrait hydroalcoolique, extrait hexanique, extrait au dichlorométhane, extrait à l'acétate d'éthyle et extrait méthanolique. Le criblage phytochimique a montré la présence de tanins, flavonoïdes, polyphénols, terpénoïdes et stéroïdes. Les méthodes chromatographiques telles que la chromatographie sur couche mince et la chromatographie sur colonne à basse pression ont été mises à profit pour l'isolement et la purification. Ainsi, huit produits ont été obtenus à l'état pur. La spectroscopie RMN a été utilisée pour la détermination structurale des produits. L'interprétation des spectres ont permis d'identifier trois produits appartenant à la famille des

polyphénols dont la quercétine et cinq terpénoïdes dont l'acide ursolique connu pour ses activités antibactériennes. Un test antibactérien positif de l'extrait à l'acétate d'éthyle sur la souche *Salmonella enteritidis* nous a permis de mettre en évidence l'activité antidiarrhéique de la plante *Vaccinium secundiflorum* Hook, apportant ainsi un élément de preuve scientifique pour son utilisation en médecine traditionnelle.

Mots-clés : Triterpène, Polyphénol, Antidiarrhéique, Endémique, Plante, *Vaccinium*

ABSTRACT

The plant *Vaccinium secundiflorum* Hook (ERICACEAE) is endemic to Madagascar. The local population to treat diarrhoea uses the aerial part.

Diarrhoea remains the cause of death worldwide, especially in developing countries. It affects children and 6900 children under five years due each year cause of this disease. The discovery of new antibacterial molecules is essential to contribute in the treatment against this disease. It is with this in mind that fundamental research in chemistry has been carried out. The objective being the isolation, the identification of the active compound from this plant and the determination of antibacterial activities of its extracts and the isolated products.

For this purpose, five extracts were prepared from the plant powder: hydroalcoholic extract, hexane extract, dichloromethane extract, ethyl acetate extract and methanolic extract. Phytochemical screening showed the presence of tannins, flavonoids, polyphenols, terpenoids and steroids. Chromatographic methods such as thin layer chromatography and low-pressure column chromatography have been used for isolation and purification. Eight products were obtained in the pure state. The NMR spectroscopy is used to determine the structure of isolated substances. Interpretation of the spectra permits to identify three products belonging to the polyphenol family, including quercetin, and five terpenoids as ursolic acid known to have antibacterial activities. A positive antibacterial test with ethyl acetate extract on *Salmonella enteritidis*, enabled us to demonstrate the antidiarrheal activity of the plant and providing an element of scientific proof for its use in traditional medicine.

Key-words : Triterpene, Polyphenol, Antidiarrhoeic, Endemic, Plant, *Vaccinium*

INTRODUCTION

Depuis plusieurs années, les plantes médicinales sont utilisées par l'homme pour se soigner. Cette pratique existe toujours dans les pays en développement comme Madagascar où la majorité de la population Malagasy utilise des plantes pour traiter la diarrhée.

La diarrhée est définie par au moins 3 émissions de selles molles ou liquides dans une journée avec une consistance anormale. Elle peut être due à plusieurs types d'infections à savoir : des infections bactériennes, des infections virales et des infections parasitaires. La diarrhée est la deuxième cause mondiale de mortalité chez les enfants de moins de 5 ans surtout dans les pays en développement (OMS, 2017). 6900 enfants de moins de 5 ans meurent chaque année de cette maladie à Madagascar dont 90 % des cas sont dus au manque d'assainissement et d'hygiène ainsi qu'au manque d'eau potable (WSP, 2012). En essayant de lutter contre cette maladie, les personnes éloignées des hôpitaux utilisent les ressources qui sont à leur disposition pour soigner leurs enfants. Une telle situation est très tragique et nécessite une prise de responsabilité adéquate. Or, l'OMS favorise les recherches de médicaments pour traiter cette maladie à partir de son utilisation traditionnelle (Atta, A et Mouneir, S., 2004).

Ainsi, des études ethnobotaniques sur les plantes antidiarrhéiques de Madagascar ont été menées. La *vaccinium secundiflorum* Hook a été sélectionnée pour une étude chimique et biologique approfondie.

Les objectifs fixés étant :

- L'identification des métabolites secondaires dans la plante,
- L'isolement et identification des principes actifs de la plante afin de déterminer la(les) molécules responsables de l'activité antidiarrhéique.

La détermination des activités antibactériennes de l'extrait à l'acétate d'éthyle et des produits isolés qui constituent une première étape de preuve scientifique sur la véracité et l'efficacité de l'utilisation de la plante en médecine traditionnelle.

MATERIELS ET METHODES

Site de collecte et préparation de la plante

La plante *Vaccinium secundiflorum* Hook connue sous le nom vernaculaire de Voaramontsina est un arbuste de 2m de hauteur avec des fruits de couleur rouge sombre à la maturité (RAKOTOARIVELO et al., 2013). Elle a été collectée dans la commune d'Ambohijoky Antanetibe en 2018. L'identification botanique de cette plante a été effectuée par les botanistes du département de flore au parc botanique et

zoologique de Tsimbazaza. La partie aérienne a été ensuite séchée à l'abri du soleil et a été broyée pour l'obtention de poudres.

Screening phytochimique

Le Screening phytochimique est une méthode qui permet de connaître les familles chimiques présentes dans une plante. Pour *Vaccinium secundiflorum* Hook, les méthodes utilisées ont été celles adoptées H.H.S. Fong et *al.* (1977), J. Bruneton (1999) et Evans W. C. (2002). Ces méthodes utilisent des réactifs spécifiques pour chaque famille chimique à détecter. Le test est basé sur une réaction de coloration et de précipitation.

– Criblage des alcaloïdes : l'analyse a été effectuée en trois étapes : la macération chlorhydrique, le test préliminaire et le test de confirmation en utilisant les réactifs de Wagner, de Mayer et de Dragendorff.

– Criblage des flavonoïdes et Leucoanthocyanes : le test de Wilstater a été réalisé pour détecter les présences de flavones, flavonol, flavanone et leucoanthocyane. Et le test de Bath Smith pour la vérification des présences d'anthocyanes.

– Criblage des tanins et polyphénols : la réaction de précipitation et de coloration a été effectué en utilisant les réactifs comme : le NaCl, la gélatine salée et le FeCl₃ à 10 % dans du méthanol sur l'extrait hydroalcoolique.

– Criblage des stéroïdes et terpenoïdes : pour les détecter, le test de Liebermann Burchard, le test de Salkowski, le test de Badjet Kedde ont été réalisés.

– Criblage des saponines : pour détecter les saponines dans la plante, nous avons fait le test de mousse en utilisant de l'eau distillé.

– Criblage des polysaccharides : leur mise en évidence se fait par un test de précipitation. En réalisant une décoction aqueuse suivie d'un ajout de quelque volume d'éthanol.

Préparation des extraits

Après broyage, 1 000g de poudre ont été macérées dans l'éthanol 90° pendant 72 heures. L'homogénat obtenu a été filtré successivement deux fois sur coton hydrophile puis sur papier filtre Whatman de 3 mm. La solution obtenue a été ensuite évaporée à l'évaporateur rotatif à une température de 40°C et sous vide. L'extrait obtenu a été par la suite utilisé pour le partage liquide-liquide pour obtenir l'extrait hexanique, l'extrait dichlorométhane, l'extrait acétate d'éthyle et l'extrait méthanolique.

Fractionnement et isolement

Pour la séparation des molécules chimiques dans la plante, 4g de l'extrait à l'acétate d'éthyle ont été fractionnés sur chromatographie à basse pression avec la silice comme adsorbant et un mélange d'hexane/ acétate d'éthyle (99/1 à 0/100) comme phase mobile. Le remplissage de la colonne a été fait par voie humide.

Les produits isolés ont été ensuite identifiés par l'utilisation de la spectroscopie RMN. Les spectres ^1H , ^{13}C , DEPT, COSY, HSQC et HMBC ont été enregistrés sur Brüker AV-600 avec des valeurs spectrales données en δ (ppm).

Test antidiarrhéique-test antibiogramme

Comme la diarrhée est en partie causée par des bactéries, des tests antibactériens ont été faits sur l'extrait à l'acétate d'éthyle de la plante *Vaccinium secundiflorum* Hook. Le test a été effectué au sein du laboratoire du CNRE, 04 souches bactériennes ont été utilisées :

- Gram (+) : *Staphylococcus aureus* ATCC 11632 ; *Bacillus cereus* ATCC 13061,
- Gram (-) : *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*.

Les antibiotiques de référence utilisés ont été l'acide Naléxidique (30 μg /disque), l'Erythromicine (15 μg /disque) et l'acide fusidique (22 μg /disque). Le milieu de culture étant le Mueller-Hinton (MH).

La méthode utilisée a été celle développée par Nielsen *et al.* (2000), Pyun *et al.* (2006) et Ngameni *et al.* (2009).

RESULTATS ET DISCUSSION

Screening phytochimique

Le criblage phytochimique de l'extrait hydroalcoolique de la plante *Vaccinium secundiflorum* Hook est présenté dans le tableau 1. Ceci montre que la plante contient des flavonoïdes et leucoanthocyanes, des polyphénols et tanins, des terpénoïdes et stéroïdes ainsi que des polysaccharides. L'absence des alcaloïdes, des quinones et des saponines dans cet extrait est notée.

Tableau 1 : Criblage phytochimique de l'extrait hydroalcoolique de la plante *Vaccinium secundiflorum* Hook

| Tests | Résultats |
|------------------------------|-----------|
| Alcaloïdes | - |
| Flavonoïdes leucoanthocyanes | + |
| Polyphénols et Tanins | + |
| Polysaccharides | + |
| Quinones | - |
| Terpénoïdes et stéroïdes | + |
| Saponines | - |

Fractionnement et isolement

Huit (08) produits ont été isolés : trois de la famille des polyphénols et cinq de la famille des terpénoïdes. Un produit de chaque a été par la suite élucidé à l'aide de la spectroscopie RMN. Les produits ont été respectivement codés produit 1 et produit 2.

Détermination structurale du produit 1

D'après les valeurs spectrales du proton 1D, du carbone 1D ainsi que le HMBC comparé avec la littérature (Lallemand et *al.*, 1972) nous avons pu identifier le produit 1 comme étant la quercétine : 3, 3', 4', 5, 7-pentahydroxyflavone. Le solvant utilisé a été le MeOD avec des valeurs de déplacement chimique : 3.31 ppm et 4.8 ppm pour le spectre proton et 49 ppm pour le spectre ¹³C.

Les données spectrales sont représentées sur le Tableau 2 et la structure de la quercétine sur la Figure 1.

Détermination structurale du produit 2

D'après les valeurs spectrales du proton 1D, du carbone 1D ainsi que les corrélations comparé avec la littérature (Birhanu G., 2020) nous avons pu identifier le produit 2 comme étant l'acide ursolique : acide urs-12-èn-28-oïque. Le solvant utilisé a été la pyridine avec des valeurs de déplacement chimique : 8.74 ppm, 7.59 ppm, 7.22 ppm pour le spectre proton et 149.48 ppm, 139.06 ppm, 123. 20 ppm pour le spectre du carbone ¹³C.

Les données spectrales sont représentées sur le Tableau 3 et la structure de l'acide ursolique sur la Figure 2.

Tableau 2 : Donnée spectral en δ ppm du ^{13}C , ^1H , HMBC ($^1\text{H} \leftrightarrow ^{13}\text{C}$) de la quercétine

| Carbone | δ ppm | Proton | δ ppm | HMBC_Corrélation |
|---------|--------------|--------|--------------|--------------------------|
| C2 | 147.86 | - | | |
| C3 | 137.50 | - | | |
| C4 | 177.16 | - | | |
| C5 | 162.24 | - | | |
| C6 | 99.16 | Ha | 6.18 | Ha : C5, C7, C8, C10 |
| C7 | 165.29 | - | | |
| C8 | 94.37 | Hb | 6.38 | Hb : C4, C6, C7, C9, C10 |
| C9 | 158.07 | - | | |
| C10 | 104.43 | - | | |
| C1' | 124.07 | - | | |
| C2' | 116.10 | Hc | 6.89 | Hc : C3', C4', C6' |
| C3' | 146.00 | - | | |
| C4' | 148.53 | - | | |
| C5' | 115.88 | Hd | 7.73 | Hd : C2, C1', C3', C6' |
| C6' | 121.59 | He | 7.63 | He : C2, C5' |

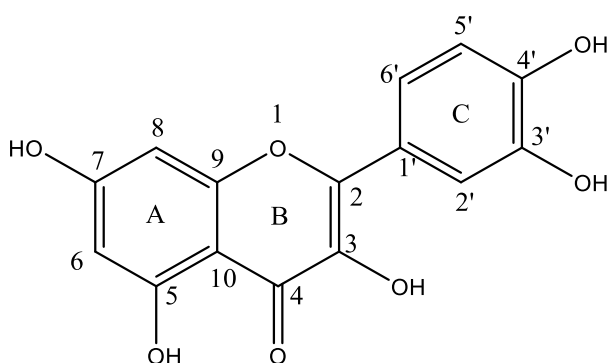


Figure 1 : structure de la quercétine

Tableau 3 : Données spectral en δ ppm du ^{13}C , ^1H , COSY ($^1\text{H}\leftrightarrow^1\text{H}$) de l'acide ursolique

| Carbone | δ ppm | Proton | δ ppm | COSY_Correlation |
|---------|--------------|--------|--------------|-----------------------------|
| C1 | 38.90 | Ha | 0.99 | Ha \leftrightarrow Hb |
| C2 | 27.94 | Hb | 1.84 | Hb \leftrightarrow Hc |
| C3 | 77.93 | Hc | 3.48 | Hc \leftrightarrow Hb |
| C4 | 39.79 | | | |
| C5 | 55.64 | Hd | 0.89 | Hd \leftrightarrow Hf/He |
| C6 | 18.60 | He | 1.39 ou 1.59 | He \leftrightarrow Hd, Hf |
| C7 | 33.39 | Hf | 1.59 ou 1.39 | Hf \leftrightarrow Hd, He |
| C8 | 42.32 | | | |
| C9 | 39.19 | Hg | 1.58 | |
| C10 | 37.17 | | | |
| C11 | 23.42 | Hh | 1.96 | Hh \leftrightarrow Hi, Hm |
| C12 | 125.87 | Hi | 5.51 | |
| C13 | 139.48 | | | |
| C14 | 40.21 | | | |
| C15 | 24.73 | Hj | 2.16 | Hj \leftrightarrow Hp, Hu |
| C16 | 28.50 | Hk | 2.35 | Hk \leftrightarrow Hp, Hu |
| C17 | 42.73 | | | |
| C18 | 53.78 | Hl | 2.65 | Hl \leftrightarrow Ho |
| C19 | 47.87 | Hm | 1.66 | Hm \leftrightarrow Hm, Hh |
| C20 | 39.30 | Hn | 1.57 | Hn \leftrightarrow Hw, Hm |
| C21 | 31.31 | Ho | 1.49 | Ho \leftrightarrow Hv, Hl |
| C22 | 37.26 | Hp | 2.00 | Hp \leftrightarrow Hj, Hk |
| C23 | 16.39 | Hq | 1.04 | Hq \leftrightarrow Hr |
| C24 | 28.62 | Hr | 1.26 | Hr \leftrightarrow Hq |
| C25 | 15.45 | Hs | 0.91 | |
| C26 | 17.33 | Ht | 1.08 | Ht \leftrightarrow Hg, Hf |
| C27 | 23.73 | Hu | 1.24 | Hu \leftrightarrow Hk, Hj |
| C28 | 180.07 | | | |
| C29 | 17.27 | Hv | 1.03 | Hv \leftrightarrow Ho |
| C30 | 21.21 | Hw | 0.98 | Hw \leftrightarrow Hn |

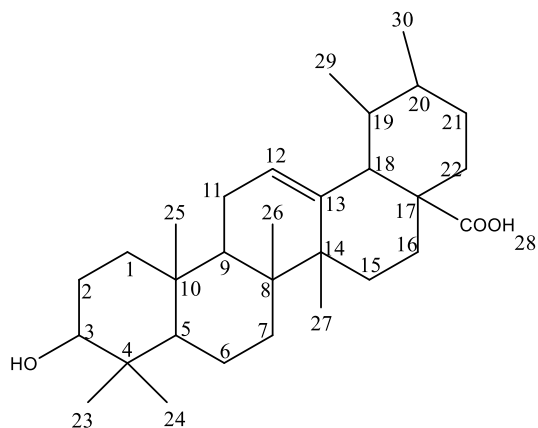






Figure 2 : Structure de l'acide ursolique

Test antidiarrhéique

Le résultat du test antibactérien réalisé sur l'extrait acétate d'éthyle de la plante est représenté sur le Tableau 4.

Tableau 4 : le résultat de test antibactérien sur l'extrait acétate d'éthyle

| Milieu de culture | MUELLER-HINTON | | | |
|---------------------------------|---|---|---|--|
| Souche bactérienne | Gram + | | Gram - | |
| | <i>Bacillus cereus</i> ATCC 13061 | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 11632 | <i>Salmonella enteritidis</i> | <i>Escherichia coli</i> |
| Diamètre d'halo inhibition (mm) | - | - | 10 mm | - |
| |  |  |  |  |

Les résultats de ces différents tests montrent que l'extrait à l'acétate d'éthyle (2) de la plante *Vaccinium secundiflorum* Hook présente une activité inhibitrice contre la bactérie *Salmonella enteritidis* avec un diamètre d'inhibition **10 mm** (cette bactérie étant responsable de la diarrhée).

CONCLUSION

L'étude phytochimique faite sur la plante *Vaccinium secundiflorum* Hook a permis de détecter la présence de plusieurs familles chimiques dont les flavonoïdes, les polyphénols, les terpénoïdes. C'est pour la première fois que l'acide ursolique et la quercétine ont été isolés dans cette plante.

A partir des tests antibactériens sur les 4 souches responsables de la diarrhée, l'existence d'une activité antibactérienne a été démontrée avec un diamètre d'halo inhibition 10 mm sur la bactérie *Salmonella enteritidis*. Ce qui contribue à la constitution de preuve scientifique sur l'utilisation traditionnelle de plante *Vaccinium secundiflorum* Hook.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) ATTA, A., Mouneir, S. (2004). Activity of some egyptian medicinal plant extracts. J. ethnopharmacol. P303-309.
- 2) Birhanu, G. (2020). Isolation of ursolic acid from the leaves of *Ocimum lamifolium* collected from Addis Ababa Area, Ethiopia. African Journal of Biotechnology. Vol 19(2). P65-70
- 3) Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, plants médicinales technique and documentation-Lavoisier. P1120
- 4) Elsviesier-Masson. (2012). Abrège d'hepato-gastro-Etologie, partie "connaissances" pour la CDU-HGGE. Ed 2
- 5) Evans, WC. (2002). Parmacognosy. Saunders Elsevier. p585
- 6) Fong, H. H., Tinwan, Farnsworth, N R. (1977). Phytochemical Screening. College of Pharmacy University of Illinois. Chicago.USA:275:6-7.
- 7) Lallemand, J. H., Duteil, M. (1977). ¹³C N.m.r. Spectra of quercetin and Rutin. Organic magnetic Resonance. Vo.9 (3). P179.
- 8) Ngameni, B., Kuete, V., Simo, I. K., Mbaveng, A. T., Awoussong, P. K., Patnam, R., Roy, R., Ngadjui, B. T. (2009) Antibacterial and antifungal activities of crude extract and compounds from *Dorsteniatrubinato* (MORACEAE). South African Journal Botany. 75, P256-261.
- 9) EM. Engberg J, Fusing V, Petersen, L., Brogren, C.H., Ons, L. (2000). Evaluation of Phenotypic and genotypic methods far subtyping *Campylobacter jejuni* isolates from humans, poultry and Cattle. Journal of Clinical Microbiology, 38, P 3800-3810.

- 11) Pyun, M. S., Shin, S. (2006) Antifungal effects of the volatiles oils from Alliumplants against Trichophyton species and synergism of the oils with Ketoconazole. *Phytomedicine*, 13, P395-400.
- 12) Rakotoarivelo, N., Razanatsima, A. A., Rakotoarivony, F., Kuhlman, A., Andriambololonerana, S., Ramananjanahary, R. H., Randrianasolo, A., Bussmann, RW. (2013). *Guide des plantes d'Ambalabe*. Missouri Botanical Garden-the William L Brown Center. P139
- 13) OMS (2 mai 2017). *Maladies diarrhéiques*
- 14) WSP (Water and Sanitation Program) (2012) *Impacts économiques d'un mauvais assainissement en Afrique*.

MISSIONS DU CIDST

- ⇒ Valorisation et diffusion des résultats de recherches
- ⇒ Appui des acteurs du développement en information scientifique et technique pour une meilleure prise de décision



LA TUBERCULOSE BOVINE DANS LA STATION REGIONALE DE RECHERCHE DE KIANJASOA

par

RAZANANORO Erline⁽¹⁾, RAZAFINARIVO Tsirinirina D.^(1,2),
MICHELLE Reine L.⁽²⁾, RASOANOMENJANAHARY Auldine⁽³⁾, RAMAROSON
Herilantonirina S.^(1,2), MAMINIAINA Olivier F.^(1,2,3), HEVIDRAZANA Jean Lys⁽²⁾,
RANDRIANARIVELOSEHENO Arsène J.^(1,4), RAKOTOMANANA Olga R.⁽²⁾,
RALINIAINA Modestine^(1,2)

- (1) Département d'Enseignement des Sciences et de la Médecine Vétérinaire (DESMV), Faculté de médecine d'Antananarivo, Université d'Antananarivo, Madagascar
(2) Département de Recherches Zootechniques Vétérinaires et Piscicoles (DRZVP), FOFIFA, MESUPRES
(3) Institut Malgache des Vaccins Vétérinaires (IMVAVET), MESUPRES
(4) Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques (ESSA), Université d'Antananarivo, Madagascar

RESUME

La tuberculose bovine diminue les cheptels bovins au niveau mondial. L'objectif de cette étude a été de déterminer sa prévalence actuelle et ses réceptivités dans le site d'étude afin d'éradiquer son expansion. Des suivis de troupeaux dans la station de recherche ont été réalisés de Janvier 2017 à mai 2021. Le Logiciel LASER a été utilisé pour collecter et enregistrer les données à l'échelle de l'animal passé à l'autopsie pour une observation macroscopique des lésions tuberculeuses. Le logiciel épi infos version 7.1.5 a été utilisé pour l'analyse des données. Il révèle que 39% (41/105) des animaux passés à l'abattage ont été atteint de la tuberculose. Une variation saisonnière a été plus marqué en saison sèche, $p = 0,05$ (Août – Novembre). Les adultes de plus de trois ans ont été plus touchés significativement 45 à 70 % ($p = 0,025$) et l'année 2019 – 2020 est la plus représentative (43,90%). La race Renitelo (58,55%) montre une plus forte apparition que les Zébu malagasy et que la race Frisonne mais cet écart n'est pas significatif. Le sexe femelle influe sur le taux de mortalité (45,8% contre 24,2 %). Les conduites zootechniques et sanitaires étaient insignifiantes. La prévalence a augmenté de 9 % ces 15 dernières années dans cette localité. Des perspectives d'interventions de toutes les institutions concernées : l'Etat, les responsables de la station et l'institut IMVAVET, sont primordiales pour la préservation des nouveaux nés indemnes et pour la production de test tuberculine afin de garantir la pérennité de cette race Renitelo en voie de disparition à Madagascar.

Mots-clés : Cheptel, Infection, *Mycobactérium bovis*, Mortalité, Kianjasoa

ABSTRACT

Bovine tuberculosis is reducing the number of cattle herds worldwide thanks to its ability to kill these subjects. The objective of this study was to determine the current prevalence and receptivity of bovine tuberculosis in the study site in order to limit or eradicate as much as possible their expansion and their harmful action on the health of cattle. Monitoring of the herds of the research station has been carried out from January 2018 to May 2021. The Ruminant Livestock Monitoring Assistance Software was used to collect and record data at the animal level. The latter was passed to an autopsy for the macroscopic observation of the tuberculous lesions. Epi Info software version 7.1.5 was used for data analysis. It reveals that 39% (41/105) of animals slaughtered were infected with tuberculosis. A seasonal variation was more marked in the dry season, $p = 0.05$ (August – November), because the stem bacteria attack during the critical feeding seasons when the animals lacked a good immune defense, thus the disease sometimes becomes acute and the death of the animal is possible. Clinically very thin animals were victims, adults over three years of age were significantly more affected 45 to 70% ($p = 0.025$) and the year 2019 – 2020 was the most representative (43.90%). The Renitelo breed (58.55%) showed a strong appearance than the Malagasy and Frisian Zebu but not significant because this breed was the most numerous in the study population. Female sex influences the mortality rate from bovine tuberculosis (45.8% versus 24.2%). Zootechnical practices, the application of biosafeties such as disinfection and the hygiene of livestock buildings were insignificant, favoring a focus of contagion and contamination by pathogenic strains. The prevalence of this disease has increased to 9% in the last 15 years in this locality. So perspectives of interventions of all the allies : the State and the persons in charge of the station are essential for the installation of the new seats of the unscathed newborns in order to be able to keep the perennality of this breed Renitelo in the process of disappearance in Madagascar.

Key-words : Livestock, Infection, *Mycobacterium bovis*, Mortality, Kianjasoa

INTRODUCTION

La tuberculose bovine est une maladie bactérienne contagieuse causée par le *Mycobacterium bovis* ou parfois *Mycobacterium tuberculosis*. Elle est caractérisée par différents symptômes cliniques et des lésions inflammatoires nommés follicules tuberculeux. C'est une maladie zoonotique à évolution chronique pouvant être

transmissible à l'homme. Le *M. bovis* est pathogène chez l'homme mais son pouvoir pathogène est inférieur à celui de *M. tuberculosis*.

De janvier 2017 à juin 2018, 44 % des pays membres de l'Office International des Epizooties ou OIE ont notifié la présence de cette maladie qui appartient à la liste B. C'est une des maladies qui touche à la fois la santé animale et la santé publique surtout dans les pays en développement à cause de leur incapacité à éradiquer totalement la souche bactérienne. Une transmission horizontale est possible même à des animaux sauvages. Elle provoque des altérations de l'état général, une pneumonie, une perte de poids et, éventuellement, la mort de l'animal. Le foyer de la tuberculose bovine se concentre en Afrique et dans certaines régions d'Asie mais elle est répandue dans le monde (OIE, 2021). Au niveau mondial, l'incidence de la tuberculose bovine est estimée à 5% du cheptel de bovin (OISA, 1997). Dans les pays Européen, 8 pays seulement ont le statut de pays officiellement indemnes de la tuberculose bovine.

Au Burkina Faso un taux 27,7 % d'animaux tuberculeux a été détecté en 2004, avec une influence de l'âge qui est nettement significative en 2 et 6 années de vie du bovin ($p < 0,001$). Par ailleurs, au Mali 18,58 % des 1087 bovins testés à la tuberculine ont montré une réaction positive (Razakasaina, 2011).

A Madagascar 10,82 % des bovins de plus de 4ans parmi les 230 000 têtes ont été testés positifs et c'est la région d'Antsiranana qui a la prévalence la plus élevée d'animaux atteints. Ce chiffre évolue avec le temps et selon la région selon Razanakolona H. en 1997.

L'objectif de l'analyse est de déterminer la prévalence actuelle et les réceptivités de cette maladie afin de mettre en place des gestions d'éradication dans cette localité. L'hypothèse de recherche est que la prévalence de la tuberculose bovine à Kianjasoa augmente depuis l'année 2006.

MATERIELS ET METHODES

Zone d'étude

Ce travail a été mené dans la région Bongolava, district de Tsiroanomandidy, commune Mahasolo, Fokontany Kianjasoa. La station de recherche Kianjasoa située à 180 km d'Antananarivo, au cœur du moyen Ouest de Madagascar, 46°22 Est et 19°05 Sud de latitude, a été choisie comme terrain d'expérimentation au vu de la réalité subie par les bovins dans la zone d'étude. Le climat, de type tropical, comporte une longue saison sèche de mi-avril à mi-octobre et une saison pluvieuse de novembre jusqu'en mars (moyennes annuelles de pluviométrie 1400 mm à 1800 mm et autour de 22°C de température). L'étude a été réalisée de janvier 2017 à mai 2021.



Source : Monographie de la région Bongolava. MAEP. 2003, Editeur : Auteur

Figure 1 : Carte de la zone d'étude

Population d'étude

Tous les bovins passés à l'autopsie sont inclus dans l'étude, qu'ils aient été abattus ou soient morts naturellement. L'échantillonnage est exhaustif, tous les animaux appartenant à la station sont concernés. Les animaux ont été identifiés par un numéro unique de leur naissance jusqu'à leur mort. Trois types de races ont été étudiés à savoir : Renitelo, Frisonne et Zébus malagasy.

Collecte des données

Réalisation de l'autopsie

L'autopsie a été faite soit sur les animaux morts naturellement, soit chez ceux qui sont passés à l'abattage à cause de leur mauvais état physique apparent après

examen clinique. Ces pratiques ont été décidées par le responsable de la station et les techniciens d'élevage sur le terrain. Tous les organes et les carcasses des viandes étaient inspectées macroscopiquement, en identifiant toutes les lésions tuberculeuses à l'intérieur. Ont été examinées en premier lieu la tête, puis les viscères et enfin la carcasse.

Méthode d'autopsie

L'observation a été concentrée sur la palpation et l'incision des ganglions menant à la comparaison de leur taille par rapport à la grandeur normale. Cela a mené à l'observation du contenu et du stade des tubercules. Ensuite, l'examen du poumon, du foie, du cœur, de l'intestin, de la rate, des reins et de leurs ganglions respectifs a été effectué. La carcasse a été diagnostiquée par vue d'ensemble en définissant son état d'engraissement. Il a été positif en cas de présence d'une lésion tuberculeuse quelle que soit sa localisation. La lésion a été partielle en cas d'une région spécifique touchée, et générale lorsque des présences de lésions tuberculeuses répandues dans tout le corps de l'animal ont été diagnostiquées.

Après ces diagnostics, des enregistrements sur papier des lésions observées et de leur localisation ont été effectués par le technicien responsable, en rédigeant la cause fatale et tous les identifiants de l'animal mort accompagnés de la date du décès. Ces informations ont toujours été couplées avec les symptômes cliniques ante – mortem des animaux s'il y en avait.

Enquête auprès du technicien responsable d'élevage

Des enquêtes ont été menées auprès des techniciens d'élevage pour avoir les informations sur les conduites de production et de gestion sanitaire des troupeaux. Le but de ces enquêtes est d'extérioriser toutes situations possibles influençant les infections et la persistance des bactéries en cause. C'est à dire les conduites zootechniques et sanitaires des troupeaux.

L'enregistrement électronique des données collectés a été réalisé mensuellement jusqu'au mois de mai 2021 afin d'exploiter les informations.

Les variables à étudier

Les variables explicatives à l'intérêt à l'étude sont : le mode alimentation, le mode d'abreuvement, le nettoyage et la désinfection des bâtiments d'élevage, la saison (mois d'autopsie), le genre (mâle et femelle), la classe d'âge et la race (Renitelo, Zébu, Frisonne). Les paramètres épidémiologiques étudiés sont le « Taux ou prévalence » qui est le rapport entre l'effectif de bovins morts en raison d'une lésion typique de la tuberculose sur l'effectif total des animaux morts recensés

durant la période d'étude. Cet indicateur permet de mettre en valeur l'importance de la tuberculose bovine dans la zone d'étude.

