

UNIVERSITE DE YAOUNDE I
UNIVERSITY OF YAOUNDE I
CENTRE DE RECHERCHE ET
FORMATION DOCTORALE
EN SCIENCES DE LA VIE,
SANTE ET ENVIRONNEMENT



FACULTE DES SCIENCES
FACULTY OF SCIENCE
GRADUATE PROGRAM FOR
LIFE SCIENCES, HEALTH
AND ENVIRONMENT

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

LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE ANIMALE
LABORATORY OF PHYSIOLOGY

Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* Poir. (Lamiaceae) et de ses fractions sur l'hépatopathie induite par l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris BALB/c

Thèse présentée et soutenue publiquement en vue de l'obtention du diplôme de
Doctorat / Ph.D. en Biologie des Organismes Animaux
Option : Physiologie Animale

Par

KENFACK Christian Mérimé

Matricule : 08Q1252

Master ès Sciences

Devant le jury constitue ainsi qu'il suit :

Président : DIMO Théophile, Professeur

Université de Yaoundé I;

Rapporteurs : TCHUEM TCHUENTE Louis-Albert, Professeur

Université de Yaoundé I;

DZEUFIET DJOMENI Paul Désiré, Professeur

Université de Yaoundé I;

Membres : AGBOR Gabriel, Directeur de Recherche

Institute of Medical
Research and Medicinal
Plants Studies (IMPM);

JATSA BOUKENG Hermine
Maître de Conférences

Université de Yaoundé I;

DJIOGUE Séfirin

Université de Yaoundé I.

Maître de Conférences

Année académique 2022-2023



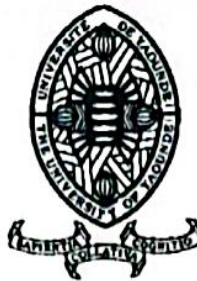
REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix-Travail-Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTÉ DES SCIENCES

BP : 812 – Yaoundé
Tél : (237) 242-23-95-84
Fax : (237) 242-23-44-96



REPUBLIC OF CAMEROUN

Peace-Work-Fatherland

THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

P.O.Box : 812 – Yaoundé
Phone number: (237) 242-23-95-84
Fax : (237) 242-23-44-96

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

ATTESTATION DE CORRECTION

Nous soussignés, membres du jury de la soutenance de thèse de Doctorat/Ph.D. en **Biologie des Organismes Animaux**, Option : **Physiologie Animale**, de Monsieur **KENFACK Christian Mérimé**, matricule 08Q1252, soutenance autorisée par la correspondance N°2023-488/UY1/VREPDTIC/DAAC/DEPE/SPD/SPDA/Alc du Recteur de l'Université de Yaoundé I en date du 13 Juin 2023 sur le sujet intitulé : « **Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* Poir. (Lamiaceae) et de ses fractions sur l'hépatopathie induite par l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris BALB/c** », attestons que les corrections exigées au candidat lors de cette évaluation qui a eu le lieu le mercredi 05 Juillet 2023, dans la salle multimédia de la Faculté des Sciences, ont réellement été effectuées.

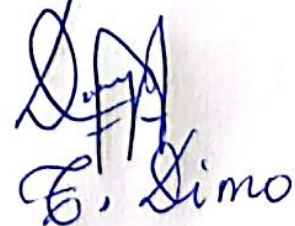
En foi de quoi, la présente attestation lui est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Fait à Yaoundé, le **02 OCT 2023**

L'Examineur


Sefirin TJIOGUE, PhD
Associate Professor
University of Yaoundé I

Le Président du jury


E. Simo




Charles Félic Bilong Bilong
Professeur

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

Faculté des Sciences

Division de la Programmation et du
Suivi des Activités Académiques



UNIVERSITY OF YAOUNDE I

Faculty of Science

Division of Programming and Follow-up
of Academic Activities

LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS

LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF

ANNEE ACADEMIQUE 2022/2023

(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION 31 Mai 2023

ADMINISTRATION

DOYEN : TCHOUANKEU Jean-Claude, *Maître de Conférences*

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

VICE-DOYEN / DSSE : NYEGUE Maximilienne Ascension, *Professeur*

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

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

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

1- DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (43)			
N°	NOMS ET PRENOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	BIGOGA DAIGA Jude	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	KANSCI Germain	Professeur	En poste
4	MBACHAM FON Wilfred	Professeur	En poste
5	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	Chef de Département
6	NGUEFACK Julienne	Professeur	En poste
7	NJAYOU Frédéric Nico	Professeur	En poste
8	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste
9	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10	ATOGHO Barbara MMA	Maître de Conférences	En poste
11	AZANTSA KINGUE Gabin Boris	Maître de Conférences	En poste
12	BELINGA née NDOYE FOE F. M. C.	Maître de Conférences	<i>Chef DAF / FS</i>
13	DJUIDJE NGOUNOUE Marceline	Maître de Conférences	En poste
14	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Maître de Conférences	En poste
15	EFFA ONOMO Pierre	Maître de Conférences	<i>VD/FS/Univ Ebwa</i>
16	EWANE Cécile Annie	Maître de Conférences	En poste
17	KOTUE TAPTUE Charles	Maître de Conférences	En poste
18	LUNGA Paul KEILAH	Maître de Conférences	En poste
19	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Maître de Conférences	En poste
20	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	<i>Doyen FS / UDs</i>
21	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
22	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
23	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste
24	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
25	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste

26	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Chargé de Cours	En poste
27	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
28	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
29	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
30	FOUPOUAPOUOGNIGNI Yacouba	Chargé de Cours	En poste
31	KOUOH ELOMBO Ferdinand	Chargé de Cours	En poste
32	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
33	OWONA AYISSI Vincent Brice	Chargé de Cours	En poste
34	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
35	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En poste
36	WILFRED ANGIE ABIA	Chargé de Cours	En poste
37	BAKWO BASSOGOG Christian Bernard	Assistant	En Poste
38	ELLA Fils Armand	Assistant	En Poste
39	EYENGA Eliane Flore	Assistant	En Poste
40	MADIESSE KEMGNE Eugenie Aimée	Assistant	En Poste
41	MANJIA NJIKAM Jacqueline	Assistant	En Poste
42	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistant	En poste
43	WOGUIA Alice Louise	Assistant	En Poste
2- DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (52)			
1	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	<i>DAARS/FS</i>
2	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	<i>Chef de Département</i>
3	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5	DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré	Professeur	En Poste
6	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>CD et Vice Doyen/FMSB/UYY</i>
7	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
8	KEKEUNOU Sévior	Professeur	En poste
9	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
10	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
11	NOLA Moïse	Professeur	En poste
12	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
13	TCHUEM TCHUENTE Louis-Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service / Coord.Progr./MINSANTE</i>
14	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	En poste
15	ALENE Désirée Chantal	Maître de Conférences	<i>Vice Doyen/ Uté Ebwa</i>
16	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
17	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
18	GOUNOUE KAMKUMO Raceline épouse FOTSING	Maître de Conférences	En poste
19	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHE	Maître de Conférences	En Poste
20	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Maître de Conférences	En poste
21	MAHOB Raymond Joseph	Maître de Conférences	En poste
22	MBENOUN MASSE Paul Serge	Maître de Conférences	En poste
23	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
24	MOUNGANG Luciane Marlyse	Maître de Conférences	En poste
25	NOAH EWOTI Olive Vivien	Maître de Conférences	En poste
26	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
27	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
28	NGUEMBOCK	Maître de Conférences	En poste

29	TAMSA ARFAO Antoine	Maître de Conférences	En poste
30	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste
31	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
32	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Chargé de Cours	En poste
33	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
34	FEUGANG YOUNSSI François	Chargé de Cours	En poste
35	FOKAM Alvine Christelle Epse KENGNE	Chargé de Cours	En poste
36	GONWOUO NONO Legrand	Chargé de Cours	En poste
37	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
38	KOGA MANG DOBARA	Chargé de Cours	En poste
39	LEME BANOCK Lucie	Chargé de Cours	En poste
40	MAPON NSANGOU Indou	Chargé de Cours	En poste
41	METCHI DONFACK Mireille Flaure EPSE GHOUMO	Chargé de Cours	En poste
42	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
43	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
44	NJUA Clarisse YAFI	Chargée de Cours	<i>Chef Div. Uté Bamenda</i>
45	NWANE Philippe Bienvenu	Chargé de Cours	En poste
46	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
47	YEDE	Chargé de Cours	En poste
48	YOUNOUSSA LAME	Chargé de Cours	En poste
49	AMBADA NDZENGUE GEORGIA Elna	Assistante	En poste
50	KODJOM WANCHE Jacguy Joyce	Assistante	En poste
51	NDENGUE Jean De Matha	Assistant	En poste
52	ZEMO GAMO Franklin	Assistant	En poste
3- DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VEGETALES (BPV) (34)			
1	AMBANG Zachée	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
3	MBOLO Marie	Professeur	En poste
4	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
5	YOUNBI Emmanuel	Professeur	En poste
6	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste
7	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
8	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
9	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Maître de Conférences	En poste
10	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
11	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	<i>DAAC /UDla</i>
12	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	En poste
13	NGALLE Hermine BILLE	Maître de Conférences	En poste
14	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Maître de Conférences	En poste
15	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	<i>CT / MINRESI</i>
16	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
17	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
18	ONANA Jean Michel	Maître de Conférences	En poste
19	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
20	GONMADGE Christelle	Chargée de Cours	En poste
21	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
22	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
23	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
24	NSOM ZAMBO EPSE PIAL AnnieClaude	Chargé de Cours	<i>En détachement/ UNESCO MALI</i>
25	GODSWILL NTSOMBOH NTSEFONG	Chargé de Cours	En poste
26	KABELONG BANAHOU Louis-Paul Roger	Chargé de Cours	En poste

27	KONO Léon Dieudonné	Chargé de Cours	En poste
28	LIBALAH Moses BAKONCK	Chargé de Cours	En poste
29	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Chargé de Cours	En poste
30	TAEDOUNG Evariste Hermann	Chargé de Cours	En poste
31	TEMEGNE NONO Carine	Chargé de Cours	En poste
32	MANGA NDJAGA Jude	Assistant	En poste
33	DIDA LONTSI Sylvere Landry	Assistant	En poste
34	METSEBING Blondo-Pascal	Assistant	En poste
4- DEPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (28)			
1	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé de Mission PR</i>
2	NANSEU NJIKI Charles Péguy	Professeur	En poste
3	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
4	NENWA Justin	Professeur	En poste
5	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>Doyen FS Univ.Ngaoundere</i>
6	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancellor/UB</i>
7	NJOYA Dayirou	Professeur	En poste
8	ACAYANKA Elie	Maître de Conférences	En poste
9	EMADAK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
10	KAMGANG YOUNBI Georges	Maître de Conférences	En poste
11	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
12	KENNE DEDZO Gustave	Maître de Conférences	En poste
13	MBEY Jean Aime	Maître de Conférences	En poste
14	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	<i>Chef de Département</i>
15	NEBAH Née NDO SIRI Bridget NDOYE	Maître de Conférences	<i>Sénatrice/SENAT</i>
16	NJIOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
17	NYAMEN Linda Dyorisse	Maître de Conférences	En poste
18	PABOUDAM GBAMBIE AWAWOU	Maître de Conférences	En poste
19	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Maître de Conférences	En poste
20	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Maître de Conférences	<i>Chef Service/ ENS Bertoua</i>
21	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Maître de Conférences	En poste
22	KOUOTOU DAOUDA	Maître de Conférences	En poste
23	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
24	NCHIMI NONO KATIA	Chargée de Cours	En poste
25	NJANKWA NJABONG N. Eric	Chargé de Cours	En poste
26	PATOUOSSA ISSOFA	Chargé de Cours	En poste
27	SIEWE Jean Mermoz	Chargé de Cours	En Poste
28	BOYOM TATCHEMO Franck W.	Assistant	En Poste
5- DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (37)			
1	Alex de Théodore ATCHADE	Professeur	<i>Vice-Doyen / DPSAA</i>
2	DONGO Etienne	Professeur	<i>Vice-Doyen/FSE/UYI</i>
3	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	<i>Chef de Département UDS</i>
4	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP/ Chef de Département</i>
5	WANDJI Jean	Professeur	En poste
6	MBAZOA née DJAMA Céline	Professeur	En poste
7	AMBASSA Pantaléon	Maître de Conférences	En poste
8	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste
9	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
10	KAMTO Eutrophe Le Doux	Maître de Conférences	En poste
11	KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste

12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
14	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
15	MVOT AKAK Carine	Maître de Conférences	En poste
16	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	<i>Chef de Cellule MINRESI</i>
17	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	<i>C.E.A/ MINESUP</i>
18	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	<i>DAAC/Uté Bertoua</i>
19	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
20	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
21	TAGATSING FOTSING Maurice	Maître de Conférences	En poste
22	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen /FS/ UYI</i>
23	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
24	ZONDEGOUMBA Ernestine	Maître de Conférences	En poste
25	MESSI Angélique Nicolas	Chargé de Cours	En poste
26	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
27	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
28	NONO NONO Éric Carly	Chargé de Cours	En poste
29	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
30	OUETE NANTCHOUANG Judith Laure	Chargée de Cours	En poste
31	SIELINOUE TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste
32	TCHAMGOUE Joseph	Chargé de Cours	En poste
33	TSAFFACK Maurice	Chargé de Cours	En poste
34	TSAMO TONTSA Armelle	Chargé de Cours	En poste
35	TSEMEUGNE Joseph	Chargé de Cours	En poste
36	MUNVERA MFIFEN Aristide	Assistant	En poste
37	NDOGO ETEME Olivier	Assistant	En poste
6- DEPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (22)			
1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef de Division MINESUP</i>
2	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Inspecteur Général/ MINESUP</i>
3	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
4	TSOPZE Norbert	Maître de Conférences	En poste
5	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	<i>Chef de Cellule MINFOPRA</i>
6	AMINOUE HALIDOU	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
7	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
8	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Chargé de Cours	En poste
9	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
10	HAMZA Adamou	Chargé de Cours	En poste
11	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Chargé de Cours	En poste
12	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
13	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
14	MESSI NGUELE Thomas	Chargé de Cours	En poste
15	MONTHÉ DJIADEU Valéry M.	Chargé de Cours	En poste
16	NZEKON NZEKO'O Armel Jacques	Chargé de Cours	En poste
17	OLLE OLLE Daniel Claude Georges Delort	Chargé de Cours	<i>Sous-Directeur ENSET Ebolowa</i>
18	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
19	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
20	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste

21	MAKEMBE. S . Oswald	Assistant	En poste
22	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste
7- DEPARTEMENT DE MATHEMATIQUES (MA) (33)			
1	AYISSI Raoult Domingo	Professeur	Chef de Département
2	KIANPI Maurice	Maître de Conférences	En poste
3	MBANG Joseph	Maître de Conférences	En poste
4	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
5	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Maître de Conférences	En poste
6	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>Chef Service des Programmes & Diplômes/FS/UJI</i>
7	TAKAM SOH Patrice	Maître de Conférences	En poste
8	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	<i>Directeur/AIMS Rwanda</i>
9	TCHOUNDJA Edgar Landry	Maître de Conférences	En poste
10	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	<i>Chef Cellule MINEPAT</i>
11	BOGSO ANTOINE Marie	Chargé de Cours	En poste
12	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
13	DJIADU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
14	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
15	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
16	LOUMNGAM KAMGA Victor	Chargé de Cours	En poste
17	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
18	MBATAKOU Salomon Joseph	Chargé de Cours	En poste
19	MENGUE MENGUE David Joël	Chargé de Cours	<i>Chef Dpt /ENS Université d'Ebolowa</i>
20	MBIAKOP Hilaire George	Chargé de Cours	En poste
21	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
22	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
23	OGADOA AMASSAYOGA	Chargée de Cours	En poste
24	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	<i>En stage</i>
25	TCHEUTIA Daniel Duviol	Chargé de Cours	En poste
26	TETSADJIO TCHILEPECK M. Eric.	Chargé de Cours	En poste
27	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste
28	FOKAM Jean Marcel	Assistant	En poste
29	GUIDZAVAI KOUCHERE Albert	Assistant	En poste
30	MANN MANYOMBE Martin Luther	Assistant	En poste
31	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
32	NYOUMBI DLEUNA Christelle	Assistant	En poste
33	TENKEU JEUFACK Yannick Léa	Assistant	En poste
8-DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (24)			
1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	Chef de Département
2	NYEGUE Maximilienne Ascension	Professeur	VICE-DOYEN / DSSE
3	ASSAM ASSAM Jean Paul	Maître de Conférences	En poste
4	BOUGNOM Blaise Pascal	Maître de Conférences	En poste
5	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
6	KOUITCHEU MABEKE Epse KOUAM Laure Brigitte	Maître de Conférences	En poste
7	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
8	NJIKI BIKOÏ Jacky	Maître de Conférences	En poste
9	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste
10	ESSONO Damien Marie	Chargé de Cours	En poste

11	LAMYE Glory MOH	Chargé de Cours	En poste
12	MEYIN A EBONG Solange	Chargé de Cours	En poste
13	MONI NDEDI Esther Del Florence	Chargé de Cours	En poste
14	NKOUDOU ZE Nardis	Chargé de Cours	En poste
15	TAMATCHO KWEYANG Blandine Pulchérie	Chargé de Cours	En poste
16	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	<i>Chef de Service de la Scolarité</i>
17	TOBOLBAÏ Richard	Chargé de Cours	En poste
18	NKOUE TONG Abraham	Assistant	En poste
19	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Assistant	En poste
20	EZO'O MENGO Fabrice Télésfor	Assistant	En poste
21	EHETH Jean Samuel	Assistant	En poste
22	MAYI Marie Paule Audrey	Assistant	En poste
23	NGOUENAM Romial Joël	Assistant	En poste
24	NJAPNDOUNKE Bilkissou	Assistant	En poste
9-DEPARTEMENT DE PHYSIQUE (PHY) (43)			
1	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Professeur	En poste
3	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Professeur	Chef Division. UN
4	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
5	HONA Jacques	Professeur	En poste
6	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
7	NANA NBENDJO Blaise	Professeur	En poste
8	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	<i>Chef de Département</i>
9	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	En poste
10	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
11	SAIDOU	Professeur	<i>Chef de centre/IRGM/MINRESI</i>
12	TABOD Charles TABOD	Professeur	<i>Doyen FSUniv/Bda</i>
13	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
14	WOAFO Paul	Professeur	En poste
15	ZEKENG Serge Sylvain	Professeur	En poste
16	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	<i>DG/HYDRO Mekin</i>
17	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
18	ENYEGUE A NYAM épouse BELINGA	Maître de Conférences	En poste
19	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
20	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
21	MBINACK Clément	Maître de Conférences	En poste
22	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Maître de Conférences	En poste
23	MELI'I Joelle Larissa	Maître de Conférences	En poste
24	MVOGO ALAIN	Maître de Conférences	En poste
25	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
26	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
27	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
28	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
29	WAKATA née BEYA Annie Sylvie	Maître de Conférences	<i>Directeur/ENS/UYI</i>
30	WOULACHE Rosalie Laure	Maître de Conférence	<i>En stage depuis février 2023</i>
31	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
32	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Chargé de Cours	En poste
33	CHAMANI Roméo	Chargé de Cours	En poste

34	DJIOTANG TCHOTCHOU Lucie Angennes	Chargée de Cours	En poste
35	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
36	FOUEJIO David	Chargé de Cours	<i>Chef Cell. MINADER</i>
37	KAMENI NEMATCHOUA Modeste	Chargé de Cours	En poste
38	LAMARA Maurice	Chargé de Cours	En poste
39	OTTOU ABE Martin Thierry	Chargé de Cours	Directeur Unité de production des réactifs/IMPM
40	TEYOU NGOUPO Ariel	Chargé de Cours	En poste
41	WANDJI NYAMSI William	Chargé de Cours	En poste
42	NGA ONGODO Dieudonné	Assistant	En poste
43	SOUFFO TAGUEU Merimé	Assistant	En poste
10- DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (43)			
1	BITOM Dieudonné-Lucien	Professeur	<i>Doyen / FASA /UDs</i>
2	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Professeur	En poste
3	NDJIGUI Paul-Désiré	Professeur	<i>Chef de Département</i>
4	NGOS III Simon	Professeur	En poste
5	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
6	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
7	ONANA Vincent Laurent	Professeur	<i>Chef de Département/ Universit Ebolowa</i>
8	YENE ATANGANA Joseph Q.	Professeur	<i>Chef Div. /MINTP</i>
9	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
10	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	En poste
11	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	<i>Chef Div./Uté Ebolowa</i>
12	Elisé SABABA	Maître de Conférences	En poste
13	FUH Calistus Gentry	Maître de Conférences	<i>Sec. d'Etat/MINMIDT</i>
14	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
15	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	<i>Chef de Div. /Uté Bertoua</i>
16	MBIDA YEM	Maître de Conférences	En poste
17	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/MINIMDT</i>
18	NGO BIDJECK Louise Marie	Maître de Conférences	En poste
19	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	<i>CEA/MINRESI</i>
20	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
21	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
22	TCHAKOUNTE Jacqueline épouse NUMBEM	Maître de Conférences	<i>Chef. Cell /MINRESI</i>
23	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
24	TEMGA Jean Pierre	Maître de Conférences	En poste
25	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>
26	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
27	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
28	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
29	EYONG John TAKEM	Chargé de Cours	En poste
30	MAMDEM TAMTO Lionelle Estelle, épouse BITOM	Chargée de Cours	En poste
31	MBESSE Cécile Olive	Chargée de Cours	En poste
32	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
33	MINYEM Dieudonné	Chargé de Cours	<i>Chef Serv./Uté Maroua</i>
34	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste

35	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
36	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargée de Cours	En poste
37	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
38	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
39	FEUMBA Roger	Chargé de Cours	En poste
40	MBANGA NYOBE Jules	Chargé de Cours	En poste
41	KOAH NA LEBOGO Serge Parfait	Assistant	En poste
42	NGO'O ZÉ Arnaud	Assistant	En poste
43	TENE DJOUKAM Joëlle Flore, épouse KOUANKAP NONO	Assistante	En poste

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

NOMBRE D'ENSEIGNANTS

DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
BCH	8 (01)	15 (11)	13 (03)	7 (05)	43 (20)
BPA	14 (01)	16 (09)	18 (04)	4 (02)	52 (16)
BPV	6 (01)	12 (02)	13 (07)	3 (00)	34 (10)
CI	7 (01)	15 (04)	5 (01)	1 (00)	28 (06)
CO	6 (01)	18 (04)	11 (04)	2 (00)	37 (09)
IN	2 (00)	2 (00)	14 (01)	4 (00)	22 (01)
MAT	1 (00)	8 (00)	17 (01)	7 (02)	33 (03)
MIB	2 (01)	7 (03)	8 (04)	7 (02)	24 (10)
PHY	15 (01)	15 (04)	11 (01)	2 (00)	43 (06)
ST	8 (00)	17 (03)	15 (04)	3 (01)	43 (08)
Total	69 (07)	125 (40)	125 (30)	40 (12)	359 (89)

Soit un total de

359 (89) dont :

- Professeurs **69 (07)**
- Maîtres de Conférences **125 (40)**
- Chargés de Cours **125 (30)**
- Assistants **40 (12)**

() = Nombre de Femmes

89

DEDICACE

A

mon père

Monsieur KENFACK Joseph

&

mes grandes sœurs

TSAKENG Suzi Damar et KENFACK VOUKENG epse DJIYA Ruth

partis trop tôt ... Reposez en paix mes très chers !

REMERCIEMENTS

Le présent travail a été réalisé conjointement au Laboratoire de Physiologie Animale et au Laboratoire de Parasitologie et Ecologie du Département de Biologie et Physiologie Animales de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I.

Pour la santé et la résilience dont il m'a fait grâce tout au long de ce travail, je remercie le Dieu de mes ancêtres.

J'adresse mes remerciements au Professeur TCHUEM TCHUENTE Louis-Albert, qui m'a accueilli dans son centre de recherche, le Centre Schistosomiasis et Parasitologie (CSP) de Yaoundé et a codirigé ce travail. Votre rigueur scientifique et votre souci du travail bien fait ont permis le bon déroulement de ce travail. Merci pour toute la logistique mise à ma disposition. Recevez l'expression de ma profonde gratitude.

Mes remerciements au Professeur DZEUFIET DJOMENI Désiré, codirecteur de ce travail. Vos directives, vos encouragements permanents, votre disponibilité et votre sens de l'écoute ont permis que les travaux se déroulent avec sérénité.

Professeur JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHE, recevez mes remerciements. Vous guidez mes pas dans la recherche depuis plus d'une décennie. Merci de m'avoir accueilli au sein de votre équipe de recherche et d'avoir veillé minutieusement à ce que mes travaux se déroulent suivant la rigueur scientifique qui vous caractérise. Merci pour tout Professeur !

Aux enseignants du Département de Biologie et Physiologie Animales de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I, j'adresse mes remerciements pour les enseignements dispensés. Un merci particulier au Professeur KAMTCHOUING Pierre pour les encouragements, et surtout pour le microscope inverse mis à notre disposition afin que nous puissions réaliser une partie déterminante de ce travail. Merci aux Professeurs NGUEUGUIM TSOFAK Florence, DJIOGUE Séfirin et BILANDA Danielle Claude ainsi qu'aux Docteurs ATSAMO Albert et NGOUATEU KENFACK Omer Bebe pour leurs constants encouragements.

Merci à l'équipe du Professeur DONGO Etienne du Département de Chimie Organique de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I, pour la préparation de l'extrait de la plante et des fractions utilisés dans ce travail. Merci particulier à DONGMO TSAGUE Christelle pour son expertise et sa disponibilité.

Mes remerciements au personnel et aux stagiaires du Centre Schistosomiasis et Parasitologie, en particulier Dr FEUSSOM Nestor, mon binôme de toujours, pour sa franche collaboration et son esprit d'équipe. Pour leur assistance durant la réalisation de ce travail, j'adresse mes remerciements à Mmes et Ms DONGMO Calvine, FASSI Joseph, SIMO Distelle, NKONDO Emilienne, Dr FEMOE Ulrich, MOABOULOU Cyriaque, ELOUNDOU Roland et

DJOMKAM Nelly. Pour leurs encouragements, j'adresse mes remerciements à Mmes et Ms TCHUENKOM Samuel, LIEHEU Germaine, NGATOU Blandine et NAOUSSI Roméo.

Pour leurs encouragements, j'adresse mes remerciements au Professeur SUMO Laurentine ainsi qu'aux Docteurs ABDOU Jean Pierre, KAMENI Mireille, POLLA Euphrasie, NGASSAM Romuald, LUOGBOU NZU De Guy D'Or, ZE MINKOULOU Mireille, NDONOU Michèle, SOUPI Marietta, ENDOUGOU EFFA Anne Marie et NOUKEU Bibiche.

Je remercie l'association Pathologie, Cytologie et Développement (PCD), particulièrement le Dr CANNET Cathérine, pour la réalisation des différentes coupes histologiques ; ainsi que la Fondation Internationale pour la Science (FIS) pour son appui matériel dans la réalisation d'une partie de ce travail à travers le financement F/3622-2F octroyé au Professeur JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHE.

Merci à ma mère Mme veuve KENFACK née MEGNIJIO Jacqueline pour tous les sacrifices consentis durant mon parcours académique ; que ce travail soit pour toi un motif de fierté. Je remercie mon oncle M. MOMO David, ses épouses et leurs enfants pour leur aimable hospitalité. Mes remerciements à mes frères et sœurs, mes oncles et tantes, mes cousins et cousines pour leurs encouragements.

Pour leurs encouragements, j'adresse mes remerciements aux personnes suivantes : Mmes et Ms MBOLANG Lohik, FIFEN Rodrigue, UM NYOBE Corinne, NGUEPKAP Alex, NGANG Sharon, NGUE Monique, BIYONG Martin, MBAKOP Guy, AZEBAZE William ; ainsi que les membres des associations SERAIL, BA4-SOLIDARITE et DREAM TEAM.

Vous êtes nombreux qui, par un mot d'encouragement ou une prière bienveillante à mon intention, avez contribué à la réussite de ce travail. L'omission de vos noms ne saurait être considérée comme du mépris. Sentez-vous particulièrement salués par ce paragraphe et acceptez par la même occasion mes remerciements.

« Le danger qui menace les chercheurs aujourd'hui
serait de conclure qu'il n'y a plus rien à découvrir. »
Pierre Joliot-Curie

SOMMAIRE

LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS	i
DEDICACE	x
REMERCIEMENTS	xi
SOMMAIRE	xiii
LISTE DES FIGURES	xv
LISTE DES TABLEAUX	xvii
LISTE DES ABREVIATIONS	xviii
RESUME	xix
ABSTRACT	xxi
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE	4
I-1-Généralités sur la schistosomiase	4
I-1-1-Définition, classification, répartition géographique.....	4
I-1-2-Biologie et physiologie de <i>Schistosoma mansoni</i>	5
I-1-3-Manifestations cliniques de la schistosomiase à <i>Schistosoma mansoni</i>	9
I-1-4-Diagnostic de la schistosomiase à <i>Schistosoma mansoni</i>	10
I-2-Schistosomiase à <i>Schistosoma mansoni</i> et hépatopathie	11
I-2-1-Généralités sur le foie.....	11
I-2-2-Physiopathologie hépatique.....	13
I-2-3-Granulome bilharzien et fibrose hépatique.....	14
I-3-Schistosomiase à <i>Schistosoma mansoni</i> et stress oxydant	15
I-3-1-Généralités sur le stress oxydant.....	15
I-3-2-Stress oxydant dans l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i>	21
I-4-Contrôle de la schistosomiase à <i>Schistosoma mansoni</i>	22
I-4-1-Contrôle de la transmission.....	22
I-4-2-Contrôle de la morbidité.....	23
I-4-3-Recherche vaccinale.....	23
I-5-Notions de toxicité	23
I-5-1-Etudes expérimentales <i>in vitro</i> : cytotoxicité.....	24
I-5-2-Etudes expérimentales <i>in vivo</i>	25
I-6-Generalités sur <i>Clerodendrum umbellatum</i>	30
I-6-1-Systématique.....	30
I-6-2-Description et répartition géographique.....	31
I-6-3-Usages ethnobotaniques et travaux scientifiques antérieurs.....	31
CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES	33
II-1-Matériel biologique	33
II-1-1-Matériel végétal.....	33
II-1-2-Matériel animal.....	33
II-2-Méthodes	34

II-2-1-Préparation de l'extrait aqueux et de ses fractions	34
II-2-2-Screening phytochimique qualitatif	35
II-2-3-Screening phytochimique quantitatif	36
II-2-4-Réalisation du cycle expérimental de <i>Schistosoma mansoni</i>	41
II-2-5-Évaluation de l'activité schistosomicide <i>in vitro</i> de l'extrait aqueux de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et de ses fractions	44
II-2-6-Protocole de l'évaluation de l'impact du traitement à l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> ou à la fraction méthanolique sur l'hépatopathie induite par l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i>	48
II-2-7-Evaluation de l'activité schistosomicide <i>in vivo</i> de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et de sa fraction méthanolique	52
II-2-8-Evaluation des effets du traitement à l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et à sa fraction méthanolique sur la fonction hépatique de souris infestées à <i>Schistosoma mansoni</i>	53
II-2-9-Evaluation de l'activité antioxydante de <i>Clerodendrum umbellatum</i>	57
II-2-10-Evaluation de l'activité antiinflammatoire de <i>Clerodendrum umbellatum</i>	62
II-2-11-Evaluation du profil de toxicité de <i>Clerodendrum umbellatum</i>	65
II-2-12-Analyses statistiques	71
CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION	72
III-1-Résultats	72
III-1-1-Activité schistosomicide <i>in vitro</i> de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et ses fractions sur des vers adultes de <i>Schistosoma mansoni</i>	72
III-1-2-Activité schistosomicide <i>in vivo</i> de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et de sa fraction méthanolique chez des souris infestées à <i>Schistosoma mansoni</i>	76
III-1-3-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et de sa fraction méthanolique sur quelques biomarqueurs de la fonction hépatique dans l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i>	82
III-1-4-Activité antioxydante de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et de sa fraction méthanolique.....	85
III-1-5-Activité antiinflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum</i> <i>umbellatum</i> et de sa fraction méthanolique dans l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i>	88
III-1-6-Profil de toxicité de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i>	94
III-1-7-Etude phytochimique de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum</i> <i>umbellatum</i> et de ses fractions.....	103
III-2-Discussion	104
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	116
REFERENCES	118
PUBLICATIONS ISSUES DE LA THESE	133

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Cycle évolutif des schistosomes	7
Figure 2 : Coupe histologique d'un lobule hépatique.	12
Figure 3 : Granulome bilharzien hépatique.	15
Figure 4 : Principales sources endogènes d'espèces réactives oxygénées et nitrogenées.	17
Figure 5 : Les pathologies associées aux espèces réactives oxygénées.	21
Figure 6 : Coupe histologique du rein, surface profonde du cortex.	28
Figure 7 : <i>Clerodendrum umbellatum</i>	31
Figure 8 : Protocole de préparation de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et de ses fractions.	35
Figure 9 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	37
Figure 10 : Courbe d'étalonnage de la rutine.	38
Figure 11 : Courbe d'étalonnage des protéines totales.	40
Figure 12 : Courbe d'étalonnage de l'acide tannique.	41
Figure 13 : Protocole expérimental de l'évaluation du traitement à l'extrait aqueux de <i>Clerodendrum umbellatum</i> ou à sa fraction méthanolique sur la pathologie induite par <i>Schistosoma mansoni</i>	51
Figure 14 : Courbes d'étalonnage de l'ALAT et de l'ASAT.	55
Figure 15 : Courbe d'étalonnage de la catalase.	60
Figure 16 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et ses fractions sur la mortalité des vers adultes de <i>Schistosoma mansoni</i>	73
Figure 17 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et ses fractions sur l'activité motrice vers adultes de <i>Schistosoma mansoni</i>	75
Figure 18 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et de sa fraction méthanolique sur la charge parasitaire.	79
Figure 19 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et de sa fraction méthanolique sur la charge ovulaire fécale.	80
Figure 20 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et de sa fraction méthanolique sur la charge ovulaire hépatique.	81
Figure 21 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et de sa fraction méthanolique sur la charge ovulaire intestinale.	82
Figure 22 : Activité antiradicalaire de l'extrait aqueux de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et de sa fraction méthanolique vis-à-vis du 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl.	85
Figure 23 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et de sa fraction méthanolique sur la concentration du malondialdéhyde.	86
Figure 24 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et de sa fraction méthanolique sur l'activité de la catalase.	87

Figure 25 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et de sa fraction méthanolique sur la concentration du glutathion réduit.....	88
Figure 26 : Coupes histologiques du foie de souris témoins sains (TS), témoins négatifs (TN) et témoins positifs (PZQ) colorées à l'hématoxyline-éosine (A) ou au picrosirius (B et C).	90
Figure 27 : Coupes histologiques du foie de souris traitées à l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> colorées à l'hématoxyline-éosine (A) ou au picrosirius (B et C).	91
Figure 28 : Coupes histologiques du foie de souris traitées à la fraction méthanolique de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> colorées à l'hématoxyline-éosine (A) ou au picrosirius (B et C).	92
Figure 29 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et de sa fraction méthanolique sur le nombre de granulomes bilharziens.....	93
Figure 30 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et de sa fraction méthanolique sur le volume des granulomes bilharziens.	94
Figure 31 : Variation du poids corporel des souris après administration de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> pendant 28 jours	96
Figure 32 : Coupes histologiques des foies des souris après 28 jours d'administration de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> (Hématoxyline-Eosine x 400).	101
Figure 33 : Coupes histologiques des reins des souris après 28 jours d'administration de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> (Hématoxyline-Eosine x 400).	102

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Préparation de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique	37
Tableau II : Préparation de la gamme d'étalonnage de la rutine	38
Tableau III : Protocole de dosage des protéines totales	40
Tableau IV : Préparation de la gamme d'étalonnage de l'acide tannique	41
Tableau V : Répartition et traitement des souris	49
Tableau VI : Protocole de réalisation des courbes d'étalonnage de l'ALAT et de l'ASAT.....	54
Tableau VII : Protocole de dosage de l'ALAT et de l'ASAT dans les échantillons	55
Tableau VIII : Protocole de dosage de la bilirubine totale	56
Tableau IX : Protocole de réalisation de la courbe d'étalonnage de la catalase	60
Tableau X : Protocole de dosage du cholestérol total	69
Tableau XI : Protocole de dosage du cholestérol HDL	70
Tableau XII : Protocole de dosage de la créatinine sérique.....	70
Tableau XIII : Concentrations létales 50 (CL ₅₀) de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et de ses fractions	74
Tableau XIV : CI ₅₀ de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et sa fraction méthanolique	76
Tableau XV : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et de sa fraction méthanolique sur le poids corporel des souris	77
Tableau XVI : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et de sa fraction méthanolique sur les poids relatifs du foie et de la rate.....	78
Tableau XVII : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et de sa fraction méthanolique sur quelques biomarqueurs de la fonction hépatique.84	
Tableau XVIII : Poids corporel et poids relatifs des organes vitaux après administration de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> à la dose de 2000 mg/kg.....	94
Tableau XIX : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> sur le poids relatif de quelques organes après 28 jours d'administration.....	97
Tableau XX : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> sur quelques paramètres hématologiques après 28 jours d'administration	98
Tableau XXI : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> sur quelques paramètres biochimiques après 28 jours d'administration.....	99
Tableau XXII : Screening phytochimique qualitatif de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et ses fractions	103
Tableau XXIII : Résultats du screening phytochimique quantitatif de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Clerodendrum umbellatum</i> et sa fraction méthanolique	103

LISTE DES ABREVIATIONS

ALAT	: Alanine Amino Transférase
ASAT	: Aspartate Amino Transférase
<i>C. umbellatum</i>	: <i>Clerodendrum umbellatum</i>
CAT	: Catalase
CI₅₀	: Concentration inhibitrice 50
CL₅₀	: Concentration létale 50
CSP	: ‘‘Centre for Schistosomiasis and Parasitology’’
DL₅₀	: Dose létale 50
DMSO	: Diméthylsulfoxyde
DOCC	: ‘‘Depletion-operated calcium channel’’
DPPH	: ‘‘2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl’’
EDTA	: ‘‘Ethylenediaminetetraacetic acid’’
EROs	: Espèces réactives de l’oxygène
GMEM	: ‘‘Glasgow minimum essential medium’’
GSH	: Glutathion réduit
MDA	: Malondialdéhyde
MINSANTE	: Ministère de la Santé Publique
OCDE	: Organisation de Coopération et de Développement Economiques
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
PNLSHI	: Programme National de Lutte contre la Schistosomiasis et les Helminthiases intestinales
PZQ	: Praziquantel
<i>S. mansoni</i>	: <i>Schistosoma mansoni</i>
WHO	: ‘‘World Health Organization’’

RESUME

La schistosomiase est une affection parasitaire causée par des vers adultes appelés schistosomes. Le praziquantel (PZQ) est le médicament antibilharzien de choix. Cependant, son utilisation intensive pourrait conduire au développement de la résistance par certaines souches de schistosomes ; d'où la nécessité de rechercher de nouvelles molécules alternatives et/ou complémentaires au PZQ. L'objectif de cette étude était d'évaluer les activités schistosomicide, antioxydante et antiinflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* Poir. (Lamiaceae) et de ses fractions chez la souris BALB/c infestée à *Schistosoma mansoni*. La première partie de cette étude portait sur l'évaluation de l'activité schistosomicide *in vitro* de l'extrait aqueux (EA) et de ses fractions. Pour ce faire, l'EA aux concentrations de 125, 250, 500, 1000, 2000 et de 4000 µg/mL, ainsi que ses fractions au *n*-hexane, à l'acétate d'éthyle, au méthanol et le résidu aqueux aux concentrations de 62,5 , 125 , 250 , 500 , 1000 et de 2000 µg/mL ont été testés pendant 48h sur des vers adultes de *S. mansoni*. Cinq vers mâles et cinq vers femelles étaient placés dans des puits contenant du milieu de culture "Glasgow Minimum Essential Medium" (GMEM) renfermant les différentes substances à tester. Les paramètres évalués étaient la mortalité des vers et la réduction de l'activité motrice des vers survivants. La cytotoxicité de l'EA et de la fraction méthanolique (FM) a été évaluée sur des cellules hépatiques de mélanomes de souris C57/L. L'étude phytochimique de l'extrait et de ses fractions a été réalisée. Compte tenu des résultats de l'étude *in vitro*, des essais *in vivo* ont été réalisés avec l'EA et sa FM. Ainsi, des souris BALB/c infestées chacune à 50 cercaires de *S. mansoni* ont reçu quotidiennement par voie orale, à partir du 36^{ème} jour post-infestation, l'EA ou la FM pendant 28 jours aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg. Les souris du groupe témoins positifs ont reçu le PZQ à la dose de 100 mg/kg/jour pendant 5 jours suivi de l'eau distillée jusqu'au 28^{ème} jour. Les souris ont été sacrifiées au 65^{ème} jour post-infestation. Le poids corporel, les poids relatifs du foie et de la rate, ainsi que la charge parasitaire et les charges ovulaires fécale, hépatique, intestinale ont été déterminés pour évaluer l'activité schistosomicide. Pour évaluer l'atteinte de la fonction hépatique, les activités des transaminases et de la phosphatase alcaline, ainsi que les concentrations de la bilirubine totale et des protéines totales ont été évaluées. Le potentiel antiinflammatoire de l'EA et de sa FM a été évalué en déterminant le nombre et le volume des granulomes bilharziens hépatiques. La capacité antioxydante a été déterminée par la mesure des concentrations du malondialdéhyde (MDA) et du glutathion réduit (GSH), ainsi que de l'activité de la catalase (CAT). Afin de déterminer le profil de toxicité de *C. umbellatum*, nous avons évalué la toxicité aiguë de l'extrait aqueux à la dose de 2000 mg/kg ainsi que sa toxicité à doses répétées de 28 jours aux doses de 200, 400 et de 800 mg/kg. Après le sacrifice, les paramètres hématologiques, biochimiques et histopathologiques ont été examinés. Les résultats de cette étude ont montré que *in vitro*, l'EA et ses fractions ont causé

la mort des vers avec un taux de mortalité variant de 33,52 à 100 %. La concentration létale 50 (CL₅₀) de l'EA était de 805,21 µg/mL. La CL₅₀ la plus faible, 343,1 µg/mL était celle de la FM. Par conséquent, cette fraction était plus active. Quant à l'activité motrice, l'EA et ses fractions ont entraîné une réduction de la motilité des vers ; avec des taux de réduction allant de 17,08 % à 100 %. Concernant la cytotoxicité, avec une concentration inhibitrice 50 (CI₅₀) de 876,88 µg/mL, la FM était moins cytotoxique que l'EA dont la CI₅₀ était de 410,82 µg/mL. *In vivo*, l'EA et la FM ont entraîné une réduction significative de la charge parasitaire à toutes les doses. Chez les animaux traités à FM400, la réduction était de 96,94 %, valeur supérieure à celle du groupe traité au PZQ qui était de 86,71%. Les charges ovulaires fécale, hépatique et intestinale étaient significativement réduites après le traitement à l'EA ou à sa FM. Une réduction significative de l'hépatosplénomégalie a été enregistrée après les deux traitements. Concernant la fonction hépatique, il a été enregistré une réduction significative de l'activité de l'ALAT (p<0,001) à toutes les doses. La réduction de l'activité de l'ASAT était significative uniquement chez les animaux traités à l'EA (p<0,001), tandis que l'augmentation de la concentration des protéines totales était significative uniquement chez les animaux traités à la FM (p<0,001). Le potentiel antiinflammatoire des deux substances s'est manifesté par une réduction significative du nombre et du volume des granulomes bilharziens hépatiques. Ces réductions ont été confirmées par l'analyse des coupes histologiques de foie qui a mis en évidence une réduction du nombre de granulomes bilharziens et du dépôt des fibres de collagène dans le foie. Concernant le stress oxydant lié à l'infection à *S. mansoni*, l'administration de l'EA ou de sa FM a empêché de façon significative l'élévation de la concentration du MDA (p<0,001). Les deux traitements ont augmenté significativement l'activité de la CAT et la concentration du GSH à EA100 (p<0,05) et à toutes les doses pour la FM. Quant au profil de toxicité, à la dose de 2000 mg/kg, l'EA n'a provoqué aucune mortalité, ce qui a permis de le classer dans la catégorie des plantes relativement non toxiques. En administration répétée de 28 jours, l'EA n'a causé aucune mortalité, n'a pas impacté le poids relatif des organes vitaux, n'a pas interféré avec le système hématopoïétique et n'a pas eu un impact considérable sur le foie. Les atteintes hépatiques et rénales enregistrées étaient réversibles après l'arrêt de l'administration de l'extrait. Cette étude a montré que l'EA et sa FM possèdent des activités schistosomicide, hépatoprotectrice, antioxydante et antiinflammatoire contre l'infection à *Schistosoma mansoni*. Ces activités sont probablement liées aux composés bioactifs identifiés durant l'étude phytochimique qualitative, notamment les alcaloïdes, les flavonoïdes, les phénols, les saponines, les tanins et les terpenoïdes. Bien que l'EA et sa FM aient présenté des activités pharmacologiques assez proches, nous pouvons considérer l'extrait aqueux à la dose de 100 mg/kg comme étant plus efficace.

Mots clés : *Clerodendrum umbellatum*, *Schistosoma mansoni*, inflammation, fonction hépatique, stress oxydant, toxicité.