Gestion et analyse des données

Les données collectées étaient enregistrées dans le logiciel LASER. Elles ont été saisies dans le logiciel conçu pour former les bases de données individuelles des animaux d'analyse comportant toutes les informations zootechniques, sanitaires et les résultats d'autopsie de chaque individu animal. Le logiciel Epi Infos version 7.1.5 était utilisé pour les traitements des données. Le test ANOVA était appliqué pour juger la significativité de l'hypothèse et le résultat était significatif si $p\text{-value} < 0,05$.

RESULTATS

La conduite zootechnique de l'élevage

La station ne pratique pas la gestion raisonnée des pâturages. En moyenne, 90 têtes de bovins étaient mises au même pâturage journalièrement. Tous les animaux sont conduits ensemble sans séparation de classe d'âge ni de genre. Ainsi, les modes d'alimentation sont les mêmes : des fourrages naturels et des ensilages en saison sèche. Ils sont menés dans les mêmes parcelles toutes les années à cause de la réduction des zones de pâturage.

Le soir les animaux sont hébergés dans une structure en béton puis libérés aux pâturages toute la journée. Le bétail s'abreuve dans l'eau de rivière, plus précisément celle des barrages hydrauliques naturels. Ce sont tous des facteurs qui favorisent la contamination des bovins, car les animaux sont toujours en contact avec des agents pathogènes.

Conduite sanitaire de l'élevage

Les animaux sont tous vaccinés contre les 2 maladies charbonneuses symptomatiques et bactériennes qui sont des vaccins obligatoires imposés par l'Etat malgache annuellement. Des vitamines ont été aussi administrées trimestriellement de manière systématique pour fortifier les animaux. Pour les antihelminthiques, la station effectue le vermifuge systématiquement et régulièrement.

Aucun test de tuberculination ni de dépistage n'a été mentionné être appliqué dans la zone d'étude.

L'infection tuberculeuse

La prévalence globale des infections était de 39%, c'est-à-dire que 41 animaux étaient diagnostiqués positifs sur les 105 morts recensés.

Les signes cliniques

Les animaux diagnostiqués positifs l'ont été avec une apparition des signes cliniques tels l'amaigrissement et la faiblesse pendant la visite ante-mortem. Ils sont tous porteurs de lésions tuberculeuses notamment à l'inspection lors de l'autopsie ou examen post mortem.

Prévalence en fonction de la saison

La variation mensuelle du taux des bovins décédés de la tuberculose bovine était plus marquée les mois de saisons sèches (plus précisément d'août à novembre, $p = 0,05$) avec une prévalence supérieure aux autres périodes.

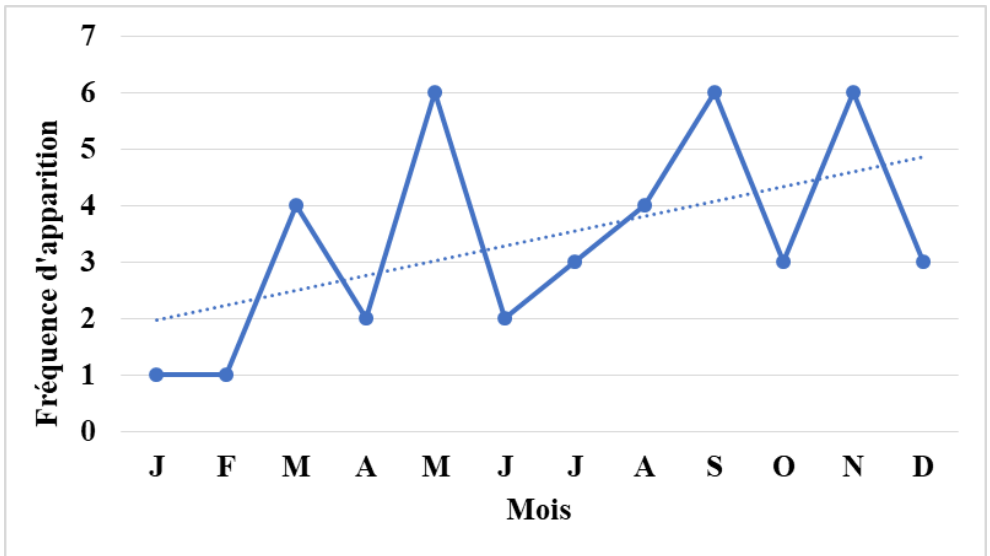


Figure 2 : Profil d'évolution des effectifs des animaux tuberculeux en fonction du mois du décès

Les années 2019 et 2020 montrent les taux de mortalité les plus élevés de la tuberculose avec chacun significativement 43,90 % des bovins étudiés. L'année 2018 a montré la plus faible apparition. L'année 2021 n'est pas significative car l'étude y a été effectuée seulement jusqu'au mois de mai. Toutefois, les effectifs augmentent chaque année d'après le tableau récapitulatif.

Tableau 1 : Répartition des effectifs des bovins tuberculeux depuis 2018 à mai 2021

| Années et nombre des mois d'étude | Effectif | Proportion (%) |
|-----------------------------------|-----------|----------------|
| 2018 (12mois) | 2 | 4,87 |
| 2019 (12mois) | 18 | 43,90 |
| 2020 (12mois) | 18 | 43,90 |
| 2021 (5mois) | 3 | 7,31 |
| Total | 41 | 100% |

Prévalence en fonction de la race

Les animaux tuberculeux ont varié selon les races existantes. La race Renitelo a été la plus touchée, suivie de la race Frisonne et celle des zébus malagasy, 58,55% contre 41,45 %. Or, ce résultat n'est pas significatif car les deux dernières races sont très faiblement représentées par rapport à l'ensemble de la population d'étude.

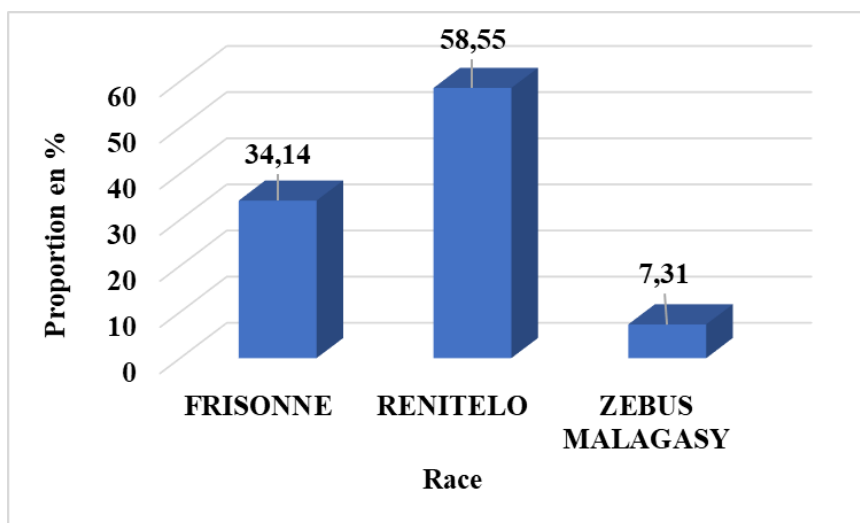


Figure 3 : Répartition des effectifs des bovins tuberculeux depuis 2018 à mai 2021

Prévalence en fonction de l'âge

En séparant les classes d'âge par sensibilité, on obtient des prévalences très significativement différentes. Les animaux de plus de trois ans ont été les plus touchés et les adultes de plus de 5 ans sont les plus vulnérables : 70 % avec un p-value de 0,01.

Tableau 2 : Répartition des effectifs des bovins tuberculeux selon la classe d'âge

| Âges en année | Proportion en % |
|---------------|-----------------|
| < 1 – 2 | 17,93 % |
| 3 – 4 | 45,00 % |
| 5 – 16 | 70,00 % |

Prévalence en fonction du sexe

Il y a une différence significative du taux d'apparition de la tuberculose bovine selon le sexe. Les femelles ont été les plus victimes avec un p – valeur de 0,04 et un taux de 45,8% contre 24,2 % chez les mâles.

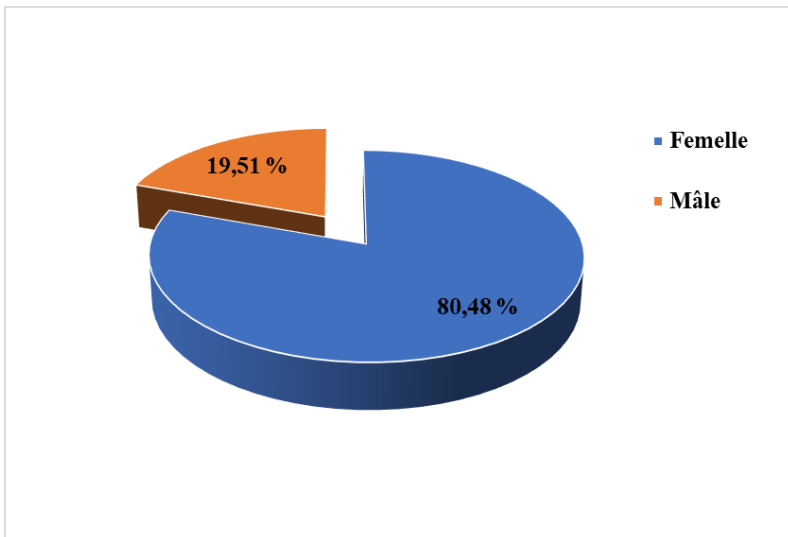


Figure 4 : Proportion des animaux tuberculeux selon le sexe

DISCUSSION

L'éradication de la TB dans ces zones nécessite la connaissance des facteurs de risque d'infection de la maladie

La méconnaissance des avantages économiques et l'incapacité d'un pays à éradiquer la tuberculose chez les espèces bovines entraînent jusqu'à maintenant un blocage de la production animale. La maladie entraîne des pertes directes pour l'animal vivant tel le retard de croissance ou la diminution de gain pondéral jusqu'à 9,7Kg /animal chez les sujets porteurs de lésion au niveau de viscères ; on constate également une diminution de la production laitière et de la fertilité des animaux tuberculeux (Blancou et Cheneau, 1974). Des pertes indirectes, pour la viande à

l'abattage telle la saisie des produits aussi sont à considérer. Cela représente un danger pour la santé publique et des pertes sur les prix de vente des viandes.

Les conduites de l'élevage

Concernant les conduites zootechniques des bovins des Kianjaoa et de ses environs, plusieurs risques d'infestation des parasites ont été détectés : la conduite sur pâturage naturel avec des groupes de cheptels sans séparation des classes d'âges, l'abreuvement aux points d'eau naturels, l'insuffisance des biosécurités. Une autre étude a montré que la prévalence de la tuberculose bovine peut être influencée par différents facteurs comme le mode d'élevage, l'environnement où se situe l'élevage ou bien le voisinage au pâturage, l'animal lui-même et la conduite des animaux et ses mouvements, ainsi l'antécédent de milieux favorise de persistance de l'infection dans un troupeau (Maud Marsot et *al.*, 2016). Une autre étude montre l'augmentation de cette maladie selon le système de parcage, cela est dû aux incubations des bactéries responsables (Blancou et *al* en 2006).

A propos de la conduite sanitaire, les animaux reçoivent presque tous les soins nécessaires comme les antiparasitaires, vitamines et vaccins, mais l'application des biosécurités comme la désinfection des locaux après nettoyage a été insignifiante. Or cela favorise la contamination par des agents pathogènes responsables incubés dans les bâtiments d'élevage. En plus, l'inapplication des suivis par dépistage de cette maladie favorise l'incubation et la persistance des agents pathogènes dans l'ensemble de l'élevage. Ainsi aucun isolement des animaux touchés n'a été effectué durant l'étude, même en cas de signe pathognomonique de la tuberculose. Ce manque de prudence favorise la propagation des bactéries souches virulentes vers les animaux sains.

Les prévalences

La prévalence globale

La prévalence de la tuberculose bovine dans notre zone d'étude été élevée jusqu'à 39% des animaux morts recensés. Ce taux a augmenté de 9 % par rapport aux études effectuées par A. Ranaivoson et R. Raphaël en 2006 sur la même zone d'étude. Ils ont trouvé un taux de prévalence de 30% après un test de tuberculisation. Un diagnostic direct montre déjà une forte apparition, donc si on procédait au test de tuberculination ce taux pourrait être encore plus élevé.

La prévalence en fonction de la saison

Les saisons sèches provoquent une forte apparition car les bactéries s'aggravent en cas de faiblesse des animaux. Une faiblesse due à la carence en alimentation fourragère est apparue. Une technique de conservation des fourrages après fauchage

tel l'ensilage du foin coupé en saison de forte production fourragère (saison de pluie) qui sera utilisé en période critique en alimentation (saison sèche) est donc recommandée. En effet, les bactéries souches attaquent lors des saisons critiques en alimentation où les animaux souffrent d'une baisse de défense immunitaire et où la maladie devient parfois aiguë entraînant parfois la mort de l'animal.

La prévalence en fonction de la race

Sur la localité, la race Renitelo est fragile face à la tuberculose bovine. Tous les cheptels peuvent être porteurs de la souche pathogène mais les jeunes résistent. Le test de tuberculine et le suivi des animaux doivent être appliqués afin de donner un traitement précoce aux animaux porteurs et d'isoler les plus sensibles. Ce résultat est identique à celui trouvé en Afrique où les races laitières améliorées ont été les plus victimes de la tuberculose bovine par rapport aux autres races tel les bœufs croisés (Mélanie et *al.*, 2002).

La prévalence en fonction de la classe d'âge

Les adultes de plus de deux ans montrent une résistance à la tuberculose bovine contrairement à ceux de plus de trois ans. Cela vérifie la suspicion de tuberculose secondaire qui est une réactivation de type allergique favorisant une tuberculose chronique d'organe ou une généralisation tardive.

Cela dépend aussi des immunités acquises par chaque individu, plus ils sont vieux plus ils deviennent faibles. Ces résultats sont identiques aux études publiées par Blancou et *al.* en 2006 qui vérifient que l'incidence de la tuberculose croît avec l'âge du bovin.

La prévalence en fonction du sexe

Dans notre zone d'étude, les femelles, plus précisément les vaches, sont les plus victimes. Cela peut être dû nettement à la diminution de leur immunité à cause de la non couverture des besoins alimentaires. Une comparaison de ce résultat avec des études anciennes font apparaître une contradiction car ceux-ci montrent que ce sont les bœufs sont les plus atteints, puis les vaches et les taureaux (Blancou et *al.*, 2006). Une perte en production animale est automatiquement survenue car les vaches, sources de l'augmentation du cheptel par vêlage, sont les plus victimes.

CONCLUSION

Cette étude sur la tuberculose bovine permet d'actualiser nos connaissances statistiques et épidémiologiques sur l'étendue de l'enzootie. Elle suggère les bases scientifiques d'un plan d'éradication et de limitation de leur expansion. Elle a souligné plusieurs faits qu'il était important de démontrer, à savoir : la non maîtrise de la conduite zootechnique et sanitaire, l'incapacité de faire un test de tuberculination régulière et systématique, l'évolution chronique de la maladie chez les plus âgés ainsi que leur épizootie lors de période critique en alimentation telle la saison sèche.

Ces faits dirigent vers une intervention sanitaire basée uniquement sur la tuberculination puis l'abattage des porteurs sains. Cette technique est plus efficace en combinaison avec la méthode de prophylaxie médicale précoce qui pourrait peut-être éliminer l'infection et abaisser progressivement le taux de tuberculose dans l'ensemble du troupeau conséquemment.

L'objectif final serait de favoriser, avec tous les alliés comme les techniciens d'élevage et l'Etat, une gestion raisonnée de l'élevage afin d'atteindre une production satisfaisante après ces éradications. Pour toutes les institutions compétentes, la production de test tuberculine est recommandée (IMVAVET et IPM).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) Blancou J et Cheneau Y (1974). *Influence de la tuberculose sur le gain de poids des zébus malgache à l'engrais*, n° 27 : 75-80. Rev Elev Méd Vét Pays trop.
- 2) Maud Marsot et al. (2016) : *Facteurs de risque de tuberculose bovine – une étude cas-témoins dans trois départements français (Ardennes, Côte d'Or et Dordogne)*, Bulletin Epidémiologique – Santé animale, alimentation.
- 3) Mélanie, Françoise, Sophie Dubois (2002) : *les tuberculoses chez l'animal et l'homme : actualité épidémiologique et diagnostique*, thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire.
- 4) Office International des Epizooties (2021). *Manual of Standards for diagnostic tests and vaccines*. Paris : OIE.
- 5) Organisation International de la Santé Animale (OSIA) (1997). *La situation de la tuberculose bovine dans le monde* : OISA, Rev. Santé animale mondiale.

- 6) Rakotoniaina J R. (2008) : *Contribution à l'étude de prévalence de la tuberculose bovine dans le district de Fianarantsoa I. Antananarivo* : Thèse Médecine Vétérinaire ; N°13
- 7) Ranaivoson A. et Raphaël R. (2006). *Aperçu de la situation globale de la tuberculose bovine à Madagascar. Antananarivo* : Congrès international vétérinaire.
- 8) Razanakolona H (1997). *Dossiers de concertation avec l'OIE sur le projet national de la prophylaxie de la tuberculose bovine à Madagascar. Antananarivo* : Programme Sectoriel d'Elevage (PSE).

MANGROVES FACE A LA VARIABILITE CLIMATIQUE ET SES ENJEUX ECONOMIQUES

par

RAKOTONIRAINY Nianjatiana Esther C.⁽¹⁾, RAMANAKOTO Toky N.⁽¹⁾

(1) Ecole Supérieure Polytechnique d'Antananarivo, Université d'Antananarivo, Madagascar

RESUME

Madagascar possède une vaste étendue de mangrove, soit 2% de la réserve mondiale et 20% de la réserve africaines. Près de 236 400 ha de mangroves sont répertoriées et réparties principalement dans les six (06) régions de l'ouest du pays : Diana, Sofia, Menabe, Melaky, Atsimo Andrefana et SAVA. Cette richesse écologique est pourtant soumise à une crainte car : de 1990 à 2010, le pays a connu une perte nette d'environ 21% de ses mangroves, au total de 2.868 ha par an. En plus d'être réservoir de biodiversité tels que les crabes, les poissons, les mangroves ont une capacité de stockage rapide et longue du Carbone. Elles apportent une contribution importante dans la lutte contre le Changement Climatique marqué par l'augmentation de la température et du déficit pluviométrique. En occurrence, elles font faces à un nouveau régime et contexte climatique, d'où l'intérêt de cette recherche. L'objectif est d'analyser la variation des paramètres climatiques, dont telle que la température de l'air et la précipitation, ainsi que l'état des mangroves sur six (06) régions potentielles. La méthodologie est composée de trois (03) approches différentes mais complémentaires qui sont à savoir : l'analyse des données climatiques, l'étude des images satellites Landsat et le calcul de biomasse. Les paramètres climatiques informent sur la variabilité et la tendance climatique. La corrélation entre l'évolution du stock de carbone et l'indice de végétation normalisé NDVI permet d'apprécier le développement de la couverture végétative. Les résultats ont montré que sur les six (06) régions l'état des mangroves sont en régression et s'empirent si les déficits en précipitations et la hausse de la température persistent. Les régions de Boeny et Menabe sont les plus influencées respectivement par la variabilité des précipitations et la variabilité des températures.

Mots-clés : Mangroves, Variabilités climatiques, NDVI, Indice climatique, Télédétection, Régression

ABSTRACT

Madagascar has a more expanse of mangroves, 2% of the world reserve and 20% of the African reserve. Nearly 236,400 ha of mangroves are listed and distributed mainly in the six (06) regions of the west in the country : Diana, Sofia, Menabe, Melaky, Atsimo Andrefana and SAVA. This ecological wealth is still subject to fear because: from 1990 to 2010, the country experienced a net loss of about 21% of its, in total of 2,868 ha per year. In addition to being a reservoir of biodiversity such as crabs and fish, mangroves have quick and long carbon storage capacity. They make an important contribution in the fight against Climate Change, increase in temperature and rainfall deficit. In this case, they are facing a new regime and climate context. Hence the interest of this research. The objective is to analyze the variation of climate parameters, including air temperature and precipitation, on the state of mangroves in six (06) potential regions. The methodology is composed of three (03) different but complementary approaches which are the analysis of climate data, the study of Landsat satellite images and biomass calculation. The climate index provides information on climate variability and trend. The correlation between the evolution of the carbon stock and the normalized vegetation index NDVI makes it possible to assess the development of vegetative cover. The results showed that in the six (06) regions, the mangrove condition is in decline and worsens if the deficits in precipitation and the rise in temperature persist. The regions of Boeny and Menabe are the most influenced respectively by the variability of precipitation and the variability of temperatures.

Key-words : Mangrove, Climate variation, NDVI, Climate index, Remote sensing, Decline

FINTINA

Manana ala honko midadasika i Madagasikara, 2%-n'ny tahirin'izao tontolo izao ary 20%-n'ny tahiry afrikanina. Manodidina ny 236.400 ha ireo ala honko voatanisa ireo ary mivelatra amin'ny faritra enina (06) any andrefana : Diana, Sofia, Menabe, Melaky, Atsimo Andrefana ary SAVA. Atahorana anefa io harena arantontolo iainana io satria: nanomboka ny taona 1990 ka hatramin'ny 2010, ny firenena dia nahitana faharavana ara-tontolo manodidina ny 21%-n'ny ala honko, izany hoe 2.868 ha isan-taona. Ankoatra ny fitehirizana ny zavamananaina toy ny foza sy trondro, ny honko dia, manana fahafahana mitahiry karbaona haingana sy maharitra ihany koa. Mandray anjara lehibe amin'ny ady amin'ny fiovan'ny toetr'andro araka izany ny ala honko, amin'ny fiakaran'ny mari-pana ary ny tsy fahampian'ny rotsak'orana. Amin'ity tranga ity indrindra no mahazava-dehibe ity fikarohana ity.

Ny tanjona eto dia ny famakafakana ny fiovaovan'ny mari-pamantarana ny toetr'andro, anisan'izany ny maripana sy ny rotsak'orana, amin'ny toetry ny ala honko any amin'ny faritra enina (06). Ny fomba fiasa dia ahitana fomba telo (03) samihafa nefa mifameno dia ny famakafakana ny angon-drakitra momba ny toetr'andro, ny fandalinana ny sary azo avy amin'ny zanabolana Landsat ary ny kajy biomasy avy amin'ny ala honko. Ny mari-pamantarana momba ny toetr'andro dia manome fampahalalana momba ny fiovaovan'ny toetr'andro sy ny fironany. Ny fifamatorana misy eo amin'ny fivoaran'ny tahiry karbaona sy ny tondron'ny zavamaniry NDVI efa mahazatra dia ahafahana manombana ny fivoaran'ny fonon-javamaniry. Hita tamin'ny vokatra fa any amin'ny faritra enina (06) dia mihena ny ala honko ary hiharatsy izany raha mitohy ny tsy fahampian'ny rotsak'orana sy ny fiakaran'ny maripana. Ny Faritra Boeny sy Menabe no tena iharan'izany fihenana ny rotsak'orana sy ny fiakaran'ny maripana izany.

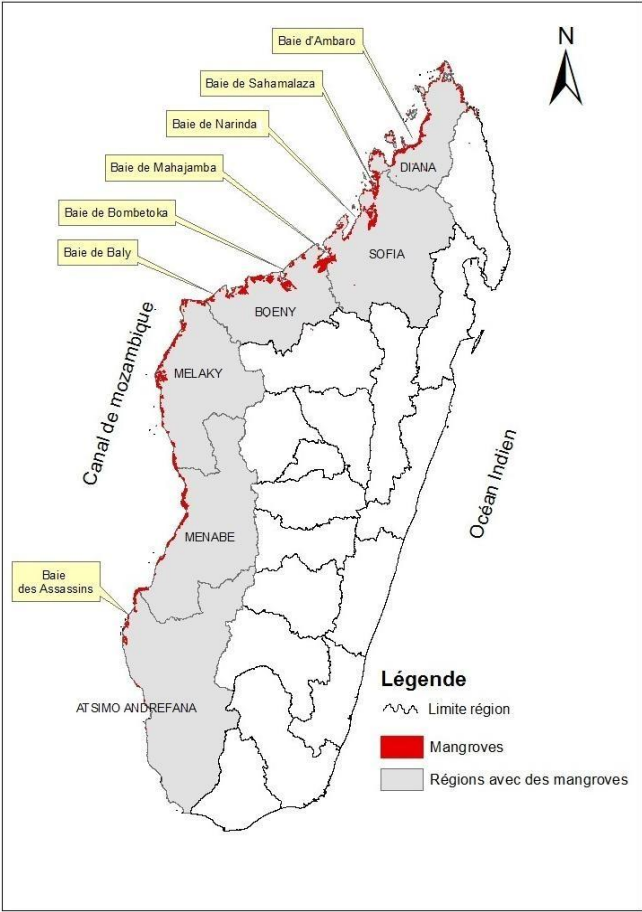
Teny fototra : Honko, Fiovaovan'ny toetr'andro, NDVI, Tondron-javamaniry, Fijery lavitra, Fihenana

INTRODUCTION

A Madagascar, on distingue neuf (09) espèces de mangroves réparties en six (06) familles. Ce sont : la famille des RHIZOPHORACEA, la plus dominante, représentée par les genres *Rhizophora*, *Ceriops* et *Bruguiera*. La famille des COMBRETACEAE, par les genres *Lumnitzera*. Aux SONNERATIACEAE, appartiennent les *Sonneratia*. Aux AVICENNIACEAE, appartient l'espèce *Avicennia marina*. Les familles des MELIACEAE et des STERCULIACEAE sont représentées respectivement par *Xylocarpus granatum*, *Heritiera littoralis* (WWF, 2013).

Les mangroves représentent de nombreux atouts : réservoir de biodiversité tels que les crabes, les poissons et Zone de protection de la côte contre l'érosion et l'action des vagues (USAID, Novembre 2019). Elles sont utilisées pour la construction ou encore pour le bois de chauffe serviront à la cuisson des aliments. Les feuilles sont utilisées comme fourrage pour le bétail et fournissent aussi des médicaments traditionnels des populations locales (CAS des espèces *Sonneratia Alba* qui sont utilisés contre la diarrhée) (Romain WALCKER, 2015). Et surtout, les mangroves ont une capacité de stockage rapide et longue du Carbone qui sont considérées parmi l'une des meilleures défenses de la nature contre la variation climatique (RAZAKAVOLOLONA, 2007 ; GRINAND et *al.*, 2009 ; ANDRIAMIHAJA, 2011).

Cette richesse écologique s’est néanmoins menacée car de 1990 à 2010, parmi les 29 sites de mangroves observées dans l’Ouest et 11 sites sur l’Est, le pays a connu une perte nette d’environ 21% de ses mangroves, au total de 2.868 ha par an (FAO, 2010). Actuellement, il ne reste plus que 23 sites dans la côte Ouest et 4 sites dans l’Est. (BNCREDD+, Août 2019). Ces pertes sont principalement dues aux exploitations massives des bois de palétuviers pour des bois de chauffage et des bois de construction, les cyclones, etc. Les feux de forêts incluant les défrichements sont aussi parmi les principales causes de la déforestation à Madagascar (RAKOTONDRAMANANA, 2016). L’objectif consiste à analyser les impacts de la variation des paramètres climatiques (Température moyenne de l’air et Précipitation) sur l’état des mangroves en vue de sortir un modèle de simulation sur les six (06) régions potentielles. Pour cela, nous allons d’abord présenter la méthodologie de la recherche et les résultats obtenus.



Source : WWF, 2013

Figure 1 : Distribution des mangroves de Madagascar

MATERIELS ET METHODES

L'hypothèse a été imposée pour l'utilisation d'une même écorégion de mangrove pour les deux années 2015 et 2018. Nous avons adopté trois (03) méthodes différentes mais complémentaires pour connaître l'évolution de l'état de la forêt des mangroves. Premièrement, c'est l'analyse des données climatiques de 1981 à 2018, permettant de déterminer les indices climatiques. Ceux-ci donnent des informations sur la variabilité climatique et la tendance de ses deux paramètres. Ensuite, le traitement des images satellitaires Landsat de capteurs TM/ETM+, incluant le calcul de stock de carbone à partir des biomasses issus rapports de terrain en 2018 au sein du Bureau National de Changement Climatique et de la Réduction des Emissions dû à la Déforestation et la Dégradation de la for analysés. Des cartes ont été alors obtenus informant l'évolution de l'indice de végétation normalisé NDVI en saison sèche et humide pour chaque six régions de l'Ouest de Madagascar. Et, le traitement statistique tel : la corrélation entre le stock de carbone et cet indice d'une part, et entre indice de végétation et les paramètres climatiques d'autres part, nous permet d'apprécier le développement de la couverture végétative faces à la variation de ces deux paramètres. Nous avons utilisé le logiciel Xlstat et l'Arc GIS comme outils efficaces durant la réalisation de cette recherche (Figure 2).

RESULTATS

Précipitations

A part la région Atsimo Andrefana ayant une fluctuation modérée par rapport à sa normale sur 30ans, la variation annuelle de précipitation sur les autres régions connaissent une fluctuation assez faible durant la période d'études. Et, la Figure 3 montre les indices pluviométriques de chaque région de la partie Ouest de Madagascar. Ce qui montre une diminution importante de la quantité des précipitations recueillies pendant cette période pour les régions Diana et Boeny et une diminution légère pour les quatre régions restantes.

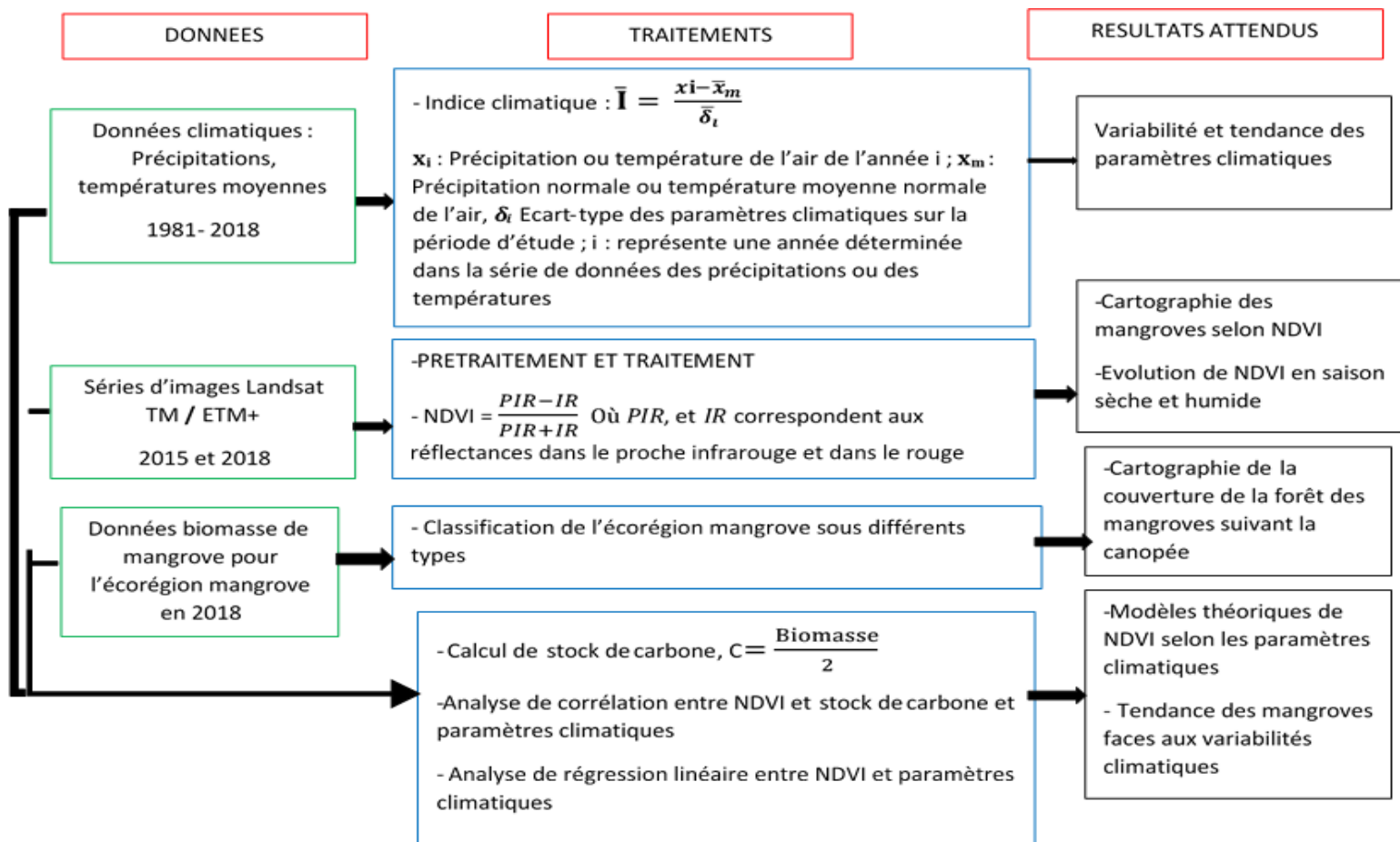


Figure 2 : Résumé de la méthodologie

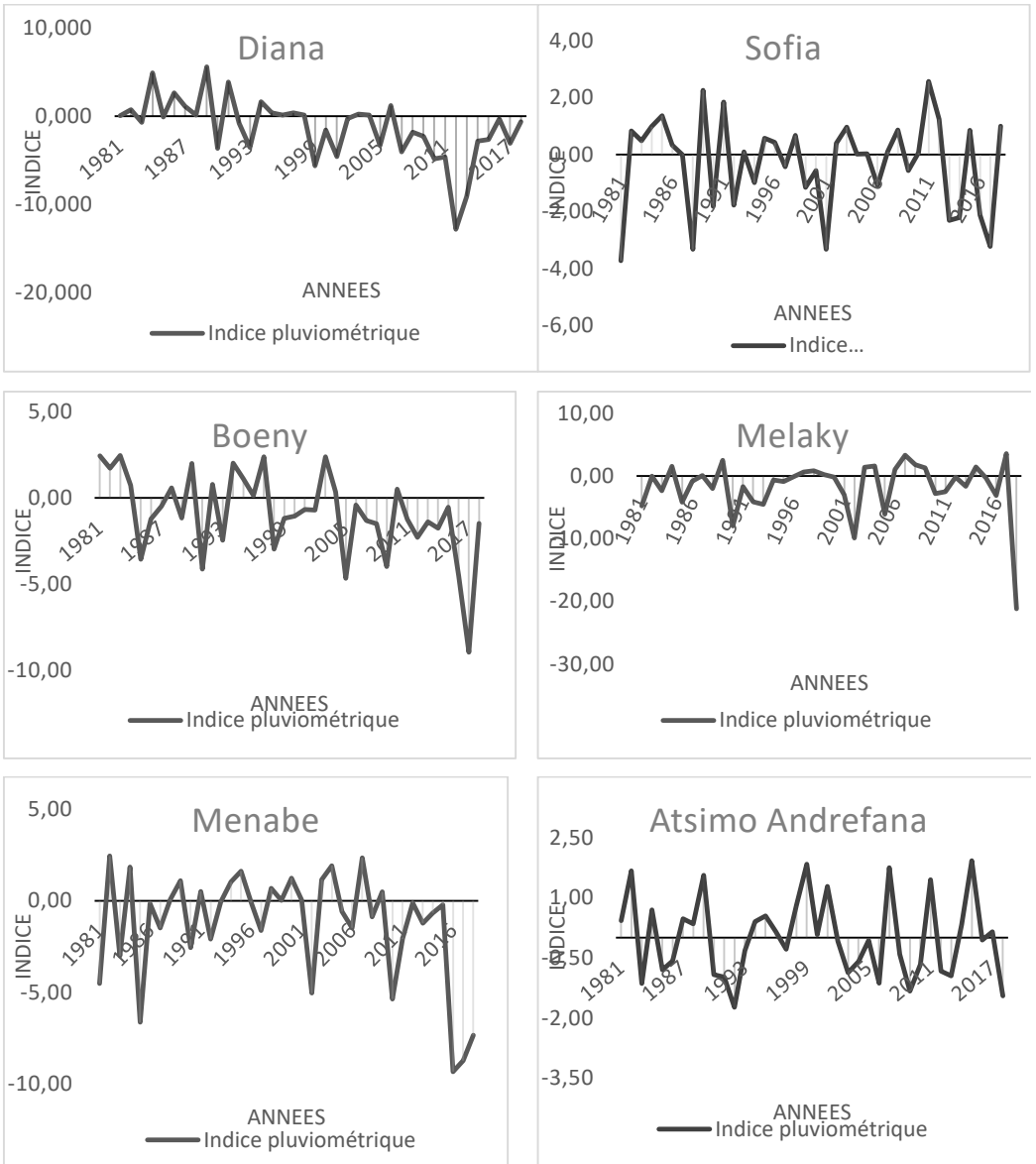


Figure 3 : Indice pluviométrique des régions Diana, Sofia, Boeny, Melaky, Menabe et Atsimo Andrefana

Température

Par analogie avec les précipitations, la variation de la température moyenne de l'air est plus marquée presque dans toutes les régions à partir de l'année 2000. La Figure 4 ci-dessous montre la variation de l'indice durant la période d'études pour chaque région étudiée.

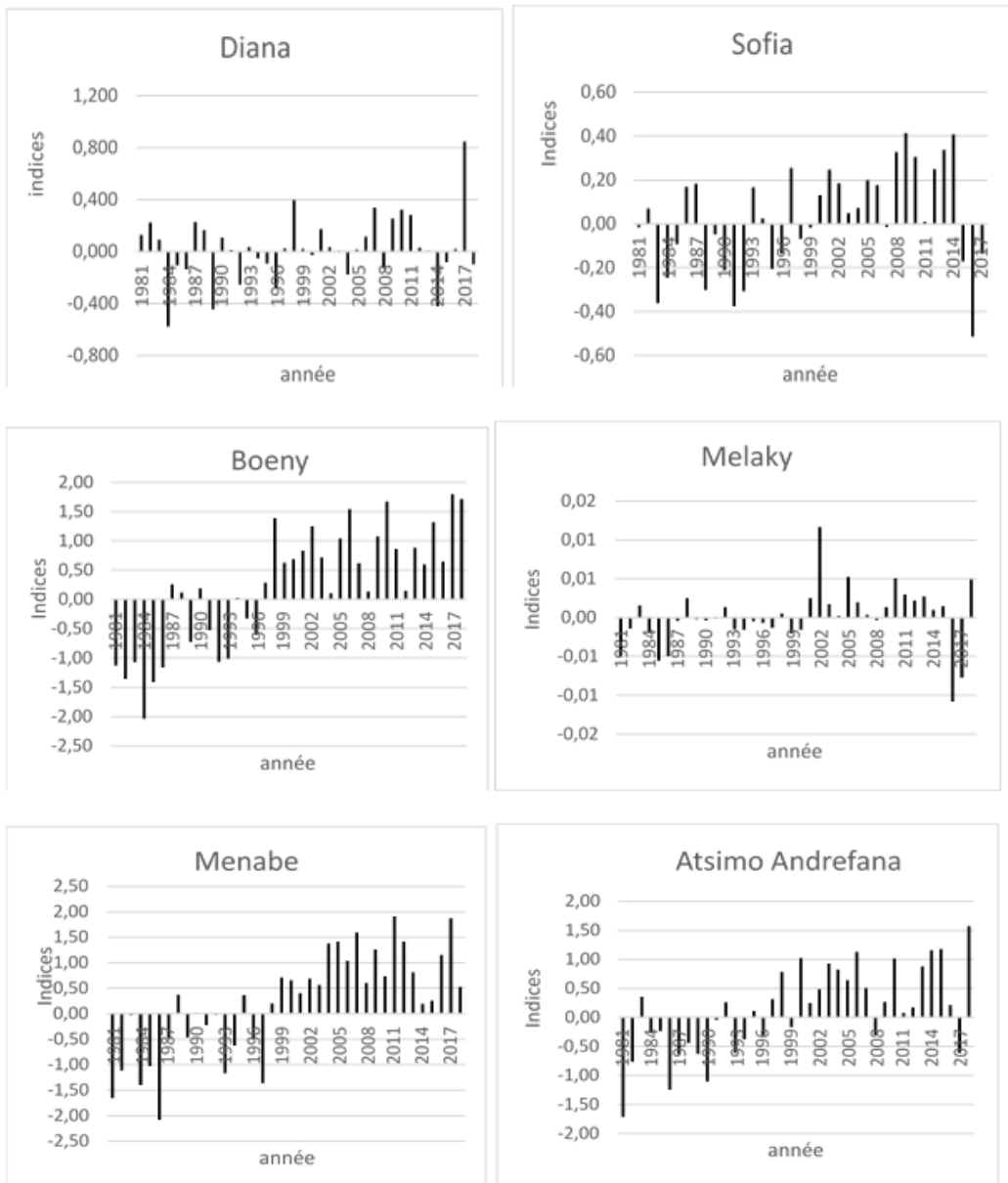


Figure 4 : Indices des températures moyennes annuelles de six régions d'études

Corrélation entre NDVI et les paramètres climatiques

La corrélation entre les paramètres climatiques et l'indice de végétation normalisé NDVI est donné sur le Tableau 2 ci-après. En effet, contrairement à la température, les valeurs de l'indice NDVI augmentent avec la précipitation et, diminue au fur et à mesure que la précipitation diminue.

Tableau 1 : Coefficients de corrélations de l'indice de végétation NDVI

| REGION | Coefficients de corrélations r_1 de NDVI et de la Température | Coefficients de corrélations r_2 de NDVI et de la Précipitation |
|-------------------------|---|---|
| Diana | -0.64 | 0.70 |
| Sofia | -0.65 | 0.58 |
| Boeny | -0.66 | 0.75 |
| Melaky | -0.70 | 0.62 |
| Menabe | -0.77 | 0.61 |
| Atsimo Andrefana | -0.54 | 0.56 |

Tendance globale des mangroves

En considérant le résidu de modèle obtenu sur les six (06) régions, les mangroves sont en régression face aux déficits de précipitations et à la hausse de la température actuelle. Les régions Boeny et Menabe sont les plus influencées respectivement par la variabilité des précipitations et celle de la température sur un taux respectifs de 75% et de 77%. Les courbes de tendance de l'indice de végétation face aux températures et précipitations (Figures n°4, 5, 6, 7, 8, 9), sont alors établies afin d'avoir un aperçu par rapport à la réponse des indices de végétations faces à la succession de période sèche et de la période humide.

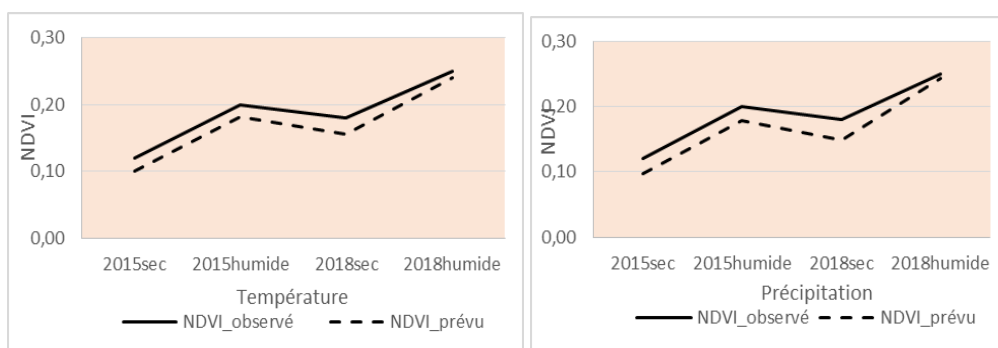


Figure 5 : Evolution de l'indice NDVI observé et théorique dans la région Diana

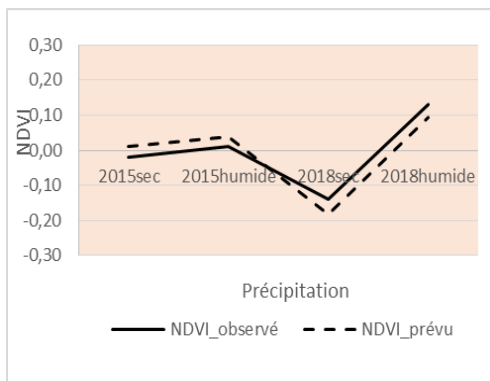
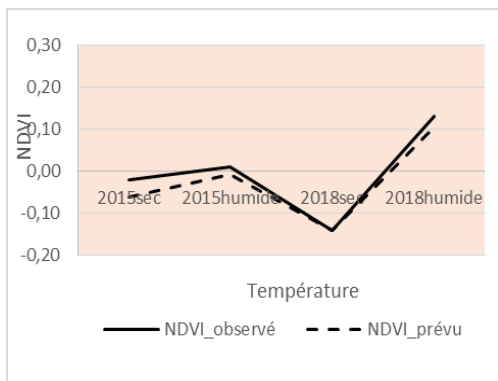


Figure 6 : Evolution de l'indice NDVI observé et théorique dans la région Sofia

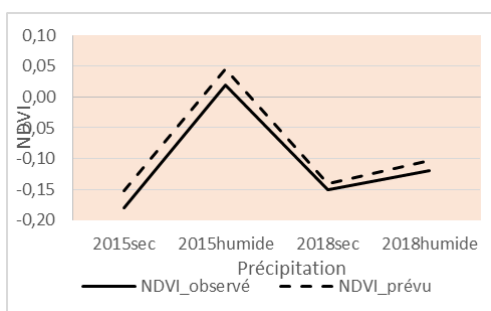
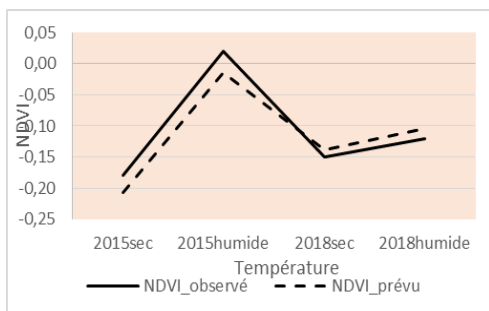


Figure 7 : Evolution de l'indice NDVI observé et théorique dans la région Boeny

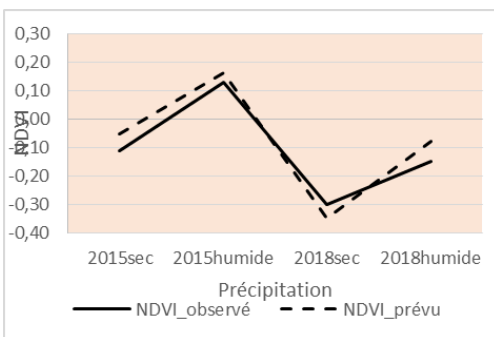
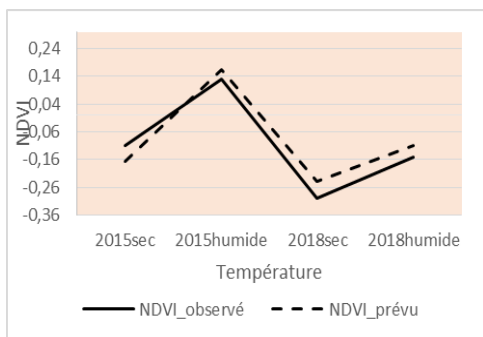


Figure 8 : Evolution de l'indice NDVI observé et théorique dans la région Melaky

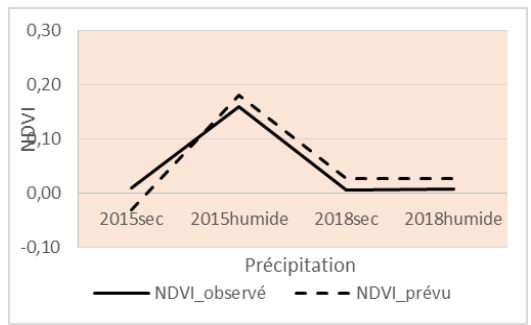
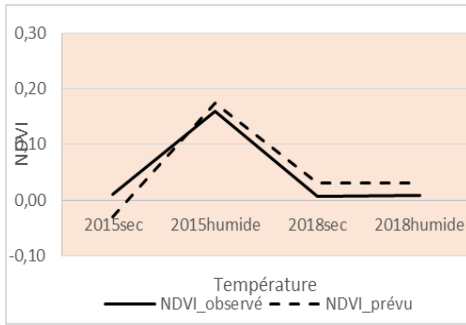


Figure 9 : Evolution de l'indice NDVI observé et théorique dans la région Menabe

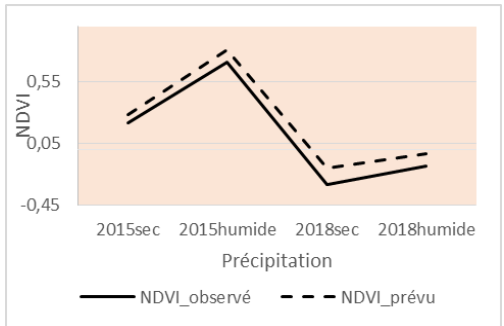
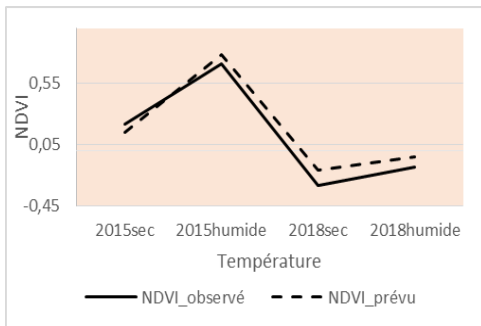


Figure 10 : Evolution de l'indice NDVI observé et théorique dans la région Atsimo Andrefana

DISCUSSIONS ET RECOMMANDATIONS

Nombreuses sont les études déjà effectuées concernant les mangroves de Madagascar et portant des réflexions sur le stock de carbone et leur conservation. L'une d'entre eux était les travaux de J. ANDRIAMALALA en 2007. Son étude se focalise sur l'étude et la comparaison des deux zones, Mariarano et Boanamary dans les régions Boeny, afin de comprendre l'écologie, l'utilisation et l'exploitation des mangroves en vue d'une gestion durable à l'aide de télédétection. Des cartes thématiques de synthèse à partir de l'analyse de la télédétection ont été produites montrant les formations actuelles des mangroves étudiées, leur répartition et leur exploitation anthropogénique. Aussi, le travail de RAKOTONDRAMANANA en 2016 l'effet de la variabilité climatique sur les mangroves de la Baie d'Ambanja, de Mahajamba et de Velondriake. Cette dernière faisait de la comparaison des indices de végétations NDVI, EVI et SAVI pour les trois sites et les analysait avec les précipitations à partir des données de la télédétection. Pour le cas de la recherche ci-présent, à part la télédétection, on a étudié l'influence de la variation des précipitations et aussi de la température moyenne de l'air à partir des données réelles sur 38ans venant des différentes stations d'observations auprès de la Direction

Générale de la Météorologie. Et aussi des données récentes de la biomasse de l'écorégion mangroves au Bureau National de Changement Climatique et de la Réduction des Emissions dû à la Déforestation et la Dégradation de la forêt pour les six régions potentielles. Et on a pu montrer que l'état des mangroves ne dépend seulement du déficit pluviométrique mais aussi de la tendance à la hausse actuelle de la température. De plus, l'indice de végétation NDVI la plus utilisé parmi tous les indices a été suffisant pour estimer la surface foliaire d'une culture ou de sa production de biomasse ainsi que pour décrire l'évolution de différentes variables biophysiques de surface et développés afin de rendre compte du développement d'un couvert végétal tout en prenant en considération les effets atmosphériques ou le type de sol (TAUREAU, 2005).

Pour cela, quelques recommandations sont alors suggérées :

- Pour les travaux de télédétection appliqués aux mangroves, ils s'avèrent particulièrement utiles pour ces écosystèmes d'approfondir les études en considérant autre type d'image ayant une résolution meilleure que le LANDSAT notamment l'image ASTER (15m) pour différencier et localiser les espèces des mangroves.

- D'après les résultats obtenus sur l'analyse de la tendance de la température et de la précipitation, on a vu que ces deux paramètres sont très variants d'une région à une autre. En effet les températures ont tendances à s'accroître alors que les précipitations diminuent. Or, les conditions d'adaptations des mangroves, du point de vue écologique, ne dépendent pas seulement des exigences de ces deux paramètres, comme par exemple, le fait qu'elles supportent le sel. De plus, les déficits en précipitations augmentent le phénomène de salinisation qui réduit la capacité productive dans les mangroves (Legay et *al.*, 2006). Il faut donc, approfondir la recherche en ajoutant la salinité du sol comme paramètre explicative pour estimer les valeurs de la salinité supportable pour l'écosystème des mangroves.

- De plus, en matière de conservation des mangroves : tels que le transfert de leur gestion aux communautés locales, qui par suite, quant à eux, élaboré des lois locales ou "Dina" pour les protéger. En collaboration avec des Organisme Non Gouvernementaux qui étudient les opportunités des paiements pour des services écosystémiques (PSE), y compris l'octroi de crédits carbone, sur plusieurs sites à Madagascar (ANDRIAMALALA, 2007).

- La procuration des permis d'exploitation délivré par le chef de circonscription des Eaux et Forêts, pour ceux qui veulent exploiter la forêt des mangroves pour leur protection.

- Et, le reboisement des mangroves s'avère primordial pour freiner l'érosion continentale, préserver la faune qu'elle abrite et surtout assurer le piégeage de carbone.

CONCLUSION

Pour conclure, dans cette étude, la caractérisation des mangroves par l'ampleur de l'outil « télédétection » à des différentes dates a prouvé son efficacité. A propos de l'analyse des variables climatiques, elle témoigne l'existence d'une tendance à la baisse des précipitations ainsi qu'une tendance à la hausse de la température le long des six (06) régions. Ces déficits en précipitations sont plus marqués dans les deux régions Diana et Boeny alors que l'augmentation significative de la température s'est observée presque dans toutes les régions d'études. De plus, l'analyse de l'évolution de NDVI au niveau de ces six zones a pu mettre en exergue une tendance vers la dégradation des mangroves dans la mesure où les déficits en précipitations et l'accroissement de la température persistent.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) ANDRIAMALALA J., (2007). Etude écologique pour la gestion des mangroves à Madagascar Comparaison d'une mangrove littorale et d'estuaire à l'aide de la télédétection .283 pages.
- 2) ANDRIAMIHAJA. (2011). Evaluation des stocks de carbone de la litière, de la biomasse hypogée et du sol suivant les modes d'utilisation des terres et la position topographique dans la région d'Ambohitantely. 69 p.
- 3) BNCREDD+. (2019). Rapport Mangroves Final 290819. 64 p.
- 4) FAO (2010). Global Forest Resource Assessment 2010 Main report. FAO Forestry, 163.
- 5) GRINAND (2009). Estimation des stocks de carbone dans les sols de Madagascar. *Étude et Gestion des Sols volume 16(1)* : pp 23-33.
- 6) LEGAY et al. (2006). *Le rôle des forêts dans l'adaptation aux changements climatiques et l'atténuation de leurs effets*. Article, 22 p.
- 7) RAKOTONDRAMANANA Feno Hasina Fanilo. (2016). Impacts de la variabilité climatique les mangroves de Madagascar, Cas des mangroves de la baie d'Ambanja, de la baie de Mahajamba et de Velondriake. 130 p.
- 8) RARIVOMANANA Hanitriainaina Tahina. (2008). Etude du stock de carbone dans le parc national de Ranomafana. 100 p.
- 9) RAZAKAVOLOLONA. (2007). Evaluation du stock de carbone dans les différents compartiments de la biomasse végétale et dans le sol sur une

chronoséquence de plantation d'Eucalyptus dans les hautes terres centrales. Cas de Sambaina-Manjakandriana. 61 p.

- 10) TAUREAU Florent. (2005). Guide méthodologique pour la cartographie des mangroves d'Outre-mer. 248 p.
- 11) USAID. (2019). Etats des lieux de mangroves à Madagascar. 225 p.
- 12) WALCKER Romain. (2015). Dynamique spatiale des mangroves de Guyane entre 1950 et 2014 : forçage atmosphérique et conséquence pour le stock de carbone côtier. 176 p.
- 13) WWF. (2013). Mangrove status and management in the WIO Region : Madagascar regional book. 32 p.

ETUDE DE L'EFFET DE L'EXTRAIT DE *PSIDIUM CATTLEIANUM* SUR LA DIARRHEE

par

ANDRIAMAMPIANINA Tianarilalaina T.⁽¹⁾, ANDRIAMALALA Solofoniaina⁽¹⁾,
RALAMBONDRAHETY Tsilavina H.⁽¹⁾, RANDIMBIVOLOLONA
Fanantenanirainy⁽¹⁾, RANDRIANAVONY Patricia⁽¹⁾

(1) Laboratoire de Pharmacologie Générale, Pharmacocinétique et Cosmétologie, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, Madagascar

RESUME

La diarrhée est caractérisée par une émission de selles, supérieure à 300 grammes par jour ou dépassant trois défécations molles ou liquides par jour. Suivant les mécanismes mis en jeu, on distingue 3 types de diarrhée : osmotique, sécrétoire ou motrice. Selon des enquêtes ethnobotaniques effectuées dans la région d'Andasibe, le *Psidium cattleianum* est utilisé pour traiter la diarrhée. L'objectif a été d'étudier l'effet de l'extrait hydroalcoolique de *Psidium cattleianum* sur la diarrhée chez le cochon d'Inde. Son effet anti sécrétoire a été évalué sur l'hypersecretion intestinale provoquée par 2 mg/kg de Sulfate de Magnésium administrés par voie orale, tandis que son effet sur l'hypermotilité intestinale a été analysé *in vitro* sur l'iléon isolé de cochon d'Inde contracté par l'acétylcholine (Ach). Le volume du fluide intestinal chez les animaux témoins est égal à $5,82 \pm 0,68$ ml, contre $3 \pm 0,52$ à $1,2 \pm 0,19$ ml chez les animaux traités avec l'extrait aux doses de 100 à 400 mg/kg ($P < 0,05$). En absence de l'extrait, la contraction maximale de l'iléon sous l'action de l'Ach est égale à 100 % avec une CE_{50} de $3,7 \times 10^{-9}$ M. En présence de l'extrait aux concentrations de 0,75 à 1,25 mg/ml dans le bain, l'amplitude maximale de la contraction provoquée par l'Ach diminue à $62,44 \pm 1,66$; et $28,68 \pm 1,16$ % ($P < 0,05$), et la CE_{50} augmente à $1,1 \times 10^{-7}$ et $1,8 \times 10^{-6}$ M. L'extrait inhibe l'action de l'acétylcholine d'une manière non compétitive. Ces résultats montrent que l'extrait possède une action anti diarrhéique.

Mots-clés : *Psidium cattleianum*, Anti-diarrhéique, Sulfate de Magnésium, Cochon d'Inde, Acétylcholine

ABSTRACT

Diarrhea is characterized by emission of stools at a quantity higher than 300 grams per day or, in case of loose or watery stools, at a rate higher than three times a day. Depending on the mechanism in action, there are 3 types of diarrhea: osmotic, secretory or motor. According to ethnobotanic survey conducted in Andasibe region, the *Psidium cattleianum* is used for the treatment of diarrhea. The objective was to study the effect of the hydroalcoholic extract of *Psidium cattleianum* on the diarrhea on the guinea pig. Its anti-secretory effect has been assessed using intestinal secretion induced by 2 mg/kg of Magnesium Sulfate, orally administrated, while its effect on intestinal hypermotility has been analyzed *in vitro* on ileum isolated from the guinea pig and contracted with Acetylcholin (Ach). The volume of intestinal fluid in the control group is $5,82 \pm 0,68$ ml, versus $3 \pm 0,52$ to $1,2 \pm 0,19$ ml in the animals treated with 100 to 400 mg/kg ($P < 0,05$) dose of the extract. Without the extract, the maximum contraction of ileum under Ach is 100 %, with $3,7 \times 10^{-9}$ M CE_{50} . In the presence of the extract at a concentration of 0,75 to 1,25 mg/ml in the bath, the maximum range of contraction caused by Ach reduces down to $62,44 \pm 1,66$; and $28,68 \pm 1,16$ % ($P < 0,05$), while CE_{50} rises to $1,1 \times 10^{-7}$ et $1,8 \times 10^{-6}$ M. The extract inhibits the action of acetylcholine in a non-competitive manner. These results show that the extract has an anti-diarrheal action.

Key-words : *Psidium cattleianum*, Anti-diarrhea, Magnesium Sulfate, Guinea pig, Acetylcholine

INTRODUCTION

Les maladies diarrhéiques constituent une des principales causes de morbidité et de mortalité des jeunes enfants dans les pays en voie de développement, posant un problème majeur de santé publique dans le monde. Elle est la deuxième cause de mortalité chez les enfants âgés de moins de 5 ans dans les pays du tiers monde (Aguilar M. *et al.*, 2014).

A l'état normal physiologique, l'absorption de l'eau et des électrolytes est supérieure à la sécrétion. Lorsque l'absorption est inférieure à la sécrétion, l'eau et les sels minéraux en excès sont éliminés avec les selles, les rendant molles et provoquent la diarrhée (Martini *et al.*, 2009).

La diarrhée osmotique résulte d'une augmentation des quantités de liquide dans la lumière intestinale après ingestion de substances osmotiquement actives comme les aliments riches en sucre et alcools (les polyols, les produits laitiers, le magnésium). L'effet osmotique intraluminal retient l'eau dans la lumière intestinale (Marteau P., 2013).

La diarrhée sécrétoire, quant à elle, est due à une augmentation d'électrolytes et d'eau dans la lumière intestinale soit par stimulation de leur excrétion, soit par inhibition de leur réabsorption. (Morard I. et Hadengue A., 2008).

Enfin, la diarrhée motrice est due à la présence des aliments qui activent les récepteurs mécanosensibles et chémosensibles de la muqueuse. Ils stimulent le système nerveux parasympathique, responsable de la motricité du muscle lisse intestinal (Wood J., 1981).

Les anti-diarrhéiques réduisent le nombre d'émissions de selles et favorisent la réhydratation. Ils agissent par trois mécanismes différents : ralentissement du transit, action anti sécrétoire et augmentation de l'adsorption d'eau et des électrolytes. Il existe deux grandes classes d'anti-diarrhéiques selon les symptômes : les ralentisseurs du transit et les antisécrétoires (Dupont C., 2010).

L'utilisation des plantes médicinales est une solution alternative aux médicaments manufacturés. En Afrique, *Sclerocary abirrea* (ANACARDIACEAE), *Elephantorrhiza elephantina* (FABACEAE), *Annona senegalensis* (ANNONACEAE) sont utilisées pour soigner la diarrhée (Ghorbanpour M. et al., 2017).

A Madagascar, les feuilles d'*Euphorbia hirta* (EUPHORBIACEAE) (Jean Robert), *Eugenia jambolana* (MYRTACEAE) (rotra) et *Litchi chinensis* (SAPINDACEAE) (letisia) sont préparées sous forme de décoction pour traiter la diarrhée (Rabesa Z. et al., 1986).