ABSTRACT

Schistosomiasis is a parasitic disease caused by adult worms of the genus *Schistosoma*. The intensive use of Praziquantel (PZQ) for the treatment of schistosomiasis has raised concerns about the possible emergence of drug-resistant schistosomes. As drug treatment is an important feature of schistosome control programs, the search for alternative drugs is therefore a priority. The aim of this study was to assess the schistosomicidal, anti-inflammatory and antioxidant activities of *Clerodendrum umbellatum* Poir leaves aqueous extract and its related fractions. The first part of this work focused on *in vitro* evaluation of schistosomicidal activity of *C. umbellatum* leaves aqueous extract (AE) and derived fractions. Five male and five female *Schistosoma mansoni* adult worms were incubated in each well for 48 h in a Glasgow Minimum Essential Medium with *C. umbellatum* aqueous extract (125 to 4000 µg/mL) or its *n*-hexane, ethyl acetate and methanol fractions or the aqueous residue (62.5 to 2000 µg/mL). The main parameters assessed were the worm's mortality and the reduction of motor activity of the surviving worms. The cytotoxicity assay using C57/L mouse melanoma liver cells line was performed on the AE and the methanol fraction (MF). Phytochemical screening of all our tested substances was also performed. Based on the results of the *in vitro* study, *C. umbellatum* aqueous extract and its MF were selected for *in vivo* studies. BALB/c mice were individually infected with 50 cercariae of *S. mansoni* using the method of tail and legs immersion. AE and MF were administered orally and daily from the 36th day post-infection for 28 days at 100, 200 and 400 mg/kg. The positive control group received PZQ at the dose of 100 mg/kg/day for 5 days, followed by distilled water for 23 days. Non-infected and infected-untreated mice served as controls. All mice were sacrificed at 65th day post-infection. Body weight, liver/body and spleen/body weights, as well as worm burden, fecal egg count, liver and intestine egg load were determined to assess the schistosomicidal activity. Levels of total protein, transaminases, alkaline phosphatase, total bilirubin were monitored to assess the liver function. The histomorphometry of the liver was performed to assess the anti-inflammatory potential. Malondialdehyde (MDA), catalase (CAT) and glutathione (GSH) levels were measured in the liver as biomarkers of the oxidative stress. To establish the toxicity profile of *Clerodendrum umbellatum*, an acute oral toxicity at 2000 mg/kg and a repeated dose 28-day oral toxicity studies were performed on the AE. For acute oral toxicity study, AE was administered *per os* to female mice at a single dose of 2,000 mg/kg. In the repeated dose 28-day oral toxicity study, the AE was administered daily orally to female and male mice at 200, 400, and 800 mg/kg for 28 consecutive days. Hematological, biochemical, and histopathological parameters were analyzed. Our study shown that *C. umbellatum* leaves aqueous extract and its derived fractions promoted worm mortality. The AE disclosed a Lethal Concentration 50 (LC₅₀) of 805.21 µg/mL while the LC₅₀ of the MF was 343.10 µg/mL. With this lowest LC₅₀, the methanol fraction from *C. umbellatum* AE

was therefore the most active. Incubation of worms with *C. umbellatum* aqueous extract and fractions also resulted in a significant reduction of the motor activity of survival worms with a 17.08 % to 100 % reduction after 48 h. With an Inhibitory Concentration (IC₅₀) of 876.88 µg/mL the MF showed the lowest level of toxicity on hepatocytes compared to the AE with an IC₅₀ of 410.82 µg/mL. The results of the *in vivo* study showed the worm burden was significantly reduced compared to the infected-untreated mice. The MF400 group exhibited 96.94 % of reduction rate which was higher than the one of the PZQ group, 86.71%. The fecal egg count and egg load in the liver and intestine of infected mice treated with the AE or the MF were significantly fewer than in infected-untreated mice. Hepatosplenomegaly induced by *S. mansoni* infection was significantly reduced by both treatments. The liver function on infected mice was improved after administration of the AE or the MF by significant reduction of ALT activity (p<0.001). The AST activity was significantly reduced only in treatment with AE (p<0.001) while the increase of total protein level was significant only with the MF (p<0.001). Regarding the anti-inflammatory activity, we recorded a significant reduction of both the number and the volume of the granulomas in the liver. The density of fibrotic deposit was also reduced in the liver histological sections of infested mice after the both treatments, such as the number of the granulomas. The impact of the treatment of *S. mansoni*-infected mice with the AE or the MF on the hepatic oxidative stress was marked by the significant prevention of increase in the MDA level increasing (p<0.001). Significant increase in CAT activity and in GSH level for AE100 group (p<0.001) and at all the doses of the MF were observed after treatment. Regarding the toxicity profile, oral administration of *C. umbellatum* AE at the single dose of 2,000 mg/kg was not followed by mice mortality. This result indicated that the LD₅₀ of AE is greater than 2,000 mg/kg and the extract, therefore, belongs to the category five corresponding to relatively non-toxic substances. In the sub-acute toxicity study, no mortality, no significant change in the relative organ weights and the hematological parameters in all treated mice. It can be suggested that *C. umbellatum* AE does not promote severe hepatic alterations since the levels of the majority of biochemical markers didn't change significantly. Histopathological abnormalities found in the kidneys were reversible after stopping the treatment. The present study showed that the *C. umbellatum* leaves aqueous extract and its methanolic fraction exhibit schistosomicidal, hepatoprotective, antioxidant and anti-inflammatory activities in *Schistosoma mansoni* infection. These activities are probably related to bioactive compounds such as alkaloids, flavonoids, phenols, tannins, saponins and terpenoids found during phytochemical screening. Despite the fact that the AE and the MF disclosed close pharmacological activities, we can consider the AE at the dose of 100 mg/kg like more efficient.

Keywords: *Clerodendrum umbellatum*, *Schistosoma mansoni*, inflammation, liver function, oxidative stress, toxicity.

INTRODUCTION

La schistosomiase ou bilharziose est une affection parasitaire causée par des vers du genre *Schistosoma*. L'infestation se produit lorsque les larves du parasite, les cercaires, libérées par des mollusques d'eau douce, hôtes intermédiaires, pénètrent dans la peau d'un mammifère hôte définitif lorsqu'il est en contact avec une eau contenant des larves infestantes (Aubry et Gaüzère, 2019). Cette maladie est endémique dans 78 pays. Selon les estimations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), au moins 236,6 millions de personnes ont eu recours à la chimiothérapie préventive en 2019 ; dont 90 % vivant en Afrique. Principalement présente dans les régions chaudes intertropicales, la schistosomiase est une importante endémie parasitaire mondiale à cause de sa large distribution et des complications graves qu'elle occasionne. Environ 200 000 décès par an sont attribués à la schistosomiase chronique (OMS, 2021 a). Au Cameroun, plus de 2 millions de personnes souffrent de schistosomiase (PNLSHI, 2020).

Les œufs pondus par les schistosomes sont la cause principale de la pathologie chez l'hôte définitif. Ces œufs, au cours de leur migration trans-tissulaire, libèrent des substances toxiques et des radicaux libres issus de leur métabolisme qui sont responsables de la formation des granulomes bilharziens. En effet, les toxines libérées par les œufs vont stimuler une cascade de réponses inflammatoires marquées par le recrutement d'éosinophiles, de macrophages et de cellules de Küpffer autour des œufs. La conséquence de cette migration cellulaire est le développement des granulomes bilharziens que l'on retrouve dans certains organes tels que le foie, l'intestin, la rate, les poumons et occasionnellement dans le système nerveux central. Ces granulomes provoquent une hypertrophie de ces organes et sont à l'origine des manifestations cliniques comme la diarrhée, la cirrhose du foie, les troubles nerveux et cardiaques (Bonnard *et al.*, 2000 ; Prata et Coura, 2008). La schistosomiase à *Schistosoma mansoni* est à l'origine d'un stress oxydant résultant du déséquilibre de la balance antioxydants/prooxydants en faveur des prooxydants car elle provoque d'une part une augmentation de la production des radicaux libres et d'autre part une réduction des défenses antioxydantes de l'organisme de l'hôte. En effet, les œufs de schistosome et les populations cellulaires qui constituent les granulomes bilharziens libèrent des radicaux libres (anion superoxyde, radical hydroxyle, peroxyde d'hydrogène, peroxyde d'azote...) qui vont perturber le système antioxydant de l'hôte (Favier, 2003 ; Sharififar *et al.*, 2011 ; Dkhil, 2014, Almeer *et al.*, 2018). De plus, la schistosomiase cause une diminution des niveaux des enzymes antioxydantes notamment le glutathion réduit, le superoxyde dismutase et la catalase (El-Rigal *et al.*, 2011 ; Dkhil, 2014). Le déséquilibre de ladite balance conduit à des dégâts cellulaires irréversibles.

Il n'existe pas encore de vaccin contre la schistosomiase et le praziquantel est actuellement le médicament antibilharzien de choix. Son utilisation intensive pourrait cependant conduire à des échecs thérapeutiques et au développement de la résistance par certaines souches de schistosomes (Greenberg, 2013) ; d'où la nécessité de rechercher des molécules alternatives pour le traitement

des schistosomiasés. Les plantes médicinales qui sont couramment utilisées par les populations pourraient être vues comme une importante alternative ou un complément au praziquantel (Molgaard *et al.*, 2001). En effet, depuis 1992, l'OMS a reconnu l'intérêt des plantes médicinales comme source de substances originales actives permettant la mise sur le marché de nouveaux produits pharmaceutiques. Environ 25 % des substances pharmacologiques modernes ont une origine végétale (OMS, 2002). Plusieurs études *in vivo* et *in vitro* ont mis en exergue l'efficacité de certaines plantes contre différents stades de développement de *Schistosoma mansoni*. C'est le cas entre autres de *Solanum lycocarpum* (Miranda *et al.*, 2012), *Sida pilosa* (Jatsa *et al.*, 2015), *Ziziphus spina-christi* (Almeer *et al.*, 2018) et *Ozoroa pulcherrima* (Feussom *et al.*, 2020).

Dans cette optique, notre équipe de recherche a sélectionné une série de plantes de la pharmacopée camerounaise et a entrepris l'étude de leurs propriétés antibilharziennes. *Clerodendrum umbellatum* Poir (Lamiaceae) est l'une de ces plantes. Elle est traditionnellement utilisée au Cameroun pour le traitement de plusieurs maladies dont les helminthiases intestinales (Adjanohoun *et al.*, 1996). L'extrait aqueux des feuilles de cette plante a précédemment montré une activité antischistosomale *in vivo* contre *Schistosoma mansoni* (Jatsa *et al.*, 2009). Il a été envisagé dans cette étude de réaliser le fractionnement de cet extrait et d'en rechercher, à travers une étude *in vitro*, la fraction la plus active. Ensuite, l'évaluation des activités schistosomicide, antioxydante et antiinflammatoire de l'extrait aqueux et de la fraction la plus active chez des souris infectées par *Schistosoma mansoni* a été réalisée. Toute substance étant un poison potentiel (Bismuth *et al.*, 2002), son profil toxicologique restait à établir.

QUESTION DE RECHERCHE

Par quels modes d'action l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et ses fractions contribueraient-ils à corriger les effets de la pathologie induite par l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris BALB/c ?

HYPOTHESES DE RECHERCHE

Ce travail repose sur les trois hypothèses suivantes :

- l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et ses fractions pourraient exercer une activité schistosomicide par action directe sur les vers adultes et/ou les œufs de *Schistosoma mansoni* ;
- l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et/ou sa fraction la plus active pourraient moduler les effets du stress oxydant lié à l'infection à *Schistosoma mansoni* en modifiant la balance prooxydants-antioxydants en faveur de la défense antioxydante ;

➤ l'infection à *Schistosoma mansoni* s'accompagne d'une réaction inflammatoire qui pourrait être resorbée par l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et/ou sa fraction la plus active.

L'objectif principal de la présente étude était d'évaluer les activités schistosomicide *in vitro* et *in vivo*, antioxydante et antiinflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* Poir. (Lamiaceae) et de ses fractions sur l'hépatopathie induite par l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris BALB/c.

Pour atteindre cet objectif, nous nous sommes proposés de déterminer :

- l'activité schistosomicide *in vitro* de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de ses fractions sur des vers adultes de *Schistosoma mansoni* ;
- l'activité schistosomicide *in vivo* de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction la plus active ;
- la capacité antioxydante de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction la plus active chez des souris infestées à *Schistosoma mansoni* ;
- l'activité antiinflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction la plus active chez des souris infestées à *Schistosoma mansoni* ;
- la toxicité aiguë et subchronique de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum*.

CHAPITRE I
REVUE DE LA LITTERATURE

I-1-Généralités sur la schistosomiase

I-1-1-Définition, classification, répartition géographique

I-1-1-1-Définition

Les schistosomiasés ou schistosomoses ou bilharzioses sont des maladies parasitaires dues à des vers plats appelés schistosomes ou bilharzies. La transmission qui est urinaire ou fécale, fait intervenir des hôtes intermédiaires, des mollusques d'eau douce. La symptomatologie est le reflet des lésions provoquées par la migration ou l'embolisation des œufs de schistosomes (Aubry et Gaüzère, 2019).

I-1-1-2-Classification de *Schistosoma mansoni*

Selon Southgate *et al.* (1998) la classification systématique de *Schistosoma mansoni* est la suivante :

Règne : Animal

Embranchement : Plathelminthes

Classe : Trématodes

Ordre : Strigeatida (La Rue, 1926)

Famille : Schistosomatidae (Laos, 1899)

Genre : *Schistosoma* (Weinland, 1858)

Espèce : *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907)

I-1-1-3-Répartition géographique de la schistosomiase

La schistosomiase est la deuxième endémie parasitaire mondiale après le paludisme à cause de sa large distribution et des complications graves qu'elle occasionne (Chitsulo *et al.*, 2000). Le genre *Schistosoma* compte 23 espèces dont 6 sont pathogènes pour l'Homme. Il s'agit de : *Schistosoma guineensis*, *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma intercalatum*, *Schistosoma japonicum*, *Schistosoma mansoni* et *Schistosoma mekongi* (Webster et Littlewood, 2012). Trois de ces espèces sont présentes au Cameroun. Il s'agit de :

➤ ***Schistosoma guineensis*** (*S. guineensis*) est responsable de la bilharziose rectale et sévit dans le pourtour du Golfe de Guinée (Cameroun, Gabon, Guinée Équatoriale, São Tomé-et-Príncipe) (Pagès *et al.*, 2003). Les travaux de Pagès *et al.* (2003) ont révélé que *S. guineensis* est une espèce jumelle de *Schistosoma intercalatum* (qui est présente essentiellement en République Démocratique du Congo ex Zaïre). Au Cameroun, *S. guineensis* est présente dans les régions suivantes : le Centre, l'Ouest, le Littoral, le Sud et le Sud-Ouest (Tchuem Tchuente *et al.*, 2012a ; Tchuem Tchuente *et al.*, 2013) ;

➤ ***Schistosoma haematobium*** (*S. haematobium*) est l'agent de la schistosomiase uro-génitale. Elle est présente en Afrique subsaharienne, à Madagascar, dans la vallée du Nil, au Moyen- Orient

(Aubry et Gaüzère, 2019). Au Cameroun, *S. haematobium* est rencontrée dans les régions suivantes : le Centre, l'Est, le Littoral, le Nord-Ouest, l'Ouest et le Sud-Ouest (Tchuem Tchuente *et al.*, 2012a ; Tchuem Tchuente *et al.*, 2013). *S. haematobium* est également présent dans les provinces de l'Extrême-Nord et du Nord (Ratard *et al.*, 1990) ;

➤ ***Schistosoma mansoni*** (*S. mansoni*) est l'agent de la schistosomiase intestinale. *S. mansoni* est présente en Afrique de l'Est et du Sud, à Madagascar, au Proche-Orient, en Amérique latine (Brésil, Venezuela) et aux Antilles (Aubry et Gaüzère, 2019). Au Cameroun, *S. mansoni* est retrouvé dans les régions suivantes : le Centre, l'Est, le Littoral, l'Ouest, le Nord-Ouest le Sud et le Sud-Ouest (Tchuem Tchuente *et al.*, 2012 a ; Tchuem Tchuente *et al.*, 2013). Dans les régions septentrionales du Cameroun (Adamaoua, Nord et Extrême-Nord), des foyers de *S. mansoni* sont également répertoriés (PNLSHI, 2005).

I-1-2-Biologie et physiologie de *Schistosoma mansoni*

La compréhension du cycle évolutif du schistosome est fondamentale pour le contrôle et l'élimination de la schistosomiase humaine (Colley *et al.*, 2014). *S. haematobium* est un parasite strictement humain. Les autres espèces sont des zoonoses. En plus de l'être humain, *S. mansoni* infeste différents mammifères (primates, bétail, rongeurs) ; *S. mekongi* infeste des chiens et des porcs ; *S. japonicum* infeste les buffles (Aubry et Gaüzère, 2019). Parmi les rongeurs infestés par *S. mansoni*, la souris blanche est l'animal de choix pour les infestations expérimentales (Pellegrino et Katz 1968).

I-1-2-1-Cycle évolutif de *Schistosoma mansoni*

Les schistosomes ont un cycle de vie (Figure 1) dit hétéroxène où l'hôte intermédiaire est un mollusque d'eau douce et l'hôte définitif un mammifère. Les vers adultes de schistosomes (**A**) peuvent vivre dans l'organisme humain en moyenne pendant 5 à 10 ans. Ils sont caractérisés par un dimorphisme sexuel marqué. En effet, le ver mâle mesure 10 à 12 mm de long, il est trapus, recourbé et forme une gouttière appelée canal gynécophore dans lequel se loge la femelle qui est fine et longue (Davis, 2009 ; Pagliazzo, 2018). Les vers adultes sont hématophages car ils se nourrissent des érythrocytes. Leur source principale d'énergie est le glucose, toutefois la production des œufs dépend de l'oxydation des acides gras (Barrett, 2009 ; Huang *et al.*, 2012). La maturité sexuelle des vers adultes sera atteinte dès lors que la femelle se logera dans le canal gynécophore du mâle. Le couple va migrer jusqu'aux veines mésentériques dans les cas de *S. mansoni* ; lieu de ponte des œufs (**B**). La femelle de *S. mansoni* pond environ 300 œufs par jour. Une partie des œufs sera excrétée dans les intestins et évacuée dans le milieu extérieur par les selles ; l'autre partie sera piégée dans les tissus (Kunz *et al.*, 1995 ; Pagliazzo, 2018). Au contact de l'eau, les œufs vont éclore, libérant la forme infestante de l'hôte intermédiaire appelée le miracidium (**C**).

Le miracidium est le stade parasitaire assurant le passage entre l'hôte définitif vertébré et l'hôte intermédiaire invertébré. C'est une larve nageuse mesurant approximativement 150-180 µm de long et 70-80 µm de large, recouverte de plaques ciliées lui permettant de nager. L'espérance de vie du miracidium étant très faible (8 à 12 heures), il est donc nécessaire pour lui de trouver rapidement son mollusque hôte intermédiaire (**D**) (Pagliazzo, 2018). Les hôtes intermédiaires de *S. mansoni* sont des gastéropodes d'eau douce du genre *Biomphalaria* dont des espèces présentes au Cameroun sont *Biomphalaria pfeifferi* et *Biomphalaria camerunensis* (Paraense, 2008). Après avoir infesté le mollusque, le miracidium subit une transformation de son tégument et se différencie en sporocyste primaire (sporocyste mère). Ce dernier, par reproduction asexuée, va se multiplier plusieurs fois pour donner naissance à des sporocystes secondaires (sporocystes filles) qui vont ensuite se différencier en de nombreuses cercaires (**E**). Un seul miracidium peut donner naissance à environ 300 000 cercaires. La durée du cycle de *S. mansoni* dans le mollusque est de 27 à 30 jours (Coelho *et al.*, 2008 ; Lancelot, 2013).

La cercaire ou furcocercaire est le stade infestant pour l'hôte définitif vertébré. C'est une larve composée d'un corps de 125 µm de long et d'une queue bifide de 200 µm lui permettant de nager de manière active en eau douce. Arrivées à maturité, les cercaires s'échappent du mollusque pour se retrouver dans l'eau où elles vont nager activement à la recherche de leur hôte définitif. La durée de vie d'une cercaire dans l'eau est d'environ 48 heures. Les cercaires pénètrent la barrière épidermique de leur hôte définitif grâce à une attaque protéolytique (sécrétions d'enzymes protéolytiques) de la peau, associée à des contractions violentes de leur queue. La phase de pénétration des cercaires au travers de la peau s'accompagne d'une perte de leur queue et d'un changement de leur tégument. Cette transformation va aboutir à un nouveau stade parasitaire que l'on nomme le schistosomule (Davis 2009).

Le stade schistosomule est le stade juvénile et migratoire du parasite et c'est au cours de son parcours dans l'organisme hôte que les principaux changements morphologiques et biochimiques aboutissant au stade adulte vont se réaliser. Vingt-quatre heures après l'infestation, les schistosomules traversent l'épiderme afin de rejoindre la circulation générale. Ils sont ensuite transportés passivement à travers le cœur droit vers les capillaires pulmonaires, où ils seront piégés temporairement. Une première phase de maturation de 3 et 4 jours a lieu dans les poumons. Le corps du parasite va continuer de s'allonger jusqu'à ce qu'il puisse se déplacer activement à travers les capillaires pulmonaires. Les schistosomules seront alors une nouvelle fois transportés passivement par le sang à travers le cœur gauche, dans la circulation systémique pour enfin atteindre le foie et le système porte, où ils subiront une seconde étape de maturation. La phase hépatique dure entre 8 et 10 jours et c'est au niveau du foie que le parasite va subir des changements morphologiques et biochimiques essentiels à la formation du ver adulte. Les parasites

vont progressivement acquérir leur dimorphisme sexuel. Environ 28 à 35 jours après l'infestation, les schistosomules vont se différencier en vers adultes mâle ou femelle, s'accoupler puis migrer vers les veines mésentériques intestinales qui sont les lieux de ponte de *S. mansoni* (Jamieson, 2016).

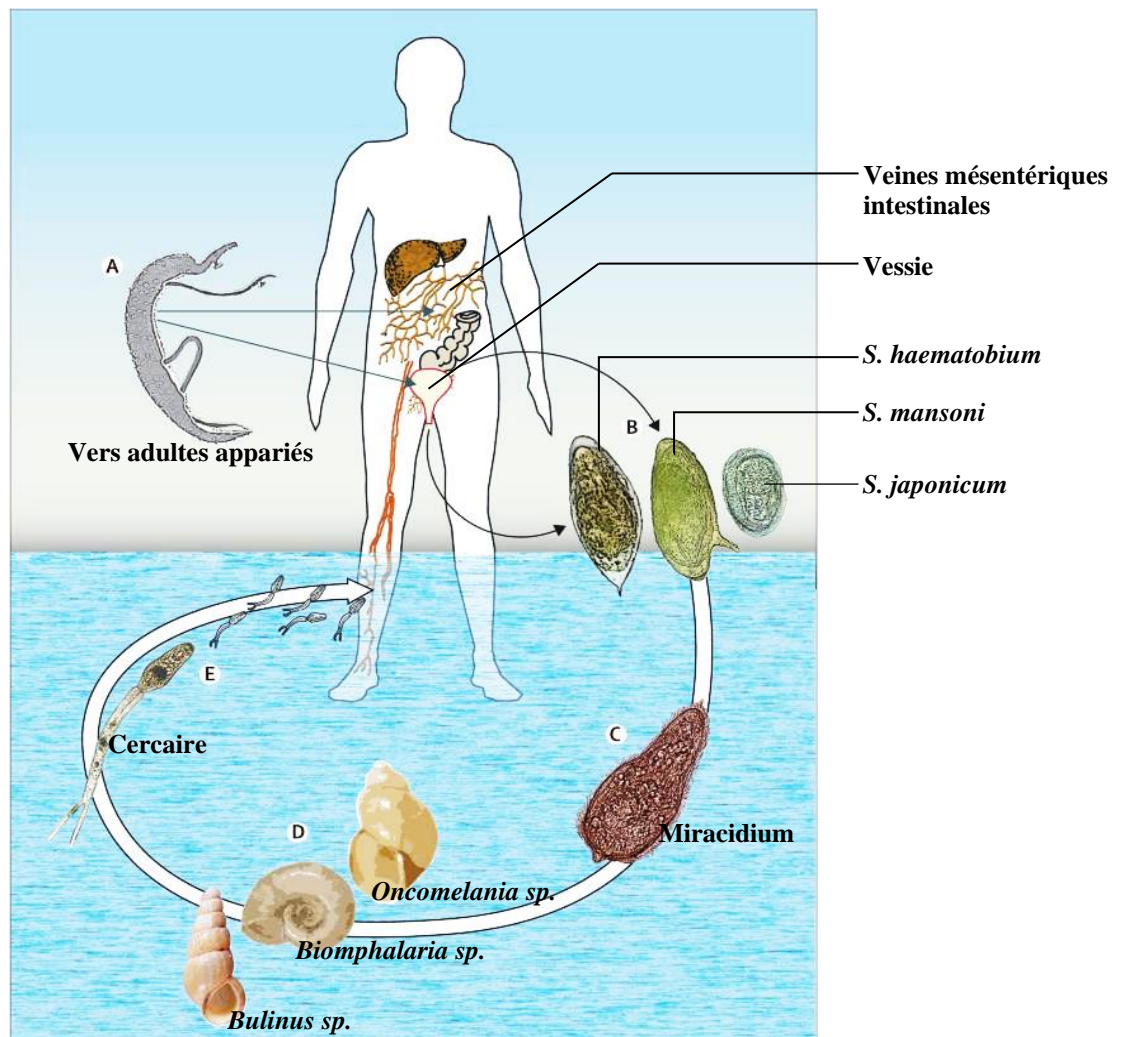


Figure 1 : Cycle évolutif des schistosomes (Colley *et al.*, 2014).

I-1-2-2-Physiologie neuromusculaire de *Schistosoma mansoni*

Le système nerveux est essentiel à la survie du ver car il est responsable de la migration, de l'alimentation, de la maturation, de la ponte, ainsi que de la pénétration de l'hôte. Cette dépendance marquée du ver vis-à-vis du système nerveux est due en partie à l'absence d'un système endocrinien. Ainsi, la plupart des fonctions de signalisation des schistosomes sont effectuées via le système nerveux (El-Sakkary, 2017).

I-1-2-2-1-Organisation du système nerveux de *Schistosoma mansoni*

Le système nerveux central des schistosomes est constitué du cerveau situé dans la région de la tête du parasite, ainsi que des cordons nerveux longitudinaux appariés. Le système nerveux périphérique est constitué d'un ensemble de plus petits cordons et plexus nerveux, qui sont reliés à toutes les principales structures corporelles du ver notamment la musculature somatique, le

tégument, les ventouses buccale et ventrale, les organes reproducteurs, et le tube digestif (Halton et Maule, 2004 ; Ribeiro et Geary, 2010 ; Collins *et al.*, 2011). Le système musculaire est constitué de muscles circulaires, obliques et longitudinaux étroitement entrelacés avec le système nerveux. Cette complexité neuromusculaire se traduit par une plasticité remarquable dans la forme et le mouvement du parasite (Abdulla *et al.*, 2009 ; Long *et al.*, 2016).

I-1-2-2-2-Mouvements ioniques impliqués dans la contraction musculaire de *Schistosoma mansoni*

La contraction musculaire de *S. mansoni* dépend essentiellement de la concentration cytosolique de calcium. L'entrée de calcium extracellulaire dans la cellule se fait via trois types de canaux : les canaux calciques voltage-dépendants (VOCC), les canaux calciques récepteurs-dépendants (ROCC) et les canaux calciques activés par une déplétion de calcium intracellulaire (DOCC). La dépolarisation de la membrane et l'augmentation de la concentration intracellulaire en calcium va entraîner la libération de calcium à partir des réserves sarcoplasmiques. Le calcium libéré va activer les canaux potassiques, ce qui conduit à la genèse d'un courant transitoire potassique sortant. Cette repolarisation de la cellule inhibe l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants et l'entrée des ions calcium dans la cellule. La diminution des concentrations cytoplasmiques de calcium se fait par le biais de la pompe Ca^{2+} -ATPase membranaire et de l'échangeur Na^{+} - Ca^{2+} (Noël *et al.*, 2001 ; Greenberg, 2005 ; Noël, 2008).

I-1-2-2-3-Méthodes expérimentales d'évaluation de la motilité de *Schistosoma mansoni*

L'évaluation de l'activité motrice de *S. mansoni* n'est possible qu'à travers des études *in vitro* réalisées sur des vers adultes collectés chez un hôte. Les vers adultes en culture présentent des mouvements de raccourcissement et d'allongement du corps, des mouvements ondulatoires et des ondes péristaltiques le long du corps (Mendonça-Silva *et al.*, 2002). Plusieurs méthodes permettent d'évaluer l'activité motrice du ver adulte.

➤ **La méthode utilisant les cellules photoélectriques et les fibres optiques** ainsi que **la méthode basée sur les ultrasons (effet Doppler)** permettent l'évaluation du déplacement du corps. Bien qu'elles soient quantitatives et automatiques, elles ont l'inconvénient d'être des méthodes indirectes (Noël, 2008).

➤ **Les modèles utilisant des électrodes mobiles ou fixes** permettent d'enregistrer les contractions des fibres musculaires longitudinales ou circulaires des vers adultes. Bien qu'elles soient directes et quantitatives, ces méthodes engendrent un stress mécanique considérable sur le ver (Noël, 2008).

➤ **La méthode de l'observation microscopique couplée à l'analyse digitale des images** grâce à des logiciels spécialisés permet l'évaluation du déplacement du corps des vers et des modifications de leur longueur. Cette méthode a l'avantage d'être directe. Toutefois, l'analyse des

données est fastidieuse et variable en fonction des effets observés (Mendonça-Silva *et al.*, 2002 ; Pessôa *et al.*, 2005).

➤ **Les méthodes d'observations visuelle et microscopique** des vers adultes en culture permettent d'évaluer le déplacement du corps, le péristaltisme et les modifications de la longueur du ver. Elles sont directes, aisées à réaliser et moins coûteuses. Cependant, elles sont subjectives et semi-quantitatives (Noël, 2008). Dans la suite de notre étude, nous avons utilisé ces méthodes compte tenu de la disponibilité du matériel et de la facilité de mise en œuvre.

I-1-3-Manifestations cliniques de la schistosomiase à *Schistosoma mansoni*

Les différentes manifestations cliniques induites par la pathologie évoluent classiquement en trois phases correspondant aux différents stades évolutifs du parasite chez l'Homme : la phase initiale de contamination, la phase d'invasion ou phase toxémique, la phase d'état (Hotez *et al.*, 2006).

I-1-3-1-Phase initiale de contamination

Cette phase correspond à la pénétration des cercaires chez l'hôte et se traduit cliniquement par une éruption prurigineuse localisée au niveau de la zone de la peau traversée par le parasite. Environ 15 à 30 minutes après le bain infestant, les enzymes sécrétées par les cercaires vont provoquer de multiples lésions cutanées (ou érythème cutané allergique) localisées majoritairement au niveau des membres inférieurs et des mains. Les populations vivant en zones endémiques ne seront que faiblement sujettes à ce type de symptômes puisqu'ils ont tendance à s'atténuer avec le nombre croissant d'infestations voire passer complètement inaperçus. La dermatite cercarienne se manifeste essentiellement lors d'une primo-infection (Gryseels *et al.*, 2006 ; Davis, 2009).

I-1-3-2-Phase d'invasion ou phase toxémique

Cette deuxième phase de développement de la pathologie est liée à la migration des schistosomules dans l'organisme et leur maturation en vers adultes. Elle se produit généralement entre 14 et 84 jours après l'infestation. Les différentes manifestations cliniques observées sont liées à une réaction immuno-allergique provoquée par la présence des parasites dans la circulation sanguine. Regroupés sous le terme de fièvre de Katayama, les symptômes sont les suivants : douleurs abdominales, anorexie, diarrhées, prurit, poussée d'urticaire, fièvre. Il est aussi possible de retrouver chez certains patients une dégradation de l'état général caractérisé par un amaigrissement important et une asthénie. Cette phase est asymptomatique chez les malades résidant en zones endémiques (Ross *et al.*, 2007).

I-1-3-3-Phase d'état

La phase d'état correspond à l'installation des vers adultes sur le site définitif et elle est liée à la ponte intensive des œufs par les femelles. Elle se révèle plusieurs semaines voire quelques

années après la contamination. Les manifestations cliniques sont essentiellement digestives avec d'importantes douleurs abdominales, un syndrome diarrhéique ou dysentérique, et parfois l'apparition de rectorragies. C'est la migration des œufs de schistosomes adultes à travers la muqueuse intestinale qui est responsable d'une inflammation granulomateuse de la muqueuse, de la présence de pseudo-polypes, de micro-ulcérations ainsi que d'hémorragies superficielles. La complication la plus grave est l'atteinte hépatosplénique résultant de l'enkystement des œufs dans le foie et la rate. Une fois bloqué, l'œuf devient le centre du granulome bilharzien, à l'origine de fibrose et pouvant induire une hypertension portale, une splénomégalie, une anémie, un retard de croissance ainsi que la formation de varices œsophagiennes dont la rupture peut s'avérer fatale (Gryseels *et al.*, 2006 ; Davis, 2009).

L'installation et l'évolution des différentes formes chroniques de la schistosomiase à *S. mansoni* sont liées à l'intensité d'infection ; la fréquence d'infestation (réinfections) ; les facteurs génétiques de l'hôte humain ; les facteurs aggravants tels que l'alcoolisme, la dénutrition et les hépatites ; ainsi que la capacité de l'hôte humain à induire et moduler le processus inflammatoire en réponse à la libération d'antigènes ovulaires du parasite (Prata et Coura, 2008). Les principales complications liées à l'infection à *S. mansoni* sont : des atteintes cardio-pulmonaires (hypertension artérielle pulmonaire, insuffisance ventriculaire droite) ; des atteintes neurologiques (hypertension intracrânienne, céphalées aiguës, crises convulsives, myélites aiguës, des troubles visuels, hémorragies cérébrales) et des atteintes cutanées et articulaires (lésions cutanées aux niveaux thoracique, iliaque et préombilicale ; arthrites aiguës causées par des granulomes synoviaux) (HAS 2007 ; Ross *et al.*, 2012 ; de Mota *et al.*, 2014).

I-1-4-Diagnostic de la schistosomiase à *Schistosoma mansoni*

Le diagnostic de la bilharziose à *S. mansoni* repose principalement sur les techniques suivantes :

➤ **L'examen des selles à l'état frais** : en milieu hospitalier, c'est le principal examen utilisé pour la recherche des œufs de *S. mansoni*. Cette technique est peu coûteuse. Cependant, elle n'est pas quantitative, à moins d'effectuer une pesée de chaque prélèvement, ce qui rendrait le procédé plus fastidieux et nécessiterait plus de matériel (Nozais et Datry, 1985 ; ANAES, 2003) ;

➤ **la technique de Kato-Katz** : c'est un examen qui recherche la présence des œufs de *S. mansoni* dans les selles du patient. C'est un examen facile à réaliser et relativement peu coûteux (Katz *et al.*, 1972). Il est spécifique, qualitatif et quantitatif, mais sa sensibilité est réduite dans les zones de faible intensité d'infection (Booth *et al.*, 2003) ;

➤ **le test urinaire CCA** : le CCA ("Circulating Cathodic Antigen") est un des antigènes majeurs régurgités par les schistosomes adultes et une grande partie est sécrétée dans l'urine de l'hôte. Le test de CCA vise donc à détecter cet antigène dans l'urine du patient. Le test est plus

rapide, plus facile à pratiquer et plus sensible que le Kato-Katz. Cependant il est plus coûteux que le Kato-Katz (Tchuem Tchuente *et al.*, 2012b ; Colley *et al.*, 2013).

Outre ces principales techniques, il est également possible de diagnostiquer la bilharziose à *S. mansoni* avec le diagnostic de présomption basé sur des questions relatives à un éventuel contact avec l'eau pour les personnes venant d'une zone endémique. La technique MIF ("Merthiolate-Iode-Formol") et les techniques de FLOTAC et mini-FLOTAC qui sont pratiquées sur des échantillons de selles du patient ; la biopsie de la muqueuse rectale (BMR) ; l'échographie et l'endoscopie sont également utilisées (Utzinger *et al.*, 2011 ; Cringoli *et al.*, 2017). Des méthodes basées sur la détection d'acides nucléiques ont été mises au point. Elles permettent de détecter par PCR ("Polymerase Chain Reaction"), l'ADN ou l'ARN de schistosome dans les selles, les urines ou les biopsies d'organes affectés. De la même façon, de l'ADN libre de parasite provenant de schistosomules morts, du renouvellement du tégument des adultes ou de la désintégration d'œufs morts, peut être détecté dans le sang, l'urine, la salive ou le liquide céphalo-rachidien. Ces méthodes sont sensibles et peuvent permettre d'identifier l'espèce de schistosome responsable de l'infestation. Mais les coûts engendrés sont élevés et des composés présents dans l'échantillon peuvent inhiber la PCR (Weerakoon *et al.*, 2015).

I-2-Schistosomiase à *Schistosoma mansoni* et hépatopathie

Le foie est l'organe le plus affecté dans la schistosomiase à *S. mansoni*. La présence des œufs dans le foie est à l'origine d'une cascade de réponses inflammatoires à l'origine du développement des granulomes bilharziens aboutissant à une fibrose hépatique (Dkhil, 2014).

I-2-1-Généralités sur le foie

I-2-1-1-Anatomie et histologie

Le foie est la glande la plus volumineuse de l'organisme humain. Il est situé sous la cage thoracique, dans la partie supérieure droite de l'abdomen. Il comporte 4 lobes : le lobe droit qui est le plus grand, le lobe gauche, le lobe caudé, et le lobe carré situé sous le lobe gauche. Le foie reçoit une double irrigation sanguine par la veine porte et l'artère hépatique. Le drainage sanguin du foie se fait par les veines sus-hépatiques qui se déversent à la partie postérieure du foie dans la veine cave inférieure (Hall, 2011 ; Marieb et Hoehn, 2016).

Au microscope, chaque lobe du foie se subdivise en un grand nombre de lobules hépatiques (Figure 2) qui sont les unités fonctionnelles du foie. Le foie est constitué de deux grands types de cellules : les cellules parenchymateuses et les cellules non parenchymateuses. Le parenchyme hépatique est composé de nombreuses cellules hépatiques ou hépatocytes, empilées en lames formées d'une seule couche de cellules. Chaque face d'une lame hépatocytaire est en contact avec des capillaires sinusoides par l'intermédiaire d'un espace de Disse. Les cellules non parenchymateuses, peu nombreuses sont représentées par les cellules endothéliales sinusoidales,

les cellules de Küpffer, les cellules épithéliales biliaires, les cellules étoilées ou cellules de Ito. Au centre de chaque lobule, se trouve la veine centrolobulaire d'où partent des cordons hépatiques séparés par des sinusoides. Le sang venant de l'artère hépatique et de la veine porte passe à travers les sinusoides et est déposé dans la veine centrolobulaire (Hall, 2011 ; Marieb et Hoehn, 2016).

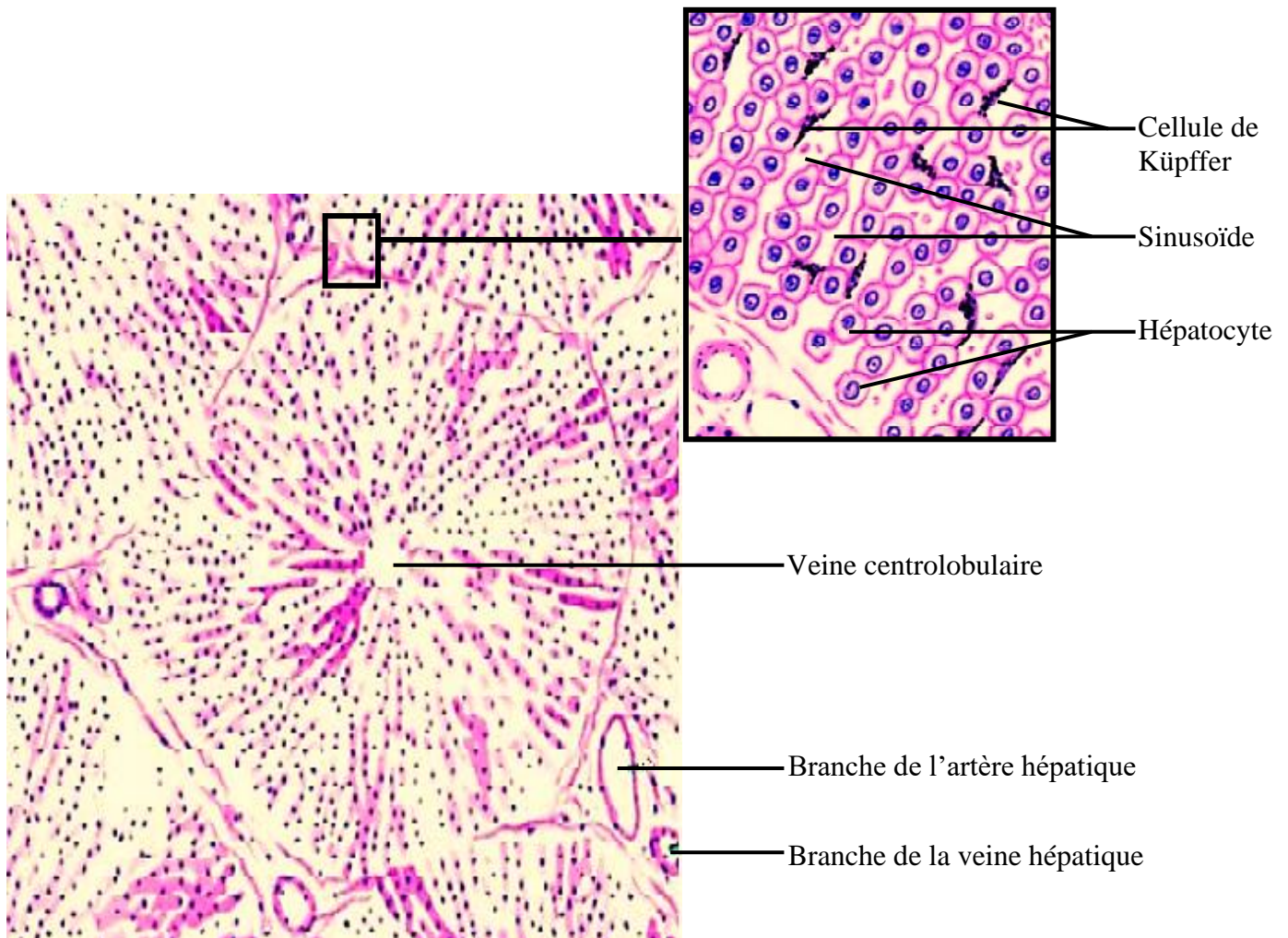


Figure 2 : Coupe histologique d'un lobule hépatique (adapté de Singh, 2011).

I-2-1-2-Physiologie du foie

Le foie assure diverses fonctions dans l'organisme :

- **la défense de l'organisme** assurée par les cellules de Küpffer. C'est une variété de globules blancs de volume important, ayant pour but de débarrasser le sang des débris tels que les bactéries et les globules rouges usagés (Marieb et Hoehn, 2016) ;
- **la production de la bile** qui est nécessaire pour digérer les lipides dans l'intestin (Hall, 2011) ;
- **le métabolisme des glucides** est sous l'influence de certaines hormones. L'insuline permet aux glucides d'être stockés dans le foie sous forme de glycogène. Lorsque la glycémie chute, le

glycogène qui se trouve dans le foie est transformé en glucose sous l'influence de l'adrénaline et du glucagon (Hall, 2011) ;

➤ **le métabolisme des lipides** au cours duquel les graisses sont captivées dans l'espace de Disse et métabolisées soit vers la production d'énergie via le cycle de Krebs, soit vers la synthèse des acides gras, des triglycérides, des phospholipides, du cholestérol et des lipoprotéines (Hall, 2011) ;

➤ **le stockage des vitamines, des sels minéraux ; et la fonction de biotransformation** sont d'autres rôles joués par le foie. En effet, le foie participe au stockage de plusieurs vitamines telles que les vitamines A, B₁₂ et D. Il stocke également la majeure partie du fer (sous forme de ferritine) et le libère lorsque sa concentration sanguine baisse. Le foie joue un rôle dans le métabolisme des médicaments et des hormones transportés par le sang (Marieb et Hoehn, 2016) ;

➤ **la détoxification du sang et la synthèse protéique** car le foie participe à la défense de l'organisme contre l'intoxication en transformant des substances variées, des déchets ou des médicaments et en permettant leur élimination. Cette détoxification dans l'hépatocyte peut se faire soit par modification de la structure moléculaire du produit à éliminer, soit par conjugaison. Le foie débarrasse le sang de l'ammoniac qui est transformé en urée. De plus, le foie synthétise de nombreuses protéines de structure et de fonctionnement telles que l'albumine, les facteurs de coagulation (le fibrinogène, facteurs de coagulation (fibrinogène, facteurs III, V, VII, IX et XI), la globuline, la transferrine... (Hall, 2011 ; Marieb et Hoehn, 2016).

I-2-2-Physiopathologie des troubles hépatiques

Divers facteurs peuvent impacter négativement le fonctionnement du foie. Il en résulte plusieurs types de lésions hépatiques, notamment :

➤ **la stéatose** est l'envahissement du tissu hépatique par des graisses. Il y a blocage de l'élimination des triglycérides hépatiques dans le sang (Carip, 2014) ;

➤ **la nécrose** résulte de la destruction des hépatocytes et correspond généralement à une lésion aiguë (Megarbane *et al.*, 2007) ;

➤ **la cholestase** est la diminution ou l'arrêt de l'écoulement de la bile par modification de l'excrétion biliaire (Carip, 2014) ;

➤ **la cirrhose** est la présence d'infiltration de collagène dans la masse hépatique (Megarbane *et al.*, 2007) ;

➤ **l'hépatite** est l'inflammation du foie (Hall, 2011) ;

➤ **la cancérogenèse hépatique** correspond au développement des tumeurs primitives malignes du foie (Foti, 2016).