Dans les enquêtes ethnopharmacologiques que nous avons effectuées à Andasibe, la partie aérienne de *Psidium cattleianum* a été préparée sous forme de décoction pour traiter la diarrhée. Pour vérifier scientifiquement cette activité, l'extrait hydroalcoolique de la plante a été préparé à partir des feuilles. Des tests *in vivo*, sur l'accumulation des fluides intestinaux chez le cochon d'Inde ont été effectués ainsi qu'*in vitro*, sur le péristaltisme intestinal de l'iléon contracté par l'acétylcholine. Un criblage phytochimique a été réalisé pour déterminer les familles chimiques présentes dans la plante pouvant être responsables de l'activité pharmacologique de l'extrait.

MATERIELS ET METHODES

Partie chimique

Les feuilles de *Psidium cattleianum* ont été triées puis séchées dans un endroit sec et aéré, à l'abri du soleil, à la température ambiante, pendant quinze jours. Au bout de cette période, elles ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique à marteau (BROOK CROMPTON © 2000).

Pour préparer l'extrait hydroalcoolique, 200 grammes de la poudre obtenue ont été macérés dans 2 litres d'un mélange éthanol-eau (60 : 40) à la température ambiante, pendant 4 jours. L'extrait obtenu a été pesé pour déterminer le rendement.

Par la suite, un criblage phytochimique utilisant des réactifs spécifiques a été effectué pour déterminer les familles chimiques présentes dans l'extrait (Fong H., 1977). Ces réactifs réagissent et donnent un précipité ou provoquent un changement de coloration. L'intensité de ces réactions est fonction de la teneur de la famille chimique contenue dans l'extrait.

Partie pharmacologique

Pour étudier l'effet de l'extrait sur la diarrhée, des tests *in vivo* ont été réalisés chez les cochons d'Inde afin d'analyser la sécrétion intestinale par la méthode de l'accumulation de fluide dans la lumière intestinale provoquée par le Sulfate de Magnésium et son action sur la motilité intestinale a été évaluée *in vitro* en utilisant l'iléon isolé de cochon d'Inde contracté par l'acétylcholine.

Animaux d'expérimentation

Des cochons d'Inde mâles et femelles âgés de 2 à 4 mois pesant entre 270 à 400 g ont été utilisés. Ils ont été élevés dans l'animalerie du Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie de la Faculté des Sciences, de l'Université d'Antananarivo à la température ambiante et avec une alternance de lumière et d'obscurité 12 h/12 h. Ils ont été nourris avec des feuilles de graminées et ont eu un accès libre à l'eau. Avant chaque expérience ils ont été mis à jeun pendant 18 h.

Étude de l'activité de l'extrait sur la sécrétion intestinale

Cette expérimentation a eu pour objectif d'étudier l'action de l'extrait sur la diarrhée sécrétoire. Cette dernière a été provoquée en administrant, par voie orale, 2 g/kg d'une solution de sulfate de magnésium (MgSO₄) dissout dans 10 ml/kg d'eau distillée (Verma N. et *al.*, 2011).

Les cochons d'Inde ont été répartis en 4 lots de 3 animaux : un lot témoin et trois lots traités avec l'extrait. Les animaux du lot témoin ont reçu 10 ml/kg d'eau distillée, tandis que les trois autres lots ont reçu l'extrait aux doses de 100, 200 et 400 mg/kg, par voie orale dans 10 ml/kg d'eau distillée. Une heure après l'administration de l'eau et de l'extrait, chaque animal a reçu 2 g/kg de MgSO₄ par voie orale (Sarowar H. et *al.*, 2011). Deux heures après l'administration de MgSO₄, ils ont été euthanasiés et exsanguinés. Une laparotomie médiane a été ensuite pratiquée, et deux ligatures ont été effectuées sur l'intestin grêle de l'animal : la première au niveau du pylore et la seconde au niveau de la jonction iléo-caecale.

L'intestin grêle a ensuite été prélevé dans sa totalité, et le fluide contenu dans cette portion a été versé dans un tube à essai, puis centrifugé à la vitesse de 3 000 tours par minute pendant 10 min. Enfin, le surnageant a été récupéré et son volume a été mesuré à l'aide d'une éprouvette graduée.

L'effet anti-diarrhéique de l'extrait a été estimé en comparant le volume de fluide intestinal du lot témoin avec ceux des lots traités avec l'extrait.

Étude de l'effet de l'extrait sur la motricité intestinale

Afin de déterminer l'activité de l'extrait sur la motricité intestinale, son effet sur la contraction d'iléon isolé de cochon d'Inde provoquée par l'acétylcholine a été évalué *in vitro*.

Les animaux utilisés ont été mis à jeun pendant 18 heures avant la manipulation mais ils ont eu libre accès à l'eau. Puis ils ont été euthanasiés et exsanguinés. Ensuite, après une laparotomie, l'iléon a été prélevé et placé immédiatement dans une boîte de Pétri contenant une solution de Tyrode (Tableau 2), à la température ambiante et aéré avec un aérateur (KOKO-108®) (Shiferie F. et Shibeshi W., 2013).

Tableau 1 : Composition de la solution de Tyrode

| Composants s | NaCl | KCl | MgCl ₂ | NaH ₂ PO ₄ | CaCl ₂ | NaHCO ₃ | Glucose |
|-------------------------------|------|-----|-------------------|----------------------------------|-------------------|--------------------|---------|
| Concentration (mmol/l) | 130 | 4.5 | 0.6 | 1,2 | 2,2 | 24,2 | 11 |

L'iléon a été découpé en morceaux de 1,5 cm de longueur et débarrassé des tissus adipeux et des mésentères. Ensuite, il a été monté dans une cuve à organe de 5 ml contenant une solution de Tyrode maintenue à la température de 37° C et aéré avec de l'air à l'aide d'un aérateur. (Ramos A. et *al.*, 2017). L'organe a été laissé se stabiliser pendant 30 minutes. Pendant cette période, le bain a été renouvelé toutes les 15 minutes. La viabilité a été testée en injectant de l'acétylcholine à la concentration finale de 10⁻⁵ M dans le bain. L'organe a été rincé et laissé de nouveau se stabiliser pendant 30 minutes. Le bain a été renouvelé toutes les 15 minutes. Après cette période, l'acétylcholine a été injecté dans le bain d'une manière cumulative, pour obtenir des concentrations croissantes, à partir de 10⁻⁹ M jusqu'à l'obtention de la contraction maximale. Au plateau de la contraction, l'extrait a été injecté dans le bain d'une manière cumulative jusqu'au relâchement total de l'organe.

Le relâchement de l'organe a été exprimé en % en fonction de l'amplitude de la contraction maximale. La concentration efficace pour obtenir 50 % de relâchement (CE₅₀) a été déterminée graphiquement (Aguilar M. et *al.*, 1986).

Étude du mécanisme d'action de l'extrait

En vue de déterminer le mécanisme d'action de l'extrait vis-à-vis de l'acétylcholine *in vitro*, l'iléon de cochon d'Inde a été pré-incubé dans un bain contenant l'extrait à différentes concentrations. Après sensibilisation de l'organe, l'acétylcholine a été injectée dans le bain d'une manière cumulative à partir de 10^{-9} M jusqu'à l'obtention de la contraction maximale. Au plateau de la contraction, l'organe a été rincé toutes les 10 minutes pendant la période de stabilisation de 30 minutes. Ensuite, l'iléon isolé a été incubé dans le bain contenant l'extrait à la concentration de 0,75 mg/ml pendant 10 minutes. Après cette période d'incubation, et sans rinçage, l'acétylcholine a été versé dans le bain pour obtenir des concentrations croissantes jusqu'à l'obtention de la contraction maximale. Puis, la préparation a été rincée et la même expérience a été recommencée en présence de l'extrait à la concentration de 1 puis 1,25 mg/ml de l'extrait.

Les contractions de l'iléon, en présence et en l'absence de l'extrait, ont été enregistrées, et leurs amplitudes ont été mesurées. Ensuite, celles-ci ont été rapportées en fonction du logarithme de la concentration de l'acétylcholine, sur un papier semi logarithmique. Enfin la CE_{50} de l'acétylcholine a été déterminée graphiquement.

Expression et analyse des résultats

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne avec écart type réduit, puis ils ont été comparés entre eux en utilisant le test « t » de *Student*. Une valeur de $P < 0,05$ a été considérée comme significative.

RESULTATS

Partie chimique

La macération de 200 g de poudre de plante dans la solution hydroalcoolique éthanol-eau (60 : 40) donne 25 g d'extrait sec, soit un rendement de 12,5 %.

Le criblage phytochimique réalisé sur l'extrait a permis de détecter la présence de triterpènes en forte teneur. Il contient également des composés phénoliques, des tanins, alcaloïdes et sucres réducteurs en teneur moyenne.

Partie pharmacologique

Effet de l'extrait sur la sécrétion intestinale

Le sulfate de magnésium administré par voie orale provoque une accumulation de fluide dans la lumière intestinale des cochons d'Inde. La quantité de liquide

intestinale récupérée dans le lot témoin est supérieure à celle des animaux des lots traités.

Le volume de fluide dans la lumière intestinale des animaux du lot témoin est égal à $5,82 \pm 0,68$ ml, contre $3,00 \pm 0,52$ ml, $1,95 \pm 0,40$ ml et $1,20 \pm 0,19$ ml chez les animaux traités avec l'extrait aux doses respectives de 100 mg/kg, 200 mg/kg et 400 mg/kg ($P < 0,05$) (Figure 1). Ces résultats montrent que l'extrait diminue l'accumulation de fluide intestinale provoqué par le sulfate de magnésium dans la lumière intestinale.

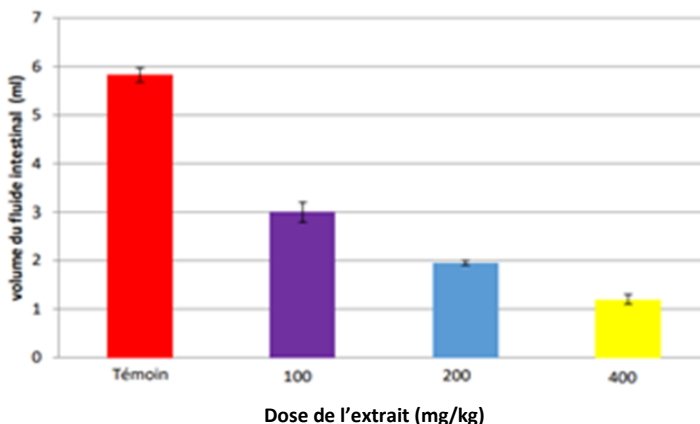


Figure 1 : Variation du volume du fluide intestinal provoqué par l'administration du $MgSO_4$ par voie orale chez le cochon d'Inde, chez les animaux témoins et ceux traités avec l'extrait, administré par voie orale, aux doses de 100 mg/kg, 200 mg/kg et 400 mg/kg (m ± e.s.m ; $p < 0,05$).

Effet de l'extrait sur la motricité intestinale

L'acétylcholine injectée dans le bain contracte l'iléon de cochon d'Inde. La contraction maximale est obtenue à la concentration de 10^{-4} M d'acétylcholine dans le bain.

L'injection de l'extrait de manière cumulée relâche l'iléon. Cet effet débute à la concentration de 0,75 mg/ml et l'organe se détend complètement (100 %) à la concentration de 1,5 mg/ml avec une CE_{50} égale à 1,14 mg/ml ($P < 0,05$) (Figure 2).

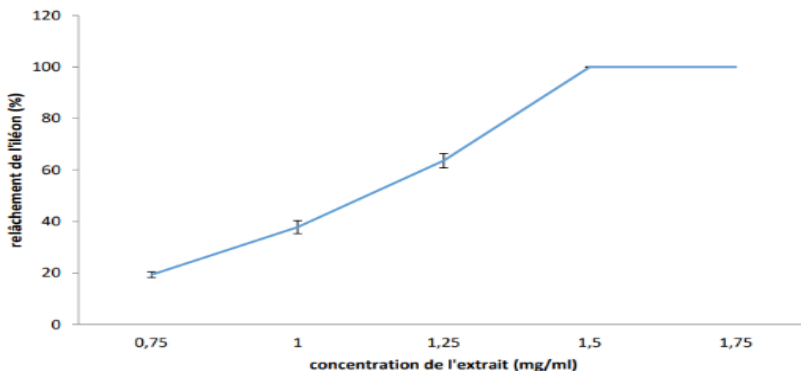


Figure 2 : Variation du relâchement de l'iléon contracté par l'acétylcholine, en présence de l'extrait, injecté dans le bain de manière cumulative ($m \pm e.s.m$; $n = 4$; $P < 0,05$)

Mécanisme d'action de l'extrait

L'acétylcholine, injectée d'une manière cumulée, contracte l'iléon isolé des cochons d'Inde. En absence de l'extrait, l'amplitude maximale (100%) de l'acétylcholine est atteinte à la concentration de 10^{-4} M et sa CE_{50} est égale à $3,7 \times 10^{-9}$ M.

Après la préincubation de l'iléon isolé dans le bain contenant de l'extrait, l'action de l'acétylcholine diminue et sa CE_{50} augmente. A la concentration de 0,75 mg/ml, l'amplitude de contraction est égale à $79,81 \pm 1,81$ %, avec une CE_{50} de $1,1 \times 10^{-7}$ M. En présence de l'extrait à la concentration de 1 mg/ml dans le bain, l'amplitude est égale à $49,21 \pm 1,52$ %, avec une CE_{50} de $0,8 \times 10^{-6}$ Met à 1,25 mg/ml, l'amplitude de la contraction est de $25,15 \pm 1,10$ % avec une CE_{50} de $1,8 \times 10^{-6}$ M ($P < 0,05$) (Figure 3).

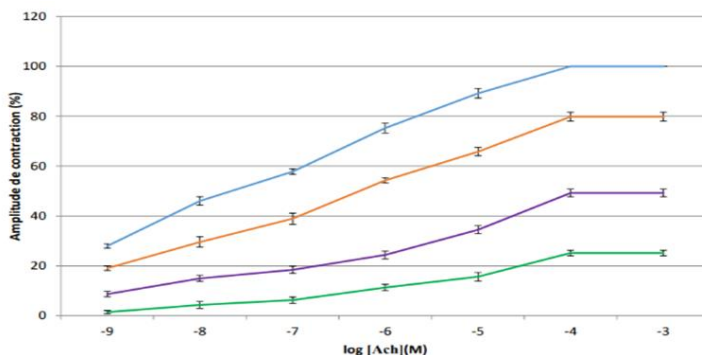


Figure 3 : Variation de l'amplitude de la contraction de l'iléon isolé de cochon d'Inde provoquée par l'acétylcholine, injectée dans le bain de manière

cumulative, en absence et en présence de l'extrait : Ach seul ■ , extrait aux concentrations de 0,75 ■ , 1 ■ et 1,25 mg/ml ■ ($m \pm e.s.m$; $n = 4$; $P < 0,05$).

Ces résultats montrent que l'extrait inhibe l'action de l'acétylcholine de manière non compétitive.

DISCUSSIONS

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'activité de l'extrait des feuilles de *Psidium cattleianum* sur la diarrhée par deux méthodes expérimentales : l'action antisécrétoire par la méthode d'enteropooling provoquée par le $MgSO_4$ et l'action sur la motilité intestinale par la contraction de l'iléon isolé déclenchée par l'acétylcholine.

Le sulfate de magnésium est une substance osmotiquement active et peu absorbable au niveau de la lumière intestinale. Il augmente la pression osmotique dans le tractus intestinal et attire de l'eau de la paroi vers la lumière intestinale à travers des aquaporines (Fischbarg J., 2010). Il empêche en même temps son absorption en la retenant dans la lumière intestinale, entraînant ainsi une accumulation de fluide dans la lumière intestinale (Izzo A. et al., 1996).

Les résultats des tests sur l'accumulation des fluides intestinaux ont démontré que l'extrait diminue le volume de liquide présent dans l'intestin. Cette baisse pourrait être due à une augmentation de la réabsorption d'eau ou à la diminution de la sécrétion d'eau par fermeture des aquaporines de la couche externe de la muqueuse intestinale par la présence de tanins dans l'extrait. Des travaux effectués par Rode M. et al., (2013) sur l'extrait des écorces de *Diospyros malabarica* et ceux d'Abdelrahim M. et al., (2013) sur la pulpe des fruits d'*Adansonia digitata* ont montré que les tanins contenus dans ces extraits, resserrent les aquaporines par leur action astringente.

Par ailleurs, les résultats des tests *in vitro* montrent que l'extrait diminue le péristaltisme intestinal induit par l'acétylcholine, et qu'il inhibe l'action de celle-ci de manière non compétitive. L'extrait pourrait agir sur des récepteurs autres que les récepteurs muscariniques M3 de l'acétylcholine pour relâcher les muscles lisses intestinaux. La présence des alcaloïdes serait responsable de l'effet contre les spasmes intestinaux en se fixant sur les récepteurs μ (N'guessan K. et al., 2009). Les travaux de Yinyang et Biosci J. en 2014 ont montré l'intérêt des alcaloïdes dans l'activité antispasmodique.

CONCLUSION

Les études effectuées sur l'extrait hydroalcoolique de *Psidium cattleianum* ont permis de montrer qu'il diminue l'accumulation du fluide intestinal déclenché par le sulfate de magnésium en inhibant la sécrétion intestinale et il ralentit aussi le péristaltisme intestinal provoqué par l'acétylcholine. Ces effets pourraient être attribués aux tanins et aux alcaloïdes qu'il contient. En considérant ces résultats, l'on peut affirmer que l'extrait possède une action anti-diarrhéique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) Abdelrahim M., Elamin B., Khalil D., El Badwi S. (2013). Antidiarrheal activity of ethanolic extract of *Adansonia digitata* fruit pulp in rats. *J. Phys. Pharm. Adv.* 3 (6): 172 - 178.
- 2) Aguilar M., Gastañaduy P., Uribe E., Desai R., Parashar U., Richardson V., et al. (2014). Hospitalisations liées à la diarrhée chez les enfants avant et après la mise en œuvre de la vaccination monovalente contre le rotavirus au Mexique. *Bull. World Health Organ.* 92 (2): 77-152.
- 3) Dupont, C. (2010). Diarrhée aigüe de l'enfant. *J. Pediatr. Pueric.* 23 (2): 84 – 95.
- 4) Fischbarg, J. (2010). Fluid transport across leaky epithelia: central role of the tight junction and supporting role of aquaporins. *Rev. Physiol.* 90: 1271 - 1290.
- 5) Fong H., Tin-Wam., Farns Worth N. (1977). *Phytochemical screening 275-277.*, Chicago (USA) : Rev. College of Pharmacy, University of Illinois.
- 6) Ghorbanpour M., Hadian J., Nikabadi S., Varma A. (2017). Medicinal Plants and Environmental Challenges Chap. I : 1- 23. Germany Berlin : SPRINGER.
- 7) Izzo A., Gaginella T., Capasso F. (1996). The osmotic and intrinsic mechanisms of the pharmacological laxative action of oral high doses of magnesium sulphate. Importance of the release of digestive polypeptides and nitric oxide. *Magnes. Res.* 9(2) : 133 - 138.
- 8) Marteau P. (2013). Physiopathologie des diarrhées chroniques. *Rev. HEGEL* 4(4) : 321.
- 9) Martini, F., Timmons, M., Tallitsch, R. (2009). *Human Anatomy*: 656 – 688. San Francisco: PEARSON BENJAMIN CUMMINGS 6th Ed.
- 10) Morard I., Hadengue A. (2008). Diarrhée médicamenteuse. *Rev. Med. Suisse* 4 : 1867 - 1872.
- 11) N'guessan K., Kadja B., Zirihi. G., Traoré D., Aké-AssiL. (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sci. Nat.* 6 (1) : 1 - 15.

- 12) Rabesa Z., Seraphin J., Randrianasolo S., Rasolomanana J., Corneille J., Randriamizana J. (1986). *Pharmacopée de l'Alaotra* 90-91. Antananarivo : PUBLISHER.
- 13) Ramos A., Garcia C., Alejandro Z., Gomez-Rivera A., Jaime T., Manasés G. (2017). Homoisoflavonoids and chalcones isolated from *Haematoxylum campechianum* L., with spasmolytic activity model of ileum isolated guinea pigs. *Molecules* 22 (9) : 1405.
- 14) Rode M., Kalaskar M., Gond N., Surana S. (2013). Evaluation of antidiarrheal activity of *Diospyros malabarica* bark extract. *Bangladesh. J. Pharmacol.* 8: 49 - 53.
- 15) Sarowar H., Allam M., Asadujjaman M., Zahan R, Islam M., Ehsanul M., et al. (2011). Antidiarrheal, Antioxidant and Antimicrobial Activities of the *Musa sapientum* Seed. *Avi. J. Med. Biotechnol.* 3(2) : 95 – 105.
- 16) Shiferie F., Shibeshi W. (2013). *In vivo* antidiarrheal and *ex-vivo* spasmolytic activities of the aqueous extract of the roots of *Echinops kebericho* Mesfin (ASTERACEAE) in rodents and isolated guinea pig ileum. *Int. J. Pharm. Pharmacol.* 2 (7) : 110 - 116.
- 17) Verma N., Singh. A, Gupta, Sahu P., Rao C. (2011). Antidiarrheal potential of standardized extract of *Rhododendron arboreum* Smith flowers in experimental animals. *Indian. J. Pharmacol.* 43 (6) : 689 - 693.
- 18) Wood, J. (1981). *Physiology of the gastrointestinal tract*. Chap. I: 1-37. New York : RAVEN PRESS JOHNSON L. R. 4th Ed.
- 19) Yinyang, Biosci J. (2014). Les plantes à alcaloïdes utilisées par les populations de la ville Douala (Cameroun). *J. Appl. Biosci.* 78: 6600 - 6619.

INFECTION A *PLASMODIUM VIVAX* CHEZ LES ENFANTS DANS LE DISTRICT DE VATOMANDRY

par

ANDRIANARANJAKA Voahangy Hanitriniaina^(1,2), RAZAFIARINELINA
Mahandry⁽¹⁾, RAKOTOMANGA Tovonahary Angelo^(1,2),
RAVAOARISOA Elisabeth^(1,2), RATSIMBASOA Arsène⁽³⁾

(1) Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, Madagascar

(2) Programme National de lutte contre le Paludisme, Ministère de la Santé Publique, Antananarivo, Madagascar

(3) Faculté de Médecine, Université de Fianarantsoa, Madagascar

RESUME

Depuis 2006, les stratégies mises en œuvre par le Ministère de la santé publique à Madagascar visent à contrôler ou à éliminer le paludisme. Cependant, cette maladie demeure un problème de santé pour la population malagasy. *Plasmodium falciparum* reste l'espèce prédominante à Madagascar. Toutefois, la détection des autres espèces plasmodiales est primordiale dans la politique d'élimination du paludisme. Notre étude menée dans le district de Vatoman-dry a pour objectif de détecter l'infection à *Plasmodium vivax* par la PCR nichée chez les enfants de 6 mois à 15 ans. Au total, 913 prélèvements sanguins, collectés sur papier buvard lors d'un dépistage actif du paludisme au mois de Février et Mars en 2016 et 2017 dans 4 communes du district de Vatoman-dry ont été analysés. L'infection plasmodiale à *P. vivax* a été détectée et identifiée par la PCR nichée. Avec cette technique, la prévalence de l'infection plasmodiale à *P. vivax* est de 5,8% [IC95% : 4,4 - 7,6%] avec 5,7% [IC95% : 3,9 - 8,3%] en 2016 et 5,9% [IC95% : 3,9 - 8,7%] en 2017. Comparés aux études antérieures, nos résultats montrent que *P. vivax* commence à gagner du terrain dans le district de Vatoman-dry. Les stratégies de lutte contre le paludisme sont principalement axées sur l'infection à *P. falciparum*. Par contre, l'achèvement de l'éradication du paludisme exige l'élimination de toutes les espèces plasmodiales. Ainsi, une meilleure compréhension des caractéristiques épidémiologiques des infections plasmodiales autres que *P. falciparum* est nécessaire.

Mots-clés : Paludisme, *Plasmodium vivax*, Enfants, PCR nichée, Vatoman-dry

ABSTRACT

Since 2006, all strategies implemented by the Ministry of Public Health in Madagascar aim to control or eliminate malaria. However, this disease remains a health problem for Malagasy population. *Plasmodium falciparum* is the predominant species in Madagascar. But, the detection of other *Plasmodium* species is essential for malaria elimination policy. Our study carried out in the Vatomandry district aims to detect *Plasmodium vivax* infection in children 6 months to 15 years old by nested PCR. A total of 913 blood spot samples collected from 4 municipalities of the Vatomandry district, during malaria active case detection on February and March in 2016 and 2017 were analyzed. *P. vivax* infection was detected and identified by nested PCR. With this technique, *P. vivax* prevalence was 5.8% [95% CI : 4.4 - 7.6%] with 5.7% [95% CI : 3.9 - 8.3 %] in 2016 and 5.9% [95% CI : 3.9 - 8.7%] in 2017. Compared to previous studies, our results show that *P. vivax* is starting to gain the field in the Vatomandry district. Malaria control strategies are mainly focus on *P. falciparum* infection. In contrast, malaria eradication achievement requires the elimination of all human malaria parasites species. Thus, a better understanding of the epidemiological characteristics *Plasmodium sp.* infections other than *P. falciparum* is needed.

Key-words : Malaria, *Plasmodium vivax*, Children, Nested PCR, Vatomandry

INTRODUCTION

Malgré les différentes stratégies mises en œuvre pour éliminer ou contrôler le paludisme, cette maladie demeure une des principales causes de morbidité et de mortalité dans le monde (Some et al., 2018) avec 229 millions de cas rapportés et 409 000 de décès associés (WHO, 2020). Le diagnostic et la prise en charge précoces et efficaces sont des éléments clés dans la lutte contre le paludisme et pourraient sauver des vies. Pourtant l'accès aux méthodes de diagnostic reste difficile dans plusieurs pays d'endémie palustre auquel s'ajoutent des ruptures de stocks d'antipaludiques. Les infections plasmodiales à *P. vivax* et à *P. ovale* sont considérées comme un frein de l'élimination du paludisme à cause de leur capacité d'entraîner des reviviscences tardives (Galinski et Barnwell, 2008 ; Wells et al., 2010). Aussi, *P. vivax* peut également engendrer une forme grave du paludisme (Barber et al., 2013 ; Rahimi et al., 2014).

A Madagascar, depuis 2006, les stratégies mise en œuvre par le Ministère de la santé publique visent à contrôler ou à éliminer le paludisme. Cependant, plusieurs endroits en sont encore concernés. *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* et *P. malariae* coexistent dans la grande île avec la prédominance de *P. falciparum* (PNLP, 2015 ;

EIPM, 2016), suivi de *P. vivax* (Andrianaranjaka, 2015 ; Rabearivony, 2015). Bien qu'elle soit à une faible proportion, la prévalence de l'infection à *P. vivax* varie considérablement à Madagascar. Ainsi, la présente étude, menée dans le district de Vatondry, a pour objectif de détecter l'infection à *Plasmodium vivax* par la PCR nichée chez les enfants de 6 mois à 15 ans. Les résultats de ce travail seront utiles pour le programme de lutte contre le paludisme à Madagascar dans l'orientation des différentes stratégies de lutte.

MATERIELS ET METHODES

Sites d'étude et collecte d'échantillons

L'étude a été menée dans le district de Vatondry. Au mois de Février et Mars en 2016 et 2017, un dépistage actif du paludisme par le test de diagnostic rapide (TDR) a été réalisé chez les enfants de 6 mois à 15 ans dans 4 communes de ce district : la commune d'Ambodivoananto, d'Ilaka Est, de Niarovana Caroline et de Tsarasambo. Des prélèvements sanguins ont été collectés sur papier buvard pour l'analyse au laboratoire (Figure 1).

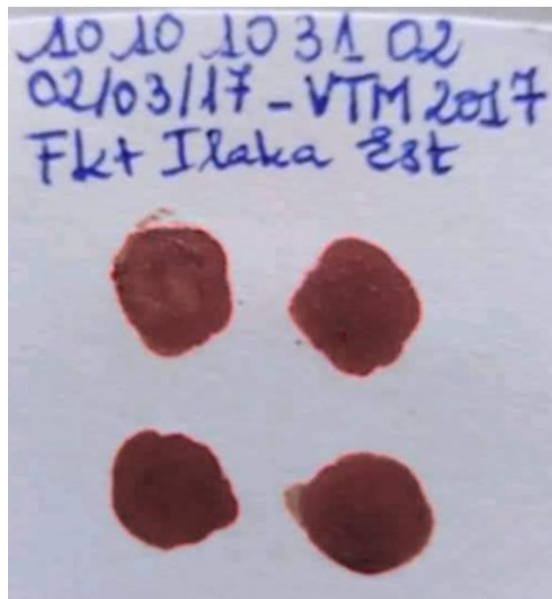


Figure 1 : Spots sanguins sur papier buvard

Extraction d'ADN par InstaGene™ Matrix (Bio-Rad™)

A partir des spots sanguins sur papier buvard, l'ADN a été extrait en utilisant le kit InstaGene™ Matrix (Bio-Rad™) en respectant les recommandations du fabricant.

Détection de l'infection à *P. vivax* par la PCR nichée

La PCR nichée a été utilisée pour détecter et identifier l'infection à *P. vivax* dans les échantillons analysés à partir des extraits d'ADN obtenus par InstaGene™ Matrix (Bio-Rad™). Ainsi deux couples d'amorces ciblant des séquences spécifiques du gène codant pour l'ARN ribosomal (ARNr) 18S de *P. vivax* ont été utilisés. Le couple d'amorces RPLU6 (5'-TTAAAATTGTTGCAGTTAAAACG-3') / RPLU5 (5'-CCTGTTGTTGCCTTAAACTCC-3') est utilisé pour la première PCR et le couple RVIV1 (5'-CGTTCTAGCTTAATCCACATAACTGA-3') / RVIV2 (5'-ACTTCCAAGCCGAAGCAAAGAAAGTC-3') pour la deuxième PCR. Les deux réactions de PCR ont été réalisées dans un mélange réactionnel de volume final de 25 µL, contenant 1 mM de dNTP, 3 mM de MgCl₂, 0,2 µM de chaque amorce, 1,25 unités de la Taq DNA Polymerase (Bioline) et 3 µL d'ADN pour la première PCR et 2 µL du produit d'amplification de celle-ci pour la deuxième PCR. L'amplification a été réalisée avec le thermocycleur BIO-RAD™ C1000 Touch. Le programme d'amplification pour la première PCR consiste en une dénaturation initiale à 94°C pendant 5 min, suivie d'un cycle répété 30 fois, correspondant à [une dénaturation à 94°C pendant 30 secondes, une hybridation à 55°C pendant 40 secondes et une élongation à 72°C pendant 1 min], et d'une élongation finale à 72°C pendant 5 min. Le même processus est adopté pour la deuxième PCR en optant une température d'hybridation de 60°C au lieu de 55°C.

Un extrait d'ADN positif à *P. vivax* est utilisé comme témoin positif et un extrait non infecté par *Plasmodium sp.* comme témoin négatif, à chaque série de PCR.

Les produits d'amplification de la deuxième PCR ont été déposés sur un gel d'agarose 2% et mis à migrer par électrophorèse. En utilisant le BET comme agent intercalant et des marqueurs de poids moléculaire, les produits d'amplification sont visualisés à l'aide du GelScan (Bio-Rad), après 40 min d'électrophorèse sous une tension de 120 V. Les échantillons positifs à *P. vivax* donneront une bande visible de taille attendue 117 paires de bases.