I-2-3-Granulome bilharzien et fibrose hépatique

Dans l'infection à *S. mansoni*, l'embolisation des œufs dans le foie conduit à la formation des granulomes bilharziens par stimulation des réactions inflammatoires autour des œufs coincés (Almeer *et al.*, 2018). La réponse granulomateuse à la présence des œufs dans le foie est à la fois une réponse immunitaire primaire à ce stade du parasite et un mécanisme central de la pathologie de la schistosomiase (Figliuolo da Paz *et al.*, 2019). Paradoxalement, bien que les granulomes agissent pour minimiser les dommages tissulaires en fournissant une barrière physique entre l'œuf et les tissus environnants, ils sont également la principale cause de pathologie chez les individus infectés avec la formation ultérieure de fibrose et de cicatrices (Hams *et al.*, 2013).

I-2-3-1-Formation du granulome bilharzien

Le principal site de formation des granulomes hépatiques est situé dans les capillaires présinusoidaux du foie (Chuah *et al.*, 2014). Les granulomes sont des structures protectrices résultant d'une stimulation antigénique persistante. Ils protègent l'hôte des toxines secrétées par les œufs de schistosomes (Pagán et Ramakrishnan, 2018). Le granulome bilharzien (Figure 3) est une structure sphérique formée autour de l'œuf de schistosome. La taille et la composition cellulaire d'un granulome dépendent de son stade de développement. En effet, le granulome évolue en deux principaux stades : le stade pré-granulomateux et le stade granulomateux. Le stade pré-granulomateux est caractérisé par l'agrégation désorganisée des cellules, tandis que le stade granulomateux est associé à une structure clairement délimitée (Lenzi *et al.*, 2006 ; Chuah *et al.*, 2014).

Le stade pré-granulomateux est caractérisé par l'agrégation des neutrophiles, des monocytes, des éosinophiles et des macrophages autour de l'œuf. La population cellulaire de cette phase initiale sera complétée ultérieurement par les cellules géantes, les lymphocytes et les fibroblastes (Lenzi *et al.*, 2006 ; Amaral *et al.*, 2017). Dans le stade granulomateux, les lymphocytes T CD4 activés se multiplient et produisent des cytokines qui favorisent le recrutement de nombreuses cellules, notamment les cellules de Küpffer, les neutrophiles, les éosinophiles, les cellules de Ito, les plaquettes. Toutes ces cellules se différencient et se multiplient tandis que les fibroblastes, les fibres réticulaires et les fibres de collagène s'accumulent dans le granulome. Après la destruction de l'œuf, il y a réduction de la réponse inflammatoire ; les fibres de collagène se dissocient, la structure du granulome se désintègre et le tissu hépatique initial se reconstitue (Lenzi *et al.*, 2006 ; Pagán et Ramakrishnan, 2018).

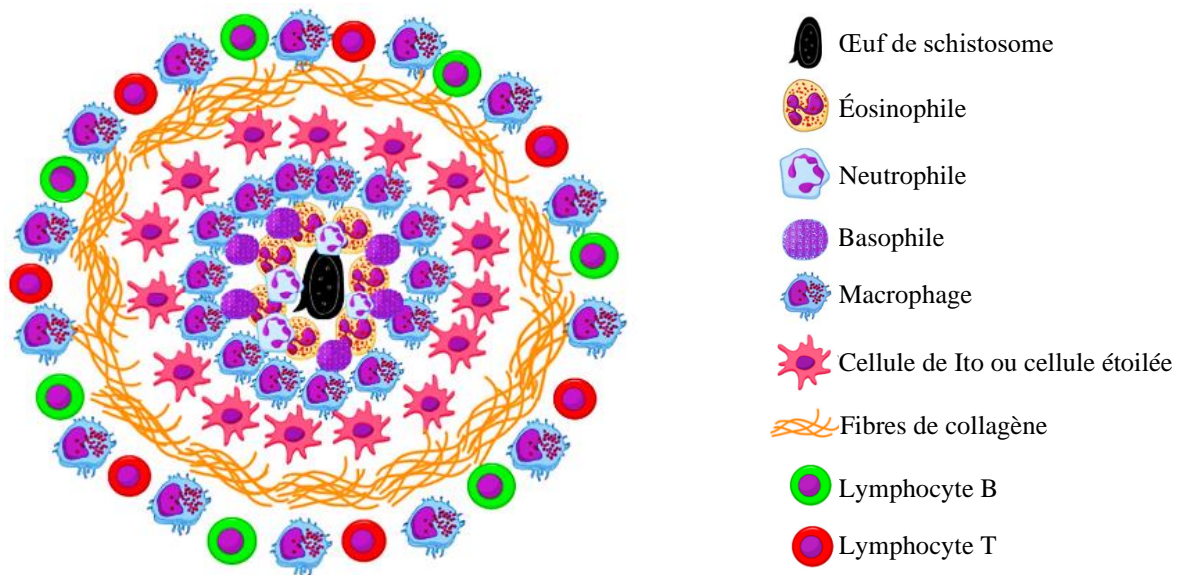


Figure 3 : Granulome bilharzien hépatique (adapté de Masamba et Kappo, 2021).

I-2-3-2-Fibrose hépatique

La fibrose hépatique résulte du déséquilibre entre la fibrogénèse, processus actif de synthèse et de dépôt des constituants de la matrice extracellulaire (MEC), et la fibrolyse qui est le processus de dégradation de ces constituants par les métalloprotéinases matricielles (Lenzi *et al.*, 2006). Dans le développement de la fibrose, les cellules de Ito jouent un rôle central. Dans les conditions physiologiques normales, elles stockent la vitamine A produite par les hépatocytes et synthétisent des constituants de la MEC. Cependant, au cours de l'infection à *S. mansoni*, ces cellules sont impliquées dans la fibrogénèse. En effet, une fois activées, elles se différencient en fibroblastes et produisent en grande quantité et de façon continue, différentes protéines de la MEC, en particulier le collagène de type I (Lenzi *et al.*, 2006 ; Hams *et al.*, 2013). Simultanément à la fibrogénèse, il se produit une fibrolyse à travers la protéolyse des protéines de la matrice extracellulaire qui est réalisée par les métalloprotéinases. Ces dernières sont produites principalement par les cellules de Ito et les cellules de Küpffer (Almeer *et al.*, 2018). La fibrose est réversible en cas de traitement. En absence de traitement, elle perturbe progressivement le flux sanguin hépatique avec comme conséquences une hypertension portale, une hépatomégalie et une défaillance hépatique (Roderfeld, 2018).

I-3-Schistosomiase à *Schistosoma mansoni* et stress oxydant

I-3-1-Généralités sur le stress oxydant

I-3-1-1-Définition du stress oxydant

Le stress oxydant se définit donc comme le déséquilibre entre la production des espèces réactives oxygénées (EROs) et les systèmes antioxydants de défense en faveur des EROs. Ce déséquilibre va se traduire par des dommages cellulaires et moléculaires importants qui vont

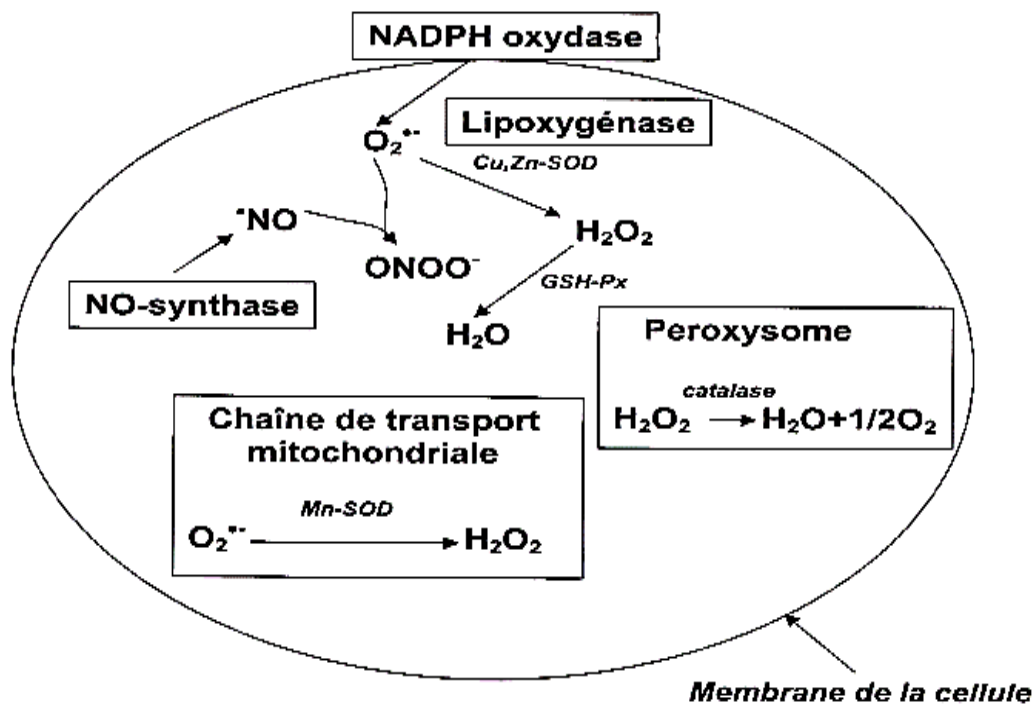
affecter l'organisme entier (Reuter *et al.*, 2010). Dans les systèmes vivants, une production physiologique d'EROs se fait de manière continue. Cette production est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant » (Favier 2003). En effet, dans des conditions pathologiques ou provoquées par des facteurs exogènes, les défenses antioxydantes, dont une partie est dépendante de l'alimentation, peuvent être insuffisantes pour empêcher les dégâts cellulaires que peuvent causer les radicaux libres de l'oxygène (Valko *et al.*, 2007).

I-3-1-2-Espèces réactives oxygénées/nitrogénées et systèmes antioxydants

I-3-1-2-1-Espèces réactives oxygénées et espèces réactives nitrogénées

Les radicaux libres dérivent de l'oxygène ou de l'azote et sont nommées espèces réactives oxygénées (EROs) et espèces réactives nitrogénées (ERNs) respectivement. Il existe des espèces radicalaires et des espèces non radicalaires. Les espèces radicalaires sont entre autres : l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle ($\bullet OH$), le radical oxynitrique ($NO\bullet$), le radical alkoxy ($RO\bullet$), le radical peroxy ($ROO\bullet$) et le radical hydroperoxy ($HOO\bullet$). Les espèces non radicalaires, qui peuvent être transformées en espèces radicalaires, sont entre autres : l'oxygène singulet (1O_2), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le peroxyde organique ($ROOH$), le peroxydinitrite ($ONOO^{\bullet}$), l'acide hypochloreux ($HOCl$). Ces radicaux libres peuvent être d'origine endogène (Figure 4) ou d'origine exogène (Valko *et al.*, 2007 ; Chu *et al.*, 2010).

La principale source endogène de production des EROs dans l'organisme est la chaîne respiratoire mitochondriale de transport des électrons. Les autres sources endogènes de productions des EROs/ERNs sont les NADPH oxydases, les NO-synthases, les lipoxygénases et les cyclooxygénases, les xanthines oxydases, les peroxysomes et l'inflammation (Lee *et al.*, 2004 ; Gülçin *et al.*, 2006 ; Rodrigo *et al.*, 2011).



GSH-Px : glutathion peroxydase, SOD : superoxyde dismutase

Figure 4 : Principales sources endogènes d'espèces réactives oxygénées et nitrogenées (Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2002).

I-3-1-2-2-Systèmes antioxydants

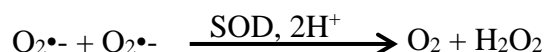
Pour faire face aux dommages causés par les EROs ou s'en prémunir, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes. Un antioxydant est défini comme toute substance ayant la capacité de retarder, prévenir ou réparer un dommage oxydatif d'une molécule cible (Tang et Halliwell, 2010).

Les principales sources d'antioxydants sont l'alimentation (sous formes de fruits et légumes riches en vitamines C et E, en caroténoïdes, en flavonoïdes, en ubiquinone, en glutathion, en acide lipoïque) et la source endogène qui se compose essentiellement d'enzymes. A ces principales sources s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes (Haleng *et al.*, 2007). Il existe deux grands types d'antioxydants : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques.

a-Antioxydants enzymatiques

➤ Les superoxydes dismutases

Ce sont des métalloenzymes qui assurent l'élimination de l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) en catalysant sa dismutation en oxygène et en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Valko *et al.*, 2007 ; Haleng *et al.*, 2007).



Il en existe plusieurs qui diffèrent par leur cofacteur (cuivre, manganèse ou zinc), leur structure et leur localisation cellulaire : Cu/Zn-SOD₁ cytosolique, la Mn-SOD₂ mitochondriale et la Cu/Zn-SOD₃ qui est extracellulaire (Favier, 2003).

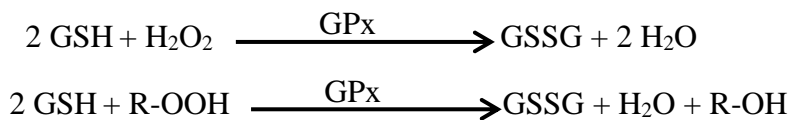
➤ **La catalase**

La catalase catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en H₂O et O₂ empêchant ainsi la formation de radical hydroxyl à fort potentiel oxydant (Kalpakcioglu et Senel, 2008).



➤ **La glutathion peroxydase**

La glutathion peroxydase (GPx) détruit non seulement le peroxyde d'hydrogène en l'utilisant dans l'oxydation du glutathion réduit (GSH) en glutathion oxydé (GSSG) ; mais aussi les peroxydes organiques toxiques formés par l'action du stress oxydant sur des acides gras ou du cholestérol (Gardès-Albert *et al.*, 2003 ; Haleng *et al.*, 2007).



b-Antioxydants non enzymatiques

➤ **Le glutathion**

Le glutathion est un tripeptide dont la fonction thiol lui confère un rôle d'antioxydant, voire, de donneur d'électron ou d'atome H, qu'il exerce vis-à-vis de nombreuses espèces oxydées, et en particulier vis-à-vis du peroxyde d'hydrogène et des radicaux hydroxyles (Gardès-Albert *et al.*, 2003). C'est le thiol majoritaire au niveau intracellulaire où il est présent essentiellement sous sa forme réduite (GSH) (Haleng *et al.*, 2007).

➤ **La vitamine C**

La vitamine C ou acide ascorbique ou ascorbate est un très bon capteur de radicaux libres oxygénés tels que les radicaux hydroxyles et l'anion superoxyde. Sa capacité de donation d'électrons dans une large gamme de réactions enzymatiques et non enzymatiques le qualifie de meilleur agent de détoxification des radicaux oxygénés dans la phase aqueuse (Blokhina *et al.*, 2003).

➤ **La vitamine E**

La vitamine E ou α -tocophérol capte les radicaux lipidiques peroxydes (LOO•), alkoxy (RO•) et alkyl (R•) qui propagent les chaînes de peroxydation lipidique. Le recyclage de la vitamine E par des systèmes réducteurs dont le plus important est la vitamine C, lui permet de jouer son rôle d'antioxydant à plusieurs reprises (Gardès-Albert *et al.*, 2003).

➤ **Les caroténoïdes**

Les caroténoïdes tels que le β -carotène sont des bons capteurs de radicaux hydroxyles et peroxydes ; ce qui les rend susceptibles d'inhiber les chaînes de peroxydation lipidique. En outre, ils captent l'oxygène singulet, $^1\text{O}_2$ (Gardès-Albert *et al.*, 2003).

➤ **Les polyphénols**

Les flavonoïdes et d'autres polyphénols ont de puissantes activités anti-oxydantes liées à leurs propriétés redox permettant d'éliminer les effets des EROs (Ketsawatsakul *et al.*, 2000) ; ainsi que de chélater les différents métaux de transition (Gulcin *et al.*, 2010). Les flavonoïdes piègent les radicaux libres (radical hydroxyle, l'anion superoxyde et les radicaux peroxydes) grâce à leur propriété de donation d'atomes d'hydrogène disponibles dans les substituants hydroxyles de leurs groupes phénoliques (Sandhar *et al.*, 2011).

➤ **Les oligoéléments**

Les oligoéléments ou éléments-traces (cuivre, sélénium, zinc...) constituent des cofacteurs nécessaires aux activités des enzymes antioxydantes (GPx, SOD...) et peuvent inhiber partiellement les réactions de formation des EROs induites (Parma *et al.*, 2004 ; Haleng *et al.*, 2007).

I-3-1-3-Conséquences du stress oxydant

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques telles que l'oxydation des glucides, de l'ADN, des protéines, des lipides (Favier 2003).

I-3-1-3-1-Péroxydation lipidique

Les acides gras polyinsaturés tels que l'acide linoléique et l'acide arachidonique sont les cibles privilégiées des EROs. Plus l'acide gras est insaturé et plus il est susceptible d'être peroxydé. Il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires organisées en trois phases successives. La phase d'initiation consiste en la création d'un radical d'acide gras ($\text{L}\cdot$) à partir d'un acide gras (LH) par soustraction d'un atome d'hydrogène. Cette déshydrogénation peut être provoquée par un initiateur radicalaire tel que le $\text{OH}\cdot$ ou le $\text{HOO}\cdot$ (Ahsan *et al.*, 2003). Le radical lipidique $\text{L}\cdot$ subit ensuite un réarrangement moléculaire pour donner un radical avec une structure diène conjugué, plus stable, qui peut réagir avec une molécule d' O_2 et former un radical peroxyde ($\text{LOO}\cdot$). Ce radical est suffisamment réactif pour arracher à nouveau, un hydrogène à un acide gras polyinsaturé voisin, propageant ainsi la réaction pouvant conduire à la formation d'une centaine de molécules d'hydroperoxyde avant que survienne la phase de terminaison. L'hydroperoxyde lipidique (LOOH) formé peut être oxydé en présence de métaux de transition divalents de Fe^{2+} ou Cu^{2+} et entraîner la formation d'alcalanes et d'aldéhydes toxiques. Le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéal (4-HNE) sont aldéhydes résultants de la peroxydation lipidique et sont utilisés comme marqueurs de la peroxydation lipidique chez les patients (Haleng *et al.*, 2007). La

réaction en chaîne peut être interrompue (phase de terminaison) par l'association de deux radicaux libres et la formation d'un composé stable ou le plus souvent par la réaction du radical avec une molécule antioxydante (Delattre *et al.*, 2005). La peroxydation au niveau des acides gras des phospholipides membranaires conduit à l'altération de la membrane et la perte de l'organisation de sa structure de bicouche lipidique nécessaire à la fonction des enzymes liées et des récepteurs (Evans, 2000).

I-3-1-3-2-Oxydation des protéines

Les structures primaire, secondaire et tertiaire ainsi que les fonctions des protéines sont altérées par les EROs. Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui comportent un groupement sulfhydryle (SH). Le dommage oxydatif des protéines peut affecter la fonction des récepteurs, des enzymes et des protéines de transport, et peut même générer de nouveaux antigènes qui provoquent des réponses immunitaires (Favier, 2003).

I-3-1-3-3-Oxydation des glucides

Dans les conditions physiologiques, le glucose peut s'oxyder en présence de traces métalliques (Cu^{2+} et Fe^{2+}) en libérant des cétoaldéhydes, le peroxyde d'hydrogène et les radicaux hydroxyles. Ces produits entraîneront la coupure de protéines ou leur glycation par attachement du cétoaldéhyde, formant un dérivé des produits de glycation avancée (Favier, 2003 ; Muhammad *et al.*, 2009).

I-3-1-3-4-Oxydation de l'ADN

Le radical hydroxyle est connu pour réagir avec tous les composants de la molécule d'ADN : les bases puriques, pyrimidiques et le désoxyribose. La thymine et la guanine sont plus susceptibles aux modifications, suivies de la cytosine et l'adénine. La thymine glycol est le produit d'oxydation majeur, et l'oxydation de la guanine conduit à la formation du 8-hydroxy-2-désoxyguanosine (8-OH-dG). Ces deux produits sont des marqueurs du dommage oxydatif de l'ADN (Haleng *et al.*, 2007). Les modifications permanentes du matériel génétique résultant de ces dommages oxydatifs représentent la première étape impliquée dans la mutagenèse, la carcinogenèse et le vieillissement (Valko *et al.*, 2007).

I-3-1-3-5- Implications pathologiques du stress oxydatif

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses pathologies comme facteur déclenchant ou associé à des complications (Favier, 2003) (Figure 5). Il peut être associé à l'athérosclérose, l'asthme, l'arthrite, la cataractogénèse, l'hyperoxie, l'hépatite, l'attaque cardiaque, les vasospasmes, les traumatismes, les accidents vasculaires cérébraux, les pigments d'âge, les dermatites, les dommages de la rétine, les parodontites et les cancers (Cohen *et al.*, 2000 ; Packer et Weber, 2001). Néanmoins, la plupart des maladies induites par le stress oxydant

apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale des radicaux libres (Favier, 2003).

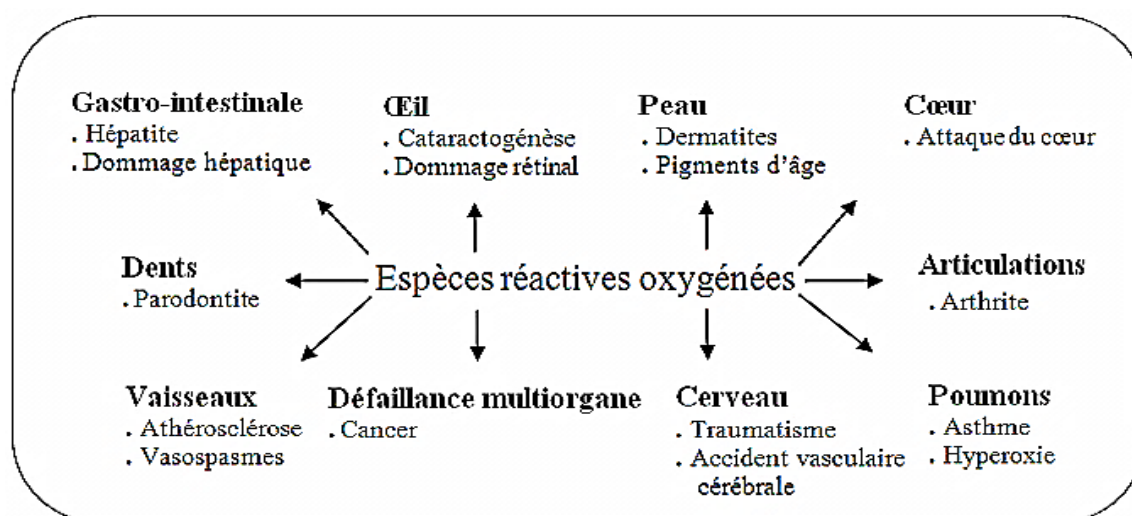


Figure 5 : Les pathologies associées aux espèces réactives oxygénées (Lee *et al.*, 2004).

I-3-2-Stress oxydant dans l'infection à *Schistosoma mansoni*

I-3-2-1-Genèse du stress oxydant dans l'infection à *Schistosoma mansoni*

Dans la schistosomiase à *Schistosoma mansoni*, le foie est le principal organe affecté. En effet, en raison de l'étroitesse des sinusoides hépatiques, les œufs y restent piégés en grande quantité. Ces œufs contiennent le miracidium qui secrète des enzymes et autres substances antigéniques et toxiques qui suscitent des réponses inflammatoires intenses qui aboutiront à la formation de granulomes bilharziens. Les radicaux libres libérés par les œufs et les populations cellulaires des granulomes bilharziens telles que les éosinophiles, les macrophages, et les lymphocytes vont perturber le système antioxydant des hépatocytes en augmentant la production des EROs (Lenzi *et al.*, 2006 ; Pagán et Ramakrishnan, 2018).

En effet, les œufs de *S. mansoni* libèrent des antigènes solubles qui activent des cellules de Küpffer qui vont secréter des cytokines, l'anion superoxyde et des enzymes protéolytiques qui ont des effets cytotoxiques et favorisent la genèse d'autres EROs capables de se lier aux lipides et entraîner la peroxydation lipidique (El-Rigal *et al.*, 2011 ; Saad *et al.*, 2011). Celle-ci va engendrer des produits toxiques tels que les hydroperoxydes et le malondialdéhyde. Ce dernier contribue à détériorer les propriétés physico-chimiques, la fluidité et l'intégrité de la membrane des hépatocytes (Saad *et al.*, 2011). Les éosinophiles qui constituent la majeure partie des cellules du granulome bilharzien, produisent l'anion superoxyde et le radical hydroxyle (Pagán et Ramakrishnan, 2018). Tous ces radicaux libres induisent chez l'hôte définitif un stress oxydant qui provoque l'oxydation et la perte des propriétés de diverses molécules conduisant à des dégâts cellulaires irréversibles (Favier, 2003 ; Sharififar *et al.*, 2011).

I-3-2-2-Balance prooxydants/antioxydants au cours de l'infection à *Schistosoma mansoni*

L'infection à *S. mansoni* affaiblit les défenses antioxydantes de l'hôte. En effet, la schistosomiase cause une diminution des niveaux hépatiques du glutathion réduit (GSH), de la superoxyde dismutase (SOD) et de la catalase (El-Rigal *et al.*, 2011 ; Dkhil, 2014 ; Jatsa *et al.*, 2019). Compte tenu du rôle important joué par ces enzymes, la diminution de leurs taux a comme conséquence directe l'amplification des effets néfastes du stress oxydant sur les cellules et organes de l'hôte. Les EROs inhibent également la glutathion reductase, avec comme conséquences une accumulation cytotoxique du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et une baisse du taux de GSH (El-Rigal *et al.*, 2011 ; Jatsa *et al.*, 2019). L'anion superoxyde produit en grande quantité lors de l'infection à *S. mansoni*, entraîne une inactivation de la catalase et une baisse de son activité (Dkhil, 2014). L'infection à *S. mansoni* se traduit également par l'augmentation de la production du peroxy-nitrite (ONOO⁻), une ERN impliquée dans la peroxydation lipidique avec comme conséquence une augmentation de la concentration du MDA (Jatsa *et al.*, 2016 ; Almeer *et al.*, 2018 ; Jatsa *et al.*, 2019). Par ailleurs, la schistosomiase à *S. mansoni* est responsable de la réduction des taux de la vitamine C et de la vitamine E (El-Rigal *et al.*, 2011 ; Rizk *et al.*, 2012).

I-4-Contrôle de la schistosomiase à *Schistosoma mansoni*

Dans le plan stratégique 2021-2030 de l'OMS, la schistosomiase fait partie des "maladies à éliminer en tant que problème de santé publique". Les actions préconisées par cette feuille de route en vue de l'élimination de la schistosomiase consistent entre autres à une coordination étroite et une action multisectorielle dans le secteur de la santé et au-delà, englobant la lutte antivectorielle, l'eau et l'assainissement, la santé humaine et environnementale ainsi que l'éducation sanitaire (OMS, 2021 b).

I-4-1-Contrôle de la transmission

La transmission de la schistosomiase peut être contrôlée grâce à :

➤ **l'éducation sanitaire des populations des zones endémiques** qui vise à les sensibiliser sur la maladie afin de limiter les activités humaines (bains, lessive, natation...) dans les eaux stagnantes propices aux hôtes intermédiaires. Elle s'accompagne de l'accès à l'eau potable à travers la construction et l'utilisation des puits ou des forages et de l'assainissement à travers la construction et l'utilisation des latrines par les populations (Pagliazzo, 2018) ;

➤ **la lutte contre le mollusque hôte intermédiaire** en introduisant les prédateurs naturels des mollusques tels que la crevette de l'espèce *Macrobrachium vollenhovenii* ou l'utilisation des substances molluscicides non polluantes pour l'environnement. Le niclosamide est utilisé comme molluscicide chimique en raison de sa faible toxicité pour l'Homme et le bétail. Mais pour limiter

son impact sur l'environnement, son utilisation doit être étudiée et ciblée (Li et Wang 2017 ; Pagliazzo, 2018).

I-4-2-Contrôle de la morbidité

Le traitement de la bilharziose se fait principalement grâce au praziquantel (PZQ). Il est commercialisé sous les appellations Biltricide®, Cesol®... Depuis plus de quarante ans, c'est le médicament de choix pour le contrôle de la morbidité et le traitement de la schistosomiase. Le PZQ est relativement peu coûteux et efficace contre toutes les espèces de schistosomes humains (Fukushige *et al.*, 2021). Toutefois, son utilisation intensive pourrait conduire au développement de la résistance par certaines souches de schistosomes (Greenberg, 2013). Ces constats ont orienté les travaux vers la recherche de molécules alternatives au praziquantel.

Les plantes médicinales pourraient constituer une source de molécules alternatives au PZQ. En effet, environ 25 % des substances pharmacologiques modernes ont une origine végétale (OMS, 2002). Ainsi, plusieurs plantes médicinales ont fait l'objet de centaines d'études *in vivo* et *in vitro* afin de mettre en exergue leur activité antischistosomale contre différents stades de développement de *Schistosoma mansoni*. C'est le cas entre autres de *Solanum lycocarpum* (Miranda *et al.*, 2012), *Sida pilosa* (Jatsa *et al.*, 2015), *Ziziphus spina-christi* (Almeer *et al.*, 2018), *Ozoroa pulcherrima* (Feussom *et al.*, 2020).

I-4-3-Recherche vaccinale

Il n'existe pas encore de vaccin contre la schistosomiase sur le marché. En effet, malgré l'existence de plusieurs candidats vaccins potentiels utilisant des antigènes de schistosomes, à ce jour, aucun candidat vaccin n'a franchi la phase III des essais cliniques. Il s'agit entre autres de : Bilhvax ou Sh28-GST ("28 KDa *Schistosoma haematobium* Glutathione S-transferase"), SmCB ("Schistosoma mansoni Cathepsin B"), SjAChE-13 ("Schistosoma japonicum acetylcholinesterase") (Nelwan, 2019).

I-5-Notions de toxicité

La toxicité est l'ensemble des manifestations indésirables consécutives à l'administration d'une substance quelconque à un organisme vivant. Les réactions toxiques résultent de l'absorption des doses excessives de médicaments ; ainsi, la distinction entre médicament et poison est loin d'être absolue, car suivant la dose, les conditions d'emploi, l'espèce animale considérée, un médicament peut très rapidement devenir un poison (Negrusz et Cooper, 2013 ; Schuppan *et al.*, 2014). Le but des études toxicologiques est d'évaluer les risques liés à l'exposition à une substance, d'identifier et d'étudier les mécanismes de ces altérations et de définir les caractéristiques des relations doses-réponses (Turkington et Mitchell, 2010). Ces études sont également d'une grande importance dans l'étude pharmacologique des médicaments. Elles permettent l'évaluation du risque toxique des médicaments utilisés en médecine moderne ou

traditionnelle en vue du développement des substances plus sûres et d'une meilleure prescription clinique (Claverie et Hedde, 2018). L'évaluation de la toxicité s'appuie sur quatre principales catégories d'études (Phanithavong *et al.*, 2015 ; Gégot et Joubert, 2021) :

- **les études épidémiologiques** comparent plusieurs groupes d'individus ;
- **les études expérimentales *in vivo*** utilisent des animaux (souris, rat, lapin...) ;
- **les études *in vitro*** effectuées sur des cultures de tissus ou des cellules ;
- **les études *in silico*** sont des études théoriques basées sur les modélisations informatiques.

Dans la suite du document, nous nous focaliserons essentiellement sur les études *in vitro* et les études *in vivo*.

I-5-1-Etudes expérimentales *in vitro* : cytotoxicité

I-5-1-1-Définition et intérêt de la cytotoxicité

La cytotoxicité est la capacité d'un agent chimique ou biologique à être nocif pour les cellules, éventuellement jusqu'à les détruire. C'est l'un des indicateurs les plus importants pour l'évaluation biologique des études *in vitro* (Van Meerlo *et al.*, 2013). Le principal intérêt des tests de cytotoxicité réside dans le fait qu'ils sont fiables, reproductibles à court terme, permettent de réduire la souffrance animale et la mort des animaux observées lors des tests *in vivo*. Toutefois, ils ne peuvent pas remplacer complètement les essais sur les animaux (Prabst *et al.*, 2017, Aslantürk, 2018).

I-5-1-2-Méthodes utilisées en cytotoxicité

Il existe un large éventail de tests de cytotoxicité qui varient selon la nature des mesures des points finaux : changement de couleur, fluorescence, luminescence... On distingue ainsi (Van Meerlo *et al.*, 2013 ; Prabst *et al.*, 2017, Aslantürk, 2018) :

- **les tests d'exclusion du colorant** tels que le test au bleu trypan, le test à l'éosine, le test au rouge Congo;
- **les tests colorimétriques** notamment le test MTT (''3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2-5-diphenyltetrazolium bromide''), le test MTS (''5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4,5-dimethylthiazoly)-3-(4-sulfophenyl) tetrazolium inner salt''), le test XTT (''2,3-bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulphophenyl)-5-carboxanilide-2H-tetrazolium, monosodium salt''), le test WST-1 (''2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2H tetrazolium monosodium salt''), le test WST-8 (''2-(2-methoxy-4-nitrophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2H tetrazolium, monosodium salt'');
- **les tests fluorométriques** tels que le test au 'alamarBlue', le test CFDA-AM (''5-carboxyfluorescein diacetate, acetoxymethyl ester'');
- **les tests luminométriques**, entre autres le test à l'ATP (adénosine triphosphate), le test de viabilité en temps réel.

Pour nos expérimentations, nous avons choisi le test colorimétrique WST-8 pour sa facilité de mise en œuvre, sa sensibilité, son coût abordable et le fait qu'il permet d'effectuer des mesures en temps réel (Van Meerlo *et al.*, 2013 ; Prabst *et al.*, 2017, Aslantürk, 2018).

I-5-2-Etudes expérimentales *in vivo*

I-5-2-1-Définition et intérêt

Une étude de toxicité *in vivo* c'est l'utilisation des animaux pour évaluer la dangerosité/nocivité d'une substance (Franco, 2013). Le but est d'avoir une idée approximative de l'impact qu'aurait cette substance sur un organisme humain. Les organismes les plus couramment utilisés sont les rongeurs : souris ou rats. Il s'agit à la fois d'une obligation scientifique et d'une obligation légale (Franco, 2013 ; Claverie et Hedde, 2018).

I-5-2-2-Types d'études de toxicité *in vivo*

En fonction de la durée et de la fréquence d'exposition, on distingue trois principaux types de toxicité : la toxicité aiguë, la toxicité à court terme et la toxicité chronique (OMS, 1992 ; OMS, 2000 a).

I-5-2-2-1-Toxicité aiguë

La toxicité aiguë d'un produit se traduit par les manifestations immédiates observées sur un être vivant ou dans une population 24 heures après l'administration d'une dose unique de ce produit (OMS, 1992). Elle permet d'estimer la dose létale 50 (DL₅₀) qui correspond à la dose d'un toxique entraînant la mort de la moitié des animaux d'un groupe (OCDE, 2001). L'intérêt de l'évaluation de la toxicité aiguë est d'abord de permettre d'écarter les substances trop toxiques, ensuite de servir de guide pour les expériences ultérieures en fournissant des indications sur les principaux signes d'intoxication (Schuppan *et al.*, 2014).

Les protocoles actuels d'étude de la toxicité aiguë portent d'une part sur un nombre réduit d'animaux ; et d'autre part sur une estimation de la DL₅₀, et non à la détermination d'une valeur exacte. C'est le cas des lignes directrices 420, 423 et 425 de l'OCDE (OCDE 2001 ; OECD 2001 ; OCDE 2008).

I-5-2-2-2-Toxicité à court et moyen terme

La toxicité à court terme (subchronique) est celle provoquée chez des animaux expérimentaux par une exposition répétée à une substance. La durée d'administration de la substance est comprise entre 14 et 90 jours. Pendant cette période, les troubles du comportement général, ainsi que le pourcentage de mortalité sont observés (OECD, 2001 ; Witthawaskul *et al.*, 2003).

Cette étude permet de déceler les troubles de croissance, les troubles alimentaires, biochimiques et histologiques associées à l'administration continue d'une substance. L'utilisation des deux sexes est importante afin de rendre compte de l'influence éventuelle des hormones

sexuelles (OMS, 2000 b ; OCDE, 2008). Les lignes directrices 407 et 408 de l'OCDE (OCDE 1998 ; OCDE 2008) sont celles qui sont généralement utilisées.

I-5-2-2-3-Toxicité chronique

Il s'agit de l'administration de doses répétées d'une substance à l'animal pendant une période s'étendant sur la grande partie de sa vie, voire sur plusieurs générations. L'étude chronique est envisagée parce que la toxicité à court terme est insuffisante pour juger de l'existence ou de l'absence d'une possible action cancérogène ou tératogène de la substance (Franco, 2013 ; Claverie et Hedde, 2018). Cette étude est très coûteuse et n'est entreprise que lorsque la substance à administrer a des chances de devenir un médicament. Les effets toxiques sont appréciés par des observations cliniques quotidiennes et/ou hebdomadaires : comportement, poids, consommations alimentaire et hydrique, signes cliniques divers, examens de laboratoire (hématologie, biochimie sanguine, examen urinaire, autopsie, histologie) (FAO/WHO, 2000).

I-5-2-3-Tissus et organes cibles des toxiques

L'organisme peut résister à une agression toxique tant qu'elle s'effectue à l'intérieur des limites de ses mécanismes de détoxification, d'homéostasie et de réparation. Au-delà, une détérioration biologique peut s'installer. Elle se traduit par l'atteinte, souvent irréversible, d'un ou de plusieurs processus biologiques touchant un ou plusieurs organes avec comme conséquence une évolution vers une issue fatale (Negrusz et Cooper, 2013). Théoriquement, tous les organes peuvent être attaqués par un toxique. Mais ceux dont la sensibilité aux toxiques est plus élevée, du fait de leurs particularités métaboliques, sont le foie et les reins. D'autres tissus, organes et systèmes peuvent être touchés notamment le sang, les poumons, les organes reproducteurs, le système nerveux, le système cardiovasculaire (Claverie et Hedde, 2018).

I-5-2-3-1-Foie et hépatotoxicité

L'hépatotoxicité est l'atteinte du foie par un toxique. La vulnérabilité du foie aux toxiques est liée à l'effet de premier passage hépatique qui est le passage par le foie de tout composé administré par voie orale. Cette vulnérabilité est aussi due au cycle entéro-hépatique qui augmente l'exposition du foie aux toxiques, ainsi qu'au rôle clé du foie dans la métabolisation (Reuben, 2005 ; Hall, 2011).

a-Anatomie, histologie et physiologie du foie

L'anatomie, l'histologie et la physiologie du foie ont été décrites aux sections I-2-1-1 et I-2-1-2.

b-Quelques biomarqueurs de l'hépatotoxicité

Certains marqueurs biochimiques permettent d'évaluer l'impact des toxiques sur la fonction hépatique notamment le cholestérol, les protéines totales, les transaminases (Claverie et Hedde, 2018).

➤ **Le cholestérol**

Le cholestérol est la substance lipidique la plus abondante du monde animal et la plus importante du point de vue métabolique. Elle provient de l'alimentation et/ou de la biosynthèse au niveau du foie. Le cholestérol est véhiculé dans le sang par les lipoprotéines de faible densité (LDL : "Low Density Lipoprotein"), et les lipoprotéines de haute densité (HDL : "High Density Lipoprotein") (Marieb et Hoehn, 2016).

➤ **Les protéines totales**

Les protéines plasmatiques constituent un groupe hétérogène comprenant des holoprotéines, des glycoprotéines et des lipoprotéines. Les protéines sont fabriquées majoritairement par le foie ; par conséquent, certaines lésions hépatiques affectent leur taux sanguin (Hall, 2011). Les protéines interviennent dans le transport de différentes substances dans le sang dont les lipides, le fer ou de nombreux médicaments. Elles participent également à la coagulation du sang, aux défenses immunitaires et au maintien de la pression sanguine (Marieb et Hoehn, 2016).

➤ **Les transaminases**

Les transaminases sont des enzymes importants de l'organisme ayant pour rôle de transférer un groupe amine lors des nombreux processus chimiques qui se déroulent au niveau hépatique. Les transaminases présentant un intérêt clinique sont l'ALAT (Alanine Amino Transférase) et l'ASAT (Aspartate Amino Transférase). Les transaminases sont des marqueurs de la fonction hépatique et des indices d'une éventuelle toxicité. En effet, le foie produit l'ALAT et l'ASAT, par conséquent, toute augmentation de leurs activités traduit des dommages hépatiques ; bien que l'ALAT soit plus spécifique du foie que l'ASAT qui est également produite par le cœur (Hall, 2011 ; Marieb et Hoehn, 2016).

I-5-2-3-2-Reins et néphrotoxicité

La néphrotoxicité est l'impact d'un toxique sur le rein. La fonction principale du rein est de débarrasser le sang de certains toxiques. La perte d'efficacité des reins engage le pronostic vital. En raison du débit sanguin élevé qu'il reçoit, le rein est particulièrement sensible aux toxiques. La réabsorption partielle de l'eau et des sels minéraux au niveau des tubules rénaux entraîne une forte concentration des toxiques dans le filtrat tubulaire et l'exposition du tissu médullaire à des concentrations élevées de toxiques pendant des périodes prolongées (Hanslik et Flahault, 2013 ; Marieb et Hoehn, 2016).

a-Anatomie et histologie des reins

Le rein est un organe en forme de haricot. Les reins sont situés sous le diaphragme, plaqués contre la paroi postérieure de la cavité abdominale au niveau des premières vertèbres lombaires. Chez l'Homme, ils pèsent environ 150 g et chaque rein mesure environ 12 cm de

longueur, 5 cm de largeur et 3 cm d'épaisseur (Marieb et Hoehn, 2016). En observant une coupe histologique de rein (Figure 6), on peut y distinguer des tubes urinaires (ou néphrons) et du tissu interstitiel (Marieb et Hoehn, 2016).

➤ **Le néphron** comporte le glomérule de Malpighi ; le tube proximal comprenant le tube contourné proximal et la branche descendante large de l'anse de Henlé ; la portion grêle de l'anse de Henlé comprenant la branche descendante grêle et la branche ascendante grêle ; le tube distal comprenant la branche ascendante large de l'anse de Henlé ; le tube contourné distal et le tube collecteur (Marieb et Hoehn, 2016).

➤ **Le tissu interstitiel** constitue l'espace qui entoure les tubes urinaires et est composé de cellules interstitielles, de fibres de collagène et de la substance fondamentale, de vaisseaux sanguins, de vaisseaux lymphatiques et de nerfs végétatifs (Marieb et Hoehn, 2016).

Les artères et les veines rénales constituent respectivement les voies d'arrivée et de sortie du sang irriguant le parenchyme rénal. L'artère rénale se subdivise en artères interlobulaires desquelles naissent les artérioles glomérulaires. Le sang provenant de ces artérioles est repris par une veinule et se jette ensuite dans les veines interlobulaires qui donnent les veines rénales (Marieb et Hoehn, 2016).

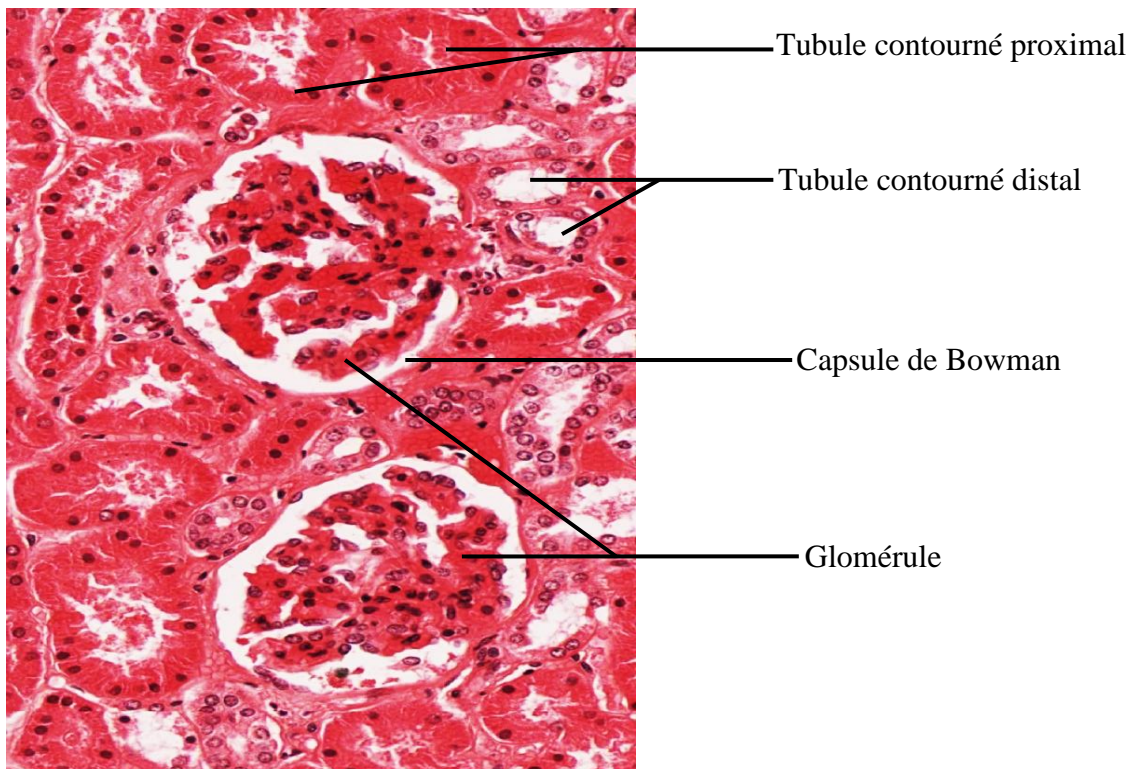


Figure 6 : Coupe histologique du rein, surface profonde du cortex (adapté de Kempf *et al.*, 2017).

b-Physiologie et physiopathologie

Le rein élimine les déchets du sang à travers l'urine qu'il produit. Outre ce rôle excréteur, le rein joue un rôle homéostatique clé en régulant le pH corporel. De plus, le rein synthétise de

nombreuses substances utilisées dans la fonction de régulation telles que la rénine et l'érythropoïétine (Marieb et Hoehn, 2016).