RESULTATS

Echantillons analysés

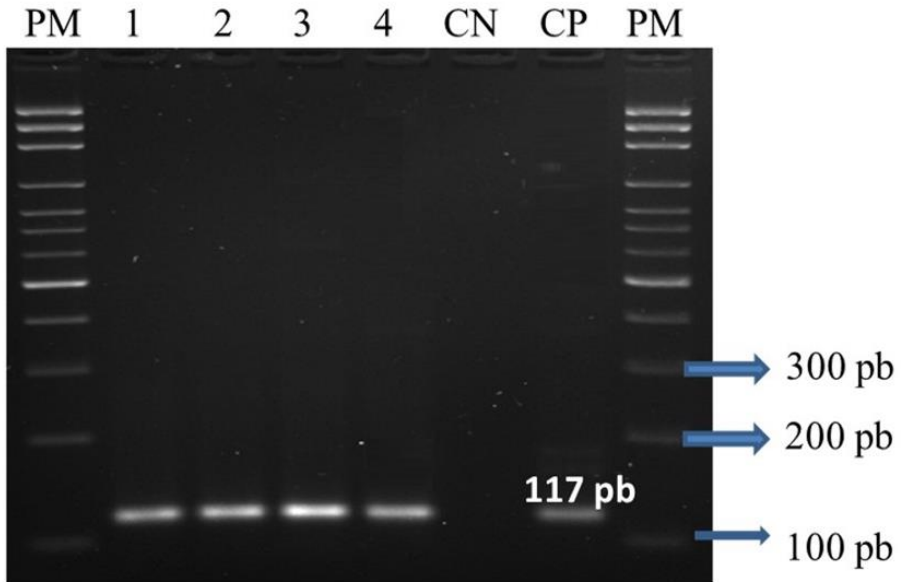
Neuf cent treize prélèvements sanguins provenant des 4 communes du district de Vatomaniry, dont respectivement 489 collectés en 2016 et 424 en 2017, ont été analysés dans la présente étude. Le TDR utilisé pour dépistage actif sur le terrain a permis de détecter une prévalence de 18,2% du paludisme (Tableau 1).

Tableau 1 : Prévalence de l'infection plasmodiale détectée par TDR

| Commune | 2016 | | | 2017 | | | Total |
|-----------------------|------------|-----------|-------------|------------|-----------|-------------|------------|
| | Effectif | Positif | % | Effectif | Positif | % | |
| Ambodivoananto | 73 | 15 | 20,5 | 45 | 5 | 11,1 | 118 |
| Ilaka Est | 167 | 22 | 13,2 | 161 | 28 | 17,4 | 328 |
| Niarovana Caroline | 143 | 44 | 30,8 | 140 | 41 | 29,3 | 283 |
| Tsarasambo | 106 | 8 | 7,5 | 78 | 3 | 3,8 | 184 |
| Total | 489 | 89 | 18,2 | 424 | 77 | 18,2 | 913 |

Prévalence de l'infection à *P. vivax* par la PCR nichée

La prévalence de l'infection plasmodiale à *P. vivax* est de 5,8% [IC95% : 4,4 - 7,6%] par la PCR nichée (Figure 2) , dont 5,7% [IC95% : 3,9 - 8,3%] en 2016 et 5,9% [IC95% : 3,9 - 8,7%] en 2017. Globalement, aucune différence statistique n'a été observée entre 2016 et 2017 vis-à-vis de l'infection à *P. vivax* dans le district de Vatovandri (p-value = 1).



PM : Marqueurs de poids moléculaire, **1 – 4** : échantillons à *P. vivax* (117 pb)
CN : contrôle négatif, **CP** : contrôle positif, **pb** : paire de bases

Figure 2 : Détection de *P. vivax* par la PCR nichée

Même si la commune de Niarovana Caroline présente la plus faible prévalence par rapport aux autres communes (Tableau 2), aucune différence significative de l'infection à *P. vivax* n'a été constatée dans les sites d'étude ($p\text{-value} = 0,2527$).

Tableau 2 : Prévalence de l'infection à *P. vivax* par commune

| Commune | Effectif (n/N) | % | [IC à 95%] |
|--------------------|----------------|------------|---------------------|
| Ambodivoananto | 7/118 | 5,9 | [2,6 - 12,3%] |
| Ilaka Est | 23/328 | 7,0 | [4,6 – 10,5%] |
| Niarovana Caroline | 10/283 | 3,5 | [1,8 – 6,6%] |
| Tsarasambo | 13/184 | 7,1 | [4,0 – 12,0%] |
| Total | 53/913 | 5,8 | [4,4 - 7,6%] |

DISCUSSION

Basée sur les résultats du TDR réalisé lors du dépistage actif sur le terrain, la prévalence du paludisme est de 18,2% dans le district de Vatomaniry. Cette prévalence est élevée par rapport aux résultats des études antérieures où la prévalence du paludisme était de 8,5% par le TDR (Ratafika, 2015). Il convient de noter que le district de Vatomaniry a subi le passage du cyclone Enawo en Mars 2017, qui pourrait expliquer cette augmentation (Croix Rouge Malagasy, 2017). Aussi, selon l'estimation de l'OMS, Madagascar était parmi les pays qui ont observé une augmentation des cas de paludisme en 2017 (WHO, 2018).

Notre étude a montré une prévalence de 5,8% [IC95% : 4,4 - 7,6%] de l'infection à *P. vivax*. Une prévalence élevée comparée à celles obtenues par les études antérieures où *P. falciparum* a été la seule espèce détectée dans le district de Vatomaniry ou sur la côte Est de Madagascar (Andrianaranjaka, 2015 ; EIPM, 2011 ; EIPM, 2013 ; EIPM, 2016). Les résultats de TDR ont montré une prévalence du paludisme supérieure par rapport aux études antérieures. Il semblerait donc que, soit la proportion des infections plasmodiales à *P. vivax* augmente avec la prévalence du paludisme, soit *P. vivax* commence à gagner du terrain dans le district de Vatomaniry. Il serait donc utile de faire d'autres études plus approfondies avec des investigations pour savoir si les cas de *P. vivax* détectés dans la présente étude sont des cas autochtones ou introduits. De plus, dans la plupart des cas, les autres infections plasmodiales sont masquées par *P. falciparum* en cas d'infection mixte.

Nous tenons à souligner qu'une des particularités de *P. vivax* est sa capacité de former des hypnozoïtes qui sont à l'origine des accès en reviviscence en l'absence

d'une nouvelle infection. En effet, les cas de *P. vivax* détectés pourraient être dus à une nouvelle infection ou à une rechute. De ce fait, *P. vivax* est considéré comme un obstacle caché de l'élimination du paludisme (Galinski et Barnwell, 2008 ; Wells et al., 2010). Il s'avère donc crucial d'étudier les paramètres parasitaires influençant le réveil de ces hypnozoïtes.

CONCLUSION

Les stratégies de lutte contre le paludisme sont principalement axées sur l'infection à *P. falciparum*. Par contre, l'achèvement de l'éradication du paludisme en tant que problème de santé publique exige l'élimination de toutes les espèces plasmodiales. Ainsi, une meilleure compréhension des caractéristiques épidémiologiques des infections plasmodiales autres que *P. falciparum* est nécessaire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) Andrianaranjaka V. (2015). Impact de la pression médicamenteuse liée à la politique de traitement antipaludique sur la population de Plasmodium à Madagascar. *Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, Madagascar. Thèse de doctorat du troisième cycle.* 206 p.
- 2) Barber B. E., William T., Grigg M. J., Menon J., Auburn S., Marfurt J., Anstey N. M. et Yeo T. W. (2013). A prospective comparative study of *knowlesi*, *falciparum*, and *vivax malaria* in Sabah, Malaysia: high proportion with severe disease from *Plasmodium knowlesi* and *Plasmodium vivax* but no mortality with early referral and artesunate therapy. *Clin Infect Dis*; 56 (3) : 383–97.
- 3) Croix Rouge Malagasy (2017). Rapport de situation. Cyclone Enawo à Madagascar en 2017.
- 4) Institut National de la Statistique (2011). Enquête sur les indicateurs du paludisme à Madagascar (EIPM). *Programme National de Lutte contre le Paludisme, Institut Pasteur de Madagascar et ICF International. Madagascar.* 97 p.
- 5) Institut National de la Statistique (2013). Enquête sur les indicateurs du paludisme à Madagascar (EIPM). *Programme National de Lutte contre le Paludisme, Institut Pasteur de Madagascar et ICF International. Madagascar.* 112 p.
- 6) Institut National de la Statistique (2016). Enquête sur les indicateurs du paludisme à Madagascar (EIPM) : Rapport final 2016. *Programme National de Lutte contre le Paludisme, Institut Pasteur de Madagascar et ICF International. Madagascar.* 165 p.

- 7) Galinski, M. R. et Barnwell, J. W. (2008). *Plasmodium vivax*: who cares? *Malar J* 7 Suppl 1 : S9.
- 8) PNLPMADAGASCAR (2015), Service des laboratoires « Manuel de formation au diagnostic biologique du paludisme ». *Version Février 2015*.
- 9) Rabearivony, A. (2015). Le polymorphisme de *Plasmodium vivax* à Madagascar. *Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, Madagascar. Mémoire de Master*. 61 p.
- 10) Rahimi, B. A., Thakkestian, A., White, N. J., Sirivichayakul, C., Dondorp, A. M. et Chokeyindachai, W. (2014). Severe *vivax* malaria: a systematic review and meta-analysis of clinical studies since 1900. *Malar J*; 13:481.
- 11) Ratafika, T. (2015). *Prévalence du paludisme dans le District de Vatovandry*. Facultés de Médecine. Université d'Antananarivo, Madagascar. Thèse de doctorat en médecine. 84p.
- 12) Somé, T., Bazié, T., Zongo, I., Yerbanga, R. S., Nikiéma, F. Neya, C., Taho, L. K., Ouédraogo, J. B. (2018). *Plasmodium falciparum Msp1 and Msp2* genetic diversity and allele frequencies in parasites isolated from symptomatic malaria patients in Bobo-Dioulasso, Burkina Faso p.3.
- 13) Wells, T. N., Burrows, J. N., Baird, J. K. (2010). Targeting the hypnozoite reservoir of *Plasmodium vivax*: the hidden obstacle to malaria elimination. *Trends Parasitol* 26 : 145-151.
- 14) WHO, World Health Organization, (2018). World malaria report 2018. <https://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2018/en/>
- 15) WHO, World Health Organization. (2020). *World Malaria Report 2019*.

PERFORMANCE DU SYSTEME D'IDENTIFICATION BACTERIENNE BIS NEG-D DANS L'IDENTIFICATION DES BACILLES A GRAM NEGATIF

par

RAKOTOVAO-RAVAHATRA Z. Domoina ⁽¹⁾, RANDRIATSARAFARA
Fidiniaina M. ⁽²⁾, RAKOTOVAO-RAVAHATRA Joely N. ⁽³⁾,
RASOARAHONA Jean R. ⁽³⁾, RAONIZAFINIMANANA Béatrice ⁽³⁾,
RAKOTOVAO Andriamiadana L. ⁽¹⁾

(1) Département de Biologie Médicale, Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo, Madagascar

(2) Département de Santé Publique, Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo, Madagascar

(3) Ecole Doctorale « Génie des Procédés et des Systèmes Industriels, Agricoles et Alimentaires », Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques, Université d'Antananarivo, Madagascar

RESUME

A Madagascar, les infections bactériennes constituent un grand problème de santé publique. Une revue régulière de l'écologie et de la sensibilité des germes devrait ainsi être réalisée, ce qui n'est pas toujours le cas dans les milieux à ressources limitées. En effet, la majorité des laboratoires de bactériologie malgaches utilisent les systèmes d'identification bactérienne tels que les galeries Api ou les galeries Bis. Etant donné que les bactéries à Gram négatif sont les germes les plus fréquemment identifiés chez les patients atteints d'infections bactériennes, l'étude a tenté d'évaluer la performance du système d'identification bactérienne Bis NEG-D dans l'identification de ces bacilles à Gram négatif. L'utilisation de ce système a permis d'identifier des espèces bactériennes où les isolats d'*Escherichia coli* ont été les plus nombreux (n=12 ; 38%) suivis des isolats de *Klebsiella pneumoniae* (n=7 ; 22%) et d'*Enterobacter cloacae* (n=7 ; 22%). D'autres germes ont également été identifiés, il s'agit des isolats d'*Acinetobacter baumannii*, *Burkholderia cepacia*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Raoultella ornithinolytica* et *Shigella sp.* En ce qui concerne la qualité du système d'identification bactérienne Bis NEG-D, elle a été excellente pour 94% des cas (n=30), très bonne pour 3% (n=1) des cas et bonne pour 3% (n=1) des cas. Concernant les scores de probabilité d'identification exacte d'espèce bactérienne, les scores de 99% (n=10 ; 32%) ont été les plus nombreux, suivis des scores de 100% (n=8 ; 25%) et de 96% (n=4 ; 13%). Ce

système constitue donc un test fiable et peut être utilisé dans les laboratoires de bactériologie pour une bonne identification des bacilles à Gram négatif.

Mots-clés : Bactérie, Gram, Score de probabilité, Système d'identification bactérienne

ABSTRACT

In Madagascar, bacterial infections are a major public health problem. A regular review of the ecology and sensitivity of germs should therefore be carried out, which is not always the case in environments with limited resources. Indeed, the majority of Malagasy bacteriology laboratories use bacterial identification systems such as Api galleries or Bis galleries. Since Gram-negative bacteria are the most frequently identified germs in patients with bacterial infections, the study attempted to assess the performance of the Bis NEG-D bacterial identification system in identifying these Gram-negative bacilli. The use of this system have allowed to identify bacterial species in which *Escherichia coli* isolates were the most numerous (n=12; 38%) followed by *Klebsiella pneumoniae* isolates (n=7; 22%) and *Enterobacter cloacae* (n=7; 22%). Other germs have also been identified, such as isolates of *Acinetobacter baumannii*, *Burkholderia cepacia*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Raoultella ornithinolytica* and *Shigella sp.* Regarding the quality of the Bis NEG-D bacterial identification system, it was excellent for 94% of cases (n=30), very good for 3% (n=1) of cases and good for 3% (n=1) of cases. Concerning the scores of probability of exact identification of bacterial species, scores of 99% (n=10; 32%) were the most numerous, followed by scores of 100% (n=8 ; 25%) and 96% (n=4 ; 13%). This system therefore constitutes a reliable test and can be used in bacteriology laboratories for good identification of Gram-negative bacilli.

Key-words : Bacteria, Gram, Probability score, Bacterial identification system

INTRODUCTION

Les infections bactériennes constituent une des causes majeures d'hospitalisation. Leur pronostic dépend non seulement des antibiotiques utilisés, mais aussi de la sensibilité des germes à ces antibiotiques. Une revue régulière de l'écologie et de la sensibilité des germes devrait être réalisée, ce qui n'est pas toujours le cas dans les milieux à ressources limitées (Aketi L. et Malembi M., 2015). A Madagascar, ces infections constituent un grand problème de santé publique. Les infections bactériennes peuvent être causées par l'ingestion d'aliments contaminés ou l'exposition à des environnements non stériles tels les plaies où des

bactéries pathogènes opportunistes sont présentes. Les symptômes et le traitement varient selon les germes. Bien que certains indices puissent être obtenus à partir des symptômes du patient, l'agent causal doit être déterminé afin de bien comprendre la nature de l'infection, son origine et le traitement approprié. Il est donc d'une immense importance de caractériser et d'identifier ces bactéries (Jehl F. et *al.*, 2015).

Le rôle des laboratoires de microbiologie est d'identifier, de manière précise, les bactéries et de réaliser correctement l'antibiogramme afin d'assurer une bonne prise en charge de la maladie infectieuse du patient. Ces dernières années, la microbiologie s'est largement développée grâce à la découverte et à l'optimisation des systèmes d'identification bactérienne. La spectrométrie de masse à temps de vol avec ionisation par désorption laser assistée par matrice (MALDI-TOF MS) est devenue un outil potentiel pour l'identification et le diagnostic microbiens. Au cours du processus MALDI-TOF MS, les microbes sont identifiés à l'aide de cellules intactes ou d'extraits cellulaires (Singhal M. et *al.*, 2015).

Cependant, dans les pays en développement comme Madagascar, les systèmes manuels d'identification bactérienne sont encore utilisés. Ainsi, la majorité des laboratoires de bactériologie à Madagascar utilisent les systèmes d'identification bactérienne tels que les galeries Api ou les galeries Bis, étant donné que les bactéries à Gram négatif sont les germes les plus fréquemment identifiés chez les patients atteints d'infections bactériennes. Évaluer la performance du système d'identification bactérienne Bis NEG-D dans l'identification de ces germes est donc vivement préconisée. Ainsi, l'objectif de l'étude consiste à évaluer la performance du système d'identification bactérienne Bis NEG-D dans l'identification des bacilles à Gram négatif.

MATERIELS ET METHODES

Type et période d'étude

Il s'agit d'une étude évaluative du système d'identification Api 20E sur une période de 3 mois allant du mois de janvier 2021 au mois de mars 2021 au laboratoire du Centre Hospitalier Universitaire Joseph Raseta Befelatanana (CHUJRB).

Procédures

Les prélèvements biologiques ont d'abord étéensemencés dans un à plusieurs milieux de culture (milieu chromogène, gélose au sang, gélose chocolat, bouillon cœur-cerveille, milieu shigella-salmonella, bouillon sélénite, ...). Le lendemain, les colonies bactériennes qui ont poussé ont été étalées sur lame et colorées grâce à la méthode de coloration de Gram. Si la coloration de Gram montre la présence de

bactéries à Gram négatives, le technicien effectue l'identification bactérienne en utilisant le système d'identification bactérienne Bis NEG-D. Le système d'identification bactérienne Bis NEG-D est un panneau standard d'identification des bactéries Gram négatives courantes, il est composé de 24 tests biochimiques miniaturisés et d'une base de données. Chaque kit contient 16 tests et 2 kits ont été utilisés pour identifier 32 isolats bactériens. Le Bis NEG-D peut identifier 115 bactéries Gram négatives. Le système donne des résultats précis et fiables en 24 heures. Les panneaux sont complets et ne nécessitent qu'une quantité très limitée de consommables. Cela rend le système efficace, facile à utiliser et réduit les coûts pour l'utilisateur. En outre, Cypress diagnostics, qui est la société fournisseur de ce réactif, fournit des protocoles clairs et faciles à utiliser. Son logiciel³ offre l'identification des micro-organismes avec des informations supplémentaires sur la fiabilité du résultat obtenu. La fiabilité du résultat peut être augmentée par des tests supplémentaires.

Paramètres d'étude

Les paramètres de l'étude étaient représentés par des résultats bactériologiques sur Bis NEG-D, les qualités d'identification bactérienne du Bis NEG-D et les scores de probabilité d'identification exacte des espèces bactériennes par le Bis NEG-D.

Considérations éthiques

Cette étude a été autorisée par le directeur d'établissement du CHUJRB et le chef de service du laboratoire avant sa mise en œuvre. Elle a respecté l'anonymat et la confidentialité. Par ailleurs, cette étude a été réalisée grâce à l'appui technique et financier de la société Médical International de Madagascar et de la Fondation Mérieux de Madagascar.

Analyse statistique

L'analyse statistique a été effectuée grâce au logiciel Epi-info 3.5.2.

RESULTATS

Pendant une période d'étude de 3 mois allant du mois de Janvier 2021 au mois de Mars 2021, 2 kits de système d'identification bactérienne Bis NEG-D ont été évalués. Puisqu'un kit contient 16 tests, ces derniers ont permis d'identifier 32 bacilles à Gram négatif. Il est à noter que les bactéries identifiées étaient, dans la majorité des cas, des entérobactéries. Concernant les espèces bactériennes identifiées, les isolats d'*Escherichia coli* ont été les plus nombreux (n=12 ; 38%) suivis des isolats de *Klebsiella pneumoniae* (n=7 ; 22%) et d'*Enterobacter cloacae* (n=7 ; 21,9%). D'autres germes ont également été identifiés tels que les isolats

³ Disponible en ligne sur le site de diagnostic Cypress : <http://diagnostics.be>

d'*Acinetobacter baumannii*, *Burkholderia cepacia*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Raoultella ornithinolytica* et *Shigella sp* (Figure 1).

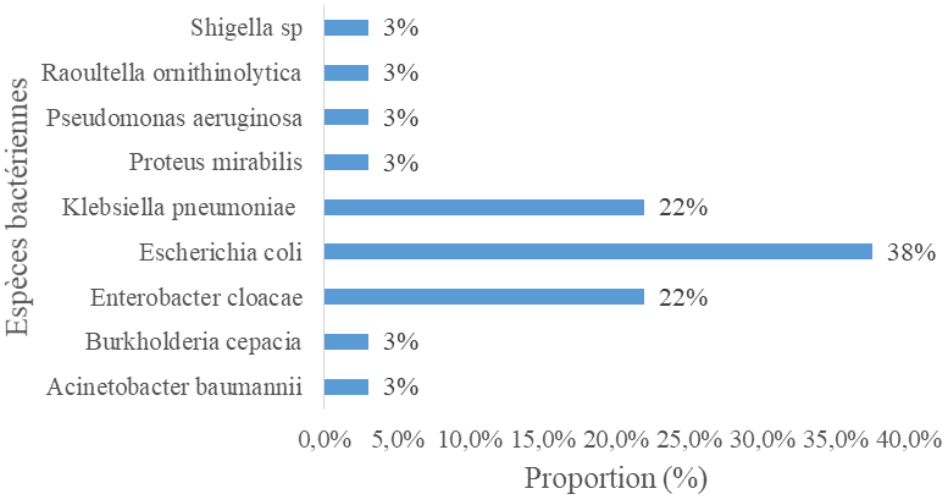


Figure 1 : Espèces bactériennes identifiées par le système d’identification bactérienne Bis NEG-D

La Figure 2 montre les qualités d’identification bactérienne du système d’identification bactérienne Bis NEG-D révélées par le logiciel Bis. Ainsi, l’identification a été excellente pour 94% des cas (n=30), très bonne pour 3 % (n=1) des cas et bonne pour 3 % (n=1) des cas.

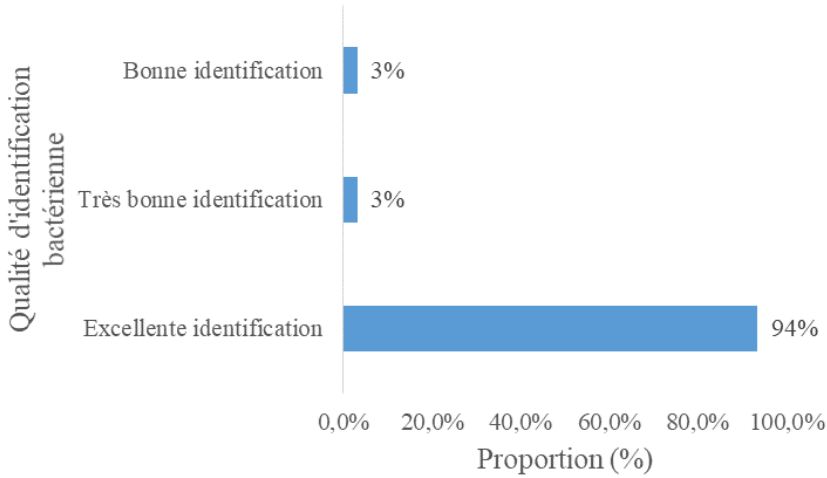


Figure 2 : Qualités d’identification bactérienne

En ce qui concerne les scores de probabilité d'identification exacte d'espèce bactérienne, les scores de 99% (n=10 ; 32%) ont été les plus nombreux, suivis des scores de 100% (n=8 ; 25%) et de 96% (n=4 ; 13%) (Figure 3).

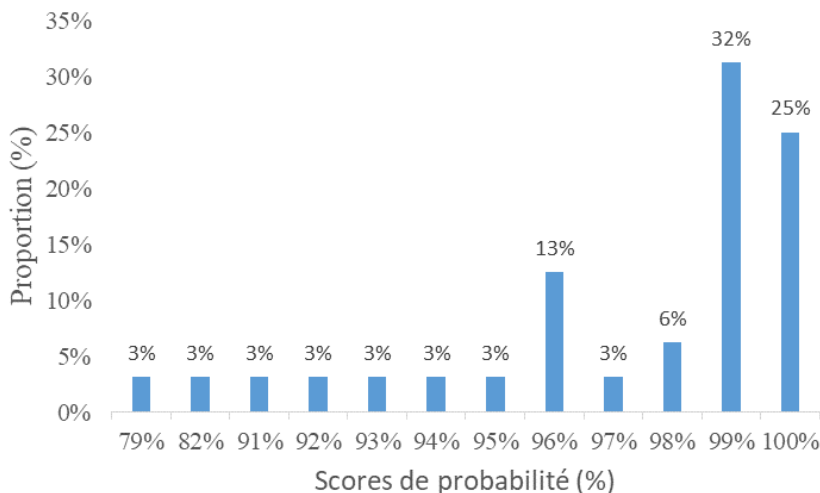


Figure 3 : Score de probabilité d'identification exacte des espèces bactériennes par le système d'identification bactérienne Bis NEG-D

DISCUSSIONS

Bis NEG-D est un système d'identification bactérienne des bacilles à Gram négatif. Comme tous les autres systèmes d'identification bactérienne de ce genre, le processus d'identification consiste à reconnaître une bactérie inconnue en définissant son appartenance à une espèce. Elle repose sur le choix d'un ensemble de tests biochimiques effectués par un logiciel spécifique. Cet ensemble constitue un kit d'identification. En fonction du profil de réponse observé, une probabilité d'appartenance à chaque espèce est calculée où les espèces les plus probables sont retenues. Un score de probabilité entre 60 et 100 % signifie que le niveau de confiance est élevé et donc que l'identification est fiable. Pour un score <60% le niveau de confiance est faible, le logiciel propose alors entre deux et quatre identifications (Chen J.H. et *al*, 2013 ; Moon J.Y. et *al.*, 2013 ; Patel R., 2013 ; Westblade L.F. et *al.*, 2013). Concernant les scores de probabilité du système d'identification bactérienne Bis NEG-D, tous ces scores ont été supérieurs à 60%. Les scores ont été mêmes de 100% pour 8 isolats bactériens identifiés. 100% signifie que le risque d'erreur d'identification d'espèce bactérienne est nul. Les scores de probabilité de moins de 100% peuvent être expliqués par les imprécisions causées par certaines circonstances lors de la réalisation du test (colonies bactériennes insuffisantes, colonies bactériennes impures, insuffisance de densité bactérienne lors

de la préparation de l'inoculum, quantité insuffisante d'inoculum lors de son introduction dans les compartiments du kit, modes opératoires variables selon les techniciens qui effectuent le test, ...). Néanmoins, ces circonstances n'ont pas eu d'effet sur les résultats d'identification bactérienne dont les scores de probabilité ont tous été supérieurs ou égaux à 79%. Ces résultats démontrent que Bis NEG-D est un test fiable. D'ailleurs, la qualité d'identification bactérienne indiquée par le logiciel Bis était excellente pour 94% des cas. Ainsi, le système d'identification bactérienne Bis NEG-D peut désormais être utilisé par tous les laboratoires de microbiologie pour l'identification des bacilles à Gram négatif.

Par ailleurs, l'utilisation du système d'identification bactérienne Bis NEG-D présente beaucoup d'avantages. D'abord, à la différence des autres kits d'identification bactérienne tels que les réactifs API⁴, Bis NEG-D peut identifier toutes les bactéries à Gram négatif sans exception. En effet, sa capacité d'identification est très large car ses réactifs révélateurs sont nombreux. Ainsi, les biologistes n'ont pas besoin d'acheter plusieurs types de kits selon les types de bactéries à Gram négatif à identifier. Ensuite, après comparaison de prix sur le marché entre Bis NEG-D et les autres systèmes d'identification bactérienne, il s'est avéré que les réactifs Bis coûtent moins chers que les autres marques. Enfin, les dates de péremption sont très larges. Cela évite le gaspillage des réactifs par la destruction des réactifs périmés.

Concernant les espèces bactériennes identifiées pendant la période d'étude, les isolats d'*Escherichia coli* ont été les plus nombreux. D'autres études ont également trouvé la forte prévalence des isolats d'*Escherichia coli* dans les milieux hospitaliers, les communautés et l'environnement (Lee E. et Lee Y., 2018 ; Bezabih I.M. et al., 2021 ; Yamasaki S. et al., 2017). Ces isolats d'*Escherichia coli* sont très fréquemment identifiés en laboratoire et leurs colonies bactériennes sont de couleur rose, très caractéristique sur un milieu de culture chromogène (Merlino J. et al., 1997). Le test Indole positif confirme le diagnostic d'espèce. Ainsi, d'autres tests d'identification bactérienne ne s'avèrent plus utiles. Dans 100% des cas, le système d'identification bactérienne Bis NEG-D a confirmé que ces colonies roses Indole positif ont toutes été des isolats d'*Escherichia coli*. Ce résultat démontre encore que le test Bis NEG-D est un test fiable. Après les isolats d'*Escherichia coli*, les isolats du groupe KES (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*) ont également été nombreux en particulier les isolats de *Klebsiella pneumoniae* et d'*Enterobacter cloacae*. Les travaux de Nedjai S. et al. en 2012 et de Wisplinghoff H. et al. en 2004 ont également montré que les

⁴ Api 20E instructions disponible en ligne sur <http://biomanufacturing.org>

isolats du groupe KES sont fréquents et peuvent être responsables de maladies infectieuses sévères. Les scores de probabilité d'identification de ces isolats du groupe KES par le système d'identification bactérienne Bis NEG-D sont tous très élevés et atteignent parfois les 100%. D'autres bactéries à Gram négatif variés ont également été identifiées prouvant que la capacité d'identification bactérienne de ce réactif est très large.

A l'issue de cette étude, il est recommandé aux techniciens qui effectuent le test Bis NEG-D de prêter une attention particulière à sa lecture lors de l'introduction de résultats dans le logiciel Bis. En effet, toute erreur de manipulation, telle que le recueil d'une colonie bactérienne mélangée avec une autre colonie bactérienne d'espèce différente, peut baisser considérablement le score de probabilité. Et pour un score <60%, le niveau de confiance est faible pouvant traduire une erreur d'identification. Par ailleurs, lors de l'achat du kit Bis NEG-D, il ne faut pas oublier d'acheter également les tests complémentaires obligatoires accompagnant le kit. L'absence de tests complémentaires peut également diminuer les scores de probabilité. En bref, la présente étude a permis de constater que le système d'identification bactérienne Bis Neg-D est un test fiable et peut être utilisé par tous les laboratoires de bactériologie.