Compte tenu du rôle important qu'il joue dans l'épuration du sang, le rein est la cible de substances toxiques qui peuvent affecter son fonctionnement et conduire à une insuffisance rénale. Celle-ci se caractérise par l'incapacité des reins à éliminer les substances toxiques présentes dans le sang (Hanslik et Flahault, 2013). En effet, dans les conditions normales, un tiers (1/3) des néphrons suffit pour éliminer efficacement la totalité des déchets de l'organisme sans qu'il y ait risque d'accumulation dans l'organisme. Une réduction du nombre de néphrons entraînera donc une rétention des déchets dont l'urée et la créatinine dont les taux sanguins seront élevés, traduisant une détérioration considérable de la fonction rénale (Hanslik et Flahault, 2013 ; Marieb et Hoehn, 2016).

c-Quelques biomarqueurs de la néphrotoxicité

Certains paramètres biochimiques peuvent être utilisés pour évaluer l'impact d'une substance sur le fonctionnement des reins, notamment la créatinine et l'urée (Hanslik et Flahault, 2013).

➤ La créatinine

C'est un produit azoté issu du métabolisme de la créatine du muscle squelettique (Negrusz et Cooper, 2013). Elle provient de la dégradation de l'arginine et est produite dans le muscle puis libérée dans le sang. Le taux sérique de créatinine est fonction de sa vitesse d'élimination au niveau du rein. Ainsi, il est un marqueur du dysfonctionnement rénal quand son taux sérique est élevé. En effet, les insuffisances rénales aiguë et chronique s'accompagnent d'une augmentation de la créatininémie (Hanslik et Flahault, 2013).

➤ L'urée

C'est un produit azoté du métabolisme des protéines et des acides nucléiques. Elle est produite par le foie, filtrée par le glomérule, réabsorbée en partie par les tubules et excrétée dans l'urine (Marieb et Hoehn, 2016). L'augmentation du taux d'urée dans le sang est généralement liée à une altération rénale. Le taux d'urée peut déterminer le moment où la dialyse deviendra nécessaire (Weiner *et al.*, 2015).

I-5-2-3-3-Sang et hématotoxicité

a-Description

Le sang complet est un tissu conjonctif fluide de couleur rouge qui contient plusieurs catégories de cellules en suspension dans un liquide jaune pâle, le plasma. Ce dernier contient également environ 92 % d'eau, 7 % de protéines et quelques sels minéraux. Le volume de sang circulant représente normalement environ 8 % de la masse corporelle. Le pH normal du sang est légèrement alcalin, se situant entre 7,35 et 7,45 (Hall, 2011 ; Marieb et Hoehn, 2016).

b-Physiopathologie sanguine

Le sang assure de nombreuses fonctions qui sont toutes liées de près ou de loin au transport de substances, à la régulation de certaines caractéristiques physiques du milieu intérieur et à la protection de l'organisme (Hall, 2011). Les agents toxiques peuvent agir sur toute la lignée hématopoïétique. L'exposition à des substances chimiques, toxiques ou aux radiations entraîne une toxicité sur des précurseurs médullaires (Harfelach *et al.*, 2013). Les cellules sanguines sont de plusieurs types :

➤ **les érythrocytes ou globules rouges** sont des cellules dépourvues de noyau et qui transportent les gaz respiratoires notamment le dioxygène et le dioxyde de carbone, vers les tissus. Le taux d'érythrocytes est régulé par le foie, les reins et la rate. En cas d'exposition à un toxique, on observe une variation du taux d'érythrocytes qui résulterait des troubles du métabolisme de l'organisme. Cette variation peut se traduire soit par une anémie, soit par une polycythémie (Marieb et Hoehn, 2016) ;

➤ **les leucocytes ou globules blancs** jouent un rôle majeur dans la défense de l'organisme face aux agressions d'origines interne ou externe. En cas d'infection ou de réaction inflammatoire, le taux de leucocytes circulant augmente et on parle alors d'hyperleucocytose (Harfelach *et al.*, 2013) ;

➤ **les thrombocytes ou plaquettes** ne sont pas des cellules à proprement parler. Ce sont des fragments cytoplasmiques de cellules extraordinairement grosses appelées mégacaryocytes. Elles jouent un rôle essentiel dans la coagulation sanguine en cas de rupture d'un vaisseau sanguin ou de lésion de l'endothélium vasculaire. La variation du taux de plaquettes en présence d'un toxique dans l'organisme suggère une lésion vasculaire (Hall, 2011 ; Harfelach *et al.*, 2013).

I-6-Généralités sur *Clerodendrum umbellatum*

I-6-1-Systématique

La systématique de *C. umbellatum* retenue est issue de l'APG IV (''Angiosperm Phylogeny Group IV'') (APG IV, 2016).

Règne : Végétal

Embranchement : Spermatophytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae (=Labiatae)

Genre : *Clerodendrum*

Espèce : *Clerodendrum umbellatum* Poir.

I-6-2-Description et répartition géographique

Clerodendrum umbellatum (Figure 7) est un arbuste lianescent d'environ 7 mètres de haut possédant des branches longues et faibles. Les feuilles sont opposées et de forme elliptique. Elles mesurent 6 à 20 cm de long sur 3,5 à 11 cm de large. L'inflorescence est terminale et constituée de fleurs blanches parfois roses à la base. Le calice est dentelé, de couleur blanche et légèrement verdâtre à la base. Le fruit se divise en quatre à maturité. Cette plante est rencontrée en Afrique, plus précisément au Sénégal, au Congo, au Soudan, en Éthiopie et au Cameroun (Adjanooun *et al.*, 1996).

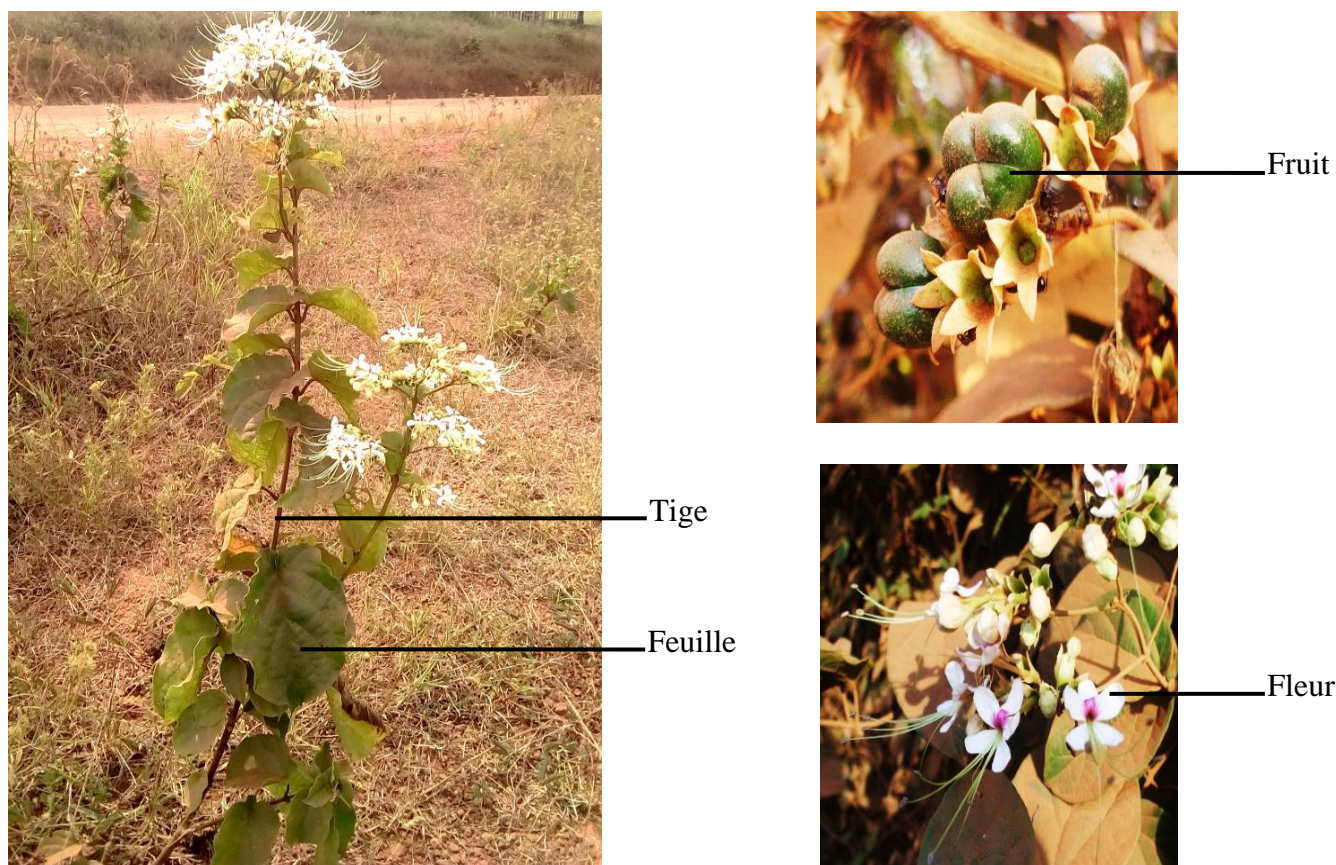


Figure 7 : *Clerodendrum umbellatum* (Photos prises à Mekok en avril 2012 par Kenfack Christian Mérimé).

I-6-3-Usages ethnobotaniques et travaux scientifiques antérieurs

En langues nationales camerounaises, *Clerodendrum umbellatum* reçoit l'appellation de : “Nganwe” en Bafut, “Biyem” ou “Diom” en Bassa, “Eloi - dibi” ou “Elok-dibi” en Ewondo et “Dor nkol” en Kaka. *C. umbellatum* est traditionnellement utilisée par les populations camerounaises pour le traitement des maladies telles que l'épilepsie, l'asthme, les maux de tête, les menstruations irrégulières, les dermatites et les helminthiases intestinales. Pour le traitement des helminthiases intestinales, il est recommandé de broyer les feuilles dans un litre d'eau, d'ingérer une partie du liquide et de se purger avec une moitié après y avoir ajouté cinq fruits de

Capsicum frutescens. Le traitement doit être poursuivi jusqu'à guérison (Adjanohoum *et al.*, 1996).

Les travaux menés par Jatsa *et al.* (2009) sur le traitement de souris infestées à *S. mansoni* par l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* ont révélé son activité schistosomicide. Ces auteurs ont réalisé une étude phytochimique qui a mis en évidence la présence des classes de composés suivantes dans l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* : les alcaloïdes, les flavonoïdes, les saponines, les saponosides, les tanins et les triterpènes. Le profil toxicologique de *C. umbellatum* n'a pas encore été étudié.

Une étude ethnobotanique réalisée dans une région de l'Éthiopie a révélé que *Clerodendrum umbellatum* était parmi les plantes médicinales les plus abondantes (Bekalo *et al.*, 2009).

Dans une étude menée au Nord de l'Ouganda (Kamatenesi *et al.*, 2011), *Clerodendrum umbellatum* a été citée parmi les plantes les plus utilisées. Les populations de cette région l'utilisaient principalement pour le traitement des douleurs abdominales.

L'étude réalisée par Catarino *et al.* (2016) en Guinée-Bissau a révélé que les feuilles et les racines de *C. umbellatum* étaient utilisées par les populations entre autres contre les maladies du nouveau-né, les piqûres, les morsures et l'empoisonnement.

CHAPITRE II

MATERIEL ET METHODES

II-1-Matériel biologique

II-1-1-Matériel végétal

Les feuilles fraîches, les graines et les fleurs de *Clerodendrum umbellatum* a été récoltée en Avril 2012 dans la localité de Mekok, à environ 60 km de Sangmélina, dans la région du Sud Cameroun. Ces parties aériennes ont été utilisées pour authentifier la plante à l'Herbier National du Cameroun par comparaison à l'échantillon enregistré sous le numéro voucher 7405 SRF/Cam.

II-1-2-Matériel animal

Au cours de notre étude, le matériel animal utilisé était constitué de souris, de mollusques et de vers adultes de schistosomes.

II-1-2-1-Souris

Des souris blanches de souche BALB/c âgées de 8 à 10 semaines, de sexe femelle pesant entre 20 et 27 g, et de sexe mâle pesant entre 25 et 30 g ont été utilisées. Ces souris étaient nourries à base d'un aliment standard composé ainsi qu'il suit : farine de maïs (47 %), farine de blé (15 %), farine de poisson (15 %), farine de soja (20 %), farine d'os (1 %), tourteaux de palmiste (1,1 %), sel de cuisine (0,8 %) et complexe vitaminique (0,1 %). Cet aliment, ainsi que de l'eau de robinet leur étaient servis quotidiennement. Ces animaux, élevés dans des cages en polypropylène, étaient placés dans les conditions naturelles de température, d'aération et d'éclairage (cycle lumière et obscurité).

Les souris ont permis d'obtenir les vers adultes de *S. mansoni* utilisés durant l'évaluation *in vitro* de l'activité schistosomicide de l'extrait aqueux de *C. umbellatum* et de ses fractions. Elles ont aussi été utilisées pour l'étude *in vivo* des effets de *C. umbellatum* sur la pathologie hépatique induite par l'infection à *S. mansoni*. L'évaluation du profil de toxicité de *C. umbellatum* a été réalisée grâce aux souris issues de notre élevage.

II-1-2-2-Mollusques

Les mollusques utilisés appartenaient à l'espèce *Biomphalaria pfeifferi*. Ils ont été collectés dans divers cours d'eau des villes de Yaoundé et de Makenéné. Ces villes sont des foyers endémiques de la schistosomiase à *Schistosoma mansoni* (Tchuem Tchuente *et al.*, 2012a). Ces mollusques ont été élevés dans un molluscarium thermorégulé (température maintenue entre 25-26 °C). Ils étaient maintenus dans des bacs contenant de l'eau de source. L'alimentation des mollusques était constituée pour l'essentiel de feuilles de laitues fraîches.

II-1-2-3-Schistosomes

Les schistosomes de l'espèce *S. mansoni* ont été utilisés afin d'évaluer l'activité schistosomicide *in vitro* de l'extrait aqueux de *C. umbellatum* et de ses fractions. Ces vers ont été obtenus grâce à la réalisation du cycle expérimental de *S. mansoni*.

II-2-Méthodes

II-2-1-Préparation de l'extrait aqueux et de ses fractions

Les feuilles fraîches de *C. umbellatum* ont été séchées à l'ombre puis pulvérisées, ce qui a permis d'obtenir une poudre. L'extrait aqueux a été préparé en mélangeant 1kg de poudre à 10 litres d'eau distillée, à raison d'un litre d'eau pour 100 g de poudre. Après 24h de macération à température ambiante, le mélange obtenu a été filtré à travers un papier Whatman N° 3. Le filtrat a été lyophilisé, ce qui a permis d'obtenir 170 g d'une poudre de couleur noire et de goût amer représentant l'extrait aqueux. Le rendement d'extraction de l'extrait aqueux était de 17 %.

Le fractionnement d'une partie de l'extrait aqueux (Figure 8) a été réalisé conformément au protocole de l'épuisement complet sous pression réduite. Nous avons utilisé des solvants de polarité croissante notamment le *n*-hexane, l'acétate d'éthyle et le méthanol. Le volume total de chaque solvant utilisé était de 1000 mL. Nous avons utilisé un évaporateur rotatif de marque BÜCHI Rotavapor R-114 (Büchi Labortechnik AG, Switzerland) à une température de 40 °C. À chaque étape d'épuisement, le solvant était ajouté puis le mélange était agité. Après décantation, nous obtenions deux phases bien distinctes sur le plan de la couleur. Le surnageant représentant la portion extraite par le solvant ajouté était prélevé à l'aide d'une pipette et placé dans un ballon. Ce dernier était ensuite connecté à l'évaporateur rotatif pour extraction du solvant. Le produit obtenu après évaporation d'un solvant représentait la fraction correspondante. Cette opération était répétée pour chaque solvant jusqu'à ce qu'après ajout du solvant, le surnageant soit de la même couleur que le solvant ajouté. Le rendement de fractionnement dans chaque solvant a été calculé par rapport à la quantité (120 g) d'extrait aqueux utilisée pour le fractionnement. Cette procédure nous a permis d'obtenir 0,31 g de fraction au *n*-hexane, 3,22 g de fraction à l'acétate d'éthyle, 31,23 g de fraction au méthanol et 66,59 g de résidu aqueux ; soit des rendements de 0,26 %, 2,68 %, 26,02 % et 55,49 %, respectivement.

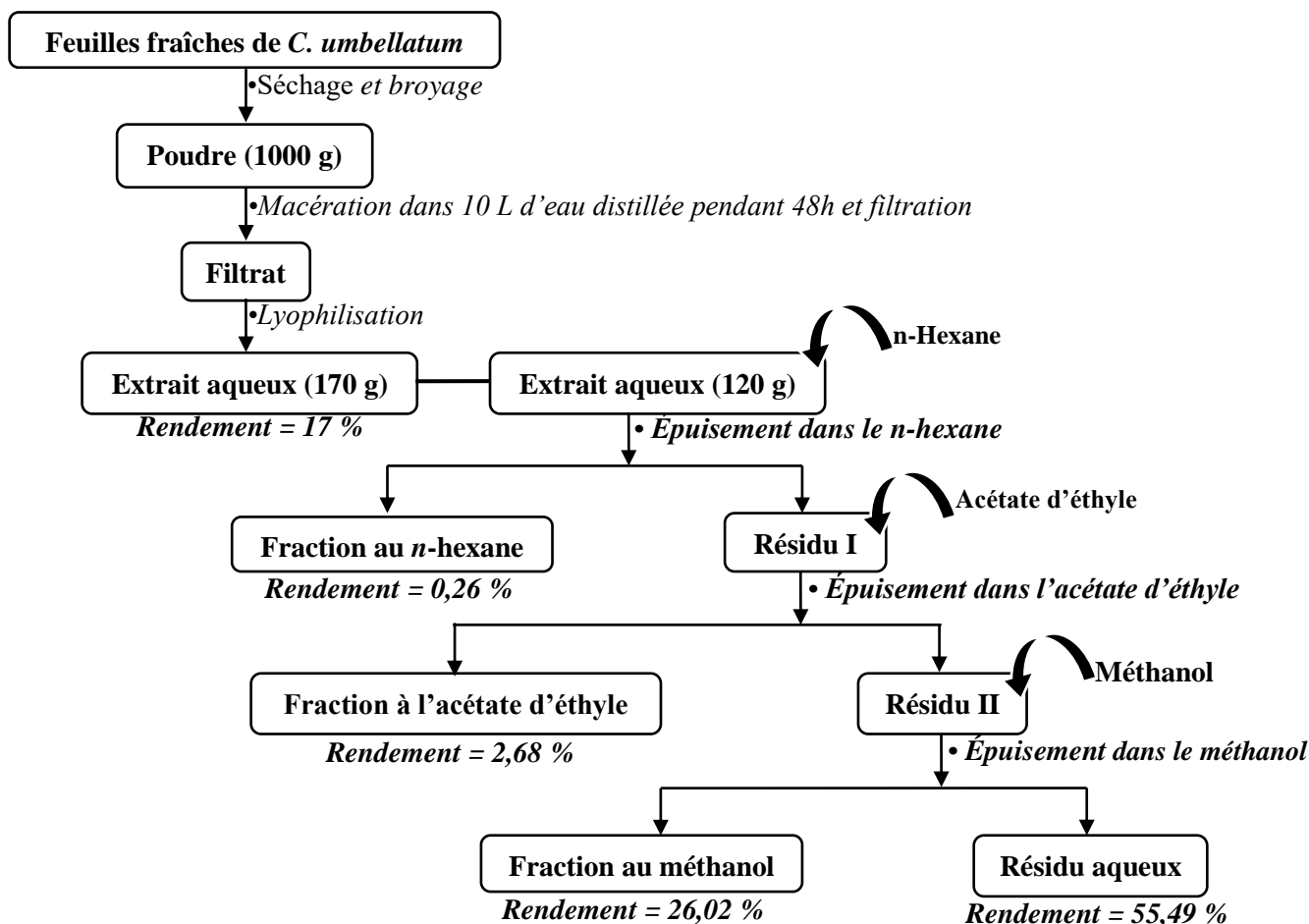


Figure 8 : Protocole de préparation de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de ses fractions.

II-2-2-Screening phytochimique qualitatif

Afin de mettre en évidence la présence ou l'absence de certains groupes de composés bioactifs dans l'extrait aqueux et ses fractions, une série de tests a été réalisée suivant les protocoles décrits par Ayoola *et al.* (2008). La solution de la substance à tester était obtenue en dissolvant 0,1 g de l'extrait aqueux ou de la fraction dans 1 mL d'eau distillée ou dans du DMSO 0,5 %.

➤ **Test des alcaloïdes :** la substance à tester (0,5 g) a été dissoute dans 10 mL d'acide chlorhydrique. Le mélange a été porté à ébullition puis filtré. A 5 mL de filtrat ont été ajoutés 2 mL d'ammoniac dilué et 5 mL de chloroforme. La solution a été agitée doucement afin d'extraire la base alcaloïdale. La couche de chloroforme a été extraite et mélangée à 10 mL d'acide acétique. Ce mélange a été divisé en deux portions, puis le réactif de Mayer a été ajouté à l'une et le réactif de Dragendorff à l'autre. La formation d'une crème avec le réactif de Mayer, et d'un précipité marron rougeâtre avec le réactif de Dragendorff a été considérée comme réaction positive de la présence des alcaloïdes dans l'extrait.

➤ **Test des Anthraquinones :** la substance à tester (0,5 g) a été dissoute dans 10 mL d'acide sulfurique (H₂SO₄). Le mélange a été porté à ébullition puis filtré à chaud et le filtrat a été agité après ajout de 5 mL de chloroforme. La couche de chloroforme a été pipetée et introduite dans un

autre tube. A ce mélange à été ajouté 1 mL d'ammoniac dilué. La présence des anthraquinones a été observée par l'apparition d'une coloration rouge.

➤ **Test des flavonoïdes** : la substance à tester a été mélangée à 5 mL d'ammoniac dilué. Après filtration, 1 mL d'acide sulfurique concentré a été ajouté. Une coloration jaune qui disparaît progressivement indiquait la présence des flavonoïdes.

➤ **Test des glycosides cardiaques (test de Keller-Killiani)** : à 5 mL de solution de substance à tester, ont été ajoutés 2 mL d'acide acétique glacial, une goutte de chlorure ferrique et 1 mL d'acide sulfurique qui a formé une sous-couche. La formation d'une bague de couleur marron dans l'interface caractérisait de la présence de glycosides cardiaques.

➤ **Test des lipides** : sur du papier filtre, ont été déposées quelques gouttes de solution de substance à tester. Le papier a ensuite été séché. L'observation des taches translucides aux sites de dépôt des gouttes était révélatrice de la présence des lipides dans l'extrait.

➤ **Test des phénols** : à 1 mL de solution de substance à tester, ont été ajoutées 3 gouttes de chlorure ferrique (FeCl_3). L'apparition d'une coloration vert bleuâtre caractérisait la présence des phénols dans la substance.

➤ **Test des saponines** : dans un tube test, 0,5 g de substance test a été dissous dans 5 mL de solvant (eau distillée ou DMSO 0,5 %) puis la solution a été vigoureusement agitée. La formation d'une mousse persistante au-delà de 10 minutes était le signe de la présence des saponines dans la substance.

➤ **Test des sucres réducteurs** : quelques gouttes de liqueur de Fehling A et B ont été ajoutés à 5 mL de solution de substance à tester, puis le mélange a été porté à ébullition. L'apparition d'un précipité rouge brique était indicatrice de la présence des sucres réducteurs.

➤ **Test des tanins** : dans un tube test, 0,5 g de substance a été dissous dans 10 mL d'eau distillée ou DMSO 0,5 %. Après filtration, quelques gouttes de chlorure ferrique (FeCl_3) ont été ajoutées. L'observation d'une coloration vert-marron ou bleu-noir était indicatrice de la présence des tanins

➤ **Test des terpenoïdes (test de Salkowshi)** : la substance à tester (0,5 g) a été dissoute dans 2 mL de chloroforme. Ensuite, 3 mL d'acide acétique concentré ont été minutieusement ajoutés de façon à obtenir une couche superficielle. La coloration marron rougeâtre de cette couche témoignait de la présence de terpenoïdes.

II-2-3-Screening phytochimique quantitatif

Cette étude a été réalisée afin de déterminer la teneur en certaines classes de composés d'intérêt notamment les flavonoïdes totaux, les polyphénols totaux, les protéines totales et les tanins, dans l'extrait aqueux et la fraction possédant la meilleure activité schistosomicide *in vitro* sur des vers de *S. mansoni*.

II-2-3-1-Détermination de la teneur en polyphénols totaux

Les polyphénols totaux ont été évalués suivant la méthode spectrophotométrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu tel que décrit par Mansouri *et al.* (2005).

➤ Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 760 nm.

➤ Mode opératoire

L'acide gallique a été utilisé comme polyphénol de référence. Nous avons préparé une gamme de 9 concentrations allant de 0 à 0,17 mg/mL tel que mentionné dans le tableau I. La solution mère (0,2 mg/mL) a été obtenue en dissolvant 1 mg d'acide gallique dans 5 mL d'eau distillée.

Tableau I : Préparation de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique

N° tube	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Solution mère d'acide gallique (mL)	0	0,05	0,1	0,25	0,4	0,5	0,65	0,75	0,85
Eau distillée (mL)	1	0,95	0,90	0,75	0,6	0,5	0,35	0,25	0,15
Concentration d'acide gallique (mg/mL)	0	0,01	0,02	0,05	0,08	0,10	0,13	0,15	0,17

Pour chaque substance à tester, 300 μ L ont été introduits dans un tube. Le tube blanc contenait 300 μ L de méthanol. A tous ces tubes ont été ajoutés 1500 μ L de réactif de Folin-Ciocalteu (90 ml d'eau distillée ajoutés à 10 mL du réactif Folin-Ciocalteu) ; puis 1200 μ L de la solution de bicarbonate de sodium à 7,5 % (7,5 g de bicarbonate de sodium dissous dans 100 mL d'eau distillée). Le mélange a ensuite été homogénéisé à l'aide d'un agitateur, puis incubé à l'obscurité pendant 1 heure. Les absorbances ont été lues contre le blanc à 760 nm au spectrophotomètre de marque HACH DR 3900 (Hach Lange, France). La concentration en composés phénoliques extractibles totaux a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Figure 9).

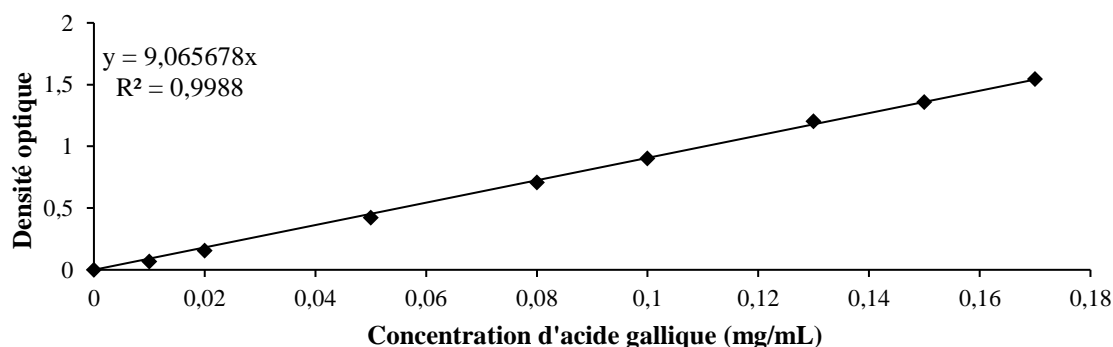


Figure 9 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

II-2-3-2-Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes totaux a été déterminée suivant la méthode décrite par Pal *et al.* (2012).

➤ Principe

La formation d'un complexe entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes donne une coloration jaunâtre dont l'intensité est proportionnelle au taux de flavonoïdes présents dans le milieu à 415 nm.

➤ Mode opératoire

Le flavonoïde de référence utilisé était la rutine. La courbe d'étalonnage de la rutine (Figure 10) a été conçue à partir du tableau II. La solution mère de rutine de concentration 100 mg/mL a été obtenue en dissolvant 400 mg de rutine dans 4 mL d'éthanol 99,9 %. Une gamme de onze concentrations de rutine allant de 0 à 100 mg/mL a été préparée à partir de cette solution mère.

Tableau II : Préparation de la gamme d'étalonnage de la rutine

N° tube	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Solution mère de rutine (mL)	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1
Ethanol 99,9 % (mL)	1	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0
Concentration de rutine (mg/mL)	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100

La solution à tester (500 µL) a été introduite dans deux tubes, un tube test et un autre qui servait de blanc. A tous les tubes ont été ajoutés successivement 1,5 mL d'éthanol à 95 % ; 0,1 mL d'une solution de chlorure d'aluminium à 10 % (1 g de AlCl₃ dissout dans 10 mL d'eau distillée) ; 0,1 mL d'une solution d'acétate de sodium 1 mol/L (0,41 g d'acétate de sodium dissout dans 5 mL d'eau distillée) et 2,8 mL d'eau distillée. Dans le tube blanc, la solution de chlorure d'aluminium à 10 % a été remplacée par un volume identique d'eau distillée. Les tubes ont été homogénéisés à l'aide d'un agitateur puis incubés pendant 30 minutes à température ambiante. Les absorbances ont été lues contre le blanc à 415 nm au spectrophotomètre de marque HACH DR 3900 (Hach Lange, France). La concentration en flavonoïdes totaux a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage de la rutine.

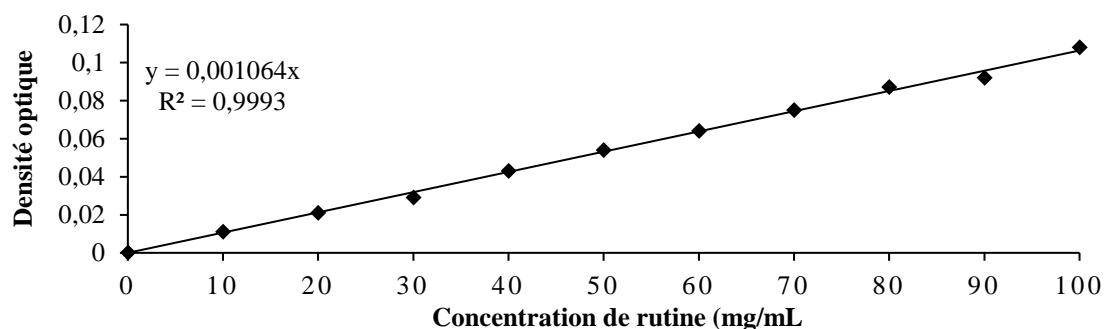


Figure 10 : Courbe d'étalonnage de la rutine.

II-2-3-3-Détermination de la teneur en protéines totales

L'extraction des protéines s'est faite suivant le protocole décrit par Barbarino et Lourenço (2005). Pour ce faire, une masse de 50 mg de la substance à tester a été dissoute dans le solvant correspondant (eau distillée ou DMSO). Le mélange a été incubé pendant 12 h à température ambiante. Après cette incubation, la suspension a été centrifugée à 4 °C, à 3000 trs/min pendant 20 minutes et le surnageant a été récupéré. Au culot, a été ajouté 0,1 mL de NaOH (0,1 N) et le mélange a ensuite été homogénéisé puis incubé à température ambiante pendant 1 heure. Par la suite, le mélange a été centrifugé à 3000 tr/min pendant 20 minutes à 21 °C. Le second surnageant a été récupéré et combiné au premier, pour un volume total de 3 mL.

Le dosage des protéines totales dans chaque substance à tester a été effectué par la méthode décrite par Gornal *et al.* (1949).

➤ Principe

Dans un milieu basique, les tartrates de sodium et de potassium forment avec les ions cuivriques un complexe soluble. L'addition d'une protéine déplace le cuivre complexé avec le tartrate pour former un complexe cuivro-protéique de couleur violette. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de protéines présente dans la solution à doser.

➤ Réactifs

- **Réactif de Biuret** : Le réactif de Biuret a été préparé à partir des solutions A et B. La solution A a été obtenue en faisant dissoudre 0,75 g de sulfate de cuivre hydraté ($\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$) et 3 g de tartrate de sodium potassium dans 100 mL d'eau distillée. La solution B a été obtenue en faisant dissoudre 15 g de soude dans 100 mL d'eau distillée. Les deux solutions ont été mélangées et le volume final a été ajusté à 500 mL avec de l'eau distillée ;

- **Solution SAB (sérum albumine bovine)** : la solution de SAB (3 mg/mL) a été obtenue en dissolvant 0,03 g de SAB dans 10 mL d'eau distillée.

➤ Mode opératoire

La procédure est décrite dans le tableau III. Les tubes ont été homogénéisés à l'aide d'un agitateur puis incubés pendant 10 minutes à température ambiante. L'absorbance a été lue au spectrophotomètre HACH DR 3900 (Hach Lange, France) à 540 nm contre le blanc. Le modèle d'une courbe de régression linéaire du logiciel Microsoft Excel a été utilisé pour l'obtention de la courbe d'étalonnage (Figure 11).

Tableau III : Protocole de dosage des protéines totales

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

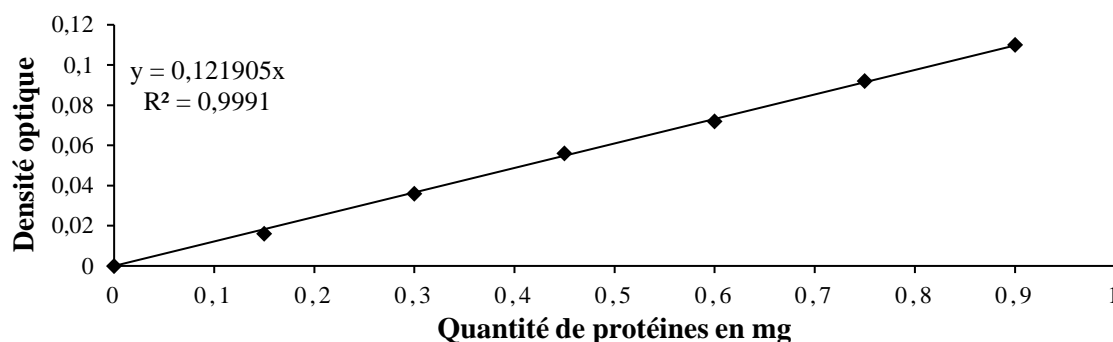


Figure 11 : Courbe d'étalonnage des protéines totales.

II-2-3-4-Détermination de la teneur en tanins

Les tanins ont été déterminés suivant la méthode spectrophotométrique utilisant la vanilline acidifiée et l'acide tannique comme standard (Bainbridge *et al.*, 1996).

➤ Principe

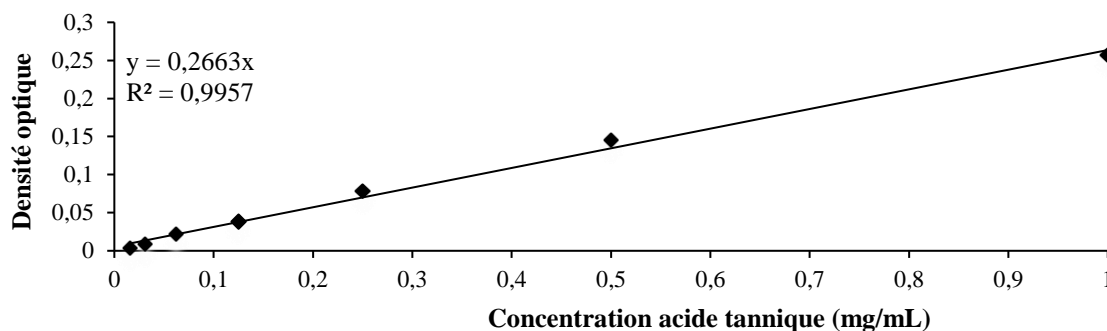
Le principe du dosage est basé sur le fait que l'acide tannique, plus particulièrement le flavane-3-ol, en présence du réactif constitué de la vanilline (0,1 mg / ml) en milieu acide (acide sulfurique 70 % (v/v) donne une coloration rouge dont le maximum d'absorption se situe à 500 nm.

➤ Mode opératoire

Un millilitre de la substance à tester (2 mg/ml) a été introduit dans des tubes à essai recouverts de papier aluminium pour exclure la lumière. Ensuite, nous avons ajouté 3 mL d'une solution fraîchement préparée de vanilline 4% dans l'éthanol (v/v). Après agitation, 1 mL d'acide chlorhydrique concentré a été ajouté dans chaque tube à essai qui par la suite a été laissé au repos à température ambiante pendant 15 min. L'absorbance a été lue à 500 nm contre le blanc. L'acide tannique (1 mg/mL) a parallèlement été préparé comme l'échantillon pour servir de référence et pour tracer la courbe d'étalonnage (Figure 12). La teneur en tanins a été exprimée en mg équivalent d'acide tannique par gramme en utilisant la courbe d'étalonnage de l'acide tannique. Cette courbe a été obtenue en suivant le protocole décrit dans le tableau IV.

Tableau IV : Préparation de la gamme d'étalonnage de l'acide tannique

N° tube	1	2	3	4	5	6	7
Acide tannique (mg/mL)	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	0,03125	0,015625
Vanilline 4% (mL)	3	3	3	3	3	3	3
Acide tannique (mL)	1	1	1	1	1	1	1
Acide chlorhydrique (mL)	1	1	1	1	1	1	1

**Figure 12 : Courbe d'étalonnage de l'acide tannique.**

II-2-4-Réalisation du cycle expérimental de *Schistosoma mansoni*

Ce cycle a été réalisé au Centre Schistosomiasés et Parasitologie de Yaoundé. Sa réalisation nous a permis de disposer d'une bonne quantité de mollusques émetteurs de cercaires qui sont les larves infestantes de *Schistosoma mansoni*. Ce cycle a été réalisé en suivant les étapes décrites par Tchuem Tchuente (1993).

II-2-4-1-Prospection malacologique et élevage des mollusques

II-2-4-1-1-Prospection malacologique

La prospection malacologique a consisté en la collecte des mollusques hôtes intermédiaires de *Schistosoma mansoni* ; à savoir les mollusques de l'espèce *B. pfeifferi*. Ils ont été collectés dans divers cours d'eau des villes de Yaoundé (Lac de la carrière de Ngoa-Ekelle, rivière Afeme, lac municipal...) et Makenéné (rivière Makenene, rivière Mock...). Avant la collecte, afin de nous préserver d'une éventuelle infestation sur le site, nous étions équipés d'une paire de bottes et des gants imperméables. La collecte a été faite par peignage systématique des plantes de bordure des cours d'eau à l'aide d'une époussette à mailles fines et à manche long. Des pinces ont permis de prélever les mollusques de l'époussette afin de les introduire dans des bocaux en plastiques contenant de l'eau du site.

II-2-4-1-2-Elevage des mollusques

De retour au laboratoire, les mollusques collectés ont été soigneusement nettoyés et soumis à un test d'émission cercarienne afin de déceler les éventuels émetteurs naturels. Durant ce test, les mollusques étaient placés individuellement dans des cupules contenant de l'eau de source et exposés à une source lumineuse, la lumière du Soleil ou une lampe de 40 Watts ; afin de stimuler

l'émission des cercaires. L'observation des mollusques sous la loupe binoculaire de marque ZEISS Stemi DV4 (Carl Zeiss, Germany) a permis d'identifier les mollusques émetteurs naturels. Après le test d'émission cercarienne, les mollusques étaient transférés dans des bacs en plastiques contenant de l'eau de source pour élevage. L'alimentation des mollusques était constituée pour l'essentiel de feuilles de laitues fraîches légèrement macérées pour les adultes et broyées en une fine pâte pour les plus jeunes. Dans les bacs d'élevage, des morceaux de polystyrène flottant à la surface servaient de pondoirs. Les œufs prélevés des pondoirs étaient incubés séparément et les jeunes mollusques issus de leur éclosion étaient destinés aux infestations ultérieures.

II-2-4-2-Collecte des selles et infestation des mollusques

II-2-4-2-1-Collecte des selles

L'infestation des mollusques se fait avec des miracidiums. Ceux-ci sont issus des œufs de *S. mansoni* retrouvés dans les selles des personnes infestées. Pour ce faire, une enquête parasitologique était nécessaire. Ladite enquête a été réalisée dans le cadre des activités du Programme National de Lutte contre la Schistosomiase et les Helminthiases Intestinales (PNLSHI). Dans des pots en plastique portant chacun un code d'identification individuel, nous avons collecté des selles de personnes vivant dans la localité de Makenéné.

II-2-4-2-2-Examen des selles par la technique de Kato-Katz

De retour au laboratoire, les selles ont été examinées à l'aide de la technique de Kato-Katz afin d'identifier les selles positives c'est-à-dire les selles contenant les œufs de *S. mansoni*. Les personnes dont les selles étaient positives ont été traitées au praziquantel.

Le matériel nécessaire pour la réalisation de cet examen comprend une spatule en plastique, un gabarit en plastique percé d'un trou de 6 mm de diamètre sur 1,5 mm de profondeur, une paire de pinces, une lame porte-objet portant un numéro d'identification identique à celui porté sur le pot contenant les selles, un tamis en mailles d'acier, du papier cellophane découpé en rectangles et trempé dans la solution de Kato-Katz (1 mL de vert de malachite 3 % + 100 mL de glycérine + 100 mL d'eau distillée) et une paire de gants.

Afin de réaliser cet examen, une quantité de selles a été prélevée du pot à l'aide de la spatule et passée à travers les mailles du tamis. Les débris grossiers étaient retenus à la surface du tamis. La spatule a ensuite permis de prélever la selle tamisée sur la face interne du tamis et de la déposer dans le trou du gabarit posé sur la lame porte-objet. La pastille de selle correspondant à 14,7 mg qui restait sur la lame après retrait du gabarit a été recouverte d'un rectangle de cellophane imbibé de la solution de Kato-Katz. Après étalement de la préparation, elle était observée au microscope optique LEICA (Leica, Allemagne) environ 30 minutes après le montage (Endriss *et al.*, 2005). Les selles contenant des œufs de *Schistosoma mansoni* étaient identifiées comme positives et utilisées pour l'obtention des œufs.

II-2-4-2-3-Infestation des mollusques et obtention des cercaires

L'infestation des mollusques a été réalisée avec les miracidiums issus des selles positives. Pour ce faire, dans un bécher, les selles positives ont été mélangées à une solution saline (NaCl 0,9 %) et homogénéisées. L'homogénat a ensuite été filtré sur une colonne de quatre tamis à mailles décroissantes (425 µm, 180 µm, 106 µm et 45 µm). Les contenus des deux derniers tamis ont été recueillis et repartis dans des tubes à pieds coniques. Ceux-ci ont été incubés à l'obscurité pendant 30 minutes. Après élimination du surnageant, les tubes étaient de nouveau remplis de solution saline. Cette opération a été répétée au moins deux fois. Le surnageant a été éliminé et les tubes ont été remplis d'eau de source et replacés à l'obscurité pendant 30 minutes. Par la suite, les culots des différents tubes coniques ont été répartis dans des boîtes de pétri en verre contenant de l'eau de source et exposés à la lumière d'une lampe de 40 Watts afin de stimuler l'éclosion des œufs. La combinaison des chocs osmotique, lumineux et thermique a permis l'éclosion rapide des œufs.

A l'aide d'une micropipette P1000, les miracidiums fraîchement libérés ont été pipetés par groupe de quatre et transférés dans des cupules contenant chacun un jeune mollusque âgé de 4 à 6 semaines et mesurant 4 à 6 mm de diamètre, immergé dans de l'eau de source. L'exposition des mollusques aux miracidiums s'est faite pendant 12 heures durant lesquelles nous avons veillé à ce que les mollusques restent bien immergés. Au bout des 12 heures, les mollusques ont été replacés dans leurs bacs d'élevage. A partir du 28^{ème} jour post-infestation, les mollusques ont subi des tests d'émission cercarienne afin de déterminer les émetteurs. Le taux de réussite de l'infestation en laboratoire était de 100 %.

II-2-4-3-Infestation des souris

L'infestation des souris, hôtes définitifs de la schistosomiase à *S. mansoni* constitue la dernière étape de la réalisation du cycle expérimental. Nous avons utilisé la technique d'immersion de la queue et des pattes. Avant l'infestation proprement dite, les souris ont été placées pendant environ 15 minutes dans un grand bac contenant de l'eau de robinet afin de stimuler l'émission des selles et des urines. Cette opération était indispensable afin d'éviter que ces fèces ne polluent l'eau lors de l'infestation ; ce qui pourrait tuer les cercaires. Après l'émission des fèces, les souris étaient placées individuellement dans des bocaux en verre dans lesquels nous avons versé de l'eau de source jusqu'à ce que la queue et les pattes soient bien immergées. Un pool d'une vingtaine de mollusques émetteurs a fourni les cercaires qui ont été utilisées pour infester les souris. Pour ce faire, ces mollusques ont été soumis au test d'émission cercarienne pour libérer les cercaires. Au microscope inverse, cinquante cercaires ont été prélevées à l'aide d'une micropipette P1000 et transférées dans les bocaux contenant les souris. Au bout de 90 minutes d'exposition, les souris étaient sorties des bocaux et remises dans leurs cages d'élevage.

Après la première infestation des mollusques à partir des selles de patients, pour perpétuer le cycle en laboratoire, lors des infestations suivantes, nous avons utilisé les foies des souris infestées. Après le sacrifice, les foies étaient prélevés puis broyés dans un mortier contenant une solution de NaCl 0,9 %. Le broyat obtenu a subi les étapes décrites précédemment.

II-2-5-Evaluation de l'activité schistosomicide *in vitro* de l'extrait aqueux de *Clerodendrum umbellatum* et de ses fractions

Pour évaluer l'effet schistosomicide de l'extrait aqueux de *Clerodendrum umbellatum* et de ses différentes fractions, nous avons utilisé des vers adultes de *Schistosoma mansoni*. Ces vers étaient obtenus après perfusion des souris infestées par des cercaires de *S. mansoni*.