CONCLUSION

Le système d'identification bactérienne Bis Neg-D est un test fiable lorsque les techniciens de laboratoire respectent convenablement le mode opératoire et lorsqu'ils effectuent des tests complémentaires. Grâce à ses avantages, Bis Neg-D peut être utilisé même par les laboratoires d'analyses médicales. Le bon respect du mode opératoire permet d'augmenter les scores de probabilité d'identification bactérienne pouvant atteindre un seuil de 100%. Ainsi, les résultats seront fiables et les maladies seront prises en charge convenablement.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) Aketi, L., Malembi, M. (2015). Profil épidémio-clinique et bactériologique des infections bactériennes au Département de Pédiatrie des Cliniques Universitaires de Kinshasa. *Ann. Afr. Méd.*, 8(2).
- 2) Api 20E instructions disponible en ligne sur <http://biomanufacturing.org>
- 3) Bezabih, Y. M., Sabiiti, W., Alamneh, E., Bezabih, A., Peterson, G. M., Bezabhe, W. M., et al. (2021). The global prevalence and trend of human intestinal carriage of ESBL-producing *Escherichia coli* in the community. *J. Antimicrob. Chemother.*, 76(1) : 22-29.
- 4) Bis NEG-D instructions disponible en ligne sur <http://diagnostics.be>

- 5) Chen, J. H., Ho, P. L., Kwan, G. S., She, K.K., Siu, G. K., Cheng, V. C. et al. (2013). Direct bacterial identification in positive blood cultures by use of two commercial matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry systems. *J. Clin. Microbiol*, 51 : 1733-1739.
- 6) Jehl, F., Chabaud, A., Grillon, (2015). L'antibiogramme : diamètres ou CMI ? *J. Anti-infect.*, 17(4) :125-139.
- 7) Lee, E., Lee, Y. (2018). Prevalence of Escherichia coli Carrying pks Islands in Bacteremia Patients. *Ann. Lab. Med.*, 38(3) : 271-273.
- 8) Merlino, J., Siarakas, S., Robertson, G. J., Funnell, G. R., Gottlieb, T., Bradbury, R. (1996). Evaluation of CHRO Magar Orientation for differentiation and presumptive identification of gram-negative bacilli and Enterococcus species. *J. Clin. Microbiol*, 34(7) : 1788-1793.
- 9) Moon, J. Y., Kim, S. J., Moon, M. H., Chung, B. B., Choi, M. H. (2013). Differential estimation of isomeric 2- and 4-methoxylated estrogens in serum by matrix-assisted laser desorption ionization-tandem mass spectrometry. *Analytical sciences. JSAC*, 29 : 345-351.
- 10) Nedjai, S., Barguigua, A., Djahmi, N., Jamali, L., Zerouali, K., Dekhil, M., et al. (2012). Prevalence and characterization of extended spectrum β -lactamases in Klebsiella-Enterobacter-Serratia group bacteria, in Algeria. *Med. Mal. Infect.*, 42(1) : 20-29.
- 11) Patel, R. (2013). Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in clinical microbiology. *Clinical infectious diseases, IDSA*. 57 : 564-572.
- 12) Singhal, N., Kumar, M., Kanaujia, P. K., Viridi, J. S. (2015). MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Front. Microbiol*, 6 : 791.
- 13) Westblade, L. F., Jennemann, R., Branda, J. A., Bythrow, M., Ferraro, M.J., Garner, O.B., et al. (2013). Multicenter study evaluating the Vitek MS system for identification of medically important yeasts. *J. Clin. Microbiol*, 51 : 2267-2272.
- 14) Wisplinghoff, H., Bischoff, T., Tallent, S.M., Seifert, H., Wenzel, R. P., Edmond, M. B. (2004). Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin. Infect. Dis.*, 39(3) : 309-317.
- 15) Yamasaki, S., Le, T.D., Vien, M.Q., Van Dang, C., Yamamoto, Y. (2017). Prevalence of extended-spectrum β -lactamase-producing Escherichia coli and residual antimicrobials in the environment in Vietnam. *Anim. Health. Res. Rev.*, 18(2) : 128-135.

THE RAINY SEASONS OVER THE WEST AND CENTRAL PART OF MADAGASCAR (1979-2017)

par

RAZANATOMPOHARIMANGA Nirry Havana⁽¹⁾

(1) Laboratoire de la Dynamique de l'Atmosphère, du Climat et des Océans, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, Madagascar

ABSTRACT

Not only the amount of rainfall is important for the agriculture, but also could the length of the rainy season play a major role in improving the crop yield. The purpose of this paper is to analyze the evolution of the lengths of the rainy seasons from 1979 to 2017 over Madagascar (44°E-47°E and 16°S-22°S). By the mean of the anomalous accumulation of the daily rainfall, the onset and demise dates of the rainy seasons were detected. The length of the rainy season is defined as the whole days starting from the onset date until the demise date. The simple linear regression model was used for the analysis. Findings show that there are negative slopes, so the length of the rainy seasons has decreased since 1979. Decline of 27.1 days, 26.9 days, 21 days and 8.9 days over 38 years were observed over NNN, NND, NDN and NDD respectively. The longest rainy seasons were observed in 1986 during the important El Niño event. The simple linear regression might be used in a future project to predict the length of the next rainy seasons.

Key-words : Rainy seasons, Onset, Demise date, Length of the rainy season, Madagascar

RESUME

Non seulement la quantité de pluies est important pour l'agriculture, mais la durée de saison de pluies peut jouer un rôle important dans l'amélioration des rendements. L'objectif de ce projet est d'analyser l'évolution des durées de saisons de pluies de 1979 à 2017 à Madagascar (44°E-47°E and 16°S-22°S). Les dates de démarrage et de fin des saisons de pluies ont été déterminées par l'application du cumule des anomalies aux précipitations journalières. Et la durée de la saison de pluies est considérée à partir de chaque date du début de pluie jusqu'à la date de la

fin de saison. La régression linéaire simple a été utilisée pour l'analyse. Les résultats montrent des régressions, ce qui signifie que la durée des saisons de pluies diminue depuis 1979. Une diminution de 27,1 jours, 26,9 jours, 21 jours and 8,9 jours sur les 38 ans ont été observées sur NNN, NND, NDN et NDD respectivement. La plus longue saison de pluies a été observée en 1986 pendant un important évènement de El Niño. La régression linéaire simple pourra être utilisée pour prédire la durée des prochaines saisons de pluies dans un futur projet.

Mots-clés : Saisons pluvieuses, Début, Date de fin, Durée de la saison de pluie, Madagascar

INTRODUCTION

The improvement in agricultural productivity contributes to the economic growth of the country (Raymond & Harold 1964). More than 70% of Malagasy are poor (Minten et al., 2000). So, they rely on the agriculture and the subsistence agriculture.

The staple food of the Malagasy people is rice. It is the predominant crop as long as it covers half of the cultivated area in Madagascar. (EPASA-Madagascar, 2019). Two types of rice are used : the rainfed rice which requires between 700mm and 800mm of water within 130 days (Ingram K.T.,1993) and the irrigated rice which requires between 800mm (Kung & Atthayodhin, 1968) and 1500mm (Jing, 1988).

Two seasons are observed in Madagascar : the dry and the wet/rainy seasons. Actually, the farmers wait for the rainy seasons or wet periods for growing.

However, according to (Christensen et al., 2007), Africa is vulnerable to the climate change. In Madagascar, the climate change has its impact on features of the rainy seasons. Some farmers observed (WWF, 2010) and previous researches (Randriamanga, 2006) showed late and short rainy seasons.

The purpose of this paper is to analyze the evolution of the rainy seasons regarding its length, from 1979 to 2017, over the west and central part of Madagascar in order to detect changes.

MATERIALS AND METHODS

Materials

As can be seen on figure 1, the study was done over a region which is limited by longitudes between 44°E and 47°E and limited by latitudes between 16°S and 22°S.

Reanalysed daily rainfall (mm) over the grid points within the zone of study were downloaded from the European Centre for Medium-Range Weather Forecasts (ECMWF) site from 1979 to 2017.

Furthermore, calculation and programings were done by the mean of some softwares namely Matlab and Microsoft-Excel.

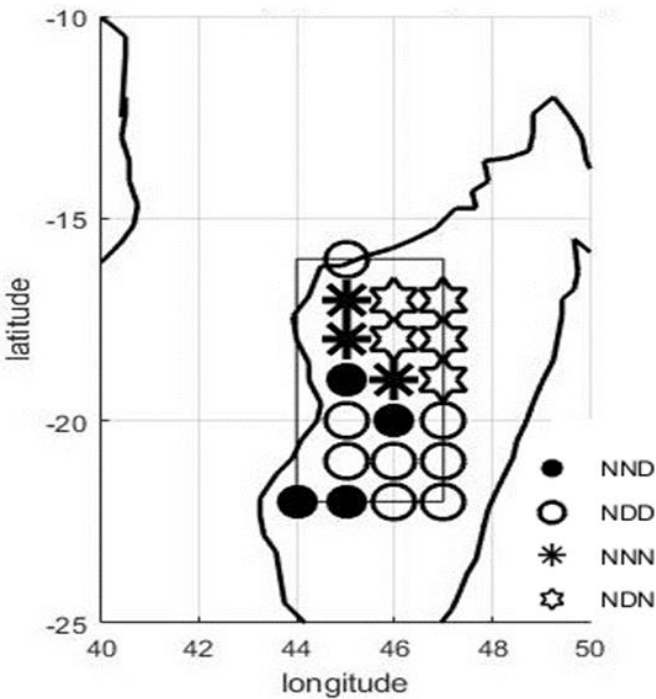


Figure 1 : The zone of study

Methodology

Previous researches allowed the subdivision of the zone of study into four regions, which has actually rainy seasons starting in November (Razanatompoharimanga, 2016) by the mean of the Principal Component Analysis (PCA). ‘N’ and ‘D’ correspond respectively to November and December.

The onset and demise dates of the rainy seasons were detected by the mean of the accumulation of the daily rainfall anomalies throughout each year from 1979 to 2017. This method is described as :

$$A(\text{day}) = \sum_{n=1}^{\text{day}} (R(n) - \bar{R}) \quad (1)$$

With \bar{R} : the statistical mean of the rainfall

$R(n)$: the rainfall amount on n^{th} day.

This method helps to detect the onset and the cessation dates of the rainy season which correspond respectively to the minima and the maxima (Brant et al., 2007), (Arvor et al., 2008).

Then the length of the rainy season was calculated by summing the number of the day starting with the onset date until the end of the year and the number of the day starting for the next new year until the demise date of the rainy season. Actually, the rainy season of Madagascar starts within the last three months of the year and continuous with the next year.

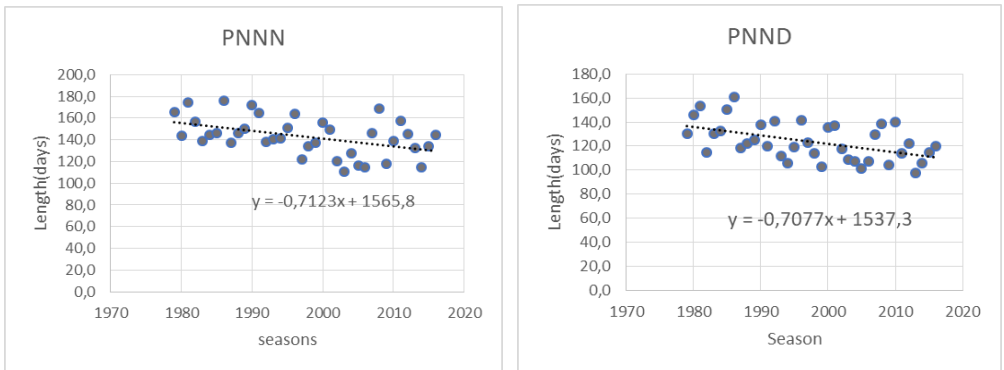
In order to analyze the trend of the length of the rainy seasons over these 38 years, the linear regression (Dennis S./NCAS. , 2014) was applied to the lengths of the rainy seasons. Equation, which is described below, was applied on each datum corresponding to each region.

$$Y = ax + b \quad (2)$$

With : $a > 0$ corresponds to a growing trend and $a < 0$ corresponds to a decreasing trend.

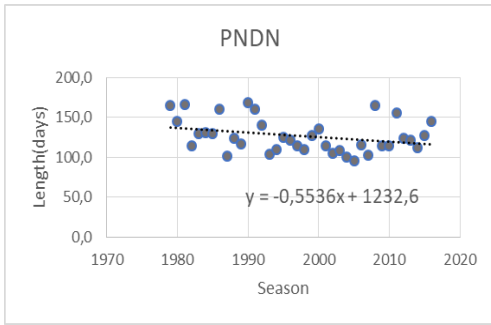
RESULTS

After detecting de onset and the demise dates of the rainy seasons, the lengths of the rainy seasons from 1979 to 2017 over the four regions are shown in Figure 2.

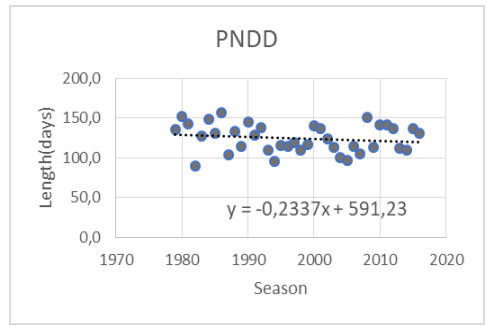


(a)

(b)



(c)



(d)

Figure 2 : The length of the rainy seasons (scatter plot) and the linear regression model of it (dotted curve) over NNN(a), NND(b), NDN(c) and NDD(d)

Each simple linear regression has its own equation which is shown in Table 1. All The two first linear regression curves (a) and (b) show an important decline. However, the two last linear regression curves (c) and (d) decline a little bit.

Table 1 : The linear regression equation of each region (NNN, NND, NDN, and NDD)

| Region | Linear regression equation | Decrease (days/38 years) |
|------------|----------------------------|--------------------------|
| NNN | $-0.7123x + 1565.8$ | 27.1 |
| NND | $-0.7077x + 1537.3$ | 26.9 |
| NDN | $-0.5536x + 1232.6$ | 21.0 |
| NDD | $-0.2337x + 591.23$ | 8.9 |

The Table 1 shows that all the slops are negative. Only over the region NDD, the decrease is less than 10 days per 38 years.

The variation of the length of the rainy seasons over the four regions from 1979 to 2017 is presented in Figure 3.

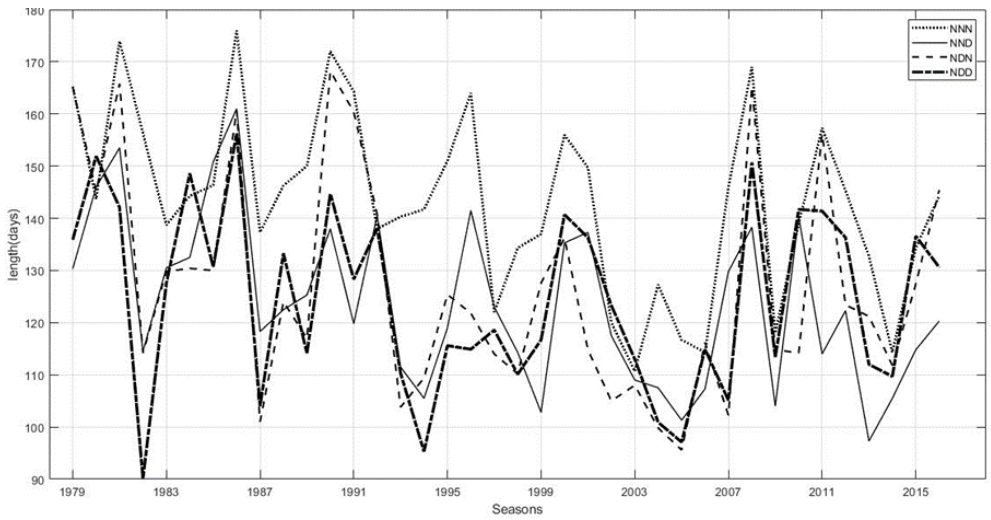


Figure 3 : The length of the rainy seasons over the four regions (NNN, NND, NDN, and NDD) from 1979 to 2017

The four curves are periodic. The length of the rainy seasons over the central and west part of Madagascar fluctuates between 90 days and around 180 days from 1979 to 2017. From 1991, it has not reached upper 170 days for all the regions within the zone of study. More detailed variation of the length of the rainy seasons over the four regions, NNN, NND, NDN and NDD, are shown in Table 2.

Table 2 : The maximum, the minimum, and the average length of the rainy seasons over the four regions from 1979 to 2017

| Régions | Minimum (jours) | Maximum (jours) | Climatological mean (days) |
|---------|-----------------|-----------------|----------------------------|
| NNN | 110,7 (2003) | 176 (1986) | 143,1 |
| NND | 97,2 (2013) | 161 (1986) | 123,7 |
| NDN | 95,6 (2005) | 168,2 (1990) | 126,9 |
| NDD | 90,1 (1982) | 156,3 (1986) | 124,5 |

The shortest rainy season was observed over the NDD region in 1982 with a duration of 90 days (3 months). The largest rainy season was observed over the NNN region in 1986 with a length equal to 176 days. Over these 39 years, the rainy seasons last, in average, 4 months over NND, NDN, and NDD. But over the region NNN, they last in general 143 days.

DISCUSSION

As shown in Figure 2 and Table 1, the negative slopes of the simple linear regression equations over the four regions, NNN, NND, NDN and NDD, demonstrate that the length of the rainy seasons from 1979 has decreased. This situation fits with the observation of some farmers (WWF, 2010) and other researchers (Randriamanga, 2006). In Figure 3 and in Table 2, from 1979 to 2017, the longest rainy season over NNN, NND, and NDD regions were observed in 1986. It was a year of an important El Niño event (Enso review. 1986–1987 El Niño event.). The longest rainy season over NDN was observed in 1990.

CONCLUSION

In addition to the analysis of the amount of rainfall, the analysis of the duration of the rainy seasons can play an important role regarding the improvement of the crop yields. The analysis of the rainy seasons length from 1979 to 2017 showed that the rainy seasons has gotten shorter over the central and west part of Madagascar since 1979. A shortest rainy season was observed over the region NDD in 1982 and the longest rainy season was registered in 1986 over the NNN region. A decrease of around 0.72 day per year is observed over the regions NNN and NND. And decreases of 0.55 day per year and 0.23 day per year are observed over NDN and NDD respectively. The knowledge of the linear regression equations can be used in predicting the length of the next rainy seasons.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) Arvor, D. et *al.* (2008) .Apport des données TRMM 3B42 à l'étude des précipitations au MATO GROSSO. 5 : 49-69
- 2) Brant L., Dave A., Suzana J. C., Anji S. (2007) Onset of the rainy season over tropical Brazil in observations and a general circulation model simulation
- 3) Christensen J. H., Hewitson B., Busuioc A., Chen A., Gao X., Held I., et *al.* (2007). Regional Climate Projections. Cambridge University Press *In* : Solomon S., Qin D., Manning M., Chen Z., Marquis M., Averyt K. B., Tignor M., Miller
- 4) Dennis S./National Center for Atmospheric Research Staff (Eds). (2014). The climate data guide : Trend Analysis. Retrieved from <http://climatedataguide.ucar.edu/climate-data-tools-and-analysis/trend-analysis> (consulted on the 24th November 2021)
- 5) Enso review. 1986–1987 El Niño event. <https://ensoreview.com/enso/1986-1987-el-nino> (consulted on the 24th of November 2021)

- 7) EPASA-Madagascar. (2019). Rapport spécial évaluation de la production agricole et de la sécurité alimentaire à Madagascar. Décembre 2019 : 15-17 : *EPASA-Madagascar*. <http://ams.confex.com/ams/pdfpaper/34786pdf> (consulted on the 24th November 2021)
- 8) Ingram K.T. (1993). Water relations in the soil-plant atmosphere continuum. Background paper for irrigation water management training course. IRRI. Philippine
- 9) Jing Z. (1988). Rapport de fin de mission 1986-1988. Mission chinoise de service technique du riz. ORMVAG Maroc
- 10) Kung P. and Atthayodhin G. (1968). Water requirement in rice production. *Mimeo paper* : 14
- 11) Minten B., Zeller M., Randrianarisoa C. (2000). Factor Use and Agricultural Productivity beyond Market Liberalization : Welfare, Income Generation and Environmental sustainability in Rural Madagascar. *Ashgate* : 79-118
- 12) Randriamanga S. (2006). Les périodes sèches estivales de Madagascar vues par METEOSAT. In climat, couverture végétale et érosion des sols à Madagascar, Apport de la télédétection et des SIG, document de synthèse des travaux, HDR, Université Jean Moulin, Lyon. 2 : 50-60
- 13) Raymond P. C. et Harold T. Y. (1964). The Role of Agricultural Productivity in Economic Development. *American Journal of Agricultural Economics, Agricultural and Applied Economics Association*. 46(5) : 1051-1061
- 14) Razafindravononona J., Stifel D., Paternostro S. (2001). Evolution de la Pauvreté à Madagascar : 1993-1999 : Antananarivo : INSTAT
- 15) Razanatompoharimanga N. H. (2016). Prédiction des périodes de pluies (début et fin) dans la partie centre-ouest de Madagascar, thèse, Université d'Antananarivo
- 16) WWF-mg, (2010). Témoignages de Madagascar changement climatique et modes de vie ruraux. http://awsassets.panda.org/downloads/110125_temoignage_de_madagascarred.pdf (consulted on the 24th November 2021)

TRAITEMENT DU SOL PAR LES BIOMASSES VÉGÉTALES TRAITEES THERMIQUEMENT

par

MAHALEO Tahirimanankasina B.⁽¹⁾, LANTOVOLOLONA Jeanne E.⁽²⁾,
RASOLOFONIAINA Rolland⁽¹⁾, RAJERISON Wilson A.⁽²⁾

(1) Doctorant, Mention Procédés et Ecologie Industrielle, Domaine Sciences et Technologies, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, Madagascar

(2) Mention Procédés et Ecologie Industrielle, Domaine Sciences et Technologies, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, Madagascar

RESUME

Les premières études des sols malgaches datent du début de XX^e siècle (Riquiet J. et Moureaux C., 1957). Elles se basent sur des valeurs agronomiques de ces sols (Muntz et Rousseau, 1900 ; Riquiet J. et Moureaux C., 1957). Les phénomènes de latéritisation et l'altération des roches sont grandement étendus sur les sols malgaches (Riquiet J. et Moureaux C., 1957). Si des déchets organiques biodégradables sont en agglomérations à Madagasikara, pourtant, les biomasses végétales peuvent trouver leur utilité dans l'amélioration de la productivité agricole. L'effet du traitement thermique de cette biomasse est l'un des objets de cette étude, afin d'utiliser le résidu solide dans l'agriculture. En effet, les biomasses, en particulier le bois, contiennent des oses : cellulose, hémicellulose, lignine à des pourcentages différents (Pilon G., 2013). Par suite, des éléments métalliques dans le bois jouent un rôle important dans le réarrangement des ligands ou des chélates contenus dans l'amendement et s'impactent sur la qualité physico-chimique du sol, particulièrement latéritique de la zone centrale de l'Île. L'amendement X pourrait avoir des impacts par sa porosité sur son milieu environnant, particulièrement sur la qualité du sol. Tout d'abord, l'étude d'adsorption d'ions par l'amendement X est nécessaire pour mettre en relief ses activités sur le sol. Par la suite, deux paramètres physico-chimiques, le pH et la conductivité électrique, sont étudiés pour les échantillons de sols amendés.

Mots-clés : Sol, Latéritique, Amendement X, Biomasse, pH, Conductimétrie, Adsorption

ABSTRACT

The first studies of Malagasy soils date from the beginning of the 20th century (Riquiet J. et Moureaux C., 1957). They are based on the agronomic values of these soils (Muntz and Rousseau, 1900 ; Riquiet J. et Moureaux C., 1957). The phenomena of lateritization and the alteration of rocks are greatly extended on Malagasy soils (Riquiet J. et Moureaux C., 1957). If biodegradable organic waste is in agglomerations in Madagasikara, however, plant biomass can find its usefulness in improving agricultural productivity. The effect of the thermal treatment of this biomass is one of the objects of this thesis, in order to use the solid residue in agriculture. Indeed, biomasses, in particular wood, contain monosaccharides: cellulose, hemicellulose, lignin in different percentages (Pilon G., 2013). As a result, metallic elements in the wood play an important role in the rearrangement of the ligands or chelates contained in the amendment and impact on the physico-chemical quality of the soil, particularly lateritic in the central area of the Island. Amendment by X could have impacts through its porosity on its surrounding environment, particularly on the quality of the soil. First of all, the study of ion adsorption by the X-amender is necessary to highlight its activities on the ground. Subsequently, two physico-chemical parameters, pH and electrical conductivity, are studied for the amended soil samples.

Key-words : Soil, Lateritic, X-amender, Biomass, pH, Conductimetry, Adsorption

INTRODUCTION

Après traitement thermique, la biomasse végétale engendre trois produits : solide, liquide et gazeux. C'est le résidu solide qui impacte sur la qualité du sol. Des analyses physico-chimiques permettent de suivre la qualité de ce sol. On a effectué des analyses pH-métriques et conductimétriques sur les échantillons de sols amendés par l'amendeur X et des mesures par absorption atomique des ions calcium adsorbés, après mises en adsorption, par l'amendeur X, de l'ion calcium contenu dans le chlorure de calcium. En tant que poudre, X possède des micropores de diamètre inférieur à 2 nm (nanomètre = 10^{-9} m), des mésopores de diamètre compris entre 2 nm et 50 nm et des macropores supérieures à 50 nm.

L'adsorption est un phénomène physico-chimique qui se traduit, en particulier, par une modification de la concentration à l'interface de deux phases non miscibles (solide et liquide). Dans notre cas, l'adsorption par un solide peut être considérée comme une affinité de se lier sur des entités chimiques (molécules, ions) d'une phase liquide sur la surface de l'adsorbant. Le terme surface s'étendant à la totalité de la surface du solide, surface externe et interne engendrées par les pores et les fissures.

Par conséquent, pour caractériser l'adsorption d'un ion (adsorbat) sur un adsorbant, il est nécessaire ultérieurement de connaître la surface spécifique de l'adsorbant, qui représente la surface accessible par l'adsorbat par gramme d'adsorbant. Dans notre cas, l'amendeur X utilisé possède une aire spécifique que l'on déterminera.

Deux types d'adsorption existent : l'adsorption physique et l'adsorption chimique.

L'adsorption physique est réversible, non spécifique et qui a une enthalpie d'environ 8 à 10 kcal/mol. La vitesse de physisorption est grande et la substance adsorbée peut être totalement désorbée à la même température. Ne s'agissant que d'interactions électrostatiques, il est possible d'observer une adsorption mono- ou multi-couches. Au contraire, la chimisorption est essentiellement irréversible, avec une enthalpie de 20 à 100 kcal/mol. Les molécules sont fixées à la surface, à l'aide de liaisons de valence éliminant totalement la possibilité d'adsorption multi-couches.

Les courbes donnant les quantités adsorbées, pour une température donnée, en fonction de la quantité d'adsorbat à l'équilibre, sont appelées isothermes d'adsorption. Diverses équations ont été proposées pour décrire les isothermes d'adsorption, dont la plus classique est l'équation de Langmuir (1916).

MATERIELS ET METHODES

La capacité d'adsorption de l'amendeur X à des différentes masses, en grammes, a été évaluée. Pour cela, on a mis dans un erlenmeyer 100mL de solution aqueuse diluée de chlorure de calcium CaCl_2 , de concentration $100 \mu\text{g.L}^{-1}$, et 0,25g, 0,5g, 0,75g, 1g, 2g, 3g, 4g, 5g, 6g, 7g et 8g de X. A l'aide d'un agitateur oscillant, on a agité fortement les solutions $\{X + \text{CaCl}_2\}$ pendant 1h, pour favoriser l'adsorption des ions calcium sur la surface de X à l'extérieur et à l'intérieur, et on les a laissés pendant 2h. A l'aide des entonnoirs et des papiers filtres, on a effectué des filtrations. On a remarqué que les vitesses de filtration diffèrent d'un échantillon à l'autre. Les filtrats obtenus sont ainsi récupérés et on a mesuré le taux de calcium dans ces filtrats en utilisant l'absorption atomique (BUCK Scientific model 210VGPO).

Pour déterminer l'effet d'amendement sur les échantillons de sol ferrallitique, des cultures en pots ont été faites avec des différentes concentrations en amendeur X. Dans chaque pot, il y a 4 kg de sol et les masses déterminées de X (5g, 10g, 15g et 20g). Trois échantillons pour chaque masse de X ont été préparés, et pour le traitement de résultats, on a fait la moyenne. Des prélèvements de 10g de sol ont été effectués tous les 15 jours, on mélange l'échantillon avec 25 ml d'eau distillée et on mesure le pH à l'aide du pH-mètre numérique (OHAUS STARTER 3100) et la conductivité électrique de chaque échantillon (sol + eau distillée) par du

conductimètre numérique. Les variations de ces deux paramètres ont été suivies au cours du temps. Les échantillons de sols ont été prélevés dans la zone centrale de Madagasikara, où le sol est latéritique, reflétant son acidité (Riquiet J. et Moureaux C., 1957). Les sols en pots sont arrosés fréquemment pour éviter leur assèchement.

RESULTATS

Les résultats d’analyse sont donnés, sous forme de tableau pour l’adsorption et sous forme de courbe pour le pH et la conductivité électrique.

Tableau 1 : L’adsorption de l’ion calcium sur X

| | | | | | | | | | | | | |
|---|---|------|-----|------|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Quantité de X (en g) | 0 | 0,25 | 0,5 | 0,75 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Ca²⁺ adsorbé par X (en ppm) | - | 6 | 5 | 8 | 14 | 22 | 31 | 40 | 45 | 53 | 57 | 63 |

La figure suivante illustre l’adsorption de l’ion calcium sur X.

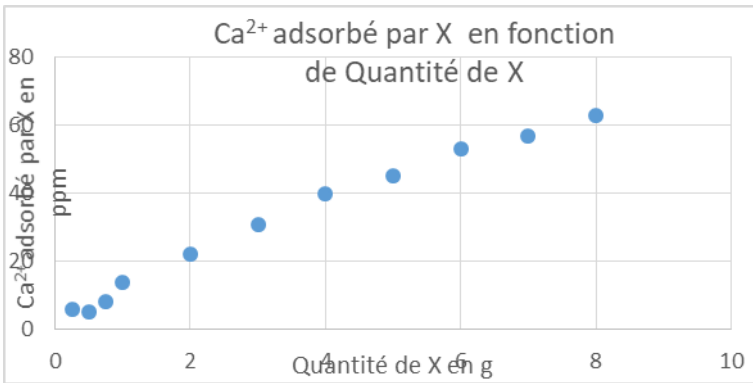


Figure 1 : Courbe donnant la quantité des ions calcium adsorbés par X

La Figure 1 indique la quantité des ions calcium contenus dans la solution aqueuse de chlorure de calcium 100 ppm adsorbés par X, après mise en solution et agitation forte.

La Figure 2 montre les variations du pH des sols amendés par X, en fonction du temps.

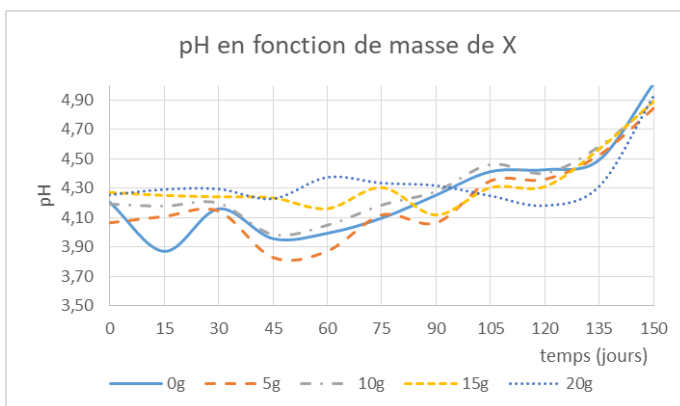


Figure 2 : Courbes donnant les variations du pH des sols amendés par X

Les courbes suivantes donnent les évolutions de la conductivité électrique de sols amendés par l'amendeur X.

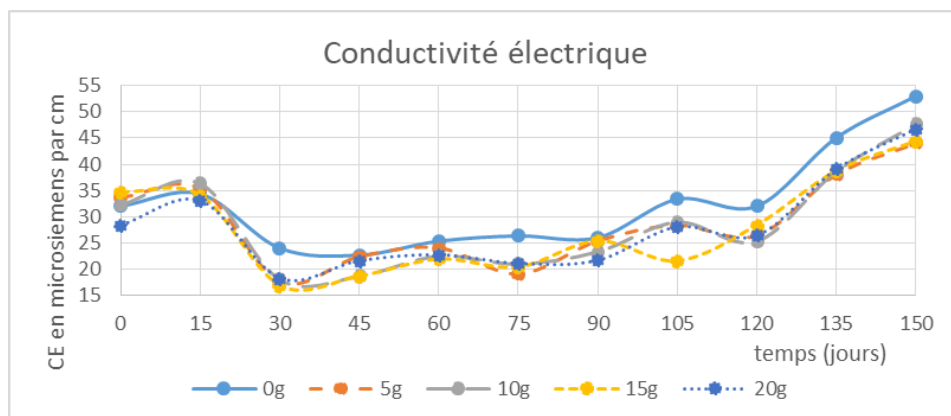


Figure 3 : Courbes donnant les variations de la conductivité électrique des sols amendés par X

Outre ces résultats de mesures, des phénomènes de gonflement des sols dans les pots ont été observés.