II-2-5-1-Infestation des souris et récupération des schistosomes

Pour cette étude, nous avons utilisé 50 souris de sexes confondus âgées de 8 semaines, pesant entre 20 et 25 g. Chaque souris a été infestée à 200 cercaires de *S. mansoni* par la technique d'immersion des pattes et de la queue. Au 45^{ème} jour post-infestation, les souris ont été sacrifiées par dislocation cervicale. Ensuite nous avons réalisé une perfusion du foie et des veines mésentériques suivant la technique de Duwall et Dewitt (1967) modifiée. Le liquide de perfusion utilisé était une solution de NaCl 0,9 %. La perfusion avait pour but de récupérer les vers. Le taux de récupération des schistosomes après la perfusion était en moyenne de 30 %.

II-2-5-2-Préparation du milieu de culture

Toute la verrerie utilisée pour la préparation des différentes solutions a été préalablement lavée à l'eau courante, rincée deux fois à l'eau courante, trempée dans l'eau courante à 100 °C pendant une heure puis rincée deux fois à l'eau distillée. Ce matériel a ensuite été stérilisé à 120 °C sous une pression de 4 bar, pendant 1 heure dans un autoclave de marque SANO clav (Adolf Wolf, Allemagne). Le matériel a été enfin séché à l'air libre pendant 24 heures.

Les produits suivants ont été utilisés pour la préparation du milieu de culture :

- "GLASGOW MINIMUM ESSENTIAL MEDIUM" (GMEM G-6148) (Sigma-Aldrich, Germany) ;
- "HEPES Buffer Solution" 1M (Sigma-Aldrich, Germany) ;
- "Sodium Bicarbonate powder" (Sigma-Aldrich, Germany) ;
- Gentamicine 80 mg/2mL (Rotex Medica, Germany) ;
- "Fetal Bovine Serum" (FBS) (Sigma-Aldrich, Germany) ;
- "L-Glutamine Solution" 200mM (Sigma-Aldrich, Germany) ;
- "Antibiotic Antimycotic solution" composée de 10000 U/mL de pénicilline, 10 mg/mL de streptomycine et 25 µg/mL d'amphotéricine B (Sigma-Aldrich, Germany) ;
- "Penicillin-Streptomycin-Neomycin solution" composée de 5000 U/mL de pénicilline, 5000 µg/mL streptomycine et 10000 µg/mL de néomycine (Sigma-Aldrich, Germany).

II-2-5-2-1-Préparation du GMEM incomplet

Le GMEM incomplet a été obtenu en dissolvant dans 300 mL d'eau distillée un flacon de poudre de GMEM G-6148 (2,50 g), 2,75 g de bicarbonate de soude, 1,5 mL de gentamicine (40 µg/mL) et 10 mL d'HEPES 1M. La solution a été ensuite homogénéisée, puis le volume a été complété à 1000 mL avec de l'eau distillée. Le pH de cette solution était de 7,2.

II-2-5-2-2-Préparation du GMEM complet

Le GMEM complet a été obtenu en ajoutant 25 mL de FBS inactivé à 100 mL de GMEM incomplet. Le volume a été complété à 500 mL avec du GMEM incomplet. Cette préparation a été réalisée sous une hotte à flux laminaire de marque HOLTEN LaminAir (Jouan Nordic, Denmark).

Le GMEM incomplet et le GMEM complet ont été filtrés sous la hotte à l'aide d'une membrane filtrante de porosité 0,22 µm (MILLIPORE®) montée sur une unité de filtration stérilisée reliée à une pompe à vide. Après la filtration, les solutions ont été conservées à 4 °C dans des flacons stérilisés.

II-2-5-2-3-Préparation du GMEM de lavage

Le GMEM de lavage a été obtenu à partir de 100 mL de GMEM incomplet auxquels nous avons ajouté 15 mL de la mixture antibiotiques-antimycotique. Le volume a été complété à 500 mL avec du GMEM incomplet. Cette préparation a été réalisée sous la hotte à flux laminaire.

II-2-5-2-4-Préparation du GMEM de culture

Le GMEM de culture proprement dit a été préparé sous la hotte. Nous avons obtenu 500 mL de milieu de culture en ajoutant 5 mL de L-glutamine et 5 mL de la mixture d'antibiotiques à 490 mL de GMEM complet. Le pH du milieu de culture était de 7,5. Le GMEM de culture a été conservé à 4 °C dans un flacon stérilisé.

II-2-5-3-Répartition et maintenance des schistosomes

Nos tests étaient conformes aux procédures standards développées par Ramirez *et al.* (2007). A la fin de la perfusion des souris, les vers adultes de *S. mansoni* obtenus ont été lavés. Ce lavage a été réalisé ainsi qu'il suit : la solution de perfusion a été aspirée et remplacée par une solution de NaCl 0,9 %. Après 20 min de décantation des vers, cette solution a été aspirée et remplacée par une autre. Nous avons réalisé une série de trois lavages dans du NaCl 0,9 % suivie d'une série de trois lavages dans le GMEM de lavage. Les vers collectés ont été transférés dans un bocal stérile de 50 mL et la procédure de lavage s'est poursuivie sous la hotte à flux laminaire. Le GMEM de lavage a été ajouté au bocal jusqu'à la graduation maximale, ainsi que 1 mL de la mixture antibiotiques-antifongiques. Après 10 min, cette solution a été remplacée par le GMEM de lavage pour une série de deux lavages. Après cette opération de lavage, les vers ont été

transférés dans des boîtes de pétri stériles en polystyrène contenant le GMEM de culture. Ils ont ensuite été repartis dans les plaques de culture.

Les vers ont été répartis dans des plaques de culture stériles en polystyrène de 24 puits. Chaque puits contenait 5 vers femelles et 5 vers mâles. Ces vers baignaient dans 1900 µL de GMEM de culture. Les plaques ont été placées dans un incubateur Nuair NU-5100E (Nuair, England) réglé sous une atmosphère à 5 % de CO₂ et à 37 °C. Les plaques y ont séjourné 2 heures avant d'être retirées pour l'administration des différentes substances.

II-2-5-4-Administration des substances

Dans les études de l'activité antischistosomale *in vitro* d'une substance, les concentrations généralement utilisées se situent entre 10 µg/mL et 50 mg/mL (Sparg *et al.*, 2000 ; De Melo *et al.*, 2011). Connaissant les concentrations finales dans chaque puits (C_f) et tenant compte du fait qu'un volume de 100 µL (V_i) de chaque substance à tester sera additionné à chaque puits pour compléter le volume final par puits à 2 mL (V_f), les solutions-mères des substances à tester de concentration C_i ont été préparées suivant la formule :

$$C_i \times V_i = C_f \times V_f \longrightarrow C_i = (C_f \times V_f) / V_i$$

Sous la hotte, les solutions-mères des substances à tester ont été préparées et filtrées à l'aide de filtres-seringues de porosité 0,22 µm avant d'être mises en contact des vers. Les dilutions appropriées des solutions-mères avec le GMEM de culture ont permis d'obtenir les concentrations finales souhaitées.

L'extrait aqueux de *C. umbellatum* a été dissout dans de l'eau distillée et mélangé au milieu de culture pour obtenir des concentrations finales de 125, 250, 500, 1000, 2000 et de 4000 µg/mL.

La fraction au méthanol et le résidu aqueux ont été dissouts dans de l'eau distillée tandis que les fractions au *n*-hexane et à l'acétate d'éthyle ont été dissoutes dans du DMSO 0,5 %. Toutes les fractions ont été diluées dans le milieu de culture pour obtenir des concentrations finales de 62,5, 125, 250, 500, 1000 et de 2000 µg/mL.

Les milieux témoins négatifs étaient le GMEM de culture proprement dit pour l'extrait aqueux, la fraction au méthanol et le résidu aqueux, et le DMSO 0,5 % pour la fraction *n*-hexane et la fraction à l'acétate d'éthyle. Le praziquantel, à la concentration de 10 µg/mL a servi de contrôle positif dans cette étude.

II-2-5-5-Evaluation de la motilité, de la mortalité et détermination de la concentration létale 50

Après la répartition des substances dans les puits, les plaques de culture ont été placées dans l'incubateur réglé sous une atmosphère à 5 % de CO₂ et à 37 °C. Deux séries distinctes de tests ont été réalisées pour chaque substance à tester et à chaque concentration, 4 réplicats ont été constitués. A 24 heures et à 48 heures après l'exposition aux substances, les vers étaient observés

au microscope inverse Olympus CK2 (Olympus Corporation, Japan). Chaque ver était observé pendant 2 minutes au plus. Le paramètre évalué était la motilité du ver. Nous avons deux niveaux de motilité (Ramirez *et al.*, 2007) :

➤ la motilité normale était marquée par des mouvements ondulatoires du corps et des ventouses ;

➤ la motilité réduite était caractérisée par de faibles mouvements ondulatoires du corps, voire même une inertie du corps, mais la présence des mouvements des ventouses.

Le nombre de vers présentant une motilité réduite a été énuméré par puits et le taux de réduction de l'activité motrice a été calculé par puits, puis pour chaque concentration de la substance à tester.

Durant l'expérimentation, la mort du ver était constatée après 2 minutes d'observation sans qu'aucun mouvement ni du corps, ni des ventouses soit noté. Le taux de mortalité par puits a été calculé puis celui de chaque concentration de la substance à tester.

A la fin de l'étude, soit à 48 heures d'incubation, sur la base des taux de mortalité calculés dans chaque puits, nous avons déterminé la CL₅₀ de chaque substance à l'aide du logiciel "Trimmed Spearman-Kärber" (TSK) version 1.5 (Hamilton *et al.*, 1977).

Nous avons évalué l'activité schistosomicide *in vitro* de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* et de ses fractions au *n*-hexane, à l'acétate d'éthyle, au méthanol et du résidu aqueux. Pour les études *in vivo*, en plus de l'extrait aqueux, nous avons sélectionné la fraction la plus active sur la base de la concentration létale 50.

II-2-5-6-Evaluation de la cytotoxicité

La cytotoxicité de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction qui a présenté la meilleure activité schistosomicide *in vitro* a été évaluée. Cette étude a été réalisée sur la lignée de cellules hépatiques de mélanomes de souris C57/L (Hepa 1-6, ATCC CRL-1830) par la méthode colorimétrique WST-8.

Les cellules ont été cultivées dans un milieu de culture à haute teneur en glucose, le "Dulbecco's Minimal Essential Medium" (DMEM) contenant du pyruvate et supplémenté en L-glutamine, 10 % (v/v) de sérum fœtal bovin inactivé par la chaleur et 1 % de la mixture (v/v) de pénicilline/streptomycine. Les cellules ont été cultivées à 37 °C dans un incubateur humidifié à 95 % d'air et 5 % de CO₂. La culture monocouche atteignant une confluence entre 80-90 % était détachée en utilisant une solution de trypsine et calibrée avec un compteur de cellules (Fast Read 102). La suspension cellulaire calibrée a étéensemencée dans des plaques de microtitration de culture tissulaire à 96 puits avec une densité de 1 x 10⁴ cellules par puits et incubée pendant une nuit à 37 °C dans un incubateur à 5 % de CO₂ pour l'adhésion cellulaire. Après l'incubation, le milieu a été retiré des cellules et remplacé par un milieu frais suivi par l'addition de l'extrait ou de

la fraction à différentes concentrations : 15,625 ; 31,25 ; 62,50 ; 125 ; 250 ; 500 et 1000 µg/mL. Des puits témoins contenant uniquement des cellules ont été constitués et les plaques ont été incubées pendant 24 h dans les mêmes conditions de culture.

Après l'incubation, la viabilité cellulaire a été mesurée par l'activité mitochondriale caractérisée par la réduction du sel monosodique de 2-(2-méthoxy-4-nitrophényl)-3-(4-nitrophényl)-5-(2,4-disulfophényl)-2H-tétrazolium en formazan, un composé de couleur bleu. Nous avons utilisé le kit-8 de comptage de cellules (WST-8, abcam, ab228554, United Kingdom) conformément aux instructions du fabricant. Les essais ont été réalisés en triplicats. Après 24 heures d'incubation, la densité optique a été mesurée à 450 nm en utilisant un lecteur de microplaques Dynex MRX TC II. Les résultats ont été exprimés en pourcentage de croissance des cellules témoins. Les valeurs de CI_{50} (concentrations inhibitrices 50) ont été calculées en utilisant le logiciel Trimmed Spearman-Kärber (TSK) version 1.5 (Hamilton *et al.*, 1977).

II-2-6-Protocole de l'évaluation de l'impact du traitement à l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* ou à la fraction méthanolique sur l'hépatopathie induite par l'infection à *Schistosoma mansoni*

II-2-6-1-Infestation et traitement des souris

II-2-6-1-1-Infestation des souris

Nous avons utilisé 53 souris femelles âgées de 8 semaines et pesant entre 20 et 25 g. La technique d'infestation était la méthode par immersion de la queue et des pattes, précédemment décrite à la section II-2-4. Chaque souris a été exposée à 50 cercaires libérées par un pool de 25 mollusques émetteurs. Après l'infestation, les souris ont été réparties en groupes et observées pendant 35 jours afin de permettre au parasite de poursuivre son cycle de développement dans l'organisme de l'hôte définitif.

II-2-6-1-2-Traitement des souris

Le traitement a débuté au 36^{ème} jour post-infestation. Les souris réparties en groupes ont été traitées aux différentes substances pendant 28 jours. Le tableau V présente la répartition et le traitement administré aux souris après l'infestation.

Tableau V : Répartition et traitement des souris

Groupe	Nombre de souris	Substance administrée et dose
Témoin Sain (TS)	5	Eau distillée
Témoin Négatif (TN)	6	Eau distillée
PZQ	6	Praziquantel à 100 mg/kg
Extrait aqueux		
EA100	6	Extrait aqueux à 100 mg/kg
EA200	6	Extrait aqueux à 200 mg/kg
EA400	6	Extrait aqueux à 400 mg/kg
Fraction méthanolique		
FM100	6	Fraction méthanolique à 100 mg/kg
FM200	6	Fraction méthanolique à 200 mg/kg
FM400	6	Fraction méthanolique à 400 mg/kg

TS : souris non infestées ; TN : souris infestées et recevant de l'eau distillée.

Les substances ont été administrées quotidiennement par voie orale à l'aide d'une sonde œsophagienne durant les 28 jours de traitement. Le praziquantel a été administré pendant 5 jours consécutifs, suivi de l'eau distillée pendant les 23 jours restants.

Les doses de l'extrait aqueux ont été choisies sur la base des résultats d'une étude précédente portant sur l'extrait aqueux de *C. umbellatum* (Jatsa *et al.*, 2009). Dans cette étude, la dose de 160 mg/kg était celle ayant présenté la meilleure activité schistosomicide. Nous avons entrepris de l'extrapoler à 200 mg/kg et l'avons encadrée par les doses de 100 et de 400 mg/kg. Les doses de la fraction méthanolique ont été choisies identiques à celles de l'extrait aqueux afin d'établir une comparaison adéquate à doses égales. Le praziquantel a été administré à la dose généralement utilisée pour les études chez la souris (Cioli *et al.*, 2004).

La préparation des solutions d'extrait aqueux, de la fraction méthanolique et de praziquantel à administrer aux souris s'est déroulée comme suit.

➤ **Solution d'extrait aqueux ou de la fraction méthanolique**

L'extrait aqueux et la fraction méthanolique ont été préparés à trois concentrations :

- 10 mg/mL pour la dose de 100 mg/kg, en dissolvant 0,06 g de l'extrait ou de la fraction dans 6 mL d'eau distillée ;
- 20 mg/mL pour la dose de 200 mg/kg, en dissolvant 0,12 g de l'extrait ou de la fraction dans 6 mL d'eau distillée ;
- 40 mg/mL pour la dose de 400 mg/kg, en dissolvant 0,24 g de l'extrait ou de la fraction dans 6 mL d'eau distillée.

➤ **Solution de Praziquantel**

La solution de praziquantel a été obtenue en dissolvant un comprimé entier, contenant l'équivalent de 600 mg de principe actif, dans 40 mL d'eau distillée.

Nous avons déterminé le volume de substance à administrer à chaque dose grâce à la formule :

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

V est le volume de solution à administrer à une souris en mL

P est le poids de la souris en kg

D la dose administrée en mg/kg

C la concentration de la solution en mg/mL.

II-2-6-2-Sacrifice des animaux et collecte des échantillons

La veille du sacrifice, nous avons collecté des selles chez toutes les souris infestées. Pour ce faire, les souris ont été placées individuellement dans des bocaux en verre pendant 5 heures. Les selles collectées ont été pesées puis conservées dans du formol 10 % tamponné. Elles ont été utilisées pour déterminer la charge ovulaire fécale.

Toutes les souris ont été sacrifiées par dislocation cervicale au 65^{ème} jour post-infestation. Avant la dislocation, nous avons prélevé du sang par ponction retro-orbitaire à l'aide d'une pipette pasteur équipée d'une poire. Ce sang a été conservé dans des tubes renfermant l'anticoagulant EDTA (acide éthylène diamine tétraacétique) et centrifugé à 3500 trs/min pendant 15 min. Le plasma obtenu a été réparti dans des tubes Eppendorf et conservés à -70 °C en vue de l'évaluation des marqueurs de la fonction hépatique.

Les souris ont ensuite été disséquées puis perfusées pour la récupération des schistosomes. Le foie et la rate ont été prélevés et pesés en vue de la détermination de leurs poids relatifs. L'intestin entier a été vidé de ses fèces puis pesé. Le foie a été subdivisé ainsi qu'il suit :

- le lobe droit a été conservé à -70 °C en vue du dosage des marqueurs du stress oxydant tels que le malondialdéhyde, la catalase, le glutathion réduit ;
- le lobe gauche a été utilisé pour évaluer la charge ovulaire hépatique ;
- les lobes carré et caudé a été conservés dans du formol tamponné 10 % en vue de la réalisation des coupes histologiques.

La variation du poids corporel des souris a été évaluée à partir de la masse corporelle du jour de l'infestation et celle du jour du sacrifice. Nous avons utilisé la formule suivante :

$$\text{Variation pondérale (\%)} = \frac{\text{Poids corporel préinfestation} - \text{Poids corporel au sacrifice}}{\text{Poids corporel au sacrifice}} \times 100$$

Les masses du foie et de la rate ont permis de calculer leurs poids relatifs à partir de la formule suivante :

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

La figure 13 résume le protocole expérimental d'évaluation du traitement à l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* et à sa fraction méthanolique sur la l'hépatopathie induite par *S. mansoni*.

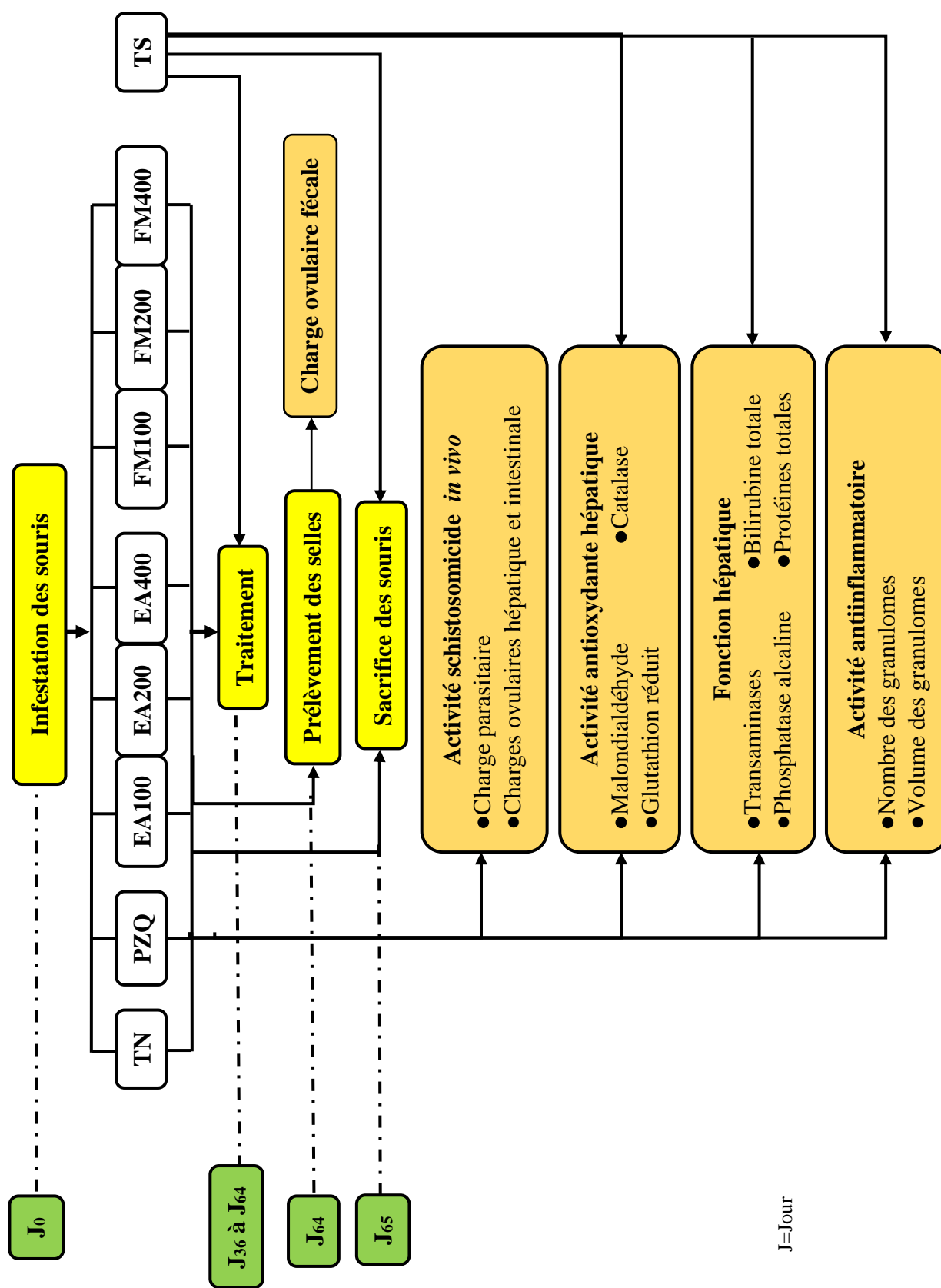


Figure 13 : Protocole expérimental de l'évaluation du traitement à l'extrait aqueux de *Clerodendrum umbellatum* ou à sa fraction méthanolique sur l'hépatopathie induite par *Schistosoma mansoni*.

TS: témoins sains, souris non infestées (n=5) / TN : témoins négatifs, souris infestées et recevant de l'eau distillée (n=6) / PZQ : témoins positifs, souris infestées et traitées au praziquantel (n=6) / EA100, EA200, EA400 : groupes essais, souris infestées et traitées à l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement (n=6) / FM100, FM200, FM400 : groupes essais, souris infestées et traitées à la fraction méthanolique aux doses 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement (n=6).

II-2-7-Evaluation de l'activité schistosomicide *in vivo* de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique

L'activité schistosomicide *in vivo* de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* et de sa fraction méthanolique a été évaluée après le traitement via la détermination de la charge parasitaire et des charges ovulaires fécale, hépatique et intestinale.

II-2-7-1-Evaluation de la charge parasitaire

Les souris ont été perfusées en utilisant la technique de Duwall et Dewitt (1967) modifiée par Lewis *et al.* (2013). Dans la cavité générale, une ligature a été effectuée au niveau de la portion terminale du rectum afin d'augmenter la pression du liquide de perfusion dans les vaisseaux mésentériques. La souris a été ensuite suspendue verticalement. La veine porte hépatique a été mise en évidence puis sectionnée. L'aiguille d'un épicrochien a été introduite dans la branche descendante de l'aorte et la solution de perfusion (8,5 g de chlorure de sodium et de 7,5 g de citrate de sodium dissous dans 1000 mL d'eau distillée) a été injectée via une seringue. Les schistosomes paralysés grâce au citrate de sodium ont été entraînés par le courant du liquide de perfusion vers la veine porte sectionnée et récupérés dans un bécher placé sous le rongeur. Chaque animal recevait 100 mL de liquide de perfusion, volume avec lequel nous obtenions une décoloration complète du foie et des veines mésentériques. Les viscères ont été rincés par le jet de la solution de NaCl 0,9 % à l'aide d'une pissette, cela a permis de récupérer des vers éventuellement coincés entre ces viscères. Après la perfusion, les schistosomes ont été recueillis par filtration du contenu du bécher à travers un tamis à mailles fines (45 µm). Les vers récupérés ont été comptés à la loupe binoculaire. Les intestins de chaque rongeur ont été prélevés et examinés à la loupe afin de récupérer les schistosomes restés éventuellement coincés.

Après la perfusion, les vers récupérés ont été comptés afin d'obtenir la charge parasitaire de chaque groupe. Le pourcentage de réduction (PR) du nombre de schistosomes a été calculé selon la formule de Tendler *et al.* (1986) ainsi qu'il suit :

$$PR (\%) = \frac{\text{Nombre de vers du témoin négatif} - \text{Nombre de vers du groupe traité}}{\text{Nombre de vers du témoin négatif}} \times 100$$

II-2-7-2-Evaluation des charges ovulaires fécale, hépatique et intestinale

II-2-7-2-1-Evaluation de la charge ovulaire fécale

Les selles collectées la veille du sacrifice ont servi à la détermination de la charge ovulaire fécale chez les animaux infectés suivant la méthode décrite par Cheever (1968). Pour ce faire, les selles de chaque souris ont été homogénéisées, puis filtrées sur une colonne de tamis à mailles décroissantes : 425 µm, 180 µm, 106 µm et 45 µm. Le culot recueilli dans les deux derniers tamis a été suspendu dans du NaCl 0,9 %. Les solutions obtenues ont été centrifugées à 1500 trs/min pendant 5 minutes, puis le surnageant a été éliminé. Après une série de 3 lavages (centrifugation,

élimination du surnageant, suspension du culot dans le NaCl 0,9 %), le culot renfermant les œufs a été conservé dans le formol 10 % tamponné jusqu'au moment du comptage. Deux aliquotes de 100 µL chacun ont été montés sur des lames puis recouverts de papier cellophane préalablement imbibé de solution de Kato-Katz. Le nombre d'œufs de *Schistosoma mansoni* a été compté au microscope optique (objectif x10) de marque LEICA (Leica, Allemagne) puis estimé par gramme de selles.

II-2-7-2-2-Evaluation de la charge ovulaire hépatique et de la charge ovulaire intestinale

Le lobe gauche du foie et l'intestin entier de chaque souris ont été pesés, dilacérés et déposés dans des béchers contenant respectivement 10 mL et 20 mL d'une solution de KOH 4 %. Les béchers ont ensuite été placés dans un bain-marie à 37 °C pendant 6 heures. Les tissus des organes ont été dissous et les œufs intacts libérés dans la solution (Tchuem Tchuenté, 1993). Les solutions obtenues ont été centrifugées à 1500 trs/min pendant 5 minutes, le surnageant a été éliminé et le culot suspendu dans le NaCl 0,9 %. Après une série de 3 lavages (centrifugation, élimination du surnageant, suspension du culot dans le liquide physiologique), le culot renfermant les œufs de *S. mansoni* a été conservé dans le formol 10 % tamponné jusqu'au moment du comptage (Cheever, 1968). Juste avant le comptage, ce culot a été homogénéisé à l'aide d'une pipette, puis deux aliquotes de 100 µL ont été montés sur des lames et recouverts de papier cellophane préalablement imbibé de solution de Kato-Katz. Le nombre d'œufs de *S. mansoni* a été compté au microscope optique (objectif x10) de marque LEICA (Leica, Allemagne), puis estimé par gramme d'organe.

II-2-8-Evaluation des effets du traitement à l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et à sa fraction méthanolique sur la fonction hépatique de souris infestées à *Schistosoma mansoni*

L'impact de l'infection à *S. mansoni* sur la fonction hépatique des souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* ou à sa fraction méthanolique a été évaluée sur le plan biochimique en mesurant les activités des transaminases et de la phosphatase alcaline, ainsi que les concentrations des protéines totales et de la bilirubine totale.

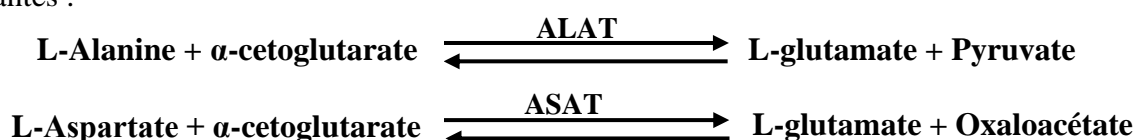
II-2-8-1-Dosage des transaminases

L'augmentation des taux plasmatiques d'ALAT (Alanine AminoTransférase) et d'ASAT (Aspartate AminoTransférase) reflète une lésion cellulaire, en particulier au niveau hépatique ou musculaire.

➤ Principe

L'ALAT et l'ASAT catalysent le transfert du groupement aminé respectivement de l'alanine vers l' α -cétoglutarate pour former le pyruvate et le glutamate ; et de l'aspartate sur l' α -

cétoglutarate pour former l'oxaloacétate et le glutamate. Ces transferts se font suivant les équations suivantes :



Le pyruvate ou l'oxaloacétate formé réagit avec le 2,4-dinitrophénylhydrazine (DNPH) pour donner le complexe marron pyruvate hydrazone (pour l'ALAT) ou oxaloacétate hydrazone (pour l'ASAT). L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de pyruvate ou d'oxaloacétate présente dans le milieu ; c'est-à-dire reliée à l'activité de l'ALAT ou de l'ASAT.

➤ Mode opératoire

Le dosage de ces enzymes a été réalisé à l'aide du kit BIOCLIN (Quibasa Quimica Basica Ltda, Brasil) suivant le protocole décrit par Reitman et Frankel (1957). Les courbes d'étalonnage de l'ALAT et de l'ASAT (Figure 14) ont été réalisées suivant le protocole décrit dans le tableau VI.

Pour réaliser ce dosage, nous avons utilisé les réactifs suivants :

- Réactif 1 (substrat d'ALAT ou d'ASAT) : c'est un mélange de L-alanine 0,2 M pour ALAT ou d'acide L-aspartique 0,153 M pour l'ASAT, d'acide α -cétoglutarate 2 mM et d'azide sodique 7,7 mM dans du tampon phosphate 0,1 M (pH 7,4) ;
- Réactif 2 (réactif de coloration) : il renferme le 2,4-dinitrophenylhydrazine 1 mM et de l'acide chlorhydrique 1M ;
- Réactif 3 est l'hydroxyde de sodium. Au moment du dosage, l'hydroxyde de sodium 0,4 N a été préparé en diluant 20 mL de NaOH 5M dans 250 mL d'H₂O distillée.
- Réactif 4 (Standard) : il renferme du pyruvate de sodium 2,53 mM et de l'azide sodique 7,7 mM dans du tampon phosphate 0,1 M (pH 7,4).

Tableau VI : Protocole de réalisation des courbes d'étalonnage de l'ALAT et de l'ASAT

Réactifs \ N° Tubes	1	2	3	4	5
Réactif 4 (μL)	0	10	20	30	40
Réactif 1 (μL)	100	90	80	70	60
Eau distillée (μL)	20	20	20	20	20
Réactif 2 (μL)	100	100	100	100	100
Les tubes ont été homogénéisés puis incubés pendant 20 minutes à température ambiante					
Réactif 3 (μL)	1000	1000	1000	1000	1000
Les tubes ont été homogénéisés puis incubés pendant 5 minutes à température ambiante					
Activité ALAT (U/mL)	0	28	57	97	150
Activité ASAT (U/mL)	0	24	61	114	190

Les densités optiques ont été lues à 505 nm au spectrophotomètre GENESYS 20 (Thermo Fisher Scientific, United States). Le modèle logarithmique de la courbe de tendance dans le logiciel Microsoft Excel a été utilisé pour le tracé des courbes d'étalonnage (Figure 14).

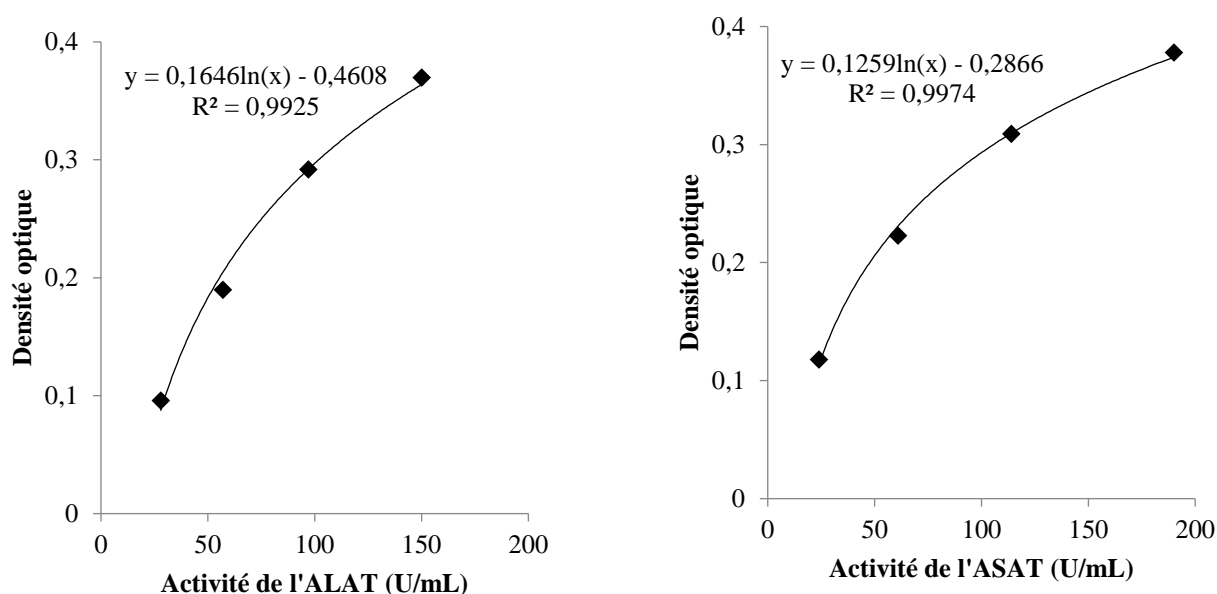


Figure 14 : Courbes d'étalonnage de l'ALAT et de l'ASAT.

Le protocole décrit dans le tableau VII a permis de déterminer les taux d'ALAT et d'ASAT dans les échantillons.

Tableau VII : Protocole de dosage de l'ALAT et de l'ASAT dans les échantillons

Substance	Volume
Réactif 1 (µL)	50
Les tubes ont été incubés à 37 °C pendant 3 minutes	
Echantillons (plasma) (µL)	10 (ALAT) 20 (ASAT)
Les tubes ont été homogénéisés puis incubés pendant 30 minutes à 37 °C	
Réactif 2 (µL)	50
Les tubes ont été homogénéisés puis incubés pendant 20 minutes à 37 °C	
Réactif 3 (µL)	500

Les densités optiques ont été lues à 505 nm au spectrophotomètre de marque GENESYS 20 (Thermo Fisher Scientific, United States). Les équations des courbes d'étalonnage (Figure 14) nous ont permis de déterminer les activités de l'ALAT et de l'ASAT.

II-2-8-2-Dosage de la bilirubine totale

➤ Principe

La réaction entre la bilirubine et l'acide sulfanilique diazoté conduit à un composé de coloration rouge : l'azobilirubine. En solution aqueuse, seule la bilirubine directe réagit. Pour doser la bilirubine totale, il est nécessaire de rompre la liaison entre la bilirubine indirecte et

l'albumine. Cette liaison est rompue par ajout de caféine dans le milieu réactionnel. L'augmentation de l'absorbance est proportionnelle à la concentration en bilirubine totale.

➤ Mode opératoire

Le dosage de la bilirubine totale a été réalisé à l'aide du kit INMESCO (Neustad/Wied, Germany) suivant la méthode décrite par Malloy-Evelyn (1937). Le protocole du dosage est décrit dans le tableau VIII.

Pour réaliser ce dosage, nous avons utilisé les réactifs suivants :

- Réactif 1 : est constitué d'un mélange d'acide sulfanilique 25 mmol/L de HCl 100 mmol/L ;
- Réactif 2 : c'est du nitrate de sodium 3,5 mmol/L ;
- Réactif 3 : c'est un mélange de caféine 460 mmol/L et de benzoate de sodium 400 mmol/L.

Tableau VIII : Protocole de dosage de la bilirubine totale

Réactifs	Echantillon	Blanc
Réactif 1 (μL)	200	200
Réactif 2 (μL)	40	40
Réactif 3 (μL)	800	800
Echantillon (μL)	200	-
Eau distillée (μL)	-	200

Le mélange a été homogénéisé et incubé pendant 5 minutes à température ambiante puis la variation de l'absorbance a été lue au spectrophotomètre GENESYS 20 (Thermo Fisher Scientific, United States) à 546 nm contre le blanc. La concentration en bilirubine a été déterminée selon la formule suivante :

$$[\text{Bilirubine totale}] (\mu\text{mol/L}) = \Delta\text{DO échantillon} \times \text{Facteur}$$

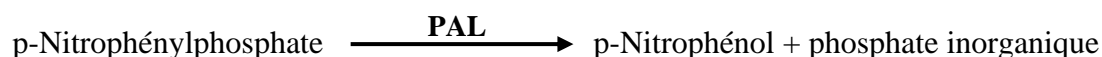
$\Delta\text{DO échantillon}$: variation de l'absorbance de l'échantillon = DO_{ech} - DO_{blanc}

Facteur = 154 (μmol/L)

II-2-8-3-Dosage de la phosphatase alcaline

➤ Principe

La phosphatase alcaline (PAL) catalyse la réaction suivante :



➤ Mode opératoire

Le dosage de la phosphatase alcaline a été réalisé conformément aux recommandations de IFCC (1983). Nous avons utilisé le kit INMESCO (Neustad/Wied, Germany).

Les réactifs utilisés étaient composés ainsi :

Réactif 1 : 2-Amino-2-methyl-1-propanol (pH : 10,4)	0,9 mol/L
Sulfate de magnésium	1,6 mmol/L
Sulfate de zinc	0,6 mmol/L
EDTA	2,0 mmol/L
Réactif 2 : p-Nitrophénylphosphate	16 mmol/L

La solution de travail a été obtenue en mélangeant 100 mL du réactif 1 avec 20 mL du réactif 2. Ensuite, à 20 µL d'échantillon, a été ajouté 1 mL de solution de travail. Le mélange a été homogénéisé et incubé pendant 1 minute à température ambiante puis les variations de l'absorbance ont été lues au spectrophotomètre GENESYS 20 (Thermo Fisher Scientific, United States) pendant 3 minutes à 410 nm contre l'air. L'activité de la phosphatase alcaline a été déterminée selon la formule suivante :

$$\text{Activité PAL (U/L)} = \Delta A / \text{min} \times 2757$$

ΔA = variation de l'absorbance par minute

II-2-8-4-Dosage des protéines totales

La concentration des protéines totales dans le plasma des souris a été déterminée en suivant le protocole développé par Gornal *et al.* (1949). Ce protocole a été précédemment décrit à la section II-2-3-3.

II-2-9-Evaluation de l'activité antioxydante de *Clerodendrum umbellatum*

L'activité antioxydante de *C. umbellatum* a été évaluée *in vitro* en déterminant le potentiel antiradicalaire de l'extrait aqueux et de sa fraction méthanolique vis-à-vis du 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). *In vivo*, après avoir administré l'extrait aqueux de *C. umbellatum* ou sa fraction méthanolique à des souris infestées à *S. mansoni*, la mesure de quelques biomarqueurs du stress oxydant a également été réalisée.

II-2-9-1-Détermination *in vitro* de l'activité antiradicalaire de *Clerodendrum umbellatum*

Le pouvoir antioxydant se détermine par la capacité d'un antioxydant donné à piéger un radical libre ou à donner un atome d'hydrogène. Les pouvoirs inhibiteurs des radicaux DPPH de l'extrait aqueux de *C. umbellatum* et de sa fraction au méthanol ont été évalués suivant la méthode de Zhang et Hamauzu (2004).

➤ Principe

Le DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl), radical libre de couleur violette, est réduit en un composé de couleur jaune en présence de composés antiradicalaires. L'intensité de la coloration, mesurée au spectrophotomètre, est inversement proportionnelle à l'activité antiradicalaire des composés dont on souhaite déterminer l'activité. Ainsi, on observera une décroissance de l'absorbance résultant du changement de couleur (du violet au jaune) au fur et à mesure que le radical sera piégé par les antioxydants contenus dans la substance à analyser. Ceci se fait par le transfert de l'atome d'hydrogène pour former le DPPH-H stable.

➤ **Mode opératoire**

Une solution de DPPH 0,1 mM a été préparée dans du méthanol. A partir des solutions-mères, des solutions d'extrait aqueux et de fraction méthanolique ont été préparées en réalisant des dilutions pour obtenir les concentrations finales de 31,25 , 62,5 , 125, 250, 500 et de 1000 µg/mL. L'acide ascorbique ou vitamine C aux concentrations de 2,5 , 5 , 7,5 , 15, 30 et de 60 µg/mL a été utilisé comme substance de référence. Dans le tube contrôle ou tube blanc, le méthanol a été utilisé à la place de la substance à tester. Les tests ont été réalisés en triplicats pour chaque concentration. Dans un tube à essai contenant 0,5 mL d'acide ascorbique, d'extrait aqueux ou de fraction méthanolique, 2 mL de DPPH ont été ajoutés. Le mélange a été agité pendant 5 minutes et incubé à l'obscurité pendant 60 min à température ambiante. Les absorbances ont été lues à 517 nm contre le blanc à l'aide d'un spectrophotomètre HACH DR 3900 (Hach Lange, France).

L'activité antioxydante de l'acide ascorbique et de chaque substance à tester a été exprimée en pourcentage d'inhibition à partir de la formule ci-dessous :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(\text{Absorbance contrôle} - \text{Absorbance échantillon})}{\text{Absorbance contrôle}} \times 100$$

Les différents pourcentages d'inhibition obtenus nous ont permis, à partir d'une courbe de régression linéaire, de déterminer les CI₅₀ de la vitamine C et des substances à tester. La CI₅₀ est la concentration qui réduit 50 % des radicaux libres présents dans le milieu.

II-2-9-2-Evaluation de l'activité antioxydante de *Clerodendrum umbellatum* après traitement de souris infestées à *Schistosoma mansoni*

Afin d'évaluer l'impact du traitement à l'extrait aqueux de *C. umbellatum* ou à sa fraction méthanolique sur le stress oxydant induit par l'infection à *S. mansoni* chez la souris, nous avons mesuré les taux de malondialdéhyde, de glutathion réduit ainsi que l'activité de la catalase.

II-2-9-2-1-Préparation des homogénats de foie

Le tampon Tris-HCl 50 mM pH 7,4 KCl 150 mM a été préalablement préparé comme suit : 1,21 g de Tris base et 2,79 g de KCl ont été dissoutes dans 250 mL d'eau distillée, puis le pH a été ajusté à 7,4 par ajout de HCl 11,8 N et le volume de la solution a été complété à 500 mL avec de l'eau distillée.

Une masse de chaque lobe droit du foie conservé à -70 °C a été prélevée et broyée dans un mortier en céramique sur un bac de glace avec du tampon Tris-HCl 50 mM pH 7,4 KCl 150 mM à 20 % (poids/volume). L'homogénat obtenu a été centrifugé à 3500 trs/min à 4 °C pendant 25 minutes. Le surnageant a permis d'effectuer des aliquotes qui ont été conservés à -70 °C en vue des dosages.

II-2-9-2-2-Dosage du malondialdéhyde

Le dosage de malondialdéhyde a été réalisé suivant le protocole décrit par Wilbur *et al.* (1949).

➤ Principe

La présence de malondialdéhyde (MDA) dans un échantillon se traduit par la formation en milieu acide et chaud (90 °C) d'aldéhyde malonique qui réagit avec l'acide thiobarbiturique pour former un complexe rose. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à 530 nm contre un tube blanc.

➤ Réactifs

• **Solution d'acide trichloroacétique (TCA) 20 %** : cette solution a été obtenue en faisant dissoudre 2 g de TCA dans 10 mL d'eau distillée

• **Solution d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 %** : cette solution a été obtenue en faisant dissoudre 0,335 g de TBA dans 50 mL d'eau distillée

➤ Mode opératoire

Dans les tubes tests ont été introduits 500 µL de l'homogénat et dans le tube blanc 500 µL du tampon Tris-HCl (50 mM, KCl 150 mM, pH 7,4). Dans chaque tube, ont été ensuite ajoutés 250 µL de TCA 20 % et 500 µL de TBA 0,67 %. Les tubes ont été bouchés à l'aide des billes de verre et incubés pendant 10 minutes à 90 °C, puis refroidis à l'eau du robinet. Ils ont été centrifugés à 3000 tr/min pendant 15 minutes à température ambiante. Le surnageant a été pipeté et l'absorbance lue à 530 nm au spectrophotomètre GENESYS 20 (Thermo Fisher Scientific, United States) contre le blanc. La quantité de malondialdéhyde a été déterminée à l'aide de la formule suivante :

$$[\text{MDA}](\text{mmol/g de foie}) = \frac{\text{DO} \times \text{Vt}}{\epsilon \times \text{L} \times \text{Vi} \times \text{m}}$$

DO est la densité optique (nm)

Vi est le volume utilisé pour le dosage (mL)

L est la longueur de la cuve = 1 cm

Vt est le volume total de surnageant (mL)

m est la masse de l'organe utilisée (g)

ϵ est le coefficient d'extinction molaire = $1,56 \times 10^5 \text{ mmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

II-2-9-2-3-Dosage de la catalase

➤ Principe

Le dosage de la catalase a été réalisé suivant le protocole décrit par Sinha (1972). La présence de la catalase dans l'homogénat de foie se traduit par la dismutation du peroxyde d'hydrogène. Le résidu se lie au dichromate de potassium pour former un précipité bleu vert d'acide perchlorique instable qui va être décomposé par la chaleur et former un complexe vert.