DISCUSSIONS

Lors de la filtration de solution de CaCl_2 , l'on constate que la concentration du Ca^{2+} dans le filtrat diminue lorsque la quantité de l'amendeur X augmente (Figure 1). Donc, des ions calcium sont adsorbés par X par ses pores et/ou sur sa surface. L'emplacement des différents sites polaires ou polarisables et la géométrie des molécules interviennent de manière importante dans le phénomène d'adsorption (Hamon et *al.*, 1990).

Les cations comme le calcium sont adsorbés par X. C'est ce qui nous permet de dire qu'il y a rétention d'ions, par le phénomène de polarisation

Le pH mesuré ici qui est le pH dans l'eau, indique l'acidité du sol. En effet, le pH de ce sol varie de 3,85 à 5,2 dans un intervalle de temps de 5 mois. Le sol témoin, sans X, est acide, de pH égal à 4,2 le premier jour, et on observe une diminution de ce pH après 15 jours ; après il y a augmentation petit à petit de pH jusqu'à pH 5 (Figure 2). Pour les sols auxquels on a ajouté des quantités de X (5g, 10g, 15g et 20g), il y a évolution vers la basicité mais en restant, jusqu'ici, dans le domaine acide, c'est-à-dire $\text{pH} < 6,5$. L'augmentation du pH est lente. Ce pH est une des propriétés chimiques relatives à la dynamique de l'hydrogène (Lange et *al.*, 2018) dans le sol. Lors de l'amendement du sol par X, il y a un effet pH (Pepin et *al.*, 2015). Le pH permet de définir d'une manière approximative, l'état du complexe absorbant du sol ainsi que son taux de saturation (Duchaufour Ph., 1960). Ceci s'explique par la comparaison entre un sol saturé en Ca^{2+} et un sol entièrement désaturé ne comportant que des ions H^+ ou Al^{3+} . En effet, pour le sol comportant des ions H^+ , le pH est de l'ordre de 3, tel qu'il est de l'ordre de 4 pour un sol saturé en Al^{3+} (Duchaufour Ph., 1960).

La conductivité électrique donnant l'état ionique du sol augmente au cours du temps. Elle varie en fonction de la concentration de X. La figure 3 illustre que les sols amendés possèdent des conductivités inférieures à celle du témoin. On constate que les sols ont des conductivités comprises entre $15 \mu\text{S}/\text{cm}$ et $50 \mu\text{S}/\text{cm}$. Ces valeurs sont relativement faibles par rapport aux autres sols amendés par d'autres substrats.

Le gonflement des sols peut être en relation avec le phénomène hygroscopique du sol. En effet, l'eau du sol implique des espaces vides suite à l'exothermicité, et il y a des argiles gonflantes et semi-gonflantes dues à l'évaporation de l'eau.

L'amendeur influence la dynamique de l'eau du sol. Le changement dans la capacité de rétention en eau qui lui est associé provient de la très faible densité de celui-ci, de sa teneur en carbone et de son effet altérant sur la structure du sol (Allaire S. et Lange S., 2013).

Les ions Ca^{2+} ont été adsorbés à la surface et dans les pores de X.

Le carbone de l'amendeur X jouant le rôle de biochar recyclé des déchets permet de transformer les propriétés physico-biochimiques influençant celles des sols dans lesquels on l'applique (Allaire S. et Lange S., 2013).

L'amendeur X, pareil au biochar, une fois ajouté au sol, contribue à modifier son environnement physico-chimique, en diminuant l'acidité des sols (Van Zwieten

et *al.*, 2010a), en réduisant la disponibilité de métaux (Steiner et *al.*, 2008 ; Hale et *al.*, 2011), en augmentant la capacité d'échange cationique (Glaser et *al.*, 2002), en réduisant le lessivage de nutriments azotés (Major et *al.*, 2010a), et en réduisant les émissions de gaz à effet de serre émis par le sol (Major et *al.*, 2010 ; Singh et *al.*, 2011 ; Sohi et *al.*, 2010 ; Spokas et *al.*, 2012 ; Naisse C., 2014). En 1930, on a dévoilé le rôle très positif des polysaccharides dans l'agrégation des particules et dans l'amélioration de l'état structural du sol. De plus, ces composés constituent la source majeure de nourriture carbonée pour les microorganismes du sol (Mustin M., 1960).

CONCLUSION

L'amendement X, issu de la biomasse traitée thermiquement, modifie l'état du sol. Le changement aperçu jusqu'ici est encore moindre. En effet, il y a peu de variation de pH et de conductivité électrique du sol, impliquant l'évolution de la quantité d'ions dans le sol amendé. Ainsi, la productivité de ce dernier doit ou peut augmenter et il y a bioséquestration du carbone. Les caractéristiques physiques du substrat s'impactent directement ou indirectement sur le rendement et la production des plantes (Mustin M., 1960). Les propriétés chimiques des biochars sont très variables dépendamment des matières premières utilisées et de la méthode de pyrolyse. Cependant, on leur associe quand même certains rôles communs au niveau de la chimie des sols (Allaire S. et Lange S., 2013). L'ajout de X favorise l'altération physique et chimique du sol. La biomasse est une notion d'écologie scientifique, introduite par Haeckel en 1866 (Mustin M., 1960). A la biomasse, considérée comme une ressource naturelle ou cultivée, est donc associée une notion de finalité, de biomasse utile, de biomasse exploitable (Minoumi A. et Sedki M., 1996), sa productivité ne cessant de s'accroître.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) Allaire S. E., Lange S. (2013). Le biochar dans les milieux poreux : une solution miracle en environnement ? Vecteur Environnement.
- 2) Duchaufour Ph. (1960). Pédologie, Sol, végétation, environnement, édition Masson.
- 3) Hamon et *al.*, 1990. Abrégé de Chimie Analytique, Tome 2, Méthode de séparation, Masson.
- 4) Lange et *al.*, 2018. Propriétés physico-chimiques des 43 biochars, Rapport technique CRMR.

- 5) Minoumi A., Sedki M. (1996). Etude des performances agronomiques de plusieurs substrats marocains en relation avec leurs caractéristiques physiques, Al Awania 94.
- 5) Mustin M. (1960). Le compost, gestion de la matière organique, Edition Français Dubusc-Paris.
- 6) Naisse C. (2014). Potentiel de séquestration de carbone des biochars et hydrochars, et impact après plusieurs siècles sur le fonctionnement du sol, Thèse de Doctorat.
- 7) Pepin et *al.*, 2015. Effet de l'amendement en biochar des sols biologiques : rétention des nutriments, activité biologique et phytopathogènes, Rapport final.
- 8) Pilon G. (2013). Etude de la production et de caractérisation de biocharbons de panic érigé (*Panicum virgatum*) obtenu par pyrolyse, Thèse de Doctorat.
- 9) Riquiet J. et Moureaux C. (1957). Les sols malgaches : Pédologie et types principaux, C.R. du 3è congrès de P.I.O.S.A. Tananarive.

ETUDE DE L'EFFET DE L'EXTRAIT DE *PSIDIUM CATTLEIANUM* SUR LA DIARRHEE

par

ANDRIAMALALA Solofoniaina⁽¹⁾, ANDRIAMAMPIANINA Tianarilalaina T.⁽¹⁾,
RABARIMANANTENA H. N.⁽¹⁾, RANDIMBIVOLOLONA Fanantenanirainy⁽¹⁾,
RANDRIANAVONY Patricia⁽¹⁾

(1) Laboratoire de Pharmacologie Générale, Pharmacocinétique et Cosmétologie, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, Madagascar

RESUME

L'hypertension artérielle constitue un problème de santé publique dans les pays en développement. Lorsque la valeur de la pression systolique est supérieure à 140 mmHg et 90 mmHg pour la pression diastolique au repos, on parle d'hypertension artérielle. L'objectif de cette étude a été d'évaluer l'effet de l'extrait hydroalcoolique d'*Annonamuricata*, connu pour ses propriétés pour traiter les maux de tête, le vertige et les palpitations à Maromadia Brickaville. Après 21 jours de régime hypersodé, le chiffre tensionnel augmente à $216,44 \pm 2,77 / 140,63 \pm 2,17$ mm Hg ($P < 0,05$). L'extrait administré par voie orale une fois par jour diminue cette hypertension. Cette dernière revient à sa valeur normale au bout de 9, 12 et 16 jours chez les animaux traités avec l'extrait aux doses de 75, 150 et 300 mg/kg, contre 22 jours chez les animaux témoins. Par ailleurs, il relâche l'aorte isolée contractée avec la noradrénaline à la concentration de 10^{-3} M, avec une CE_{50} égale à 0,75 mg/ml. En pré-incubant l'aorte dans un bain contenant l'extrait aux concentrations de 0,25 ; 0,50 et 0,75 mg/ml, la contraction maximale provoquée par la noradrénaline diminue de 100 % à 62,55 ; 39,74 et 25,02 % ($P < 0,05$), et la CE_{50} de cet agoniste augmente de 10^{-7} M en absence de l'extrait à 2×10^{-7} ; 3×10^{-7} et 10^{-6} M, en présence de l'extrait aux concentrations de 0,25 ; 0,50 et 0,75 mg/ml dans le bain ($P < 0,05$). Ces résultats montrent que l'extrait possède un effet anti hypertensif par son effet vasodilatateur.

Mots-clés : *Annonamuricata*, Régime hypersodé, Anti hypertensif, Vasodilatateur, Hypertension artérielle

ABSTRACT

High blood pressure is a public health problem in developing countries. When the systolic pressure value is greater than 140 mmHg and 90 mmHg for the resting diastolic pressure, it is called arterial hypertension. The objective of this study was to evaluate the effect of the hydroalcoholic extract of *Annona muricata*, known for its properties to treat headaches, dizziness and palpitation in Maromadia Brickaville. After 21 days of a high sodium diet, the blood pressure figure increases to $216.44 \pm 2.77 / 140.63 \pm 2.17$ mmHg ($P < 0.05$). The extract administered per os once a day decreases this hypertension. The latter returns to its normal value after 9, 12 and 16 days in animals treated with the extract at doses of 75, 150 and 300 mg / kg, against 22 days in control animals. In addition, it releases the isolated aorta contracted with noradrenaline at a concentration of 10^{-3} M, with an EC_{50} equal to 0.75 mg / ml. By pre-incubating the aorta in a bath containing the extract at concentrations of 0.25; 0.50 and 0.75 mg / ml, the maximum contraction caused by norepinephrine decreases by 100% to 62.55 ; 39.74 and 25.02% ($P < 0.05$), and the EC_{50} of this agonist increases by 10^{-7} M in the absence of the extract to 2×10^{-7} ; 3×10^{-7} and 10^{-6} M, in the presence of the extract at concentrations of 0.25; 0.50 and 0.75 mg / ml in the bath ($P < 0.05$). These results show that the extract has an antihypertensive effect through its vasodilator effect.

Key-words : *Annonamuricata*, High sodium diet, Antihypertensive, Vasodilator, high blood pressure

INTRODUCTION

L'hypertension artérielle est une pathologie affectant le système cardiovasculaire, qui se définit comme une pression systolique supérieure à 140 mmHg et/ou une pression diastolique plus de 90mmHg au repos (Khatib O. et El-Guindy M., 2005).

Les déterminants majeurs de la pression artérielle sont le débit cardiaque et la résistance périphérique. Le premier facteur dépend de la fréquence cardiaque et du volume d'éjection systolique tandis que le second dépend du calibre et de l'élasticité des artérioles. Les catécholamines, par leur action sur les récepteurs bêta cardiaques, augmentent le débit cardiaque, et par leur action sur les récepteurs alpha vasculaires augmentent la résistance périphérique (Lowry M. et *al.*, 2016).

Une panoplie de médicaments est disponible pour réduire l'hypertension artérielle. Les inhibiteurs de catécholamines comme la clonidine (Catapressan©) qui agit au niveau des récepteurs α_2 centraux inhibent le tonus sympathique, réduisant ainsi la résistance périphérique. Ceux qui agissent au niveau périphérique inhibent

l'action des catécholamines au niveau de leurs récepteurs, comme les β_1 bloquants et les α_1 bloquants. Les β_1 -bloquants comme l'acébutolol (SECTRAL[®]) ou l'aténolol (TENORMINE[®]) sont cardiosélectifs, ils diminuent la fréquence et la force de contraction cardiaque (Zisaki A. et *al.*, 2015).

Les inhibiteurs des canaux calciques tels que la vérapamil (ISOPTINE[®]) et la nifédipine (ADALATE[®]) diminuent la contractilité cardiaque et relâchent les vaisseaux, réduisant, à la fois le débit cardiaque et la résistance périphérique (Gormer B., 2007).

Enfin, les médicaments qui réduisent la volémie agissent au niveau rénal, ce sont les diurétiques. Ces médicaments augmentent l'excrétion urinaire de l'eau et du sodium. Par exemple, les diurétiques de l'anse, comme le Furosémide (LASILIX[®]) et le Bumétanide (BURINEX[®]) (Shankar S. et Brater D., 2003).

Plusieurs recherches ont montré que de nombreuses plantes utilisées dans le traitement de l'hypertension artérielle sont efficaces. D'après les enquêtes ethnobotaniques que nous avons effectuées auprès de la population de Macromedia District de Brickaville, la décoction de feuille de la plante *Annonamuricata* est utilisée pour traiter les maux de tête, le vertige et la palpitation. En analysant la description des symptômes donnés par la population enquêtée, l'hypothèse que cette plante pourrait avoir une activité anti hypertensive a été émise. Pour la vérifier, l'effet de l'extrait hydro alcoolique des feuilles d'*Annonamuricata* a été étudié *in vivo* chez le rat et *in vitro* chez l'aorte isolée de cochon d'Inde.

MATERIELS ET METHODES

Partie chimique

Préparation de l'extrait

L'extrait sec utilisé a été obtenu après séchage, broyage et macération dans un mélange éthanol-eau (60 : 40), des feuilles d'*Annonamuricata*.

Criblage phytochimique

Ce test a été réalisé pour déterminer les différentes familles chimiques présentes dans l'extrait, ainsi que leur quantité relative.

Il est basé sur l'utilisation de réactifs spécifiques qui agissent avec la famille chimique correspondante et donnent des réactions caractérisées par un changement de couleur ou une formation de précipité (Fong H. et *al.*, 1977).

Partie pharmacologique

Animaux d'expérimentation

Des rats WISTAR âgés de 5 mois, pesant entre 179 et 192 g ont été utilisés pour le test *in vivo*. Ils ont été élevés à l'animalerie du Laboratoire de Pharmacologie Générale, Pharmacocinétique Cosmétologie (LPGPC), Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, à la température ambiante avec une alternance de lumière et d'obscurité de 12H/12H, et nourris avec de la provende LFL 14/20 avec un accès libre à de l'eau. Tandis que l'effet de l'extrait sur les vaisseaux a été étudié sur l'aorte isolée de cochon d'Inde âgé de 5 mois. Les animaux ont été acclimatés à l'animalerie du LPGPC, et nourris avec des feuilles fraîches de graminées.

Provocation de l'hypertension expérimentale

Avant la manipulation, les animaux ont été conditionnés à l'expérimentation. Ils ont été placés individuellement dans une cage de contention, puis leur pression artérielle a été mesurée au niveau de la base de la queue de l'animal. Pendant cette période, tous les matins, à jeun, dans un endroit fixe et calme, les pressions systoliques et diastoliques normales des animaux ont été mesurées avec un sphygmomanomètre (Van-Vliet B. et Montani J., 2008)

Les rats ont été rendus hypertendus en les nourrissant avec de la provende enrichie en sodium constituée de 100 g de provende et 8 g de NaCl avec accès libres à de l'eau.

Ce régime hypersodé a été arrêté et remplacé par de la provende normale LFL 1420 lorsque la pression artérielle a été supérieure à 200 / 140 mmHg (Van-Vliet B. et Montani J., 2008).

Etude de l'effet de l'extrait sur hypertension artérielle

Les animaux rendus hypertendus avec la provende hypersodée ont été répartis en 4 lots de 4 rats : 1 lot témoin et 3 lots traités.

Tous les matins à jeun, à la même heure, dans un endroit calme, la pression artérielle de tous les animaux a été mesurée ; puis les animaux du lot témoin ont reçu 10 ml/kg d'eau distillée, tandis que les animaux des 3 lots restants ont reçu l'extrait hydroalcoolique d'*Annonamuricata* aux doses de 75, 150 et 300 mg/kg, dans 10 ml/kg d'eau distillée, par voie orale. L'étude a été arrêtée lorsque la valeur de la pression artérielle retourne à la normale.

Etude du mécanisme d'action de l'extrait hydroalcoolique d'Annonamuricata

Pour déterminer le mécanisme d'action de l'extrait sur l'hypertension artérielle, son effet sur la diurèse et sur les vaisseaux a été étudié.

Etude de l'effet de l'extrait hydroalcoolique d'Annonamuricata sur la diurèse

Des rats mis à jeun pendant 18 heures ont été utilisés. Ils ont reçu 50 ml/kg d'eau distillée par voie orale, puis répartis en 4 lots de 4 rats, dont 1 lot témoin et 3 lots traités avec l'extrait. Après 30 minutes de la surcharge hydrique, les animaux du lot témoin ont reçu 10 ml/kg d'eau distillée, tandis que les animaux des 3 lots ont reçu l'extrait, par voie orale, aux doses de 50, 100 et 200 mg/kg dans 10 ml/kg d'eau distillée. Ensuite, les animaux ont été placés dans des cages individuelles à métabolisme de 16 cm de diamètre et de 22 cm de hauteur munies de récipient servant à récolter l'urine émise par l'animal. Le volume des urines émises en 24 heures de chaque animal a été mesuré à l'aide d'une éprouvette graduée.

Etude de l'activité vasculaire de l'extrait d'Annonamuricata

Afin d'élucider le mécanisme d'action de l'extrait, son effet sur l'aorte isolée de cochon d'inde contractée par la phényléphrine a été étudié. Le cochon d'Inde a été anesthésié par inhalation avec de l'éther éthylique, puis une thoracotomie a été pratiquée, ensuite l'aorte a été prélevée. Elle a tout de suite été plongée dans une solution de Tyrode (Tableau 1) à la température ambiante, et aérée avec de l'air à l'aide d'un aérateur électrique (KOKO-108©).

Tableau 1 : Composition de la solution de Tyrode (Kitchen I., 1984)

| Ingrédients | NaCl | MgCl ₂ | KCl | CaCl ₂ | NaHCO ₃ | NaH ₂ PO ₄ | Glucose |
|--------------------|-------|-------------------|------|-------------------|--------------------|----------------------------------|---------|
| Concentration (mM) | 136,7 | 1,05 | 2,68 | 2 | 10 | 0,42 | 5,55 |

L'organe a ensuite été débarrassé des mésentères qui l'entourent, puis découpé en anneaux de 3 à 4 mm de long. Puis il a été monté dans une cuve à organe isolé contenant de la solution de Tyrode, maintenue à la température de 37° C, avec une tension de 500 mg. L'organe a été laissé se stabiliser pendant 45 minutes pendant lesquelles la solution de Tyrode a été renouvelée toutes les 15 minutes (Rodriguez-Rodriguez R. et al., 2004). Après ce temps d'équilibration, la viabilité de l'organe a été vérifiée puis il a été sensibilisé en injectant de la phényléphrine à la concentration finale de 10⁻⁶M dans le bain. Ensuite, la préparation a été rincée, puis laissée de nouveau se stabiliser pendant 30 minutes. Pendant ce temps, le bain a été renouvelé toutes les 15 minutes. Après cette période de stabilisation, la phényléphrine a été injectée dans le bain d'une manière cumulative, à partir de la concentration 10⁻⁹M jusqu'à l'obtention de la contraction maximale. Au plateau de contraction, l'extrait a été injecté dans le bain d'une manière cumulative, avec une concentration partant de 0,25 mg/ml jusqu'au relâchement total de l'aorte isolée. Les produits ont été injectés

dans la cuve de telle sorte que la somme des volumes injectés ne dépasse pas 5% du volume du bain. Le relâchement de l'aorte a été exprimé en % en utilisant la formule :

$$\text{relâchement (\%)} = \frac{\text{amplitude en présence de l'extrait}}{\text{amplitude de la contraction maximale}}$$

Ensuite, le relâchement a été rapporté sur un papier millimétré, en fonction de la concentration de l'extrait dans le bain. Enfin, la CE₅₀ de l'extrait a été déterminée graphiquement en utilisant la figure ainsi obtenue.

Etude de l'action de l'extrait d'Annonamuricata vis-à-vis de la phényléphrine

Le but de cette manipulation a été d'étudier l'effet de l'extrait vis-à-vis de l'action de la phényléphrine. Pour ce faire, l'aorte isolée a été pré incubée dans un bain contenant différentes concentrations d'*Annonamuricata* avant de la contracter avec la phényléphrine. Après la période d'équilibration, l'aorte a été contractée avec la phényléphrine injectée dans le bain de manière cumulative, allant de 10⁻⁹M dans le bain jusqu'à l'obtention de contraction maximale. Au plateau de la contraction, l'organe a été rincé puis laissé se stabiliser.

Après cette période d'incubation, l'aorte a été incubée dans un bain contenant l'extrait d'*Annonamuricata* à la concentration de 0,25 mg/ml dans le bain pendant 10 minutes. Ensuite la phényléphrine a été injectée dans le bain d'une manière cumulative, pour réaliser des concentrations croissantes allant de 10⁻⁹M dans le bain jusqu'à l'obtention de la contraction maximale. Le même principe a été utilisé en incubant l'organe dans un bain contenant l'extrait aux concentrations de 0,50 et 0,75 mg/ml (Brankovic S. et al., 2011). Les contractions ont été enregistrées avec un capteur isométrique (Statham Gould ©).

L'amplitude des contractions obtenues avec la phényléphrine, a été mesurée et rapportée sur une échelle semi logarithmique en fonction de la concentration de la phényléphrine dans le bain. La CE₅₀ de la phényléphrine, en absence et en présence de l'extrait a été déterminée graphiquement.

Expression et analyse des résultats

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne ± écart type réduit ($\bar{x} \pm \bar{\sigma}$). Les moyennes obtenues ont été comparées entre elles en utilisant le test «t» de Student. La valeur de (P < 0,05) a été considérée comme significative.

RESULTATS

Partie chimique

Rendement de l'extraction

Après évaporation à sec du filtrat obtenu avec les 200 g de poudre de feuille macérés dans le mélange éthanol - eau (60 : 40), 29 g d'extrait d'*Annonamuricata* sont obtenus. Après calcul, le rendement de l'extraction est égal à 14,5 %.

Résultats du criblage phytochimique

Les résultats du criblage photochimique effectué sur l'extrait d'*Annonamuricata* montrent qu'il contient une forte teneur en alcaloïdes, composés phénoliques, tanins, stéroïdes et tri terpènes. Il contient aussi des anthocyanes, des sucres réducteurs et des saponines en teneur moyenne, enfin des polysaccharides, des flavonoïdes et des leucoanthocyanes y sont présents en faible teneur.

Partie pharmacologique

Variation de la pression artérielle pendant le régime hypersodé

La pression artérielle systolique normale des rats, avant le régime hypersodé, est égale à $103,13 \pm 1,18$ mmHg et la pression artérielle diastolique est égale à $54,70 \pm 1,34$ mmHg.

Après 21 jours de régime hypersodé, la valeur de cette pression artérielle augmente à $216,44 \pm 2,77$ pour la pression artérielle systolique et $140,63 \pm 2,17$ mmHg pour la pression artérielle diastolique (Figure 1).

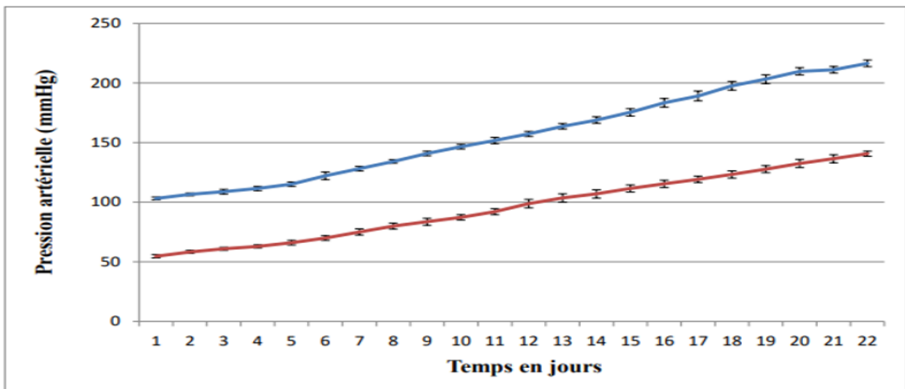


Figure 1 : Variation de la pression artérielle systolique (■) et diastolique (■) des rats pendant le régime hypersodé de 21 jours ($\bar{x} \pm \sigma$; n= 4 ; P<0,05)

Effet de l'extrait d'*Annonamuricata* sur l'hypertension expérimentale

L'extrait d'*Annonamuricata* administré par voie orale, une fois par jour, aux doses de 75,150 et 300 mg/kg diminue la pression artérielle des rats rendus hypertendus. La valeur de la pression artérielle systolique et diastolique revient à la normale au 9ème jour pour les animaux traités avec l'extrait à la dose de 300 mg/kg, et aux 12ème et 16ème jour pour les animaux traités avec l'extrait aux doses de 150 et 75 mmHg. Par contre, celle des animaux normaux revient à sa valeur normale au 22ème jour. Au 9ème jour, la pression artérielle des animaux témoins est égale à $165,75 \pm 1,44$ mmHg / $106,25 \pm 3,52$ mmHg (PAS /PAD), contre $152,5 \pm 1,44$ mmHg / $90,75 \pm 0,43$ mmHg, $132,5 \pm 2,06$ mmHg / $68 \pm 1,41$ mmHg et $108,25 \pm 0,85$ / $64 \pm 0,41$ mmHg pour les animaux traités avec l'extrait aux doses respectives de 75, 150 et 300 mg/kg ($P < 0,05$) (Figures 2 et 3).

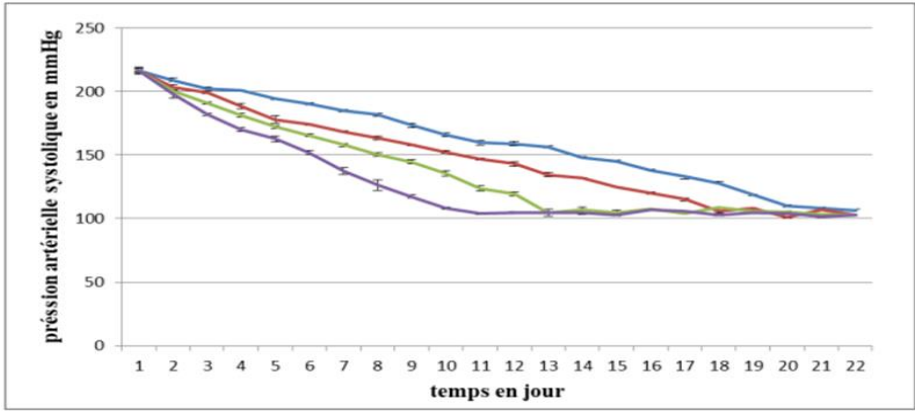


Figure 2 : Variation de la pression artérielle systolique des rats rendus hypertendus par un régime hypersodé pendant 21 jours, témoin (■) et traités avec l'extrait d'*Annonamuricata* aux doses de 75 (■), 150 (■) et 300 (■) mg/kg par voie orale ($\bar{x} \pm \sigma$; n=4 ; $P < 0,05$)

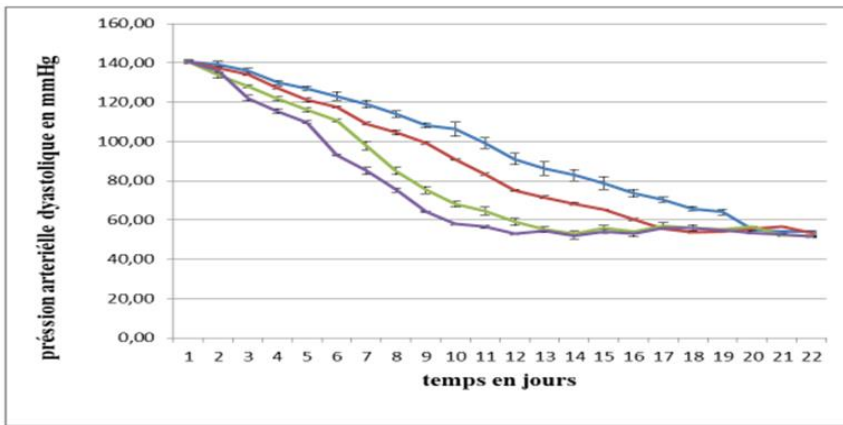


Figure 3 : Variation de la pression artérielle systolique des rats rendus hypertendus par un régime hypersodé pendant 21 jours, témoin (■) et traités avec l'extrait d'*Annonamuricata* aux doses de 75 (■), 150 (■) et 300 (■) mg/kg par voie orale ($\bar{x} \pm \sigma$; n=4 ; P<0,05)

Effet de l'extrait d'Annonamuricata sur la diurèse

L'extrait d'*Annonamuricata*, administré par voie orale, aux doses de 50, 100 et 200 mg/kg, ne change pas la diurèse des animaux. Il n'y a aucune différence significative entre le volume d'urine récoltée pendant 24 h chez les animaux témoins et traités avec l'extrait (Figure 4).

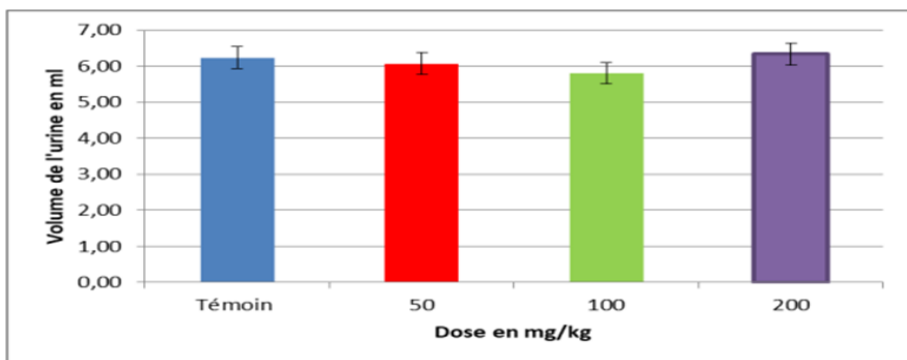


Figure 4 : Variation du volume d'urine émise pendant 24h chez le lot témoin (■) et les lots traités avec l'extrait d'*Annonamuricata* par voie orale, aux doses de 50 (■), 100 (■) et 200 (■) mg/kg ($\bar{x} \pm \sigma$; n=4 ; N.S.)

Effet de l'extrait d'Annonamuricata sur l'aorte isolée

En présence de la noradrénaline dans le bain, l'aorte se contracte et l'amplitude de la contraction augmente en fonction de la concentration de l'agoniste. La contraction maximale (100 %) est obtenue à la concentration de 10^{-3} M. L'extrait d'*Annonamuricata* injecté dans le bain d'une manière cumulative relâche totalement

l'organe (100 %) à la concentration de 1,25mg/ml, avec une CE50 égale à 0,79 mg/ml (Figure 5).