➤ **Réactifs**

- **Solution de peroxyde d'hydrogène 50 mM** : pour obtenir cette solution, 243 µL de peroxyde d'hydrogène à 35 % ont été dilués dans 50 mL d'eau distillée ;

- **Solution de dichromate de potassium 5 % / acide acétique glacial** : la solution de dichromate de potassium 5 % a été obtenue en dissolvant 2,5 g de dichromate de potassium dans 50 mL d'eau distillée. La solution de dichromate/acide acétique glacial a été obtenue en mélangeant 50 mL de solution de dichromate de potassium 5 % et 150 mL d'acide acétique glacial pur ;

- **Tampon phosphate 0,1 M ; pH 7,5** : deux solutions ont été initialement préparées. Pour cela 8,9 g de phosphate disodique hydraté ont été dissous dans 500 mL d'eau distillée et 6,5 g de phosphate monosodique hydraté ont été dissous dans 500 mL d'eau distillée. A 500 mL de la solution de phosphate disodique hydraté ont été ajoutés 70 mL de la solution de phosphate monosodique hydraté ; puis goutte à goutte 30 mL de la même solution, ce qui a donné un volume final d'environ 600 mL de tampon phosphate 0,1 M ; pH 7,5.

➤ **Mode opératoire**

Les différents réactifs ont été mélangés comme indiqué dans le tableau IX afin d'établir la courbe d'étalonnage (Figure 15).

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

N° tubes	1	2	3	4	5
H ₂ O ₂ (50mM) (µL)	0	20	40	80	160
Solution de dichromate de potassium/ acide acétique glacial (mL)	2	2	2	2	2
Après formation du précipité bleu, les solutions ont été chauffées jusqu'à ébullition pendant 10 minutes (apparition de la couleur verte) et refroidis à température ambiante.					
Eau distillée (µL)	1000	980	960	920	840
Activité de la catalase (mM de H ₂ O ₂ /min/mL)	0	2	4	8	16
La densité optique (DO) a été lue au spectrophotomètre GENESYS 20 (Thermo Fisher Scientific, United States) à 570 nm					

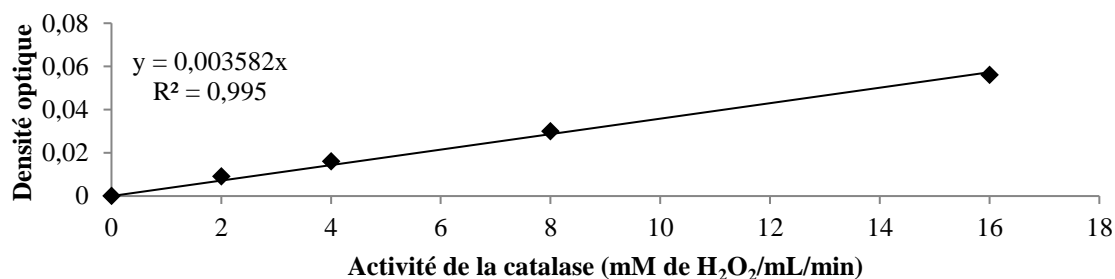


Figure 15 : Courbe d'étalonnage de la catalase.

Dans les tubes tests, ont été introduits 12,5 µL de l'homogénat de foie et 187,5 µL de tampon phosphate (0,1 M, pH 7,5). Le tube blanc contenait 187,5 µL de tampon phosphate +12,5 µL de tampon Tris-HCl. Le chronomètre a été ensuite déclenché après ajout de 50 µL de peroxyde d'hydrogène (50 mM) dans tous les tubes. Après une minute, la réaction a été arrêtée par ajout de

500 μ L de solution de dichromate/acide acétique. Les solutions ont été chauffées à 100 °C pendant 10 minutes et après refroidissement, la densité optique a été lue au spectrophotomètre GENESYS 20 (Thermo Fisher Scientific, United States) à 570 nm contre le blanc. La quantité de peroxyde d'hydrogène restant dans la solution de la cuve après ajout de la solution de dichromate de potassium/acide acétique glacial a été évaluée en utilisant la courbe d'étalonnage. L'activité spécifique de la catalase a été déterminée puis exprimée en mM de H₂O₂/min/g de foie d'après la formule suivante :

$$\text{Activité catalase (mmol/min/g)} = \frac{(\text{DO Ech} - \text{DO blanc}) \times f}{a \times t \times \text{mi}}$$

DO Ech : densité optique de l'échantillon

f : facteur de dilution

a : coefficient de la droite d'équation de la courbe d'étalonnage (a = 0,003582)

t : temps de réaction (t = 1 minute)

mi (g): masse de foie correspondant au volume de dosage

II-2-9-2-4-Dosage du glutathion réduit

Le dosage du glutathion réduit (GSH) a été réalisé suivant le protocole de Ellman (1959).

➤ Principe

L'acide 2,2-dithio-5,5'-dinitrobenzoïque (DTNB) réagit avec les groupements -SH du glutathion présent dans l'homogénat pour donner un complexe de couleur jaune.

➤ Réactifs

- **Tampon phosphate 0,1 M ; pH 6,5** : une masse de 8,9 g de phosphate disodique hydraté (Na₂HPO₄, H₂O) a été dissoute dans 500 mL d'eau distillée et 6,5 g de phosphate monosodique hydraté (NaH₂PO₄, H₂O) ont aussi été dissous dans 500 mL d'eau distillée. A 500 mL de la solution de phosphate monosodique hydraté obtenue ont été ajoutés 200 mL de la solution de phosphate disodique, puis goutte à goutte 80 mL de la même solution jusqu'à obtention d'un volume final d'environ 780 mL de tampon phosphate 0,1 M ; pH 6,5 ;

- **Réactif d'Ellman** : il a été obtenu en dissolvant 5 mg de DTNB (acide 2,2-dithio-5,5'-dinitrobenzoïque) dans 250 mL du tampon phosphate (0,1 M ; pH 6,5).

➤ Mode opératoire

Un volume de 1500 μ L du réactif d'Ellman a été introduit dans des tubes contenant préalablement 100 μ L d'homogénat (tube test) ou 100 μ L de tampon tris-HCl (tube témoin) puis les mélanges ont été incubés pendant 1 heure à température ambiante et l'absorbance a été lue au spectrophotomètre GENESYS 20 (Thermo Fisher Scientific, United States) à 412 nm contre le blanc. La quantité de glutathion cellulaire a été déterminée à l'aide de la formule de Beer-Lambert :

$$[\text{GSH}] (\text{mol/g de foie}) = \frac{\text{DO} \times \text{Vt}}{\epsilon \times \text{L} \times \text{Vi} \times \text{m}}$$

DO est la densité optique (nm)

Vi est le volume utilisé pour le dosage (mL)

L est la longueur de la cuve = 1 cm

Vt est le volume total de surnageant (mL)

m est la masse de l'organe utilisée (g)

ϵ est le coefficient d'extinction molaire = 13600 mol⁻¹ cm⁻¹

II-2-10-Evaluation de l'activité antiinflammatoire de *Clerodendrum umbellatum*

Nous avons réalisé des coupes histologiques du foie des souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux de *C. umbellatum* et à sa fraction méthanolique. Ensuite, l'histomorphométrie des granulomes bilharziens a été effectuée afin de déterminer le potentiel antiinflammatoire de l'extrait aqueux et de sa fraction.

II-2-10-1-Réalisation des coupes histologiques

Les coupes histologiques de foie ont été réalisées en suivant les étapes du protocole décrit par Smith et Bruton (1977).

Les foies prélevés ont été fixés dans le formol tamponné à 10%. Le but de la fixation était de préserver les cellules et les constituants tissulaires dans un état aussi proche que possible de celui du vivant afin que les tissus passent les étapes de la préparation des lames histologiques sans subir de changements majeurs.

II-2-10-1-1-Préparation des lames

➤ Le « Trimming »

Au cours de cette étape, encore appelée recoupe, des biopsies du foie ont été réalisées suivant un plan transversal sous une hotte ventilée, à l'aide d'un scalpel. Les tranches obtenues étaient introduites dans des cassettes histologiques (3,0 x 2,5 x 0,4 cm) qui ont été soigneusement étiquetées au crayon.

➤ La déshydratation

Cette étape comporte trois sous étapes : la déshydratation proprement dite, l'éclaircissement et l'imprégnation.

- **La déshydratation proprement dite** consiste à débarrasser le tissu de toute trace d'eau. En effet, le formol tamponné est aqueux, et l'eau est non miscible au milieu d'imprégnation/inclusion qu'est la paraffine. Pour y parvenir, les biopsies ont séjourné dans des bains d'alcool éthylique de concentrations croissantes et pendant des durées précises : 50° (1 heure), 70° (1 heure), deux bacs de 95° (respectivement 1 heure pour le 1^{er} et 1h30 min pour le 2^{ème}) et 3 bacs de 100° (pendant respectivement 1 heure, 1 h30 min et 2 heures).

- **L'éclaircissement** consiste à remplacer le solvant de déshydratation par un solvant dit « de transition » miscible à la paraffine : le xylène. Pour ce faire, les tissus ont séjourné dans deux bacs de xylène durant 1heure et 1h30 min respectivement.

- **L'imprégnation** consiste à remplacer le solvant de transition par la paraffine. Ainsi, les cassettes ont été introduites dans 3 séries de bains de paraffine fondue pendant 1 heure, 1h30 min et 2 heures respectivement.

➤ **L'inclusion**

Cette étape facilite la réalisation des coupes au microtome en fournissant un support externe aux tissus. Après imprégnation dans la paraffine, les tissus ont été sortis des cassettes, introduits dans des moules métalliques remplis de paraffine fondue et mis à solidifier sur une surface froide après orientation appropriée du tissu dans le bloc.

➤ **La coupe**

A cette étape, les coupes de 5 µm d'épaisseur des différents blocs ont été réalisées à l'aide d'un microtome. Une fois coupées, les sections formant un ruban de paraffine ont été mises à défriper dans un bain-marie à 40 °C. Les meilleures coupes ont été récupérées chacune sur une lame porte-objet préalablement dégraissée à l'alcool. Les différentes lames ainsi constituées ont été placées pour séchage dans une étuve à 45 °C pendant au moins 24 heures.

II-2-10-1-2-Coloration

Cette étape permet de mettre en évidence les différents éléments tissulaires et de les différencier entre eux. Ceci rend possible l'étude de leur structure, de leur morphologie et de leurs éventuelles modifications pathologiques. Après séchage, les coupes ont été déparaffinées dans trois bains de xylène par séjour de 5 minutes par bain. Elles ont ensuite été réhydratées, afin de permettre la pénétration des colorants, par passages successifs dans une série de trois bains d'éthanol 100° (10 min/bain), puis un bain d'éthanol 95° (5 min) et enfin un bain d'éthanol 70° (5 min). Les lames ont été rincées à l'eau distillée ; puis nous avons réalisé la coloration à l'hématoxyline-éosine (HE) et la coloration au Picrosirius (PS).

➤ **Coloration à l'hématoxyline-éosine**

C'est une coloration de routine à l'issue de laquelle les noyaux, colorés par l'hématoxyline apparaissent bleu foncé, et les cytoplasmes colorés par l'éosine apparaissent rose. Cette coloration a été effectuée afin d'évaluer les infiltrations leucocytaires et la réaction granulomateuse liée à la schistosomiase chez la souris. Les solutions d'hématoxyline et d'éosine ont été préparées suivant le protocole de Mayer (1896).

- La solution d'éosine a été préparée en dissolvant 5 g d'éosine dans 30 mL d'eau distillée. Le volume a ensuite été complété à 1000 mL avec 970 mL d'éthanol absolu.

- L'hématoxyline de Mayer a été obtenue en dissolvant 1 g d'hématoxyline dans 1000 mL d'eau distillée. La solution obtenue a été chauffée jusqu'à 50 °C, puis 0,2 g d'iodate de sodium et 50 g de potassium aluminium sulfate dodécahydrate ont été ajoutés et le mélange a été agité. Après agitation 1 g d'acide citrique et 50 g de chloral hydrate ont été ajoutés (Mayer 1896).

Après le rinçage à l'eau distillée, les lames ont été immergées pendant 10 min dans un bac contenant de l'hématoxyline de Mayer pendant 10 min, puis rincées à l'eau courante du robinet pendant 10 min. Elles ont ensuite été plongées tour à tour dans un bain d'éthanol à 70° puis

d'éthanol à 95° pendant 5 min et enfin contre-colorées dans une solution d'éosine Y à 0,5 % dans l'éthanol à 95° pendant 5 min. Les coupes ont ensuite été déshydratées par immersion des lames dans trois bains d'éthanol à 100° (5 minutes par bain), puis éclaircies après trois séjours de 5 min chacun dans du xylène. Pour le montage des lames, après ajout de quelques gouttes de résine, la lame a été recouverte d'une lamelle.

➤ **Coloration au picrosirius**

Cette coloration a été entreprise pour mettre en évidence la fibrose et typer le collagène au niveau des foyers granulomateux hépatiques. Le Sirius F3BA, entrant dans la composition du picrosirius est un colorant spécifique du collagène. La préparation des colorants a été réalisée comme suit :

- L'hématoxyline de Weigert a été préparée à partir d'un mélange volume/volume (v/v) d'hématoxyline alcoolique préparée par dissolution de 1g d'hématoxyline dans 100 mL d'éthanol à 95° et d'une solution de chlorure ferrique acide préparée en mélangeant 11,6 g de chlorure de fer anhydre et 10 mL d'acide chlorhydrique à 25 % dans 990 mL d'eau distillée.

- L'eau acétifiée à 0,5 % a été obtenue à partir d'un mélange de 0,5 mL d'acide acétique glacial avec 99,5 mL d'eau distillée.

- La solution de Picrosirius a été préparée par dissolution de 0,1 g de rouge Sirius (Sirius F3B) dans 100 mL d'une solution d'acide picrique saturée.

Pour la procédure de coloration, les lames déparaffinées et réhydratées ont été plongées dans la solution d'hématoxyline de Weigert pendant 12 min, puis rincées à l'eau courante du robinet pendant 10 min et à l'eau distillée pendant 3 min. Après ce lavage, les lames ont été introduites dans la solution de Picrosirius pendant 1 heure et différenciées dans deux bains d'eau acétifiée à 0,5 % (20 à 30 secondes/bain). A l'issue de cette étape de différenciation, les lames ont été égouttées pendant deux minutes, puis déshydratées dans deux bains d'éthanol 100° (5 minutes par bain), éclaircies dans du xylène (3 bains de 5 min) et enfin montées sous résine.

➤ **Analyses microscopiques**

Après quelques heures de séchage à l'air, toutes les lames ont été observées au microscope optique Zeiss Axio Scope A1 (Carl Zeiss, Germany) connecté à une caméra digitale Jai AT-200GE (JAI A/S, Danemark). Les images ont été capturées et analysées à l'aide des logiciels Archimed[®] (Archimed, France) et Histolab[®] (Microvision Instruments, France).

II-2-10-2-Histomorphométrie des granulomes bilharziens hépatiques

Au cours de cette étude, nous avons procédé au dénombrement des granulomes bilharziens hépatiques ainsi qu'à la détermination de leurs volumes.

II-2-10-2-1-Comptage des granulomes

Le nombre de granulomes bilharziens des souris infectées a été évalué en comptant, au microscope optique à l'objectif x10 et à l'oculaire x10, le nombre de champs microscopiques et de granulomes observés sur chaque coupe de foie. Ensuite nous avons exprimé les résultats sous forme de nombre de granulomes/10 champs microscopiques.

II-2-10-2-2-Détermination du volume des granulomes

Pour déterminer le volume des granulomes bilharziens, nous nous sommes référés au protocole décrit par Allam (2009) et Souza *et al.* (2011). Des images successives de foie ont été capturées à l'aide d'une caméra digitale de type DCM35 (ScopeTek[®], China) dotée du logiciel de capture MiniSee[®] (ScopeTek[®], China). Les mesures ont été réalisées à l'aide du logiciel Image J version 1.32j (Ad Annihilator Software, USA). Nous avons mesuré, sur un minimum de 20 granulomes par souris, uniquement les granulomes qui présentaient un œuf central bien visible. Étaient exclus de l'analyse, les granulomes contenant plus d'un œuf et ceux dans lesquels l'œuf n'était pas visible. Ainsi, par des lignes droites, le diamètre sur le plan vertical et le diamètre sur le plan horizontal ont été mesurés en se rassurant qu'ils se coupaient au centre du granulome en formant un angle droit. Ensuite nous avons calculé le diamètre moyen, qui était la moyenne des deux diamètres mesurés. Ce diamètre moyen nous a permis de calculer le rayon moyen du granulome. Nous avons considéré le granulome comme une sphère et utilisé la formule du volume de la sphère pour calculer le volume de chaque granulome :

$$V = 4/3 \times \pi \times r^3$$

V = volume du granulome (μm^3)

r = rayon du granulome (μm)

Nous avons ensuite calculé le volume moyen de granulome de chaque groupe.

II-2-11-Evaluation du profil de toxicité de *Clerodendrum umbellatum*

Afin de se rassurer que cette consommation de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* n'expose pas les populations à un éventuel danger sanitaire, nous avons évalué sa toxicité à court terme et sa toxicité à doses répétées de 28 jours en utilisant un modèle murin.

II-2-11-2-Evaluation de la toxicité orale aiguë

L'étude de la toxicité orale aiguë de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* a été réalisée sur des souris femelles suivant les recommandations de la ligne directrice 423 de l'OCDE qui correspond à la méthode par classe de toxicité (OCDE, 2001).

II-2-11-2-1-Principe

Le principe de la ligne directrice 423 est l'utilisation d'un nombre minimal d'animaux afin de pouvoir ranger le plus rapidement possible la substance testée dans une catégorie de toxique selon le système de classification globalement harmonisé (SGH).

Le test débute par l'administration orale de la substance à la dose de 2000 mg/kg à 3 animaux de même sexe, des femelles. Il y a deux possibilités :

- si après administration, on enregistre 2 ou 3 animaux morts/moribonds, on réduit la dose à 300 mg/kg et on l'administre à 3 autres animaux et on poursuit l'expérimentation ;
- si après administration, on n'enregistre aucun ou un seul animal mort/moribond, on redonne la même dose à un autre lot de 3 animaux. Si après cette seconde administration, on n'enregistre toujours aucun ou un seul animal mort/moribond, on peut directement ranger la substance administrée dans la catégorie 5. Par contre, si on enregistre 2 à 3 animaux morts/moribonds, on réduit la dose à 300 mg/kg et on poursuit l'expérimentation.

II-2-11-2-2-Répartition et traitement des animaux

Dans cette expérimentation nous avons utilisé 9 souris femelles âgées de 9 semaines et pesant entre 21 et 23 g. Elles ont été réparties par randomisation en 3 groupes de 3 souris chacun : le groupe témoin, le groupe test et le groupe de confirmation après 48 heures d'observation.

Les souris ont été soumises à un jeun alimentaire de 4 heures avant le début des manipulations. Les substances ont été administrées par voie orale à l'aide d'une sonde œsophagienne. Les animaux du groupe témoin recevaient de l'eau distillée (0,2 mL) tandis que ceux du groupe essai et du groupe de confirmation ont reçu l'extrait aqueux à la dose unique de 2000 mg/kg dans un volume maximal de 1 mL/100 g de poids corporel.

II-2-11-2-3-Suivi des animaux et évaluation des paramètres

Les animaux ont été privés d'eau et de nourriture pendant les deux premières heures qui ont suivi le traitement. Ils ont été observés individuellement durant les premières 30 minutes ; puis chaque heure pendant les premières 24 heures. Ils ont ensuite été observés au moins une fois par jour pendant 14 jours et le nombre d'animaux survivants a été noté après chaque 24 heures.

Tous les animaux ont été pesés avant le début de l'administration (J_0), le 7^{ème} jour et le 14^{ème} jour. A la fin de l'étude, les animaux survivants ont été sacrifiés et les organes tels que les poumons, le foie, les reins, la rate, l'estomac, l'intestin et les ovaires ont été prélevés, observés macroscopiquement puis pesés. Ensuite nous avons calculé les poids relatifs de ces différents organes à partir de la formule suivante :

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

La dose létale 50 (DL_{50}) de l'extrait aqueux a été estimée sur la base du nombre de décès conformément au système de classification globalement harmonisé (OCDE, 1998). Selon cette classification, lorsqu'on n'enregistre pas de décès dans le groupe essai et le groupe de confirmation, la substance appartient à la catégorie 5 correspondant aux substances faiblement toxiques.

II-2-11-3-Evaluation de la toxicité orale à doses répétées de vingt-huit jours

L'étude de la toxicité orale à doses répétées de 28 jours a été réalisée chez des souris mâles et des souris femelles suivant la ligne directrice 407 de l'OCDE (OCDE, 2008).

L'administration de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses de 200,400 et de 800 mg/kg aux souris a été faite pendant une période de 28 jours.

II-2-11-3-1-Répartition et traitement des animaux

Dans cette étude nous avons utilisé des souris âgées de 7 à 8 semaines, soit 30 souris femelles pesant entre 20 et 26 g et 30 souris mâles pesant 25 à 30 g. Les deux grands lots de souris ont été randomisés en 6 groupes de 5 souris chacun. Pour chacun des sexes, les 6 groupes randomisés ont été subdivisés et traités ainsi qu'il suit :

- un groupe témoin dont les animaux ont reçu de l'eau distillée (0,2 mL) ;
- trois groupes essais dont les animaux ont reçu l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* aux doses de 200, 400 et 800 mg/kg respectivement ;
- deux groupes satellites subdivisés en un groupe témoin satellite dont les animaux ont reçu de l'eau distillée, et un groupe essai satellite dont les animaux ont reçu l'extrait aqueux à la dose de 800 mg/kg.

Les substances ont été administrées par voie orale, en dose quotidienne unique, à l'aide d'une sonde œsophagienne et l'administration a duré 28 jours consécutifs. Les deux groupes satellites ont été observés pendant 14 jours supplémentaires après l'arrêt du traitement pour vérifier la réversibilité, la persistance ou l'apparition tardive d'éventuels effets toxiques liés à la prise de l'extrait. Les animaux ont été sacrifiés soit au 29^{ème} jour pour les groupes témoin et essais, soit au 42^{ème} jour pour les groupes satellites.

II-2-11-3-2-Suivi des animaux et évaluation des paramètres

Durant la période d'expérimentation, le poids corporel a été enregistré une fois par semaine. Avant le sacrifice, du sang a été prélevé chez chaque animal par ponction retro-orbitaire et conservé dans les tubes à EDTA en vue de la réalisation de la Numération Formule Sanguine et dans des tubes secs en vue de la réalisation des dosages biochimiques sériques.

Les animaux ont été sacrifiés par décapitation et les organes suivants ont été prélevés et pesés : le foie, les reins, les poumons, la rate, les ovaires, les testicules, le cœur, l'estomac et l'intestin. Le poids relatif de chacun de ces organes a été calculé à partir de la formule utilisée dans l'étude de la toxicité aiguë (section II-2-9-2-3). Le foie et les reins ont été conservés dans le formol 10 % tamponné en vue de l'analyse histologique.

II-2-11-3-3-Analyse hématologique

Cette analyse a été réalisée à l'aide d'un hématimètre Hema Screen 18 (Hospitex Diagnostics, Italy) du Laboratoire d'Hématologie de l'Hôpital Central de Yaoundé. Cet automate

fonctionne en aspirant le sang total contenu dans les tubes à EDTA et effectue une numération globulaire et plaquettaire. Une lyse différentielle des globules rouges est effectuée et le décompte des leucocytes et des ses différentes populations est réalisé grâce à leurs spécificités notamment la taille et la lobularité du noyau, et les granulations cytoplasmiques. Ainsi, nous avons pu évaluer : le nombre de globules rouges, le taux d'hémoglobine, l'hématocrite, la concentration moyenne d'hémoglobine corpusculaire, le volume corpusculaire moyen, l'hémoglobine corpusculaire moyenne, le nombre total de globules blancs, les taux de lymphocytes, de monocytes, de granulocytes et le nombre de plaquettes sanguines.

II-2-11-3-4-Evaluation des paramètres biochimiques

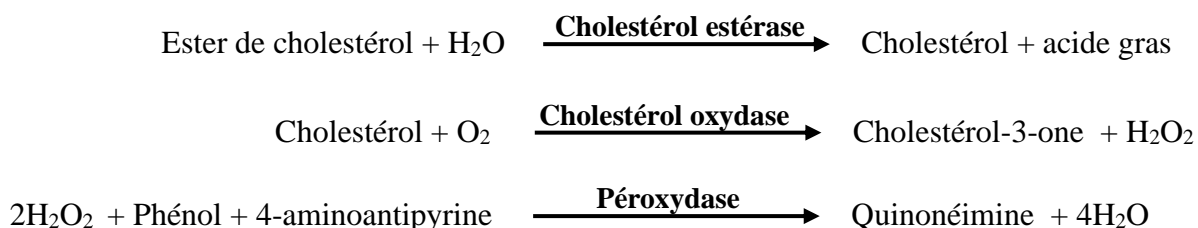
Le sang collecté dans les tubes secs a été centrifugé à 3500 trs/min à 4 °C pendant 15 minutes. Le sérum a été recueilli et conservé dans les tubes Eppendorf à 20 °C en vue des analyses biochimiques. Nous avons évalué quelques paramètres de la fonction hépatique notamment les activités des transaminases (ALAT et ASAT), les concentrations de protéines totales, de cholestérol total, de cholestérol HDL ; ainsi qu'un paramètre de la fonction rénale : la concentration de la créatinine.

Les dosages des transaminases et des protéines totales ont été réalisés conformément aux protocoles détaillés dans les sections II-2-8-1 et II-2-8-4.

a-Dosage du cholestérol total

➤ **Principe**

Sous l'action de la cholestérol-estérase, les esters de cholestérol présents dans le sérum sont hydrolysés en cholestérol et en acide gras. L'oxydation du cholestérol en présence du cholestérol oxydase produit le cholestérol-3-one et du peroxyde d'hydrogène. L'indicateur coloré quinonéimine se forme à partir du peroxyde d'hydrogène, de la 4-aminoantipyrine et du phénol sous l'action catalytique de la peroxydase. L'intensité de la coloration est directement proportionnelle à la concentration de cholestérol dans l'échantillon.



➤ **Réactifs**

Le réactif 1 est le tampon pH 6,7 (50 mmol/L). Il est constitué par le cholestérol-estérase ≥ 100 /U/L, le cholestérol-oxydase ≥ 50 U/L, la peroxydase ≥ 3 KU/L, la 4-aminoantipyrine 0,4 mmol/L.

Le réactif 2 est le cholestérol standard 200 mg/dL.

➤ Procédure

La détermination de la concentration du cholestérol total dans les différents tubes a été réalisée suivant le protocole décrit par Tietz (1999). Nous avons utilisé le kit INMESCO (Neustad/Wied, Germany). La procédure de dosage est indiquée dans le tableau X.

Tableau X : Protocole de dosage du cholestérol total

	Blanc	Standard	Echantillon
Sérum	/	/	10
Réactif 1 (µL)	1000	1000	1000
Réactif 2 (µL)	/	10	/
Eau distillée	10	/	/

Les préparations ont été homogénéisées et incubées pendant 30 minutes à 30 °C. L'absorbance des standards et échantillons a été lue contre le tube blanc à 505 nm au spectrophotomètre de marque GENESYS 20 (Thermo Fisher Scientific, United States).

La concentration du cholestérol a été déterminée par la formule suivante :

$$[\text{Cholestérol}](\text{mg/dL}) = \frac{\text{Absorbance de l'échantillon}}{\text{Absorbance standard}} \times [\text{Standard}]$$

$$[\text{Standard}] = 200 \text{ mg/dL}$$

b-Dosage du cholestérol HDL

➤ Principe

Les lipoprotéines sériques sont précipitées par addition de l'acide phosphotungstique en présence des ions magnésium. La fraction de HDL ("High Density Lipoprotein") restant dans le surnageant est déterminée par le dosage du cholestérol.

➤ Réactifs

Le réactif 1 est le tampon pH 6,7 (50 mmol/L). Il est constitué par le cholestérol-estérase ≥ 100 U/L, le cholestérol-oxydase ≥ 50 U/L, le peroxydase ≥ 3 KU/L, le 4-aminoantipyrine 0,4 mmol/L.

Le réactif 2 est le Polyéthylène glycol 6000 (200 mM/L).

Le réactif 3 est le Cholestérol standard HDL 50 mg/dL.

➤ Procédure

Le dosage du cholestérol HDL dans les différents tubes a été réalisé suivant la méthode décrite par Tietz (1999). Nous avons utilisé le kit INMESCO (Neustad/Wied, Germany). La procédure du dosage est décrite dans le tableau XI.

Tableau XI : Protocole de dosage du cholestérol HDL

	Blanc	Standard	Echantillon
Sérum	/	/	100
Réactif 1 (µL)	1000	1000	1000
Réactif 2 (µL)	100	100	100
Réactif 3 (µL)	/	100	/
Eau distillée	100	/	/

L'absorbance des tubes a été lue contre le blanc à 505 nm au spectrophotomètre de marque GENESYS 20 (Thermo Fisher Scientific, United States).

La concentration du cholestérol HDL a été déterminée par la formule suivante :

$$[\text{Cholestérol HDL}](\text{mg/dL}) = \frac{\text{Absorbance de l'échantillon}}{\text{Absorbance standard}} \times [\text{Standard}]$$

[Standard]= 50 mg/dL

c-Dosage de la créatinine sérique

➤ Principe

La créatinine en milieu alcalin réagit avec l'acide picrique pour former un complexe orangé. La quantité de complexe formé est directement proportionnelle à la concentration de la créatinine dans l'échantillon.

➤ Réactifs

Le réactif 1 est l'acide picrique 40 mM/L.

Le réactif 2 est l'hydroxyde de sodium 200 mM/L.

Le réactif 3 est la créatinine standard 2 mg/dL.

➤ Procédure

La concentration de la créatinine dans les différents tubes a été déterminée en utilisant la méthode cinétique décrite par Bartels *et al.* (1972), à l'aide du kit Fortress (Fortress Diagnostics, United Kingdom). Les réactifs 1 et 2 sont mélangés à volume égal pour constituer le réactif de travail. La procédure du dosage est consignée dans le tableau XII.

Tableau XII : Protocole de dosage de la créatinine sérique

	Standard	Echantillon
Sérum	/	100
Réactif de travail (µL)	1000	1000
Réactif 3 (µL)	100	/

Les préparations ont été homogénéisées puis l'absorbance des standards et échantillons a été lue au spectrophotomètre GENESYS 20 (Thermo Fisher Scientific, United States) après 30 secondes (AS₁ et AT₁) et 120 secondes (AS₂ et AT₂) à 505 nm.

La concentration de créatinine était calculée par la formule suivante :

$$[\text{Créatinine}](\text{mg/dL}) = \frac{\Delta DO \text{ échantillon}}{\Delta DO \text{ standard}} \times [\text{Standard}]$$

$$[\text{Standard}] = 2 \text{ mg/dL}$$

ΔDO : variation de l'absorbance

$\Delta DO_{\text{standard}}$: DO à 120 secondes (AS₂) – DO à 30 secondes (AS₁)

$\Delta DO_{\text{échantillon}}$: DO à 120 secondes (AT₂) – DO à 30 secondes (AT₁)

II-2-11-3-5-Etude histologique

Le foie et les reins conservés dans le formol ont servi à la réalisation de l'étude histologique. Cette étude a été faite en suivant les étapes précédemment détaillées dans la section II-2-10-1. Nous avons réalisé la coloration à l'hématoxyline éosine. Les lames obtenues ont été observées au microscope optique de marque LEICA (Leica, Allemagne).

II-2-12-Analyses statistiques

Les résultats ont été exprimés en moyenne \pm ESM (Erreur Standard sur la Moyenne). L'analyse des résultats a été faite à l'aide du logiciel GraphPad Prism version 5.03 (GraphPad Software, USA). Le test de l'analyse des variances (ANOVA) suivi du Post-test de comparaisons multiples de Newman-Keuls a été utilisé pour la comparaison des moyennes entre différents groupes. Les valeurs de $p < 0,05$ ont été considérées comme significatives.

CHAPITRE III
RESULTATS ET DISCUSSION

III-1-Résultats

III-1-1-Activité schistosomicide *in vitro* de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et ses fractions sur des vers adultes de *Schistosoma mansoni*

Les résultats enregistrés après l'observation des vers à 24 heures et 48 heures ont permis de mesurer l'impact des substances testées sur la mortalité et la motilité des vers adultes de *S. mansoni*.

III-1-1-1-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et ses fractions sur la mortalité des vers adultes de *Schistosoma mansoni*

Le taux de mortalité des vers adultes de *S. mansoni* après l'exposition à l'extrait aqueux ou à ses différentes fractions est présenté par la figure 16. Nous observons que 24 heures après l'exposition, tous les vers étaient morts dans les puits contenant les fractions au *n*-hexane et au méthanol à la concentration de 2000 µg/mL. Aucun décès n'a été enregistré dans les puits contenant l'extrait aqueux ou les autres fractions.

Au bout de 48 heures d'incubation, une augmentation significative ($p < 0,001$) et concentration-dépendante de la mortalité des vers pour toutes les substances a été enregistrée. Le taux de mortalité variait de 33,52 % à 72,04 % pour l'extrait aqueux (250 à 4000 µg/mL). Pour la fraction à l'acétate d'éthyle et le résidu aqueux, les taux de mortalité les plus élevés à savoir 51,48 % et 55,91 % respectivement, ont été enregistrés à la concentration la plus élevée de 2000 µg/mL. La fraction méthanolique a présenté un taux de mortalité de 87,5 % à la concentration de 1000 µg/mL. A la fin de la période d'incubation, nous n'avons enregistré aucun décès de vers dans les puits où les vers étaient exposés à l'extrait aqueux à la concentration de 125 µg/mL ; à la fraction au *n*-hexane aux concentrations de 62,5 à 1000 µg/mL et au résidu aqueux à la concentration de 62,5 µg/mL. Dans les deux groupes témoins (GMEM et GMEM + DMSO 0,5 %), aucun décès n'a été enregistré. Dans les puits traités au praziquantel à 10 µg/mL, tous les vers étaient morts après 24 heures d'incubation.

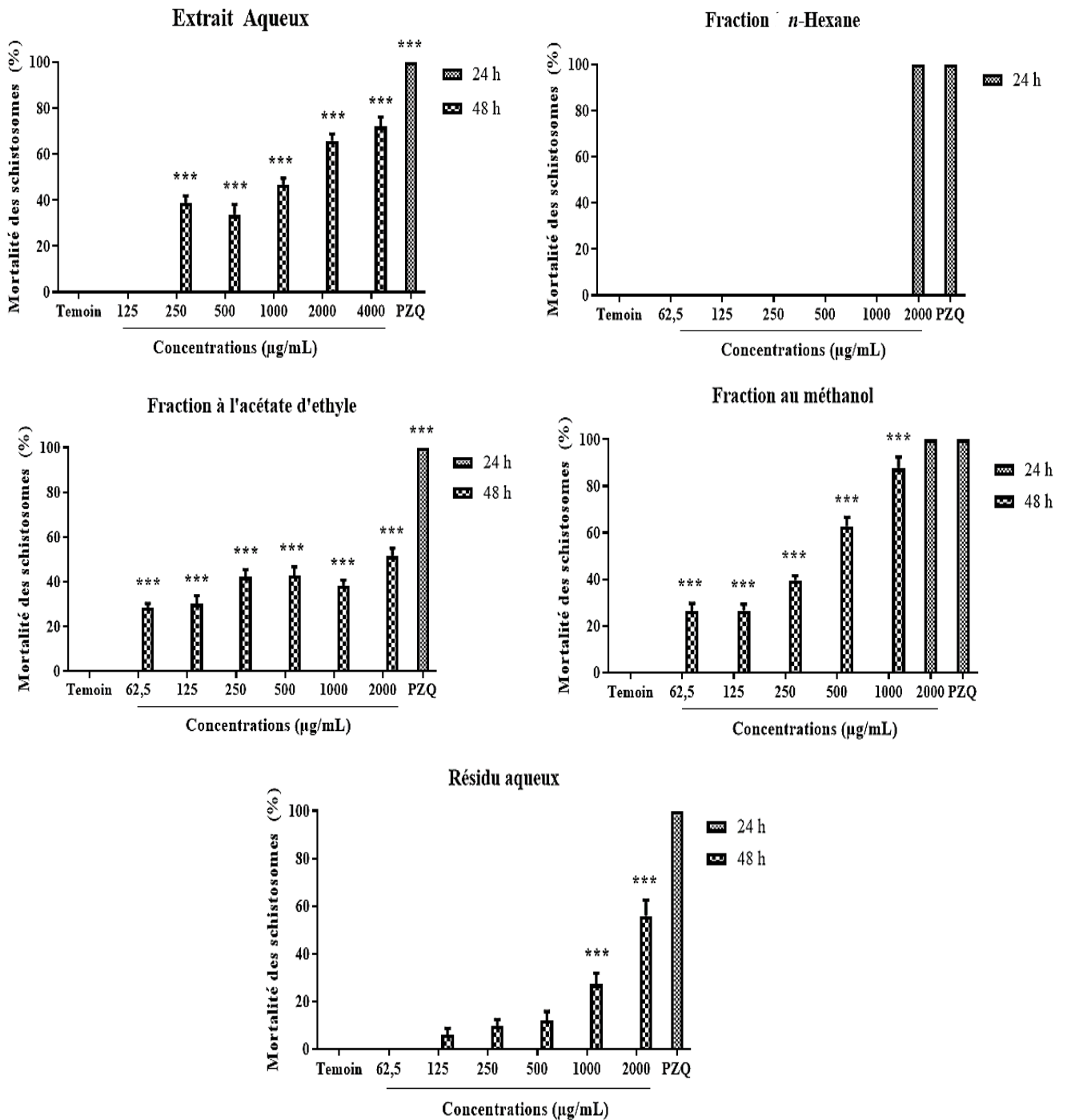


Figure 16 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et ses fractions sur la mortalité des vers adultes de *Schistosoma mansoni*.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM / n = 5 vers ♂ + 5 vers ♀ par puits / *** p < 0,001 : différence significative par rapport au témoin (GMEM ou GMEM + DMSO 0,5 %) négatifs / GMEM : "Glasgow Minimum Essential Medium" / PZQ : praziquantel.

Les résultats présentés dans le tableau XIII révèlent que la fraction au méthanol est dotée de la plus faible CL₅₀ à savoir 343,1 µg/mL ; suivie de l'extrait aqueux avec une CL₅₀ de 805,21 µg/mL.

Tableau XIII : Concentrations létales 50 (CL₅₀) de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de ses fractions

SUBSTANCE	CL ₅₀ (µg/mL)	95% de confiance en moins (µg/mL)	95% de confiance en plus (µg/mL)
Extrait aqueux	805,21	579,85	1118,15
Fraction au <i>n</i> -hexane	1414,21	Pas fiable	Pas fiable
Fraction a l'acétate d'éthyle	1855,87	1010,05	3409,98
Fraction au méthanol	343,10	266,76	441,28
Résidu aqueux	1723,33	1388,02	2139,63

III-1-1-2-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et ses fractions sur la motilité des vers adultes de *Schistosoma mansoni*

Chez les vers survivants après l'exposition aux différentes substances, l'activité motrice était réduite (Figure 17). Cette réduction était marquée par l'absence de mouvement apparent, par de faibles mouvements des ventouses et par un balancement occasionnel du corps. Après 24 heures d'incubation, les vers des puits traités à l'extrait aqueux, à la fraction à l'acétate d'éthyle, à la fraction au méthanol ou au résidu aqueux à toutes les concentrations ont présenté une réduction significative de l'activité motrice comparativement aux groupes témoins (GMEM et GMEM + DMSO 0,5 %). L'activité motrice des vers était normale dans les groupes témoins et dans les puits traités à la fraction au *n*-hexane. En effet, dans ces groupes les vers présentaient des mouvements ondulatoires du corps et des vagues péristaltiques étaient visibles le long du corps.

Après 48 heures d'incubation, la réduction de l'activité motrice a atteint 94,38 % dans les puits traités à l'extrait aqueux à la concentration de 2000 µg/mL. Pour les autres concentrations, exceptée 125 µg/mL, la réduction de l'activité motrice des vers était significative ($p < 0,01$). Quant à la fraction au *n*-hexane, une réduction significative ($p < 0,05$) de l'ordre 58,33% a été enregistrée à la concentration 1000 µg/mL. Dans les puits traités à l'acétate d'éthyle, la réduction de l'activité motrice (41,07 % à 74,11 %) était significative ($p < 0,01$) à toutes les concentrations. Le traitement à la fraction au méthanol a entraîné une réduction de la motilité de 100 % à la concentration 1000 µg/mL. Dans les puits traités au résidu aqueux, la réduction de la motilité est passée de 11,02 % (à 24 heures) à 70,52 % à 48 heures pour la concentration 2000 µg/mL. Dans les groupes témoins, au bout de 48 heures d'incubation, une légère réduction de l'activité motrice a été observée : 13,41% dans le témoin GMEM et 3,64 % pour le témoin GMEM + DMSO 0,5 %.

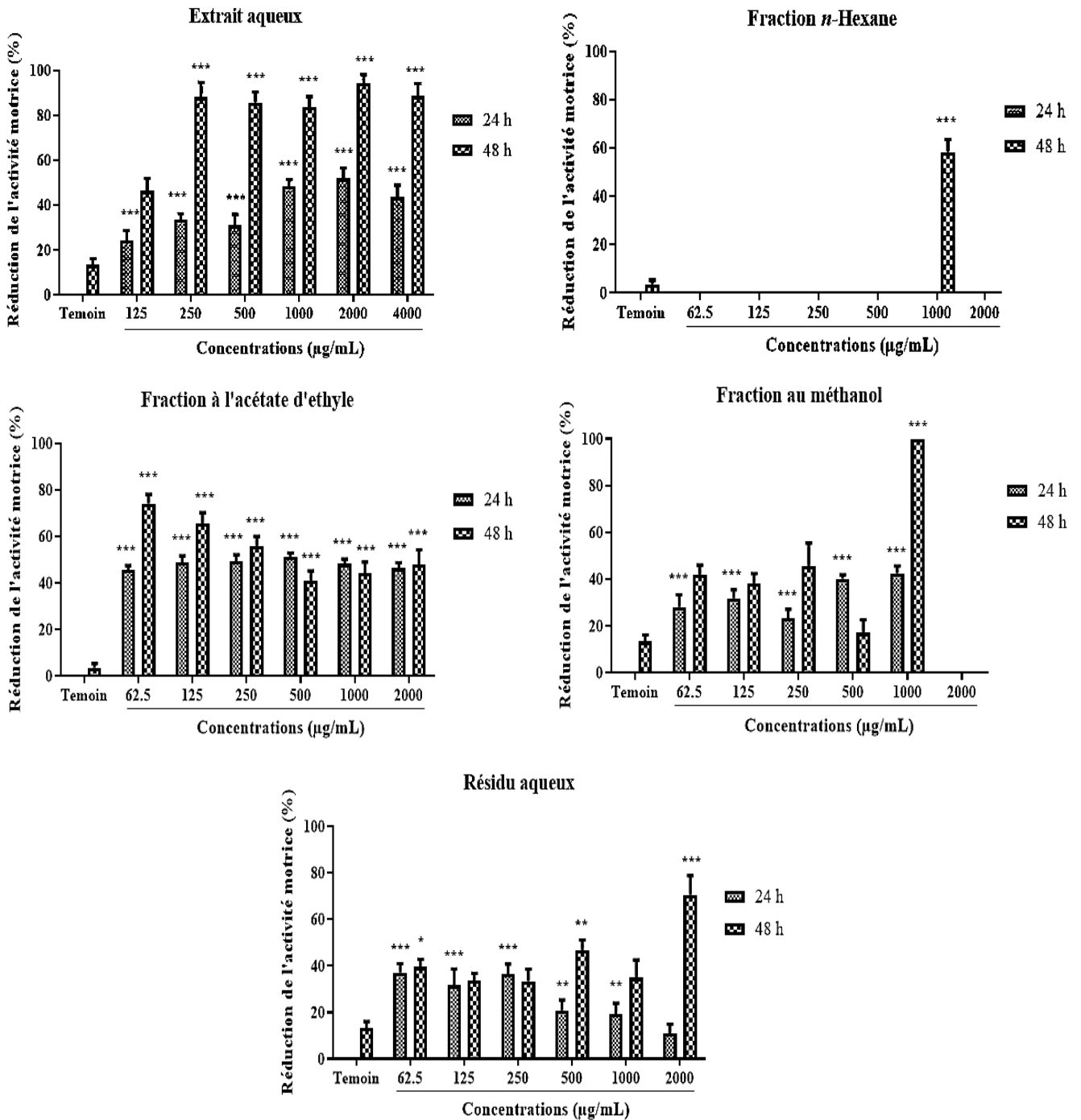


Figure 17 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et ses fractions sur l'activité motrice vers adultes de *Schistosoma mansoni*.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM / n= nombre de vers survivants dans chaque puits / *p<0,005 ; **p<0,01 ; *** p<0,001 : différence significative par rapport au témoin (GMEM ou GMEM + DMSO 0,5 %) négatifs / GMEM : "Glasgow Minimum Essential Medium".

III-1-1-3-Cytotoxicité de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique

Nous avons évalué la cytotoxicité de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur une lignée de cellules hépatiques de mélanome de souris. Après 24 heures d'incubation, avec une CI_{50} de 876,88 $\mu\text{g/mL}$, la fraction méthanolique est moins cytotoxique que l'extrait aqueux qui a une CI_{50} de 410,82 $\mu\text{g/mL}$ (Tableau XIV).

Tableau XIV : CI_{50} de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et sa fraction méthanolique

Substance	Extrait aqueux	Fraction méthanolique
CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	410,823 \pm 32,93	876,88 \pm 18,14

A la fin de cette étude *in vitro*, la fraction au méthanol a exhibé la CL_{50} la plus basse et elle possède par conséquent la plus forte activité schistosomicide *in vitro* sur les vers adultes de *S. mansoni*. Compte tenu de ce qui précède, en plus de l'extrait aqueux, nous avons sélectionné cette fraction méthanolique pour les études *in vivo* sur le modèle murin de l'infection à *S. mansoni*.

III-1-2-Activité schistosomicide *in vivo* de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique chez des souris infestées à *Schistosoma mansoni*

III-1-2-1-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur le poids corporel des souris

Le tableau XV montre que dans tous les groupes nous avons enregistré un gain de poids corporel chez les souris entre le jour de l'infestation et le jour du sacrifice. Le gain de poids chez les souris infestées non traitées (TN) était significativement ($p < 0,001$) inférieur à celui des souris témoins sains (TS). Le gain de poids corporel des souris infestées traitées à l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* à toutes les doses était supérieur à celui des souris témoins négatifs, bien que cette différence ne soit pas statistiquement significative. Des différences significatives ($p < 0,001$) entre le gain de poids des souris témoins négatifs et celui des souris infestées traitées aussi bien à la fraction méthanolique à toutes les doses, qu'au praziquantel ont été observées. Le gain de poids corporel était significativement plus élevé chez les souris traitées à la fraction méthanolique comparativement à celles traitées à l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* : $p < 0,001$ (EA100-FM100) ; $p < 0,005$ (EA200-FM200 et EA400-FM400).

Tableau XV : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur le poids corporel des souris

Groupes	Poids corporel (g)		Variation du poids corporel (%)
	Jour de l'infestation	Jour du sacrifice (65 ^{ème} jour)	
TS	19,30 ± 0,83	24,23 ± 1,05	29,53 ± 2,04
TN	23,51 ± 0,90	24,31 ± 0,80	3,97 ± 3,87 ^{£££}
PZQ	21,22 ± 1,04	26,00 ± 0,98	22,89 ± 2,89 ^{***}
Extrait aqueux			
EA100	23,75 ± 0,69	24,57 ± 0,72	5,27 ± 0,62 ^{µµµ}
EA200	21,92 ± 0,89	23,86 ± 0,74	7,96 ± 3,58 ^µ
EA400	23,00 ± 0,81	23,99 ± 0,68	7,96 ± 1,80 ^µ
Fraction méthanolique			
FM100	23,55 ± 0,55	28,14 ± 0,85	19,54 ± 2,56 ^{***}
FM200	21,04 ± 0,89	24,94 ± 1,03	18,60 ± 1,43 ^{***}
FM400	22,74 ± 0,51	27,07 ± 0,74	19,06 ± 1,96 ^{***}

Les données représentent les moyennes ± ESM / n=5 (TS), n=6 (autres groupes) / ANOVA suivi du post test de Newman-Keuls a été utilisé pour l'analyse statistique / ^{£££} p<0,001 : différence significative par rapport aux témoins sains. ^{***} p<0,001 : différence significative par rapport aux témoins négatifs. ^µ p<0,005; ^{µµµ} p<0,001 : différence significative entre le groupe essai traité à l'extrait aqueux et le groupe correspondant traité à la fraction méthanolique. **TS** : témoins sains, souris non infestées / **TN** : témoins négatifs, souris infestées et recevant de l'eau distillée / **PZQ** : témoins positifs, souris infestées et traitées au praziquantel à la dose totale de 500 mg/kg / **EA100, EA200, EA400** : groupes essais, souris infestées et traitées à l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement / **FM100, FM200, FM400** : groupes essais, souris infestées et traitées à la fraction méthanolique de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement.

III-1-2-2-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur les poids relatifs du foie et de la rate

Il ressort du tableau XVI que l'infestation à *S. mansoni* a induit une augmentation significative (p<0,001) du poids relatif du foie (hépatomégalie) et de la rate (splénomégalie) chez les souris du groupe témoin négatif comparativement aux souris saines. Le traitement à toutes les doses, aussi bien de l'extrait aqueux que de sa fraction méthanolique a significativement réduit l'hépatomégalie et la splénomégalie induites par l'infestation. Le même résultat a été observé chez les animaux infestés puis traités au praziquantel. La réduction de l'hépatomégalie était plus importante après le traitement à l'extrait aqueux aux doses de 100 mg/kg (p<0,01) et de 200 mg/kg (p<0,005) comparativement aux souris traitées à la fraction méthanolique aux mêmes doses.

Tableau XVI : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur les poids relatifs du foie et de la rate

Groupes	Foie		Rate	
	Poids relatif (g/100 g)	Variation (%)	Poids relatif (g/100 g)	Variation (%)
TS	6,23 ± 0,34		0,50 ± 0,04	
TN	9,21 ± 0,37 ^{fff}	+ 47,83	1,45 ± 0,17 ^{fff}	+ 190,00
PZQ	6,57 ± 0,46 ^{***}	- 28,66	0,43 ± 0,08 ^{***}	- 70,34
Extrait aqueux				
EA100	5,59 ± 0,42 ^{***,µµ}	- 39,30	0,97 ± 0,18 ^{**}	- 33,10
EA200	5,95 ± 0,34 ^{***,µ}	- 35,39	0,85 ± 0,11 ^{**}	- 41,34
EA400	6,68 ± 0,17 ^{**}	- 27,47	1,12 ± 0,12 [*]	- 22,76
Fraction méthanolique				
FM100	7,68 ± 0,28 [*]	- 16,61	0,77 ± 0,08 ^{***}	- 46,90
FM200	7,90 ± 0,48 [*]	- 14,22	0,79 ± 0,03 ^{***}	- 45,52
FM400	5,96 ± 0,47 ^{***}	- 35,29	0,66 ± 0,10 ^{***}	- 54,48

Les données représentent les moyennes ± ESM / n=5 (TS), n=6 (autres groupes) / ANOVA suivi du post test de Newman-Keuls a été utilisé pour l'analyse statistique / ^{fff} p<0,001 : différence significative par rapport aux témoins sains. *p<0,005 ; **p<0,01 ; ***p<0,001 : différence significative par rapport aux témoins négatifs. ^µ p<0,005; ^{µµ} p<0,01 : différence significative entre le groupe essai traité à l'extrait aqueux et le groupe correspondant traité à la fraction méthanolique. + / - : augmentation / réduction par rapport au groupe TS pour le groupe TN et par rapport au groupe TN pour les groupes traités. TS : témoins sains, souris non infestées / TN : témoins négatifs, souris infestées et recevant de l'eau distillée / PZQ : témoins positifs, souris infestées et traitées au praziquantel à la dose totale de 500 mg/kg / EA100, EA200, EA400 : groupes essais, souris infestées et traitées à l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement / FM100, FM200, FM400 : groupes essais, souris infestées et traitées à la fraction méthanolique de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement.

III-1-2-3-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur la charge parasitaire

Sur la base du nombre de vers recueillis et comptés après la perfusion des animaux, nous avons calculé les pourcentages de réduction de la charge parasitaire dans chaque groupe traité comparativement au groupe non traité. La figure 18 montre que le traitement à l'extrait aqueux ou à sa fraction méthanolique, à toutes les doses, a entraîné une réduction significative de la charge parasitaire comparativement au groupe témoin négatif. Le traitement à l'extrait aqueux a entraîné une réduction de la charge parasitaire de 36,74 %, 55,11 % et de 39,80 % aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg, respectivement. Pour les animaux traités à la fraction méthanolique la réduction de la charge parasitaire était dose-dépendante et les taux de réduction étaient de 52,05 %, 78,57 % et de 96,94 % aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg, respectivement.

Chez les animaux traités au praziquantel, la charge parasitaire était réduite de 86,71 % comparativement aux souris infestées non traitées. Nous n'avons pas enregistré de différence significative de la charge parasitaire entre les animaux traités au praziquantel et ceux traités à la fraction méthanolique aux doses de 200 et de 400 mg/kg. Par contre, chez les animaux traités à l'extrait aqueux à toutes les doses et à la fraction à la dose de 100 mg/kg, la charge parasitaire était significativement plus élevée que dans le groupe du praziquantel ($p < 0,005$; $p < 0,01$). A la dose de 400 mg/kg, la fraction méthanolique est plus active que l'extrait aqueux à la dose similaire ($p < 0,001$).

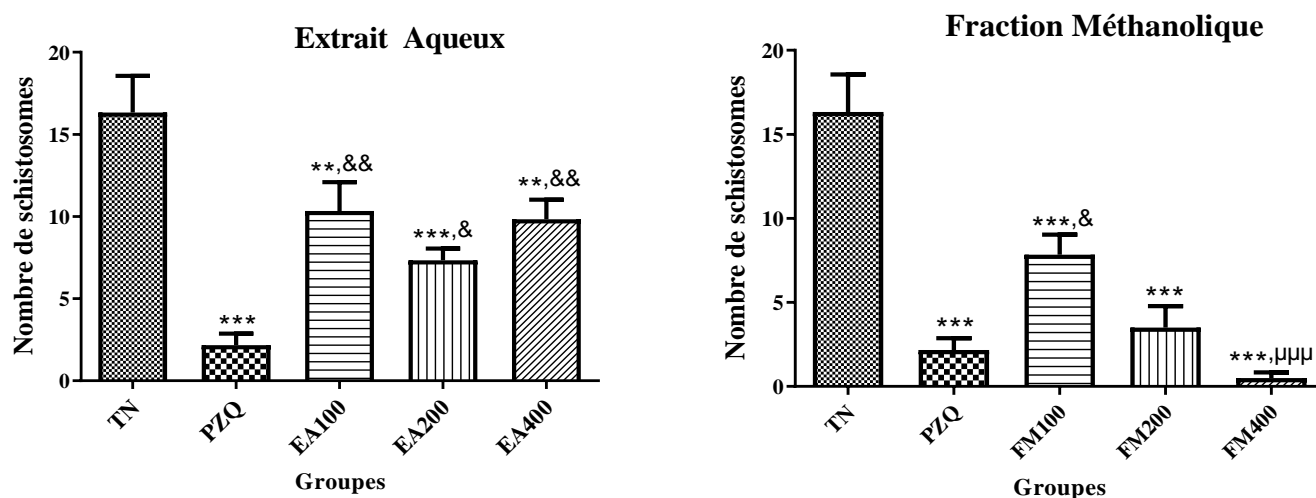


Figure 18 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur la charge parasitaire.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM / $n=6$ / ANOVA suivi du post test de Newman-Keuls a été utilisé pour l'analyse statistique / ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: différence significative par rapport aux témoins négatifs. & $p < 0,005$; && $p < 0,01$: différence significative entre le groupe essai et le groupe traité au PZQ. $\mu\mu\mu$ $p < 0,001$: différence significative entre le groupe essai traité à l'extrait aqueux et le groupe correspondant traité à la fraction méthanolique. **TN** : témoins négatifs, souris infestées et recevant de l'eau distillée / **PZQ** : témoins positifs, souris infestées et traitées au praziquantel à la dose totale de 500 mg/kg / **EA100, EA200, EA400** : groupes essais, souris infestées et traitées à l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement / **FM100, FM200, FM400** : groupes essais, souris infestées et traitées à la fraction méthanolique de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement.

III-1-2-4-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur la charge parasitaire ovulaire fécale

Les selles collectées la veille du sacrifice ont servi à la détermination de la charge ovulaire fécale chez les animaux infestés. La figure 19 met en exergue le fait que le traitement aussi bien à l'extrait aqueux qu'à sa fraction méthanolique et à toutes les doses, a entraîné une réduction significative ($p < 0,001$) du nombre d'œufs par gramme de selles comparativement au groupe témoin négatif. Chez les animaux traités à l'extrait aqueux, les pourcentages de réduction étaient de 86,39 %, 91,53 %, et de 86,79 % aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg, respectivement. La réduction de la charge ovulaire fécale était dose-dépendante pour les animaux traités à la fraction méthanolique et les taux de réduction étaient de 83,48 %, 88,82 % et de 96,34 % aux doses de 100,

200 et de 400 mg/kg, respectivement. Il n'y avait pas de différence significative entre les charges ovulaires fécales des souris traitées à l'extrait aqueux et celles des souris traitées à la fraction méthanolique à doses équivalentes. Le traitement au praziquantel a entraîné une réduction significative ($p < 0,001$) de la charge ovulaire fécale de l'ordre de 99,67 %.

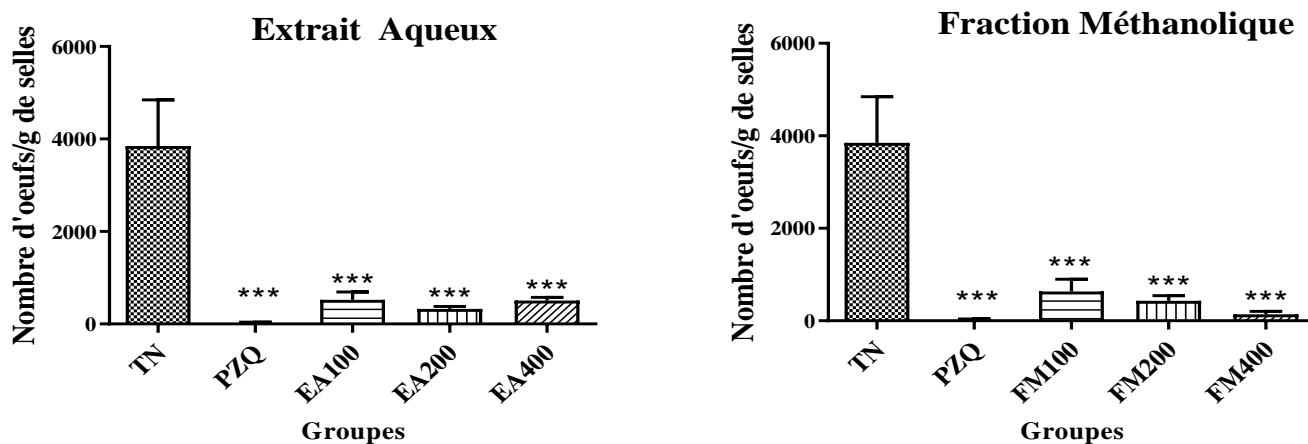


Figure 19 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur la charge ovulaire fécale.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM / $n=6$ / ANOVA suivi du post test de Newman-Keuls a été utilisé pour l'analyse statistique / *** $p < 0,001$: différence significative par rapport aux témoins négatifs. TN : témoins négatifs, souris infestées et recevant de l'eau distillée / PZQ : témoins positifs, souris infestées et traitées au praziquantel à la dose totale de 500 mg/kg / EA100, EA200, EA400 : groupes essais, souris infestées et traitées à l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement / FM100, FM200, FM400 : groupes essais, souris infestées et traitées à la fraction méthanolique de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement.

III-1-2-5-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur la charge parasitaire ovulaire hépatique

Il ressort de la figure 20 que les traitements à l'extrait aqueux, à la fraction méthanolique ou au praziquantel ont entraîné une réduction significative du nombre d'œufs par gramme de foie comparativement au groupe témoin négatif. Cette réduction était dose dépendante. Chez les souris traitées à l'extrait aqueux, nous avons enregistré une réduction de la charge ovulaire hépatique de 50,84 %, 66,53 % et de 69,28 % aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg, respectivement. Après le traitement à la fraction méthanolique, les taux de réduction de la charge ovulaire hépatique étaient de 35,92 %, 76,96 % et de 90,53 % aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg, respectivement. La comparaison entre le traitement à l'extrait aqueux et celui à la fraction méthanolique n'a pas révélé de différence significative.

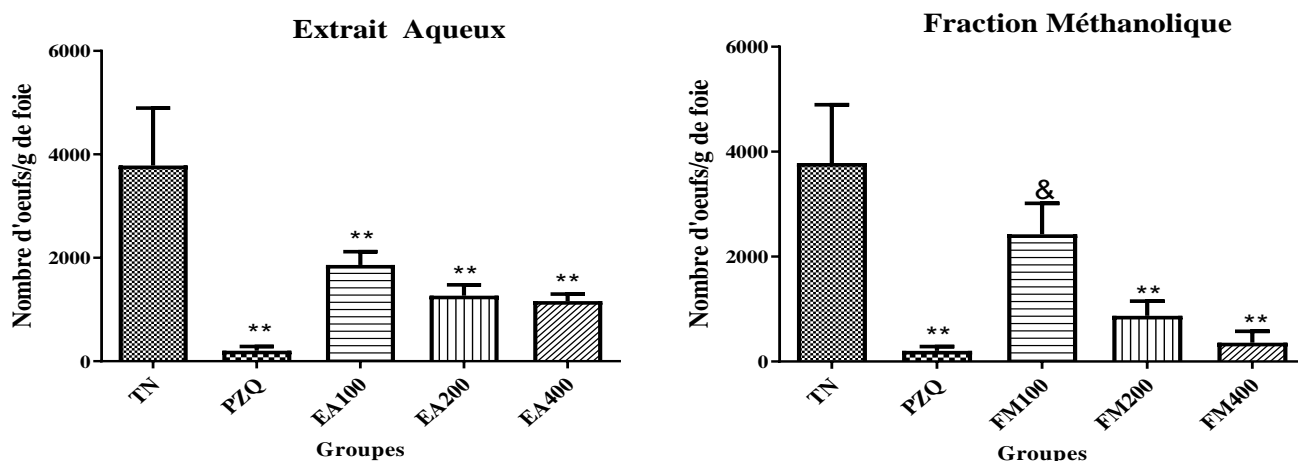


Figure 20 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur la charge ovulaire hépatique.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM / n=6 / ANOVA suivi du post test de Newman-Keuls a été utilisé pour l'analyse statistique / **p<0,01 : différence significative par rapport aux témoins négatifs. &p<0,005: différence significative entre le groupe essai et le groupe traité au PZQ / TN : témoins négatifs, souris infestées et recevant de l'eau distillée / PZQ : témoins positifs, souris infestées et traitées au praziquantel à la dose totale de 500 mg/kg / EA100, EA200, EA400 : groupes essais, souris infestées et traitées à l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement / FM100, FM200, FM400 : groupes essais, souris infestées et traitées à la fraction méthanolique de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement.

III-1-2-6-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur la charge parasitaire ovulaire intestinale

Les résultats obtenus après avoir déterminé le nombre d'œufs par gramme d'intestin sont présentés sur la figure 21. Cette dernière révèle que le traitement à l'extrait aqueux ou à sa fraction méthanolique a entraîné une réduction significative ($p<0,001$) et dose dépendante du nombre d'œufs par gramme d'intestin comparativement au groupe témoin négatif. Le traitement des souris à l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* s'est soldé par une réduction de la charge ovulaire intestinale de 76,62 %, 82,65 % et de 96,86 % aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement. Quant à la fraction méthanolique, après son administration aux souris, nous avons enregistré des réductions de 72,22 %, 91,2 % et de 97,72 % aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement. La comparaison entre le traitement à l'extrait aqueux et celui à la fraction méthanolique n'a pas révélé de différence significative à doses équivalentes. Le traitement au praziquantel a entraîné une réduction de la charge ovulaire intestinale de 96,86 %. Nous n'avons pas enregistré de différence significative entre la charge ovulaire intestinale des animaux traités au praziquantel et celles des animaux traités à l'extrait aqueux à la dose de 400 mg/kg d'une part ou traités à la fraction méthanolique aux doses de 200 et de 400 mg/kg.

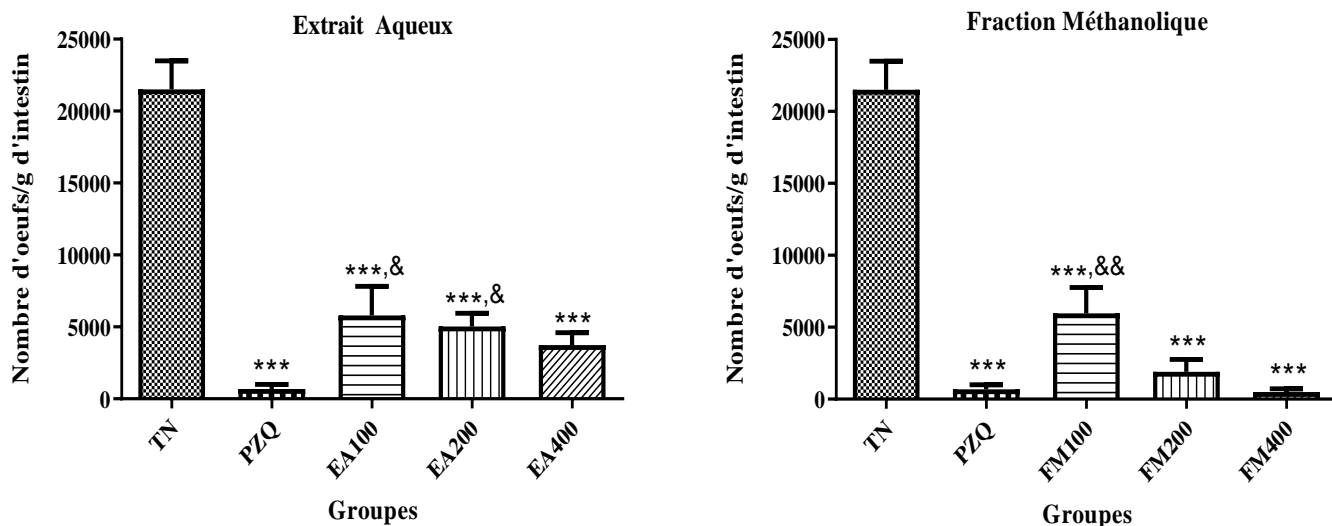


Figure 21 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur la charge ovulaire intestinale.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM / n=6 / ANOVA suivi du post test de Newman-Keuls a été utilisé pour l'analyse statistique / ***p<0,001: différence significative par rapport aux témoins négatifs. &p<0,005; &&p<0,01 : différence significative entre le groupe essai et le groupe traité au PZQ / TN : témoins négatifs, souris infestées et recevant de l'eau distillée / PZQ : témoins positifs, souris infestées et traitées au praziquantel à la dose totale de 500 mg/kg / EA100, EA200, EA400 : groupes essais, souris infestées et traitées à l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement / FM100, FM200, FM400 : groupes essais, souris infestées et traitées à la fraction méthanolique de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement.

III-1-3-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur quelques biomarqueurs de la fonction hépatique dans l'infection à *Schistosoma mansoni*

L'impact du traitement à l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur la biochimie de la fonction hépatique a été évalué via les dosages plasmatiques des transaminases, de la bilirubine totale, de la phosphatase alcaline et des protéines totales.

III-1-3-1-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur l'activité des transaminases

III-1-3-1-1-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur l'activité de l'alanine aminotransférase

L'analyse du tableau XVII révèle que comparativement aux souris du groupe témoin sain, l'activité de l'ALAT des souris du groupe témoin négatif était environ trois supérieure (p<0,001). Le traitement des animaux aussi bien au praziquantel qu'à l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* ou à sa fraction méthanolique a induit une réduction significative (p<0,001) de l'activité de l'ALAT à toutes les doses. La diminution du taux de l'ALAT dans le groupe d'animaux traités à l'extrait aqueux était de 76,33 %, 71,82 % et de 76,73 % aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement. Chez les souris ayant reçu la fraction méthanolique de l'extrait aqueux, une réduction significative (p<0,001) de l'activité de l'ALAT de 66,58 %, 51,22 % et de 42,87 % aux doses respectives de 100, 200 et de 400 mg/kg a été enregistrée. Nous avons

enregistré des différences significatives entre les groupes d'animaux traités à l'extrait aqueux et ceux traités à la fraction méthanolique d'une part ($p < 0,05$ pour EA100-FM100 et EA200-FM200 et $p < 0,001$ pour EA400-FM400), et entre les animaux traités à l'extrait aqueux et ceux traités au praziquantel d'autre part ($p < 0,05$ pour EA200-PZQ et $p < 0,01$ pour EA100-PZQ et EA400-PZQ).

III-1-3-1-2-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur l'activité de l'aspartate aminotransférase

L'infestation à *S. mansoni* s'est traduite par une augmentation bien que statistiquement non significative de 39,55 % du taux de l'ASAT chez les témoins négatifs par rapport aux témoins sains (Tableau XVII). Comparativement aux souris infestées non traitées, l'administration de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux souris infestées a entraîné une réduction significative ($p < 0,001$) du taux de l'ASAT de 66,58 %, 51,22 % et de 42,87 % aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement. Les animaux traités à la fraction méthanolique n'ont pas présenté de modification significative de l'activité de l'ASAT comparativement aux témoins négatifs. L'administration du praziquantel a entraîné une réduction de l'activité de l'ASAT de l'ordre de 28,22 % ($p < 0,01$) par rapport aux témoins négatifs. L'extrait aqueux à la dose de 100 mg/kg était plus efficace que le praziquantel ($p < 0,01$).

III-1-3-2-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur la concentration de la bilirubine totale

Il ressort du tableau XVII que l'infestation à *S. mansoni* n'a pas conduit à une variation significative de la concentration de la bilirubine totale. L'administration de l'extrait aqueux, de la fraction méthanolique ou du praziquantel n'a pas entraîné de modification statistiquement significative de la concentration de bilirubine totale comparativement aux souris témoins négatifs.

III-1-3-3-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur l'activité de la phosphatase alcaline

L'infestation des animaux aux cercaires de *S. mansoni* a entraîné chez les souris témoins négatifs une réduction significative de 57,73 % ($p < 0,05$) de l'activité de la phosphatase alcaline (PAL) comparativement aux souris non infestées (Tableau XVII). Le traitement des animaux aussi bien à l'extrait aqueux qu'à sa fraction méthanolique a entraîné une augmentation significative et dose dépendante de l'activité de la PAL comparativement aux témoins négatifs. Nous avons noté des pourcentages d'augmentation variant de 115,67 % (EA100) à 131,72 % (EA400) chez les souris traitées à l'extrait aqueux, et de 62,93 % (FM100) à 152,86 % (FM400) chez les animaux traités à la fraction méthanolique. Comparativement aux souris témoins négatifs, le traitement au praziquantel a entraîné une augmentation significative de l'ordre de 157,21 % ($p < 0,05$) de l'activité de la PAL. Aucune différence significative entre les différents groupes d'animaux infestés et traités aussi bien à l'extrait aqueux, à la fraction méthanolique qu'au praziquantel.

III-1-3-4-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur la concentration des protéines totales

L'analyse du tableau XVII met en exergue le fait que chez les souris infestées non traitées, la concentration des protéines totales a diminué de 28,44 % ($p < 0,001$) par rapport à celle des souris saines. Après le traitement, la concentration des protéines totales a connu une augmentation significative ($p < 0,001$) chez les animaux traités au praziquantel ou à la fraction méthanolique à toutes les doses comparativement aux témoins négatifs. Cette augmentation était de 49,21 % pour les animaux traités au praziquantel. Chez les animaux traités à la fraction, l'augmentation était de 53,94 %, 70,03 % et de 44,79 % aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg, respectivement. Le traitement à l'extrait aqueux n'a pas entraîné de variation significative de la concentration des protéines totales.

Tableau XVII : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur quelques biomarqueurs de la fonction hépatique

Groupes	ALAT (U/mL)	ASAT (U/mL)	Bilirubine totale (U/mL)	Phosphatase alcaline (U/mL)	Protéines totales (mg/mL)
TS	266,28 ± 9,90	167,84 ± 10,55	19,34 ± 1,71	19,02 ± 2,87	4,43 ± 0,22
TN	746,07 ± 59,86 ^{£££} <i>+ 180,18</i>	234,23 ± 14,58 <i>+ 39,55</i>	23,15 ± 1,80	8,04 ± 2,88* <i>- 57,73</i>	3,17 ± 0,29 ^{£££} <i>- 28,44</i>
PZQ	391,66 ± 31,85 ^{***} <i>- 47,50</i>	168,13 ± 13,41 ^{**} <i>- 28,22</i>	15,32 ± 1,76	20,68 ± 3,24* <i>+ 157,21</i>	4,73 ± 0,15 ^{***} <i>+ 49,21</i>
Extrait aqueux					
EA100	176,59 ± 34,77 ^{***,µ,&&} <i>- 76,33</i>	78,27 ± 18,59 ^{***,&&} <i>- 66,58</i>	30,29 ± 7,01	17,34 ± 0,74 ^{**} <i>+ 115,67</i>	3,34 ± 0,29 ^{µµµ}
EA200	210,21 ± 51,71 ^{***,µ,&} <i>- 71,82</i>	114,26 ± 23,45 ^{***} <i>- 51,22</i>	33,11 ± 7,52	17,94 ± 0,85 ^{**} <i>+ 123,13</i>	3,25 ± 0,10 ^{µµµ}
EA400	173,60 ± 35,57 ^{***,µµµ,&&} <i>- 76,73</i>	133,80 ± 9,97 ^{***} <i>- 42,87</i>	11,55 ± 1,03	18,63 ± 0,64 ^{**} <i>+ 131,72</i>	3,76 ± 0,12 ^µ
Fraction méthanolique					
FM100	408,49 ± 36,27 ^{***} <i>- 45,25</i>	234,52 ± 23,74 ^{µµµ}	16,87 ± 3,78	13,10 ± 2,90	4,88 ± 0,18 ^{***} <i>+ 53,94</i>
FM200	420,52 ± 26,68 ^{***} <i>- 43,63</i>	248,24 ± 20,11 ^{µµµ}	20,84 ± 1,50	18,38 ± 2,86* <i>+ 128,61</i>	5,39 ± 0,18 ^{***} <i>+ 70,03</i>
FM400	481,76 ± 47,09 ^{***} <i>- 35,43</i>	261,75 ± 16,25 ^{µµµ}	25,59 ± 3,88	20,33 ± 4,07* <i>+ 152,86</i>	4,59 ± 0,16 ^{***} <i>+ 44,79</i>

Les données représentent les moyennes ± ESM / n=5 (TS), n=6 (autres groupes) / ANOVA suivi du post test de Newman-Keuls a été utilisé pour l'analyse statistique / **TS** : témoins sains, souris non infestées / **TN** : témoins négatifs, souris infestées et recevant de l'eau distillée / **PZQ** : témoins positifs, souris infestées et traitées au praziquantel à la dose totale de 500 mg/kg / **EA100, EA200, EA400** : groupes essais, souris infestées et traitées à l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement / **FM100, FM200, FM400** : groupes essais, souris infestées et traitées à la fraction méthanolique de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement / Les nombres en italique représentent les pourcentages de variation de chaque paramètre par rapport au groupe TS pour le groupe TN et par rapport au groupe TN pour les groupes traités. ^{£££} $p < 0,001$: différence significative par rapport aux témoins sains. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: différence significative par rapport aux témoins négatifs. ^µ $p < 0,005$; ^{µµµ} $p < 0,001$: différence significative entre le groupe essai traité à l'extrait aqueux et le groupe correspondant traité à la fraction méthanolique. ^{&&} $p < 0,005$; [&] $p < 0,01$: différence significative entre le groupe essai et le groupe traité au PZQ.

III-1-4-Activité antioxydante de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique

Cette activité a été évaluée par la détermination *in vitro* de l'activité antiradicalaire de l'extrait aqueux et de sa fraction méthanolique d'une part, et via la mesure de quelques paramètres du stress oxydant hépatique chez des souris infestées à *S. mansoni* d'autre part.

III-1-4-1-Activité antiradicalaire de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique

La figure 22 présente la capacité de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* et de sa fraction méthanolique à piéger le radical 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). L'analyse de cette figure révèle que les activités antiradicalaires de l'extrait aqueux et de sa fraction méthanolique étaient concentration-dépendantes à l'image de celle de la vitamine C. Les taux d'inhibitions de l'extrait aqueux et de sa fraction méthanolique étaient comparables de 31,25 à 500 $\mu\text{g/mL}$. A la concentration la plus élevée, notamment 1000 $\mu\text{g/mL}$, les taux d'inhibition étaient de $61,64 \pm 0,49 \%$ et de $46,97 \pm 0,68 \%$ pour l'extrait aqueux et la fraction méthanolique respectivement. Quant à la vitamine C, dès la concentration de 15 $\mu\text{g/mL}$, le taux d'inhibition était supérieur à 95 %. A la concentration de 60 $\mu\text{g/mL}$, le taux d'inhibition enregistré était de $96,35 \pm 0,20 \%$.

La détermination de la concentration inhibitrice 50 par le logiciel Trimmed Spearman-Kärber a révélé une CI_{50} de $769,66 \pm 18,14 \mu\text{g/mL}$ pour l'extrait aqueux. La fraction méthanolique quant à elle avait une CI_{50} supérieure à 1000 $\mu\text{g/mL}$. La CI_{50} de la vitamine C était de $4,19 \pm 0,05 \mu\text{g/mL}$.

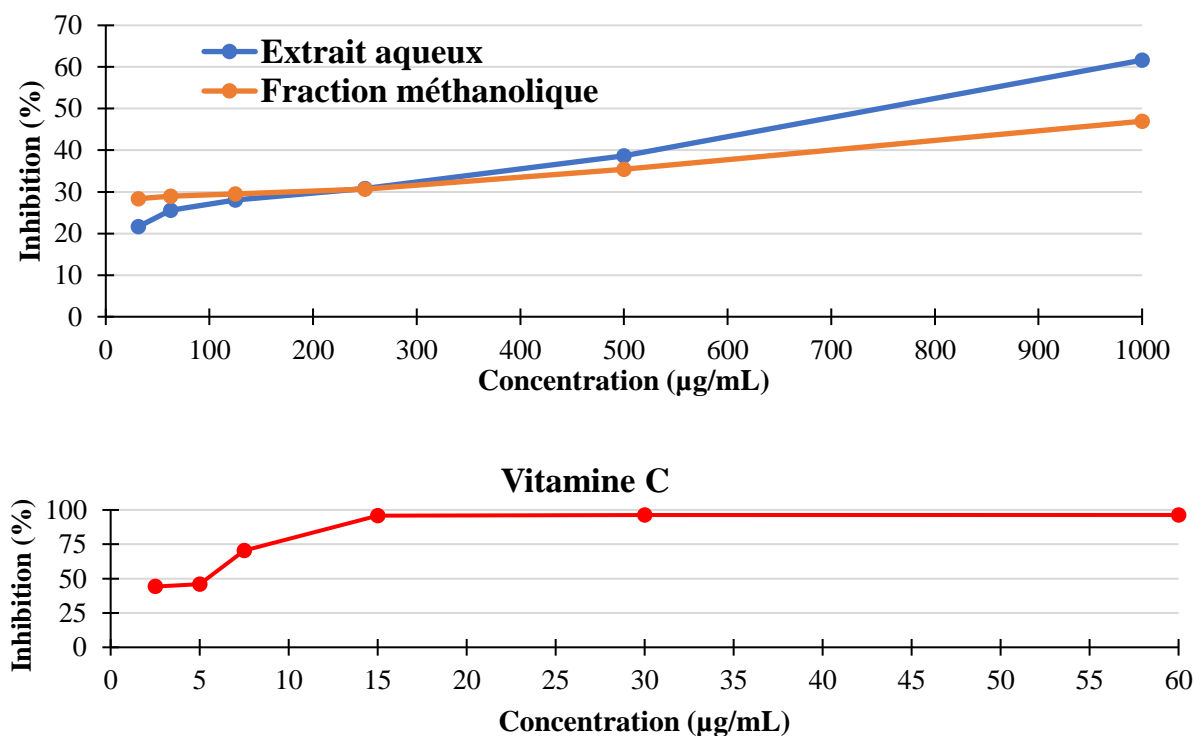


Figure 22 : Activité antiradicalaire de l'extrait aqueux de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique vis-à-vis du 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl.

III-1-4-2-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur le statut oxydant dans l'infection à *Schistosoma mansoni*

L'activité antioxydante de l'extrait aqueux et de sa fraction méthanolique a été déterminée via le dosage du niveau hépatique du malondialdéhyde, de la catalase et du glutathion réduit.

III-1-4-2-1-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur la concentration du malondialdéhyde

De la figure 23, il ressort que l'infestation à *Schistosoma mansoni* a entraîné une augmentation significative de 352,37 % ($p < 0,001$) de la concentration de malondialdéhyde chez les animaux infestés non traités comparativement aux témoins sains. Le traitement des animaux aussi bien au praziquantel qu'à l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et à sa fraction méthanolique a entraîné, à toutes les doses, une réduction significative ($p < 0,001$) de la concentration de malondialdéhyde comparativement aux témoins négatifs. Après le traitement à l'extrait aqueux, nous avons enregistré des pourcentages de réduction de 68,42 %, 54,11 % et de 57,83% aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement. Chez les animaux ayant reçu la fraction méthanolique, la réduction de la concentration du MDA était de 50 %, 54,93 % et de 42,05 % aux doses respectives de 100, 200 et de 400 mg/kg. Le traitement au praziquantel a entraîné une réduction de 76,59 %. Nous n'avons pas enregistré de différence statistiquement significative entre les trois types de traitement.

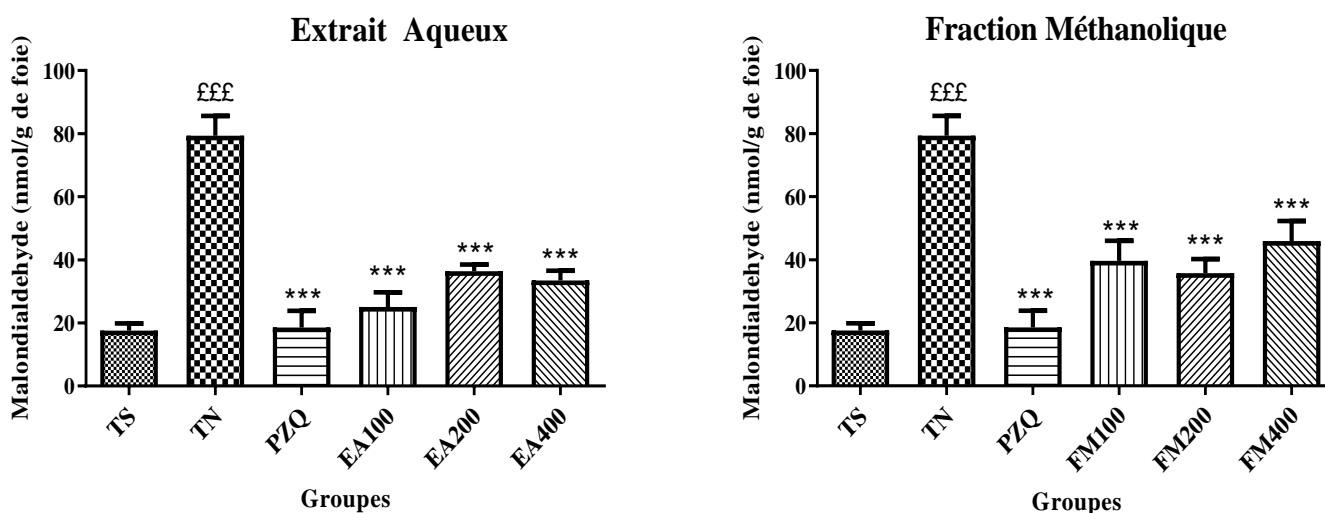


Figure 23 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur la concentration du malondialdéhyde.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM / $n=5$ (TS), $n=6$ (autres groupes) / ANOVA suivi du post test de Newman-Keuls a été utilisé pour l'analyse statistique / £££ $p < 0,001$: différence significative par rapport aux témoins sains. *** $p < 0,001$: différence significative par rapport aux témoins négatifs. **TS** : témoins sains, souris non infestées / **TN** : témoins négatifs, souris infestées et recevant de l'eau distillée / **PZQ** : témoins positifs, souris infestées et traitées au praziquantel à la dose totale de 500 mg/kg / **EA100, EA200, EA400** : groupes essais, souris infestées et traitées à l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement / **FM100, FM200, FM400** : groupes essais, souris infestées et traitées à la fraction méthanolique de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement.

III-1-4-2-2-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur l'activité de la catalase

L'analyse de la figure 24 révèle que l'infestation à *Schistosoma mansoni* a entraîné une réduction significative de 82,92 % ($p < 0,01$) de l'activité de la catalase chez les animaux infestés non traités comparativement aux témoins sains. Le traitement des souris à l'extrait aqueux à la dose de 100 mg/kg, a entraîné une augmentation de l'activité de la catalase deux fois supérieure à la valeur du groupe témoin négatif ($p < 0,05$). Chez les animaux traités à la fraction méthanolique, des augmentations significatives deux fois (FM100 et FM400) à trois fois (FM200) supérieures à l'activité des souris témoins négatifs ont été enregistrées. La fraction a montré une activité significativement ($p < 0,05$) supérieure à celle de l'extrait aqueux à la dose de 200 mg/kg. Nous n'avons pas noté de différence significative entre les groupes traités à l'extrait aqueux ou à la fraction méthanolique et celui traité au praziquantel.

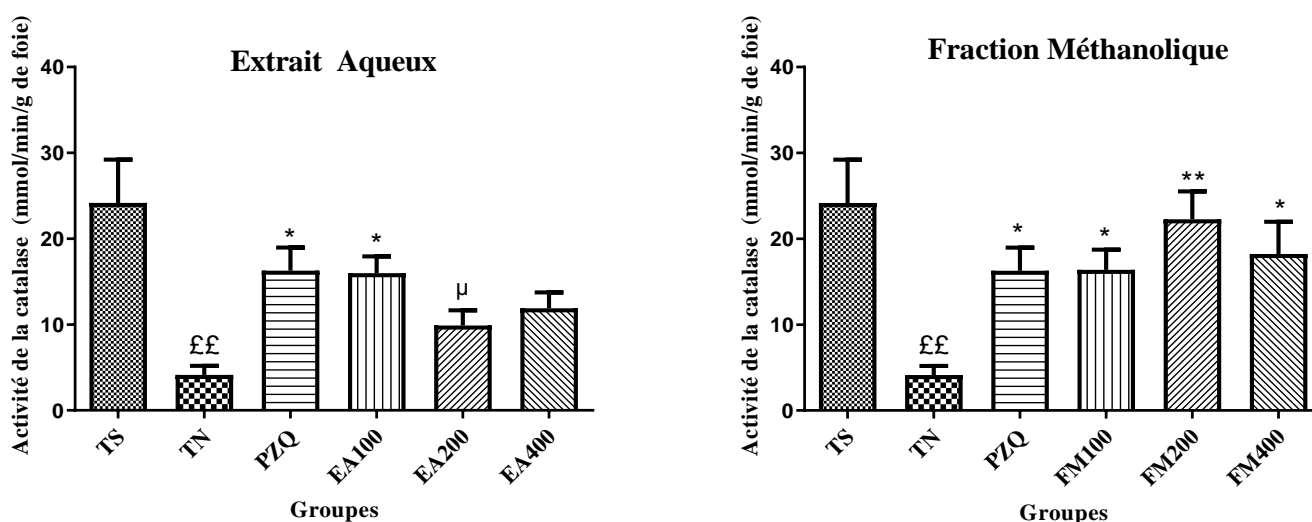


Figure 24 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur l'activité de la catalase.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM / $n=5$ (TS), $n=6$ (autres groupes) / ANOVA suivi du post test de Newman-Keuls a été utilisé pour l'analyse statistique / ££ $p < 0,01$: différence significative par rapport aux témoins sains. * $p < 0,005$; ** $p < 0,01$: différence significative par rapport aux témoins négatifs. μ $p < 0,005$: différence significative entre le groupe essai traité à l'extrait aqueux et le groupe correspondant traité à la fraction méthanolique. TS : témoins sains, souris non infestées / TN : témoins négatifs, souris infestées et recevant de l'eau distillée / PZQ : témoins positifs, souris infestées et traitées au praziquantel à la dose totale de 500 mg/kg / EA100, EA200, EA400 : groupes essais, souris infestées et traitées à l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement / FM100, FM200, FM400 : groupes essais, souris infestées et traitées à la fraction méthanolique de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement.

III-1-4-2-3-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur la concentration du glutathion réduit

La figure 25 met en exergue le fait que l'infestation à *S. mansoni* a eu comme conséquence une réduction significative de 49,71 % ($p < 0,001$) de la concentration du glutathion réduit chez les animaux infestés non traités comparativement aux animaux non parasités. Le traitement à l'extrait aqueux s'est traduit par une augmentation significative de 91,91 % ($p < 0,01$) de la concentration

du glutathion réduit uniquement à la dose de 100 mg/kg. Chez les animaux ayant reçu la fraction méthanolique de l'extrait aqueux, nous avons enregistré une augmentation significative et dose-dépendante de la concentration du glutathion réduit de 55,78 %, 75,61 % et de 92,48 % aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg, respectivement. Le traitement au praziquantel n'a pas eu d'impact significatif sur la concentration du glutathion réduit. L'extrait aqueux à la dose de 100 mg/kg ($p < 0,01$) et la fraction méthanolique aux doses de 200 ($p < 0,05$) et de 400 mg/kg ($p < 0,01$) se sont avérés plus efficaces que le praziquantel.