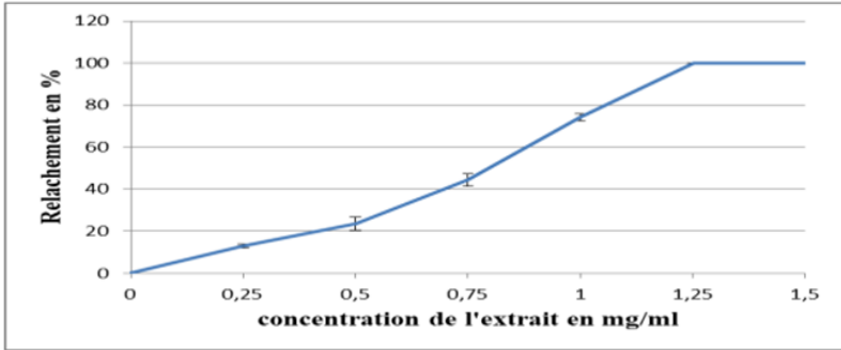


Figure 5 : Variation du relâchement de l'aorte isolée de cochon d'Inde contractée avec de la noradrénaline en présence de l'extrait d'*Annonamuricata* injecté dans le bain d'une manière cumulative ($\bar{x} \pm \sigma$; n=4)

Mécanisme d'action de l'extrait d'*Annonamuricata* vis-à-vis de la noradrénaline

En absence de l'extrait, la noradrénaline contracte l'aorte isolée à 100 %, avec une CE50 égale à 10^{-7} M. En pré incubant l'organe dans le bain contenant l'extrait à différentes concentrations, la contraction maximale provoquée par la noradrénaline diminue, et sa CE₅₀ augmente. En présence de l'extrait à la concentration de 0, 25, 0,50 et 0,75mg/ml, l'amplitude de la contraction maximale provoquée par la noradrénaline diminue à $62,55 \pm 2,82$, $39,74 \pm 2,74$ et $25,02 \pm 2,35$ %, tandis que sa CE50 augmente à $2 \cdot 10^{-7}$, $3 \cdot 10^{-7}$ et 10^{-6} M ($P < 0,05$) (Figure 6).

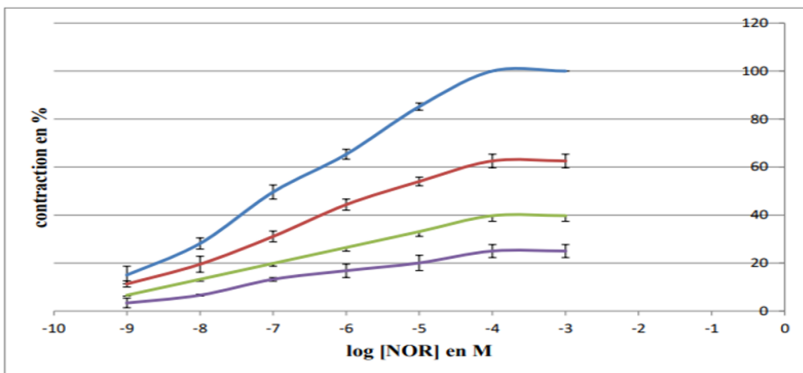


Figure 10 : Variation de l'amplitude de la contraction de l'aorte isolée provoquée par la noradrénaline injectée de manière cumulative dans le bain, en absence (■) et en présence de l'extrait d'*Annonamuricata* aux concentrations de 0,25 (■), 0,50 (■) et 0,75 (■) mg/ml dans le bain ($\bar{x} \pm \sigma$; n=4 ; $P < 0,05$)

DISCUSSION

L'objectif de ce travail a été d'étudier l'action de l'extrait d'*Annonamuricata* sur l'hypertension artérielle chez le rat. Les rats ont été rendus expérimentalement hypertendus avec un régime hypersodé, car l'excès de sodium augmente la pression artérielle à la suite de l'augmentation de la résistance périphérique provoquée par l'hyperréactivité vasculaire, et entraîne une rétention d'eau qui augmente la volémie, et le débit cardiaque, à l'origine de l'hypertension artérielle (Burnier M. et al., 2009). D'après les résultats obtenus, l'extrait réduit l'hypertension provoquée par le régime hypersodé.

Lors de l'étude de l'extrait, son activité sur la diurèse montre qu'il ne possède aucune activité diurétique.

Les résultats des tests *in vitro* montrent que l'extrait a une action vasodilatatrice et inhibe l'action de celle-ci de manière non compétitive. Cela signifie que la molécule active responsable de son activité vasculaire n'occupe pas les récepteurs de la noradrénaline. Cette action vasodilatatrice pourrait être due à son effet sur la production de NO, ou sur l'influx calcique. Les polyphénols augmentent l'expression de la NO Synthétase endothéliale, augmentant ainsi la production de monoxyde d'azote (NO) (Sánchez M. et al., 2006). Étant donné que l'extrait contient aussi des composés phénoliques, il est probable qu'au moins une molécule appartenant à cette famille chimique serait responsable de cette action vasodilatatrice NO dépendante.

L'action vasodilatatrice, quant à elle, pourrait être due aux bloqueurs de canaux calciques, comme le cas des alcaloïdes dans l'extrait de *Nauclea officinalis* (Ishizuka M. et al., 2013). Comme l'extrait d'*Annonamuricata* contient aussi des alcaloïdes, une molécule appartenant à cette famille chimique pourrait aussi inhiber les canaux calciques, à l'origine de la vasodilatation observée lors des tests *in vitro*.

Étant donné que l'extrait d'*Annonamuricata* est encore un extrait brut, il est encore difficile de donner un mécanisme d'action précis. Pour l'élucider, il est nécessaire d'isoler les molécules dans cet extrait et d'étudier séparément leur action.

CONCLUSION

Les résultats obtenus lors de cette étude montrent que l'extrait d'*Annonamuricata* diminue l'hypertension artérielle chez le rat hypertendu expérimental. Il possède un effet vasodilatateur, et inhibe l'action de la noradrénaline d'une manière non compétitive. Cette activité pourrait être due aux polyphénols et/ou alcaloïdes qu'il contient. L'on peut, ainsi, conclure que l'extrait d'*Annonamuricata* est susceptible d'être utilisé comme un anti hypertenseur par son effet vasodilatateur.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) Brankovic S., Kitic D., Radenkovic M., Veljkovic S., Jankovic T., Savikin K. et al (2011). Spasmolytic activity of the ethanol extracts of *Sideritisraeseri* spp. raeseri-boiss and held on the isolated rat ileum contractions. *J. Med. Food.* 14(5): 495 – 498.
- 2) Burnier M., Bochud M., Vogt B., Maillard M. (2009). Transport du sodium : implications dans l’hypertension artérielle, Actualités néphrologiques : 260-270. France: Flammarion.
- 3) Fong H., Tin-Wa M., Farnsworth N. (1977). Manual for Phytochemical Screening. *Rev. Univ. Illinois*, Chicago: 275 - 277.
- 4) Gormer, B. (2007). Hypertension – pharmacological management. *Hosp. Pharm.* 14: 121 – 122.
- 5) Ishizuka M., Koga I., Zaima K., Kaneda T., Hirasawa Y., Hadi A., Et Al (2013). Vasorelaxant effects on rat aortic artery by two types of indole alkaloids, naucline and cadamine. *J. Nat. Med.*67: 399 – 403.
- 6) Khatib O., El-Guindy M. (2005). Clinical guidelines for the management of hypertension. *WHO Regional Office for the Eastern Mediterranean, Cairo (Egypt)*: 13 – 14.
- 7) Kitchen, I. (1984). *Textbook of in Vitro Practical Pharmacology*: 33-53. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- 8) Lowry M., Windsor J., Ashelford S. (2016). Orthostatic hypotension part 2: the physiology of blood pressure regulation. *Nursing Times* 112 (43/44): 17 – 19.
- 9) Rodriguez R., Herrera M., Perona J., Ruiz-Gutierrez V. (2004). Potential vasorelaxant effects of oleanolic acid and erythrodiol, two triterpenoids contained in “origan” olive oil, on rat aorta. *Br. J. Nutr.* 92: 635 – 642.
- 10) Sánchez M., Galisteo M., Vera R., Villara I., Zarzuelo A., Tamargo J. (2006). Quercetin downregulates NADPH oxidase, increases eNOS activity and prevents endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats. *J. Hypertension* 24 (1): 75–84.
- 11) Shankar S., Brater D. (2003). Loop diuretics: from the Na-K-2Cl transporter to clinical use. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 284: F11 – F15.
- 12) Van-Vliet B., Montani J. (2008). The time course of salt-induced hypertension, and why it matters. *Int. J. Obes.* 32: 35 – 47.
- 13) Zisaki A., Miskovic L., Hatzimanikatis V. (2015). Antihypertensive drugs metabolism: an update to pharmacokinetic profiles and computational approaches. *Curr. Pharm. Des.*, 21: 806 – 822.

PERFORMANCE DU SYSTEME D'IDENTIFICATION BACTERIENNE API 20 E DANS L'IDENTIFICATION DES ENTÉROBACTERIES

par

RAKOTOVAO-RAVAHATRA Z. Domoina ⁽¹⁾, RANDRIATSARAFARA Fidiniana M. ⁽²⁾, RAKOTOVAO-RAVAHATRA Joely N. ⁽³⁾, RASOARAHONA Jean R. ⁽³⁾, RAONIZAFINIMANANA Béatrice ⁽³⁾, RAKOTOVAO Andriamiadana L. ⁽¹⁾

(1) Département de Biologie Médicale, Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo, Madagascar

(2) Département de Santé Publique, Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo, Madagascar

(3) Ecole Doctorale « Génie des Procédés et des Systèmes Industriels, Agricoles et Alimentaires », Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques, Université d'Antananarivo, Madagascar

RESUME

L'identification exacte d'une espèce bactérienne par un test dans un laboratoire de microbiologie est très importante pour bien adapter le traitement antibiotique dirigé contre les germes. L'objectif de la présente étude a été d'évaluer la performance du système d'identification bactérienne API 20 E dans l'identification des entérobactéries.

Il s'agit d'une étude évaluative du système d'identification bactérienne API 20 E à partir de 32 isolats d'entérobactéries pendant une période de 3 mois allant du mois de Janvier 2021 au mois de Mars 2021 au laboratoire du Centre Hospitalier Universitaire Joseph Raseta Befelatanana.

En termes de résultats, concernant les bactéries identifiées, les isolats d'*Escherichia coli* étaient les plus nombreux (38%), suivis des isolats de *Klebsiella pneumonia* (25%) et d'*Enterobacter cloacae* (16%). Pour les résultats du système d'identification bactérienne API 20 E, les qualités d'identification étaient toutes de niveau « excellente identification ». Concernant les scores de probabilité révélés par le logiciel API 20 E, ils varient entre 95% et 100%. Les scores de probabilité de 99 % (n = 11 ; 34 %) étaient les plus nombreux, suivis des scores de probabilité de 98 % et de 100 % (n = 6 ; 19%).

En conclusion, le système d'identification bactérienne API 20 E est un test fiable et peut être utilisé par tous les laboratoires de bactériologie sans aucun risque d'erreur d'identification.

Mots-clés : API, Entérobactéries, Identification, Probabilité, Score

ABSTRACT

The exact identification of a bacterial species by a test in a microbiology laboratory is very important to properly adapt the antibiotic treatment directed against germs. The objective of this study was to evaluate the performance of the API 20 E bacterial identification system for the identification of enterobacteria.

This was an evaluative study of the API 20 E bacterial identification system by identifying 32 enterobacteria isolates during a 3-month period from January 2021 to March 2021 in the University Hospital Center Joseph Raseta Befelatanana.

As result, regarding the bacteria identified, isolates of *Escherichia coli* were the most numerous (37.5%), followed by isolates of *Klebsiella pneumonia* (25%) and *Enterobacter cloacae* (15.6%). Regarding the evaluation of the API 20 E bacterial identification system, its identification qualities were all at the "excellent identification" level. Regarding the probability scores revealed by the API software, they vary between 95% and 100%. Probability scores of 99% (n=11; 34.4%) were the most numerous, followed by probability scores of 98% and 100% (n=6; 18.8%).

The API 20 E bacterial identification system is a reliable test and can be used by all bacteriology laboratories without any risk of identification error.

Key-words : API, Enterobacteria, Identification, Probability, Score

INTRODUCTION

A Madagascar, les maladies infectieuses constituent un problème majeur de santé publique. Contrairement à d'autres maladies humaines, les maladies infectieuses peuvent être imprévisibles avec un potentiel d'épidémies mondiales (McArthur D.B., 2019). En épidémiologie des maladies infectieuses, le laboratoire joue un rôle essentiel dans le diagnostic, les enquêtes sur les épidémies, la surveillance et la caractérisation des propriétés biologiques des microbes associés à leur transmissibilité, la résistance aux anti-infectieux et la pathogénèse (Riley L.W., 2018). Parmi ces infections, les infections bactériennes commencent à prendre de l'importance aujourd'hui. Les infections bactériennes peuvent être causées par l'ingestion d'aliments contaminés ou par l'exposition à des environnements non

stériles à travers des plaies où des bactéries pathogènes opportunistes sont présentes. Les symptômes et le traitement varient et bien que certains indices puissent être obtenus à partir des symptômes du patient, l'agent causal doit être déterminé afin de bien comprendre la nature de l'infection, son origine et le traitement approprié. Il est donc d'une immense importance de caractériser et d'identifier ces bactéries. Le pronostic des infections bactériennes ne dépend pas seulement des antibiotiques utilisés et de la sensibilité des germes à ces antibiotiques (Jehl F. et *al.*, 2015).

Le rôle des laboratoires de microbiologie est de bien identifier les bactéries et de réaliser correctement l'antibiogramme afin d'assurer une bonne prise en charge de la maladie infectieuse du patient. La microbiologie s'est largement développée grâce à la découverte et à l'optimisation des systèmes d'identification bactérienne (Singhal N., 2015). Cependant, dans les pays en développement comme Madagascar, les systèmes manuels d'identification bactérienne sont encore utilisés. La majorité des laboratoires de bactériologie à Madagascar notamment les laboratoires d'analyses médicales groupés dans le réseau RESAMAD (Réseau des Laboratoires à Madagascar) utilisent le système d'identification bactérienne API pour l'identification finale de toutes les espèces bactériennes. Les réactifs API sont fabriqués par la Société BioMérieux et sont représentés par API 20 E, API 20 NE, API 20 Strep et API NH. Api 20 E est utilisé spécialement pour l'identification des entérobactéries.

Ainsi, l'objectif de la présente étude a été d'évaluer la performance du système d'identification bactérienne API 20 E dans l'identification des entérobactéries.

MATERIELS ET METHODES

Cadre d'étude

La présente étude a été effectuée au sein du laboratoire du Centre Hospitalier Universitaire Joseph Raseta Befelatanana (CHUJRB) situé à Antananarivo Ville dans la région Analamanga. Le laboratoire du CHUJRB est un laboratoire d'analyses médicales polyvalent qui fonctionne jour et nuit. Il reçoit tous les prélèvements biologiques des malades provenant des différents hôpitaux d'Antananarivo et de ses environs. Des patients venant en consultation externe font également des analyses biologiques au sein de ce laboratoire. Les analyses biologiques effectuées au sein de ce laboratoire comprennent les analyses hématologiques, biochimiques, immunologiques, virologiques, parasitologiques et bactériologiques. Les prélèvements bactériologiques comprennent les prélèvements de liquides biologiques (liquide céphalo-rachidien, liquide pleural, liquide d'ascite, liquide péricardique, liquide articulaire...), les urines, les selles, le sang, les prélèvements génitaux, les

prélèvements de gorge, les prélèvements de pus et les autres types de prélèvements provenant du corps humain.

Type d'étude et période d'étude

Il s'agissait d'une étude évaluative du système d'identification bactérienne API 20 E à partir de 32 isolats d'entérobactéries pendant une période de 3 mois allant du mois de Janvier 2021 au mois de Mars 2021 au laboratoire du Centre Hospitalier Universitaire Joseph Raseta Befelatanana.

Variables d'étude

La variable dépendante a été représentée par l'identification d'une entérobactérie par le système d'identification bactérienne API 20 E. Les variables indépendantes ont été représentées par les espèces d'entérobactéries identifiées par API 20 E, les qualités d'identification bactérienne de l'API 20 E révélées par le logiciel API et les différents scores de probabilité obtenus lors de l'identification bactérienne révélés par le logiciel API.

Critères d'inclusion et d'exclusion

Ont été incluses dans l'étude toutes les entérobactéries dont le genre a été confirmé par les couleurs des colonies bactériennes caractéristiques des entérobactéries, la coloration de Gram montrant des bacilles à Gram négatif et le test oxydase négatif.

Ont été exclues de l'étude toutes les bactéries dont les colonies bactériennes n'étaient pas caractéristiques des entérobactéries, la coloration de Gram montrant des cocci ou des bacilles à Gram positif et le test oxydase positif

Analyses en laboratoire

Lorsque les prélèvements arrivent au laboratoire de bactériologie, ils sont mis en culture dans des boîtes de pétri ou des tubes en verre contenant des milieux de culture spécifiques pour chaque bactérie suspectée. Lorsque des entérobactéries sont suspectées, un milieu de culture chromogène est également utilisé pour voir les différentes couleurs des colonies bactériennes spécifiques pour chaque espèce d'entérobactérie donnée. La culture est suivie d'autres types d'examen comme l'examen direct entre lame et lamelle, la coloration de gram, le comptage cellulaire sur cellule de Kova, la coloration au MGG (May Grunwald et Giemsa). Le lendemain, le technicien de laboratoire va observer les colonies bactériennes qui ont poussé dans les milieux de culture et va y effectuer une coloration de Gram. Si la couleur de la colonie bactérienne est spécifique d'une entérobactérie et si la coloration de Gram montre des bacilles à Gram négatif, le test à l'oxydase est effectué par le technicien. Si le test à l'oxydase est négatif, il est probable que la

bactérie soit une entérobactérie. Ainsi, le technicien effectue l'identification d'espèce sur le système d'identification bactérienne API 20 E.

API 20 E est un système d'identification standardisé des entérobactéries et autres bâtonnets Gram-négatifs non exigeants qui utilise 20 tests biochimiques miniaturisés et une base de données. La barrette API 20 E est constituée de 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Ces tests sontensemencés avec une suspension bactérienne qui reconstitue le milieu. Au cours de l'incubation, le métabolisme produit des changements de couleur qui sont soit spontanés, soit révélés par l'ajout de réactifs. Les réactions sont lues selon le tableau de lecture et l'identification est obtenue en se référant à l'index du profil analytique ou à l'aide du logiciel d'identification API. Chaque kit d'API 20 E contient 25 tests et la lecture des résultats se fait après 24 heures (API 20 E instructions disponible en ligne sur <http://biomanufacturing.org>). Après saisie des résultats de l'API 20 E dans le logiciel, ce dernier va révéler la qualité d'identification bactérienne, à savoir excellente identification, très bonne identification, bonne identification ou mauvaise identification. En plus, le logiciel va révéler le score de probabilité qui peut aller jusqu'à 100% lorsque toutes les couleurs trouvées correspondent à celles attendues par le logiciel. Au total, 32 isolats d'entérobactéries ont été identifiés par API 20 E dans la présente étude.

Considérations éthiques

L'autorisation de cette étude par un comité d'éthique n'était pas nécessaire car les analyses concernaient des isolats de bactéries. Néanmoins, l'autorisation du directeur de l'établissement a été obtenue avant la collecte des données dans les registres. De même, la saisie a été effectuée de manière anonyme afin de préserver la confidentialité.

Analyse statistique

L'analyse statistique a été effectuée sur Microsoft Excel 2016 et sur logiciel Epi-info 3.5.2.

RESULTATS

Pendant une période d'étude de 3 mois allant du mois de Janvier 2021 au mois de Mars 2021, 32 isolats bactériens ont été identifiés en utilisant le système d'identification bactérienne API 20 E. Concernant les bactéries identifiées, les isolats d'*Escherichia coli* étaient les plus nombreux (38%), suivis des isolats de *Klebsiella pneumonia* (25%) et d'*Enterobacter cloacae* (16%) (Figure 1).

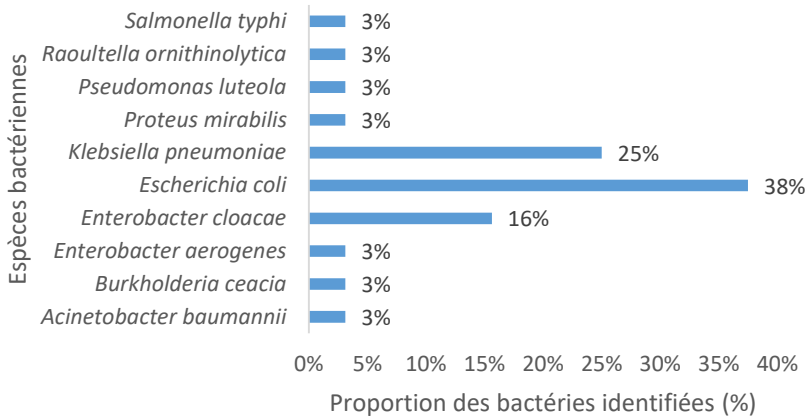


Figure 1 : Espèces bactériennes identifiées par le système d'identification bactérienne API 20E

Concernant les résultats du système d'identification bactérienne API 20 E, les qualités d'identification étaient toutes de niveau «excellente identification». Concernant les scores de probabilité révélés par le logiciel API 20 E, ils varient entre 95% et 100%. Les scores de probabilité de 99 % (n = 11 ; 34 %) étaient les plus nombreux, suivis des scores de probabilité de 98 % et de 100 % (n = 6 ; 19%) (Figure 2).

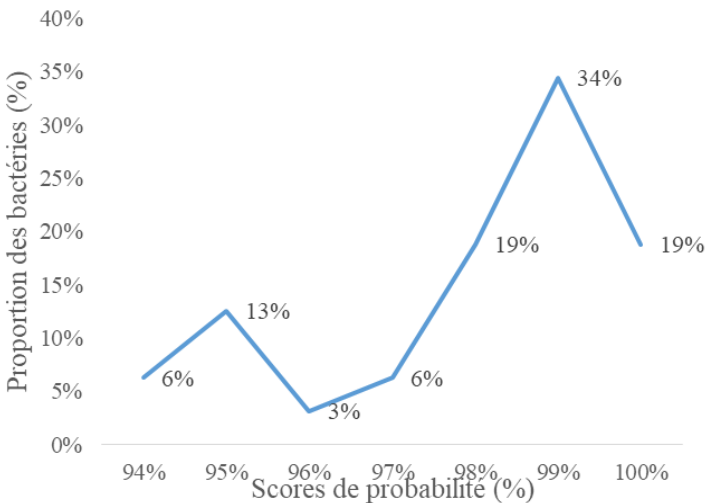


Figure 2 : Scores de probabilité d'identification exacte d'espèce bactérienne révélés par le logiciel API 20 E

DISCUSSIONS

Au cours de la période d'étude, les isolats d'*Escherichia coli* étaient les plus fréquents. Les mêmes résultats avaient été mis en évidence par d'autres études. (Bezabih Y.M. et al., 2021 ; Jang J. et al., 2017). En effet, Bezabih et al ont constaté que la prévalence groupée du portage intestinal d'*Escherichia coli* productrices de Béta-Lactamase à Spectre Étendu (BLSE) dans la communauté est passée de 2,6 % en 2003 à 21,1 % en 2015 (Bezabih Y.M. et al., 2021).-De plus, les espèces d'*Escherichia coli* sont nombreuses dans l'environnement favorisant leur dissémination. La bactérie habite principalement le tractus intestinal inférieur des animaux à sang chaud, y compris les humains, et est souvent rejetée dans l'environnement par les fèces ou les effluents d'eaux usées. La présence d'*Escherichia coli* dans les eaux environnementales a longtemps été considérée comme un indicateur de pollution fécale récente (Jang J. et al., 2017).

Après les isolats d'*Escherichia coli*, les isolats de *Klebsiella pneumoniae* et d'*Enterobacter cloacae* étaient également nombreux. *Klebsiella* et *Enterobacter* appartiennent au groupe KES (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*). D'autres études ont montré une fréquence élevée du groupe KES isolé dans les laboratoires de microbiologie (Nedjai S. et al., 2012). Ces bactéries sont responsables de problèmes de santé publiques majeurs dans les hôpitaux (Gurieva T. et al., 2018). Par ailleurs, les infections à entérobactéries représentent actuellement un problème de santé publique mondial. En effet, l'Organisation mondiale de la Santé a récemment publié une liste prioritaire de bactéries résistantes aux antibiotiques, qui comprend des entérobactéries productrices de BLSE et des entérobactéries productrices de carbapénémases (Wilson H. et Török M.E., 2018).

Ainsi, une bonne identification bactérienne des entérobactéries au laboratoire permet d'obtenir un résultat fiable et un résultat d'antibiogramme adapté au germe. Un traitement antibiotique approprié réduit la résistance acquise des entérobactéries aux antibiotiques. API 20 E est un système d'identification bactérienne des entérobactéries. Le processus d'identification consiste à reconnaître une bactérie inconnue en définissant son appartenance à une espèce. Elle repose sur le choix d'un ensemble de tests biochimiques réalisés par un logiciel spécifique. Cet ensemble constitue un kit d'identification. En fonction du profil de réponse observé, une probabilité d'appartenance à chaque espèce est calculée. Les espèces les plus probables sont retenues. Un score de probabilité entre 60 et 100 % signifie que le niveau de confiance est élevé et donc que l'identification est fiable. Pour un score inférieur à 60 %, le niveau de confiance est faible, le logiciel proposant alors entre deux et quatre identifications (Chen J.H. et al., 2013; Moon J. Y. et al., 2013; Patel R., 2013 ; Westblade L. F. et al., 2013).

En regardant tous les scores de probabilité pour API 20 E dans la présente étude, ils étaient tous supérieurs à 60 %. Ainsi, les qualités d'identification étaient toutes au niveau « excellente identification ». Ainsi, API 20 E est un bon système d'identification bactérienne qui devrait être utilisé dans les laboratoires de bactériologie. Les scores de probabilité étaient de 100 % pour 6 isolats identifiés. Ainsi, le test d'identification bactérienne API 20 E est très simple à réaliser et toute erreur lors de la réalisation du test n'a pas d'impact sur les résultats (erreur de densité bactérienne de l'inoculum, mélange de 2 types de colonies bactériennes lors du test...). En effet, pour certains tests d'identification bactérienne, la moindre erreur lors du test entraîne une diminution significative du score de probabilité.

Néanmoins, l'utilisation de l'API 20 E présente quelques inconvénients. Premièrement, la date de péremption des kits ne dépasse pas un an à leur arrivée au laboratoire. Deuxièmement, le kit ne peut identifier que les entérobactéries ainsi que d'autres bacilles Gram-négatifs non exigeants. Il faut utiliser un autre kit appelé API 20 NE si on veut identifier d'autres bacilles à Gram négatif. Troisièmement, API 20 E coûte plus cher que d'autres tests comme le Bis NEG-D (Bis NEG-D instructions disponible en ligne sur <http://diagnostics.be>).

Les résultats de cette étude nous permettent de faire quelques recommandations. D'une part, les laboratoires des grandes villes qui reçoivent beaucoup d'analyses bactériologiques devraient continuer à utiliser le système d'identification bactérienne API 20 E car ils peuvent l'acheter annuellement et la péremption rapide de ce test ainsi que le coût du test ne posent aucun-problème pour eux. Ils peuvent également utiliser d'autres tests API tels que l'API 20NE pour l'identification d'autres bacilles à Gram négatif. D'autre part, il est préférable que les petits laboratoires qui ne font pas beaucoup d'analyses bactériologiques utilisent d'autres tests d'identification bactérienne ayant une longue date de péremption et de coût sur le marché comme le test Bis NEG-D. Par ailleurs, le respect scrupuleux des Procédures Opératoires Standards (POS) pour chaque type de système d'identification bactérienne est primordial pour aboutir à une bonne identification bactérienne afin d'obtenir le meilleur score de probabilité qui est de 100%.

CONCLUSION

API 20 E est un système d'identification bactérienne fiable. Ses scores de probabilité d'identification bactérienne sont excellents et les éventuelles erreurs lors des manipulations ont eu peu d'impact. Ainsi, API 20 E peut être utilisé par tous les laboratoires de microbiologie pour l'identification des entérobactéries.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) API 20 E instructions disponible en ligne sur <http://biomanufacturing.org>
- 2) Bezabih, Y.M., Sabiiti, W., Alameh, E., Bezabih, A., Peterson, G.M., Bezabhe, W.M., *et al.* (2021). The global prevalence and trend of human intestinal carriage of ESBL-producing *Escherichia coli* in the community. *J. Antimicrob. Chemother.*, 76(1):22-29.
- 3) Bis NEG-D instructions disponible en ligne sur <http://diagnostics.be>
- 4) Chen, J.H., Ho, P.L., Kwan, G.S., She, K.K., Siu, G.K., Cheng, V.C., *et al.* (2013). Direct bacterial identification in positive blood cultures by use of two commercial matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry systems. *J. Clin. Microbiol.*, 51(6):1733-1739.
- 5) Gurieva, T., Dautzenberg, M.J.D., Gniadkowski, M., Derde, L.P.G., Bonten, M.J.M., Bootsma, M.C.J. (2018). The Transmissibility of Antibiotic-Resistant *Enterobacteriaceae* in Intensive Care Units. *Clin. Infect. Dis.*, 66(4):489-493.
- 6) Jang, J., Hur, H.G., Sadowsky, M.J., Byappanahalli, M.N., Yan, T., Ishii, S. (2017). Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications-a review. *J. Appl. Microbiol.*, 123(3):570-581.
- 7) Jehl, F., Chabaud, A., Grillon, (2015). L'antibiogramme : diamètres ou CMI ? *J. Anti-infect.*, 17(4): 125-139.
- 8) McArthur, D.B. (2019). Emerging Infectious Diseases. *Nurs. Clin. North. Am.*, 54(2):297-311.
- 9) Moon, J.Y., Kim, S.J., Moon, M.H., Chung, B.B., Choi, M.H. (2013). Differential estimation of isomeric 2- and 4-methoxylated estrogens in serum by matrix-assisted laser desorption ionization-tandem mass spectrometry. *Analytical sciences. JSAC.*, 29:345-351.
- 10) Nedjai, S., Barguigua, A., Djahmi, N., Jamali, L., Zerouali, K., Dekhil, M., *et al.* (2012). Prevalence and characterization of extended spectrum β -lactamases in *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* group bacteria, in Algeria. *Med. Mal. Infect.*, 42(1):20-29.
- 11) Patel, R. (2013). Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in clinical microbiology. *Clin. Infect. Dis.*, 57(4):564-572.
- 12) Riley, L.W. (2018). Laboratory Methods in Molecular Epidemiology: Bacterial Infections. *Microbiol. Spectr.*, 2018 Nov, 6(6).
- 13) Singhal, N., Kumar, M., Kanaujia, P.K., Viridi, J.S. (2015). MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Front. Microbiol.*, 6:791.

- 14) Westblade, L.F., Jennemann, R., Branda, J.A., Bythrow, M., Ferraro, M.J., Garner, O.B., et al (2013). Multicenter study evaluating the Vitek MS system for identification of medically important yeasts. *J. Clin. Microbiol.*, 51(7):2267-2272.
- 15) Wilson, H., Török, M.E. (2018). Extended-spectrum β -lactamase-producing and carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Microb. Genom.*, 4(7): e000197.