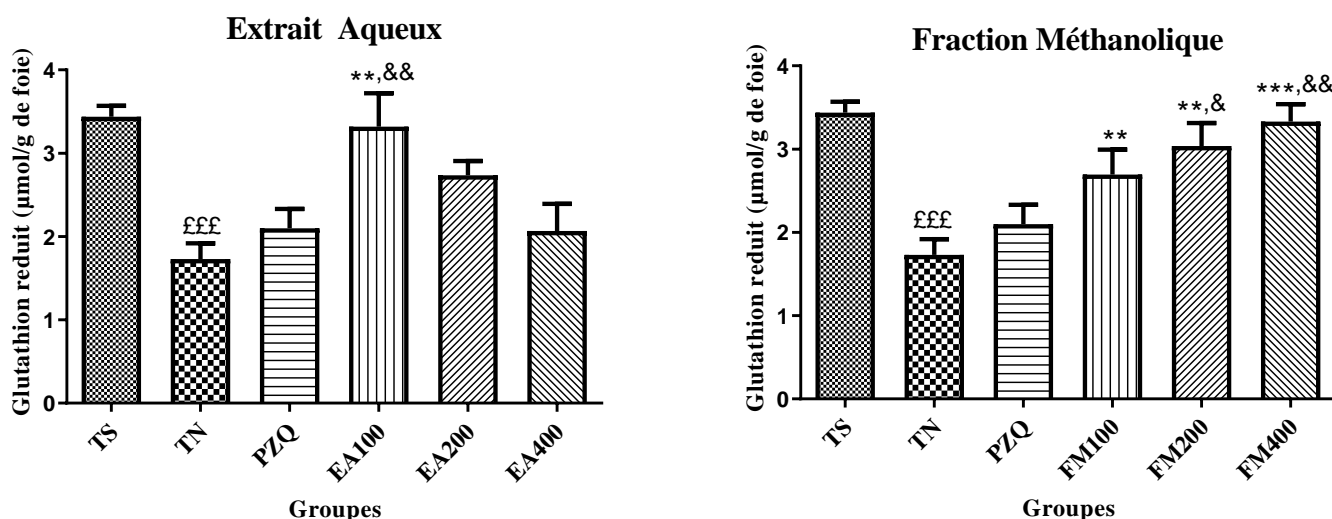


Figure 25 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur la concentration du glutathion réduit.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM / $n=5$ (TS), $n=6$ (autres groupes) / ANOVA suivi du post test de Newman-Keuls a été utilisé pour l'analyse statistique / £££ $p < 0,001$: différence significative par rapport aux témoins sains. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: différence significative par rapport aux témoins négatifs. & $p < 0,005$; && $p < 0,01$: différence significative entre le groupe essai et le groupe traité au PZQ. TS : témoins sains, souris non infestées / TN : témoins négatifs, souris infestées et recevant de l'eau distillée / PZQ : témoins positifs, souris infestées et traitées au praziquantel à la dose totale de 500 mg/kg / EA100, EA200, EA400 : groupes essais, souris infestées et traitées à l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement / FM100, FM200, FM400 : groupes essais, souris infestées et traitées à la fraction méthanolique de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement.

III-1-5-Activité antiinflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique dans l'infection à *Schistosoma mansoni*

Cette activité a été évaluée par l'analyse des coupes histologiques du foie en appréciant les infiltrations leucocytaires et / ou la présence de collagène au niveau des foyers granulomateux. Le comptage des granulomes bilharziens hépatiques, ainsi que la mesure de leurs volumes étaient également pris en compte dans cette évaluation.

III-1-5-1-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur l'histologie du foie

Les coupes histologiques de foie ont été réalisées et colorées à l'hématoxyline-éosine afin d'évaluer les infiltrations leucocytaires et la réaction granulomateuse d'une part et au picrosirius pour la mise en évidence du collagène d'autre part.

Le foie des souris saines présente une structure normale (Figure 26/TS-A) avec d'hépatocytes irriguées qui confluent dans la veine centrolobulaire. La coloration au picrosirius a permis de visualiser le collagène sous-endothélial coloré en rouge au niveau de la veine centrolobulaire (Figure 26/TS-C). En effet, la paroi des veines est formée de tissu conjonctif lâche contenant des faisceaux de fibres de collagène. Ces dernières sont colorées par le picrosirius et apparaissent en rouge sur les coupes.

Chez les souris infestées par *S. mansoni* et non traitées, nous avons observé dans les structures hépatiques de nombreux et volumineux granulomes bilharziens (Figure 26/TN-A). La vue panoramique des coupes colorées au picrosirius met en exergue d'intenses foyers fibrotiques (Figure 26/TN-B). Ces foyers sont caractérisés par des dépôts importants de fibres de collagène (Figure 26/TN-C).

Chez les souris infestées à *S. mansoni* puis traitées au praziquantel, les granulomes bilharziens sont inexistantes sur les coupes de foie (Figure 26/PZQ-A). Les fibres de collagène sont absentes sur le parenchyme hépatique des souris (Figure 26/PZQ-B et C).

Sur les coupes de foie des souris infestées à *S. mansoni* puis traitées à l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum*, comparativement aux souris témoins négatifs (Figure 26/TN-B et C), nous notons une diminution du nombre des nodules parasitaires fibrotiques et de la densité des fibres de collagène (Figure 27/EA100-B et C, EA200-B et C, EA400-B et C). Les animaux traités à l'extrait aqueux à la dose de 400 mg/kg présentent les meilleures améliorations.

Après le traitement à la fraction méthanolique de l'extrait aqueux, comparativement aux souris infestées non traitées (Figure 26/TN-B et C), nous avons observé une réduction considérable du nombre et de la taille des granulomes bilharziens ainsi que de la densité du dépôt des fibres de collagène (Figure 28/FM100-B et C, FM200-B et C, FM400-B et C). Les améliorations les plus importantes ont été observées à la dose de 400 mg/kg.

La comparaison des groupes traités à l'extrait aqueux de *C. umbellatum* et ceux traités à sa fraction méthanolique à doses équivalentes montre que concernant la présence de granulomes sur le parenchyme hépatique, le traitement à la fraction méthanolique aux doses de 200 et 400 mg/kg a produit des améliorations plus importantes que celles obtenues avec l'extrait aqueux aux mêmes doses.

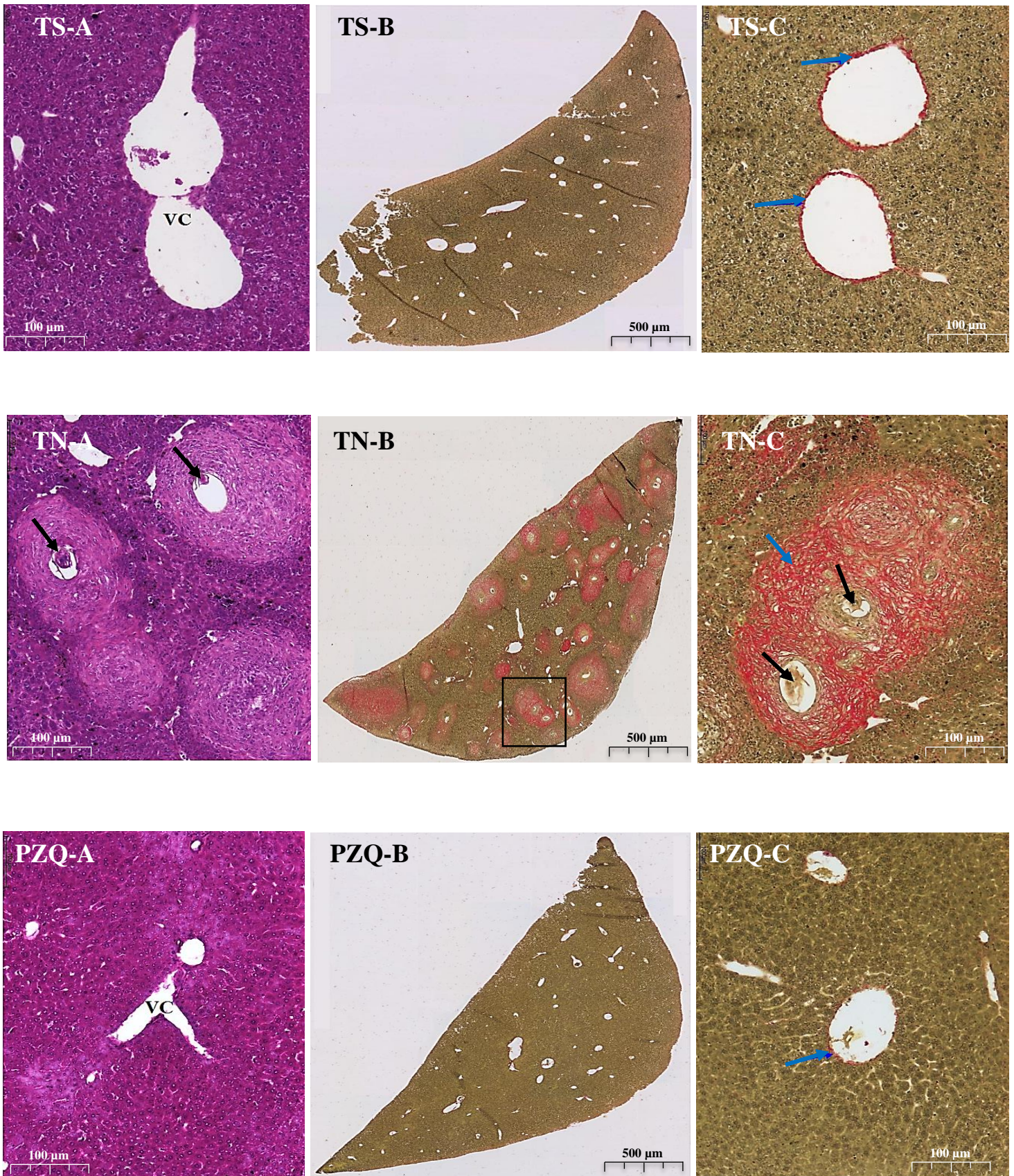


Figure 26 : Coupes histologiques du foie de souris témoins sains (TS), témoins négatifs (TN) et témoins positifs (PZQ) colorées à l'hématoxyline-éosine (A) ou au picrosirius (B et C).

TS : témoins sains, souris non infestées / TN : témoins négatifs, souris infestées et recevant de l'eau distillée / PZQ : témoins positifs, souris infestées et traitées au praziquantel à 100 mg/kg. VC : veine centrolobulaire. La flèche bleue indique des fibres de collagène. La flèche noire indique un œuf de schistosome. B = vue panoramique.

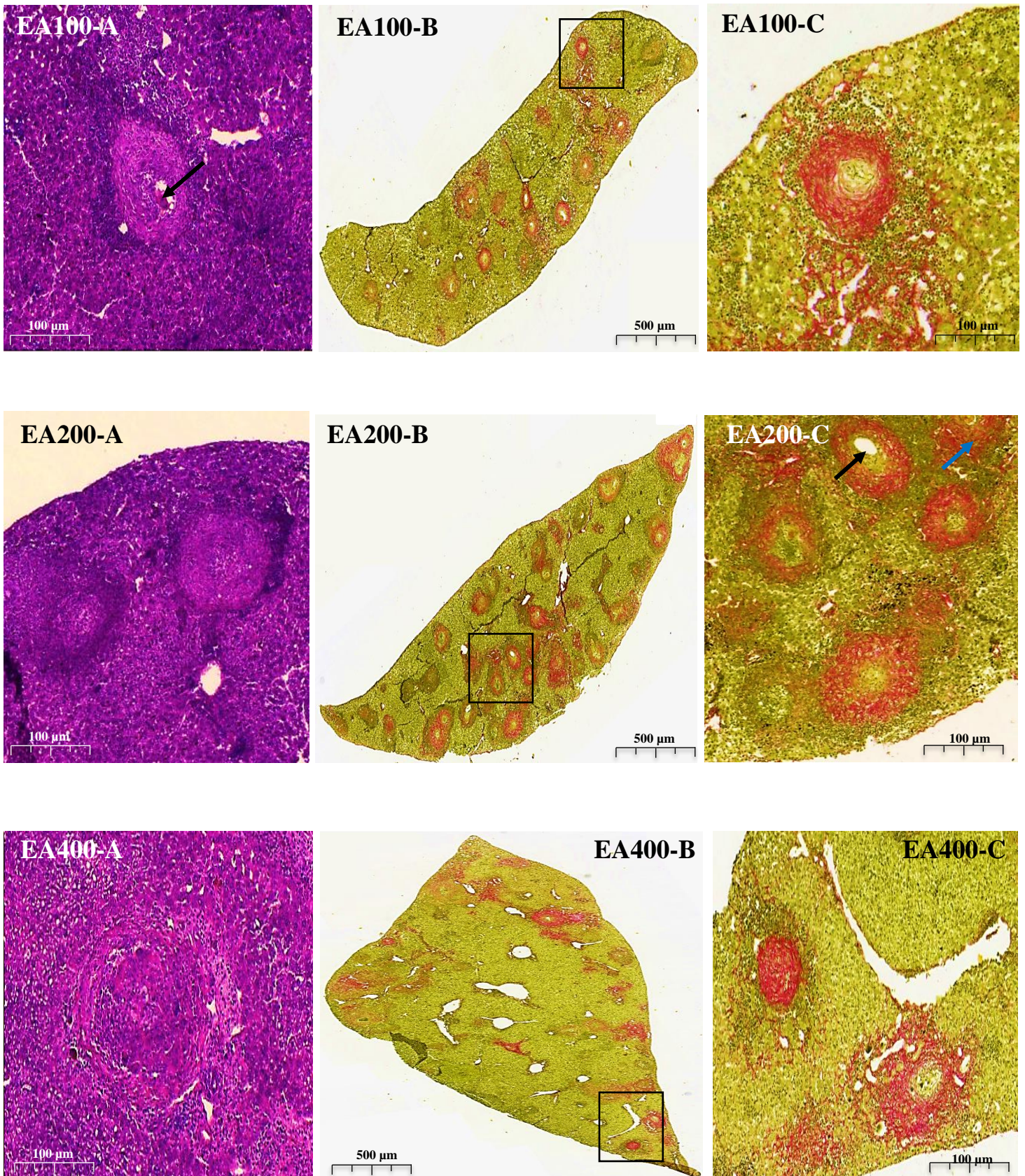


Figure 27 : Coupes histologiques du foie de souris traitées à l'extrait aqueux des feuilles de *Clodendrum umbellatum* colorées à l'hématoxyline-éosine (A) ou au picosirius (B et C). EA100, EA200, EA400 : groupes essais, souris infestées et traitées à l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses 100, 200 et 400 mg/kg respectivement. La flèche bleue indique des fibres de collagène. La flèche noire indique un œuf de schistosome. B = vue panoramique.

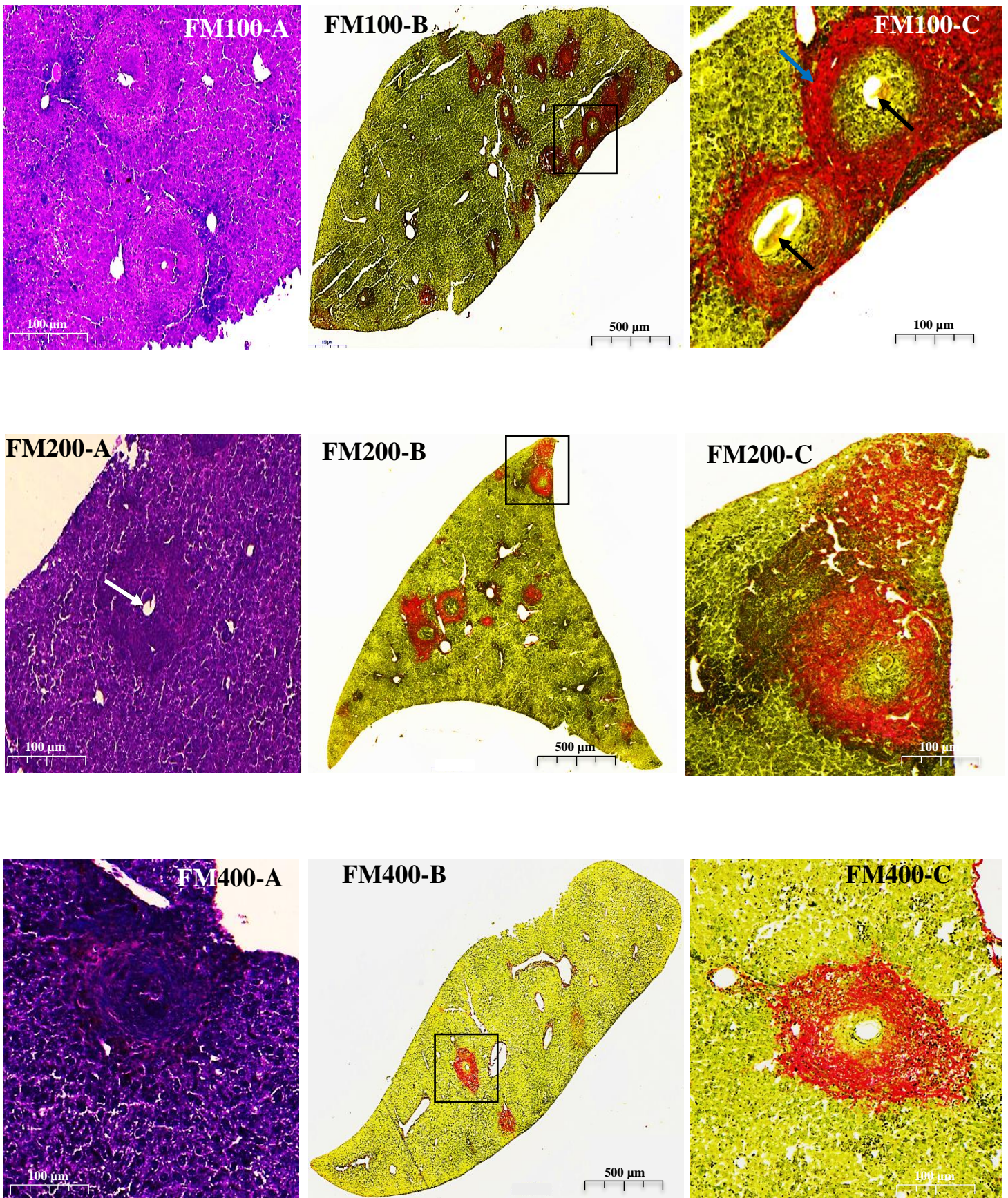


Figure 28 : Coupes histologiques du foie de souris traitées à la fraction méthanolique de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* colorées à l'hématoxyline-éosine (A) ou au picrosirius (B et C).

FM100, FM200, FM400 : groupes essais, souris infestées et traitées à la fraction méthanolique de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses 100, 200 et 400 mg/kg respectivement. La flèche noire et la flèche blanche indiquent les œufs de schistosome. La flèche bleue indique des fibres de collagène. B= vue panoramique.

III-1-5-2-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur le nombre et le volume des granulomes bilharziens hépatiques

Les coupes histologiques réalisées nous ont permis de mettre en évidence les granulomes bilharziens dans le foie chez les souris infestées puis traitées ou non. Ensuite, nous avons procédé au comptage et à la mesure du volume de ces granulomes.

III-1-5-2-1-Nombre de granulomes bilharziens

L'analyse de la figure 29 révèle que l'infestation à *S. mansoni* a conduit à la formation de granulomes bilharziens dans le tissu hépatique des souris non traitées avec $12,32 \pm 1,81$ granulomes/10 champs microscopiques. Le traitement des animaux à l'extrait aqueux a conduit à une réduction significative du nombre de granulomes de 57,93 % et de 72,23 % aux doses de 100 et de 400 mg/kg respectivement comparativement aux témoins négatifs. Chez les animaux traités à la fraction méthanolique de l'extrait aqueux, nous avons enregistré une réduction significative du nombre des granulomes de 62,3 % et 82 % aux doses de 200 et de 400 mg/kg respectivement. La comparaison entre les animaux traités à l'extrait aqueux et ceux traités à sa fraction méthanolique n'a pas révélé de différence significative. Chez les souris traitées au praziquantel, aucun granulome n'a été observé sur les coupes histologiques de foie.

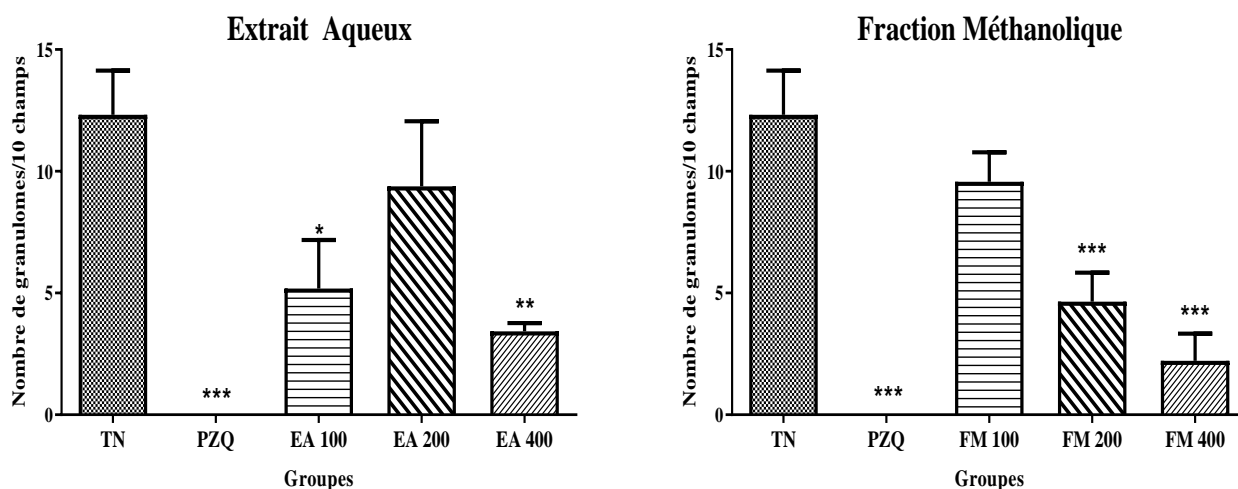


Figure 29 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur le nombre de granulomes bilharziens.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM / n=6 / ANOVA suivi du post test de Newman-Keuls a été utilisé pour l'analyse statistique / *p<0,005 ; **p<0,01 ; ***p<0,001 : différence significative par rapport aux témoins négatifs. **TN** : témoins négatifs, souris infestées et recevant de l'eau distillée / **PZQ** : témoins positifs, souris infestées et traitées au praziquantel à la dose totale de 500 mg/kg / **EA100, EA200, EA400** : groupes essais, souris infestées et traitées à l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement / **FM100, FM200, FM400** : groupes essais, souris infestées et traitées à la fraction méthanolique de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement.

III-1-5-2-2-Volume des granulomes bilharziens

Il ressort de la figure 30 que le traitement à l'extrait aqueux ou à sa fraction méthanolique a entraîné une réduction significative ($p < 0,001$) à toutes les doses du volume des granulomes bilharziens comparativement aux animaux infestés non traités. Chez les animaux traités à l'extrait aqueux, nous avons enregistré des réductions de 68,70 %, 71,26 % et de 67,05 respectivement aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg. Quant aux animaux infestés ayant reçu la fraction méthanolique de l'extrait aqueux de *C. umbellatum*, la réduction était dose-dépendante et variait de 59,94 % (FM100) à 63,71 % (FM400). La comparaison des résultats obtenus après traitement à chacune des substances, révèle que l'extrait aqueux était plus efficace que la fraction méthanolique aux doses de 100 et de 200 mg/kg ($p < 0,01$).

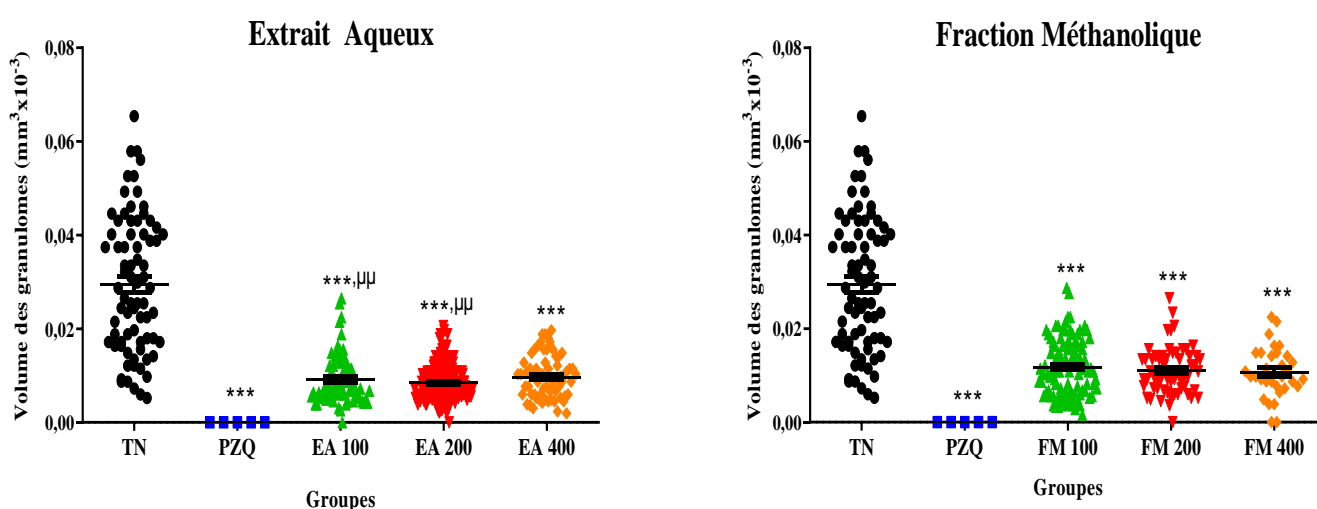


Figure 30 : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et de sa fraction méthanolique sur le volume des granulomes bilharziens.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM / $n=6$ / ANOVA suivi du post test de Newman-Keuls a été utilisé pour l'analyse statistique / *** $p < 0,001$: différence significative par rapport aux témoins négatifs. $\mu\mu$ $p < 0,01$: différence significative entre le groupe essai traité à l'extrait aqueux et le groupe correspondant traité à la fraction méthanolique. TN : témoins négatifs, souris infestées et recevant de l'eau distillée / PZQ : témoins positifs, souris infestées et traitées au praziquantel à la dose totale de 500 mg/kg / EA100, EA200, EA400 : groupes essais, souris infestées et traitées à l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement / FM100, FM200, FM400 : groupes essais, souris infestées et traitées à la fraction méthanolique de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* aux doses de 100, 200 et de 400 mg/kg respectivement.

III-1-6-Profil de toxicité de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum*

La toxicité aiguë de l'extrait aqueux à la dose de 2000 mg/kg ainsi que sa toxicité à doses répétées de 28 jours aux doses de 200, 400 et de 800 mg/kg ont été évaluées

III-1-6-1-Toxicité orale aiguë de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum*

L'administration de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* à la dose unique de 2000 mg/kg n'a entraîné aucun décès durant toute la durée de l'expérimentation. Tel que mentionné dans le tableau XVIII, il n'y a pas eu de différences significatives entre le poids corporel des souris témoins et celui des souris traitées à l'extrait aqueux. Le même constat a été fait pour les poids

relatifs des organes. A l'examen macroscopique *post mortem*, les organes internes ne présentaient pas de changements morphologiques.

Compte tenu de l'absence de décès durant l'expérimentation, la dose létale 50 (DL₅₀) de l'extrait aqueux de *Clerodendrum umbellatum* est considérée comme supérieure à 2000 mg/kg. L'extrait aqueux a été classé, conformément au système de classification globalement harmonisé, dans la catégorie 5 correspondant aux substances relativement non toxiques.

Tableau XVIII : Poids corporel et poids relatifs des organes vitaux après administration de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* à la dose unique de 2000 mg/kg

Groupes	Poids corporel (g)		Poids relatif des organes (g/100 g de poids corporel)							
	Poids initial	Poids final	Cœur	Estomac	Foie	Intestin	Poumons	Rate	Reins	Ovaires (x 10 ⁻³)
Témoin	21,87±	24,12	0,41 ±	1,75 ±	5,68 ±	8,58 ±	1,31 ±	0,79±	1,23±	0,027 ±
	0,47	± 0,43	0,01	0,17	0,31	0,70	0,06	0,09	0,04	0,006
Essai	21,90 ±	24,10	0,41 ±	2,09 ±	5,63 ±	8,16 ±	1,35 ±	0,84±	1,11±	0,024 ±
	0,45	± 0,33	0,06	0,27	0,40	0,56	0,10	0,02	0,06	0,005

Chaque valeur représente la moyenne ± ESM / n=3

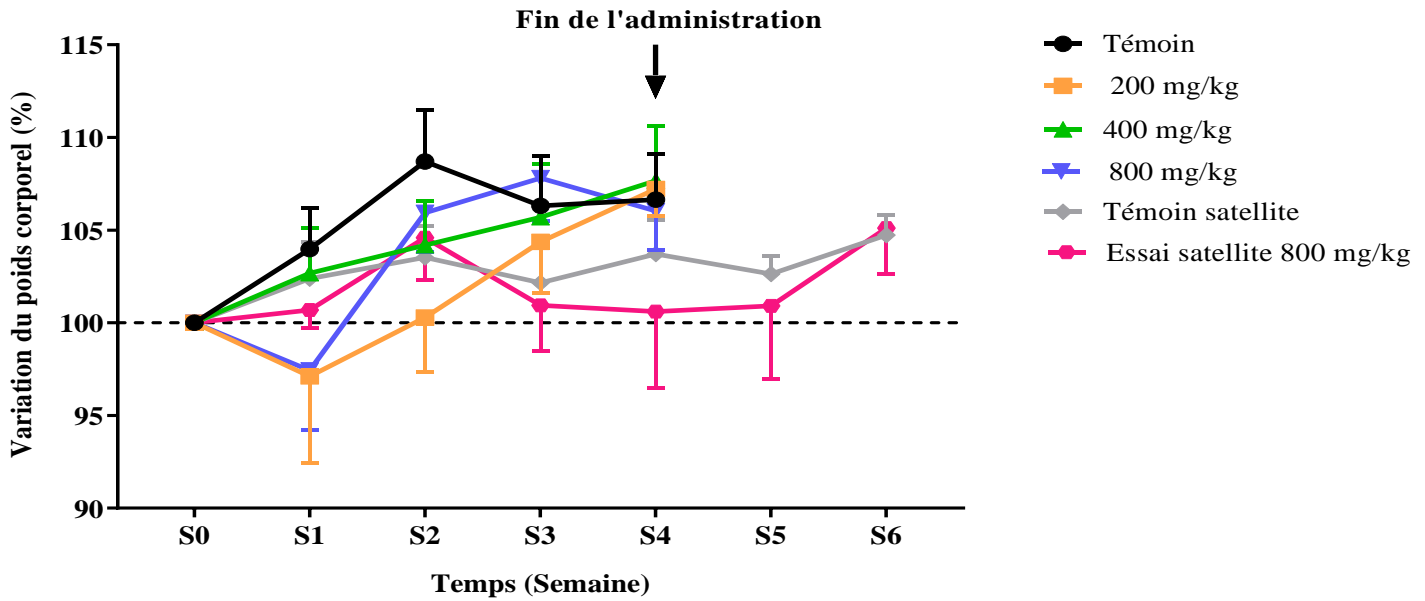
III-1-6-2-Toxicité orale à doses répétées de 28 jours

L'administration de l'extrait pendant 28 jours n'a entraîné aucun décès aussi bien chez les souris femelles que chez les souris mâles. L'autopsie des animaux n'a révélé aucun changement morphologique des organes lors de l'examen macroscopique.

III-1-6-2-1-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* sur l'évolution pondérale et le poids relatifs de quelques organes

Durant toute l'expérimentation, comparativement à leurs témoins respectifs, nous n'avons pas enregistré de différence significative de la variation du poids corporel des souris dans les groupes essais et satellites (Figure 31). Cette observation était valable dans les deux sexes. Une diminution non significative du poids corporel a été notée dans la première semaine suivant l'administration de l'extrait aqueux à des souris mâles aux doses 200 et 800 mg/kg. Quant aux souris femelles, à toutes les doses, nous avons observé une diminution non significative du poids corporel après administration de l'extrait. Le poids corporel des souris femelles est resté inférieur à la valeur de référence durant toute l'expérimentation.

Mâles



Femelles

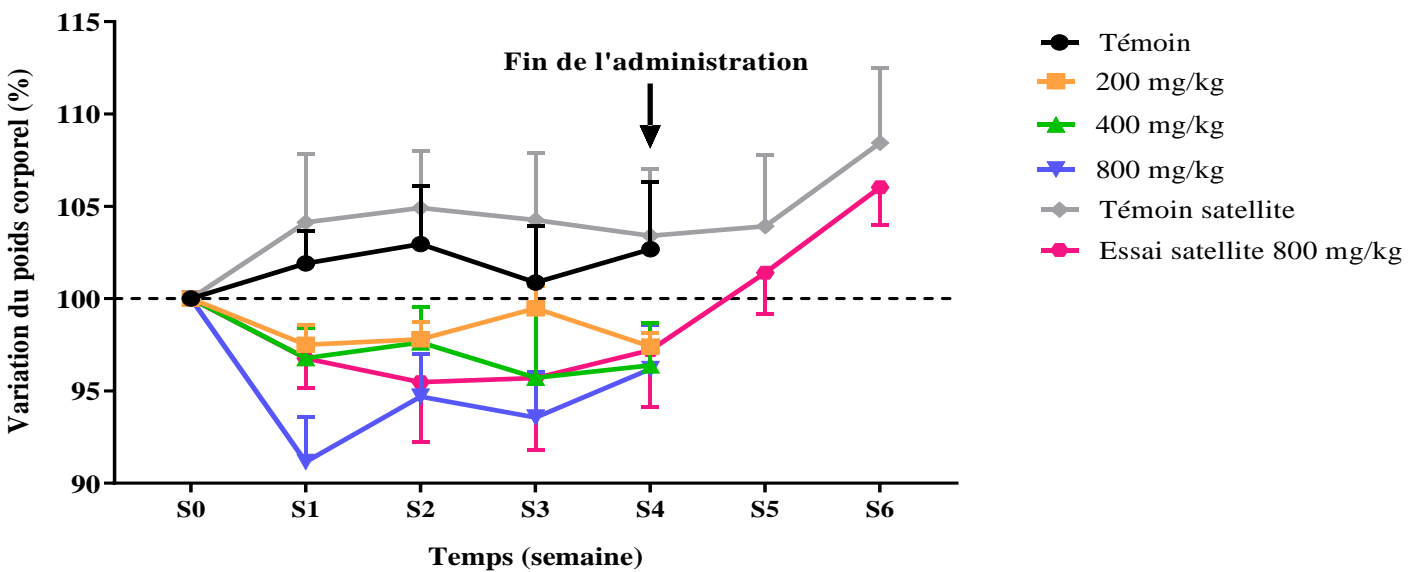


Figure 31 : Variation du poids corporel des souris après administration de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* pendant 28 jours.

Les valeurs représentent les moyennes \pm ESM / n=5

Le tableau XIX présente les effets de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* administré pendant 28 jours, sur le poids relatif de quelques organes chez les souris mâles et femelles. Il en ressort que dans les deux sexes il n'y a pas eu de différence statistiquement significative entre les poids relatifs de ces organes chez les animaux traités à l'extrait et ceux des groupes témoins. Le constat était le même chez les animaux satellites.

Tableau XIX : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* sur le poids relatif de quelques organes après 28 jours d'administration

Organes	Groupes essais			Groupes satellites		
	Témoins	200 mg/kg	400 mg/kg	800 mg/kg	Témoins	800 mg/kg
MÂLES						
Cœur	0,44 ± 0,01	0,50 ± 0,03	0,45 ± 0,04	0,48 ± 0,04	0,54 ± 0,02	0,57 ± 0,07
Estomac	1,09 ± 0,16	1,26 ± 0,04	1,02 ± 0,09	1,13 ± 0,07	1,46 ± 0,07	1,13 ± 0,13
Foie	4,40 ± 0,28	4,74 ± 0,26	4,85 ± 0,05	4,90 ± 0,49	4,39 ± 0,11	4,51 ± 0,20
Intestin	8,51 ± 0,11	8,13 ± 0,60	9,85 ± 0,26	8,82 ± 0,16	7,84 ± 0,28	8,07 ± 0,20
Poumons	0,67 ± 0,06	0,76 ± 0,06	0,72 ± 0,05	0,65 ± 0,09	0,71 ± 0,04	0,74 ± 0,03
Rate	0,50 ± 0,11	0,42 ± 0,02	0,56 ± 0,04	0,52 ± 0,12	0,43 ± 0,02	0,49 ± 0,05
Rein	1,45 ± 0,14	1,54 ± 0,05	1,54 ± 0,05	1,59 ± 0,16	1,55 ± 0,07	1,65 ± 0,08
Testicules	0,73 ± 0,05	0,78 ± 0,06	0,83 ± 0,04	0,78 ± 0,06	0,67 ± 0,03	0,74 ± 0,08
FEMELLES						
Cœur	0,42 ± 0,02	0,49 ± 0,04	0,47 ± 0,01	0,46 ± 0,02	0,48 ± 0,03	0,48 ± 0,03
Estomac	1,32 ± 0,06	1,72 ± 0,10	1,75 ± 0,10	1,27 ± 0,10	1,49 ± 0,08	1,22 ± 0,09
Foie	4,67 ± 0,10	4,56 ± 0,21	5,28 ± 0,64	5,01 ± 0,10	4,78 ± 0,09	4,71 ± 0,09
Intestin	10,04 ± 0,25	9,52 ± 0,48	11,18 ± 0,34	9,90 ± 0,32	9,92 ± 0,18	9,14 ± 0,46
Poumons	0,77 ± 0,02	0,71 ± 0,05	0,64 ± 0,03	0,85 ± 0,06	0,87 ± 0,05	0,81 ± 0,05
Rate	0,53 ± 0,03	0,54 ± 0,06	0,55 ± 0,05	0,53 ± 0,03	0,62 ± 0,08	0,51 ± 0,05
Rein	1,14 ± 0,42	1,28 ± 0,09	1,08 ± 0,05	1,45 ± 0,71	1,07 ± 0,04	1,32 ± 0,04
Ovaires (x10⁻³)	0,037 ± 0,004	0,068 ± 0,017	0,044 ± 0,008	0,065 ± 0,015	0,042 ± 0,004	0,050 ± 0,006

Les valeurs représentent les moyennes ± ESM / n=5.

III-1-6-2-2-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* sur les paramètres hématologiques

Les effets de l'administration répétée de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* sur les paramètres hématologiques sont consignés dans le tableau XX. Il est ressorti de l'étude qu'aussi bien chez les souris mâles que femelles, aucune différence statistiquement significative n'a été enregistrée entre les groupes essais et leurs témoins respectifs en ce qui concerne les paramètres hématologiques évalués. Le constat était le même dans les groupes satellites.

Tableau XX : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* sur quelques paramètres hématologiques après 28 jours d'administration

Paramètres	Groupes essais				Groupes satellites	
	Témoins	200 mg/kg	400 mg/kg	800 mg/kg	Témoins	800 mg/kg
MÂLES						
Globules rouges ($10^6/\mu\text{L}$)	8,22 ± 0,33	8,92 ± 1,18	8,04 ± 1,61	7,28 ± 1,67	8,84 ± 0,28	7,32 ± 0,44
Concentration d'hémoglobine (g/dL)	12,22 ± 0,94	12,84 ± 2,09	12,38 ± 1,56	10,35 ± 2,73	14,60 ± 0,27	12,30 ± 0,72
Hématocrite (%)	32,22 ± 0,65	37,82 ± 4,96	33,42 ± 5,00	28,80 ± 6,84	36,72 ± 1,00	30,85 ± 2,04
Concentration en HCM (g/dL)	36,70 ± 2,54	33,46 ± 2,23	37,56 ± 1,40	36,02 ± 0,29	39,78 ± 0,56	40,05 ± 0,70
Hémoglobine corpusculaire moyenne (pg)	14,74 ± 0,68	14,20 ± 0,86	16,80 ± 2,03	14,00 ± 0,24	17,04 ± 0,35	16,82 ± 0,28
Volume corpusculaire moyen (fL)	40,60 ± 1,20	42,60 ± 1,43	45,00 ± 5,80	38,72 ± 0,92	43,00 ± 0,70	42,25 ± 0,99
Globules blancs ($10^3/\mu\text{L}$)	20,64 ± 11,81	13,14 ± 2,22	16,90 ± 6,02	12,80 ± 4,47	11,28 ± 0,95	4,65 ± 0,77
Lymphocytes (%)	74,06 ± 4,55	71,15 ± 4,72	69,32 ± 6,65	71,57 ± 5,18	70,02 ± 1,21	71,75 ± 4,02
Monocytes (%)	14,34 ± 1,90	16,02 ± 1,51	19,28 ± 2,51	15,17 ± 2,27	19,84 ± 1,36	16,87 ± 2,35
Granulocytes (%)	11,62 ± 3,59	12,84 ± 2,85	11,36 ± 4,72	13,27 ± 3,29	10,18 ± 1,96	11,37 ± 3,76
Plaquettes ($10^3/\mu\text{L}$)	279,40 ± 14,82	261,40 ± 38,88	214,8 ± 55,16	262,50 ± 70,47	327,20 ± 44,53	282,70 ± 14,82
FEMELLES						
Globules rouges ($10^6/\mu\text{L}$)	7,39 ± 1,77	7,15 ± 1,95	7,93 ± 2,16	7,78 ± 1,12	7,78 ± 1,62	6,82 ± 2,87
Concentration d'hémoglobine (g/dL)	11,70 ± 1,12	11,18 ± 1,47	11,70 ± 1,83	11,67 ± 1,10	12,82 ± 1,09	12,08 ± 2,44
Hématocrite (%)	31,78 ± 6,28	28,84 ± 3,52	32,96 ± 10,14	29,69 ± 2,92	32,08 ± 7,52	27,00 ± 10,24
Concentration en HCM (g/dL)	36,90 ± 5,19	32,60 ± 7,53	35,14 ± 1,65	38,97 ± 2,21	40,50 ± 1,34	35,30 ± 5,19
Hémoglobine corpusculaire moyenne (pg)	16,00 ± 0,71	13,12 ± 3,02	14,48 ± 0,98	14,87 ± 0,67	16,60 ± 0,52	14,00 ± 1,86
Volume corpusculaire moyen (fL)	43,40 ± 1,60	40,40 ± 0,24	41,20 ± 2,00	38,50 ± 1,39	41,20 ± 1,39	40,60 ± 1,60
Globules blancs ($10^3/\mu\text{L}$)	8,97 ± 2,55	6,12 ± 1,51	5,40 ± 0,97	8,50 ± 1,47	6,56 ± 0,96	6,08 ± 1,39
Lymphocytes (%)	59,30 ± 5,97	72,14 ± 1,56	71,40 ± 2,54	68,40 ± 7,57	74,66 ± 2,01	75,06 ± 4,26
Monocytes (%)	19,06 ± 1,31	16,14 ± 1,69	14,78 ± 0,57	19,32 ± 1,64	15,20 ± 0,65	11,82 ± 1,04
Granulocytes (%)	20,26 ± 5,81	11,74 ± 1,63	13,82 ± 2,08	12,32 ± 5,68	10,08 ± 1,87	13,06 ± 3,48
Plaquettes ($10^3/\mu\text{L}$)	230,80 ± 29,48	229,40 ± 21,98	154,60 ± 36,92	237,20 ± 43,54	232,60 ± 43,87	240,40 ± 46,30

Les valeurs représentent les moyennes ± ESM / n=5. HCM : hémoglobine corpusculaire moyenne

III-1-6-2-3-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* sur quelques paramètres biochimiques

Les effets de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* sur quelques paramètres biochimiques sont présentés dans le tableau XXI. L'analyse du tableau révèle que le traitement a induit, chez les souris mâles des groupes essais, une augmentation significative des activités de l'ALAT ($p<0,01$) et de l'ASAT ($p<0,05$) à la dose de 400 mg/kg. Nous avons enregistré chez ces souris mâles une augmentation significative ($p<0,05$) de la concentration de la créatinine à la dose de 800 mg/kg.

Chez les souris femelles essais, nous avons noté une augmentation significative de l'activité de l'ASAT ($p<0,05$) et de la concentration du cholestérol HDL à la dose de 800 mg/kg comparativement au groupe témoin.

Dans les groupes témoin satellite et essai satellite 800 mg/kg, pour tous les paramètres évalués, aucune différence significative n'a été enregistrée comparativement aux groupes témoin et essai 800 mg/kg respectivement ; suggérant ainsi une éventuelle réversibilité des modifications enregistrées dans les groupes essais.

Tableau XXI : Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* sur quelques paramètres biochimiques après 28 jours d'administration

Paramètres	Groupes essais				Groupes satellites	
	Témoins	200 mg/kg	400 mg/kg	800 mg/kg	Témoins	800 mg/kg
MÂLES						
ALAT (U/L)	81,30 ± 3,31	86,03 ± 8,65	127,40 ± 8,75**	72,12 ± 5,55	96,50 ± 7,36	114,37 ± 11,95
ASAT (U/L)	170,80 ± 8,12	169,60 ± 7,18	252,60 ± 26,23*	152,25 ± 11,09	201,00 ± 14,73	236,75 ± 23,90
Cholestérol total (mg/dL)	123,34 ± 6,43	103,84 ± 4,21	164,56 ± 6,81	132,99 ± 7,10	138,04 ± 6,92	142,33 ± 10,78
HDL-Cholestérol (mg/dL)	13,15 ± 1,07	16,78 ± 1,76	16,77 ± 1,83	16,83 ± 2,09	20,11 ± 0,91	19,16 ± 2,35
Créatinine sérique (mg/dL)	0,42 ± 0,11	0,48 ± 0,08	0,42 ± 0,02	0,78 ± 0,16*	0,42 ± 0,10	0,19 ± 0,04
Protéines totales (mg/dL)	9,98 ± 0,83	9,42 ± 0,86	10,73 ± 0,21	9,60 ± 0,95	11,46 ± 0,67	10,65 ± 0,63
FEMELLES						
ALAT (U/L)	77,50 ± 5,54	103,90 ± 6,82	90,70 ± 15,94	110,50 ± 6,10	132,70 ± 2,35	136,30 ± 11,94
ASAT (U/L)	168,20 ± 12,76	208,00 ± 19,18	198,40 ± 33,86	249,75 ± 29,78*	260,60 ± 11,32	262,00 ± 16,38
Cholestérol total (mg/dL)	103,17 ± 6,60	122,78 ± 11,1	106,85 ± 11,41	124,78 ± 5,65	149,19 ± 9,02	152,72 ± 1,06
HDL-Cholestérol (mg/dL)	15,98 ± 0,92	18,87 ± 1,13	20,04 ± 1,93	21,6 ± 1,30*	20,08 ± 0,97	21,45 ± 0,89
Créatinine sérique (mg/dL)	0,73 ± 0,04	0,65 ± 0,09	0,68 ± 0,08	0,51 ± 0,05	0,39 ± 0,05	0,35 ± 0,05
Protéines totales (mg/dL)	9,18 ± 0,41	8,65 ± 1,34	10,56 ± 0,53	10,38 ± 0,23	12,65 ± 1,1	14,57 ± 0,51

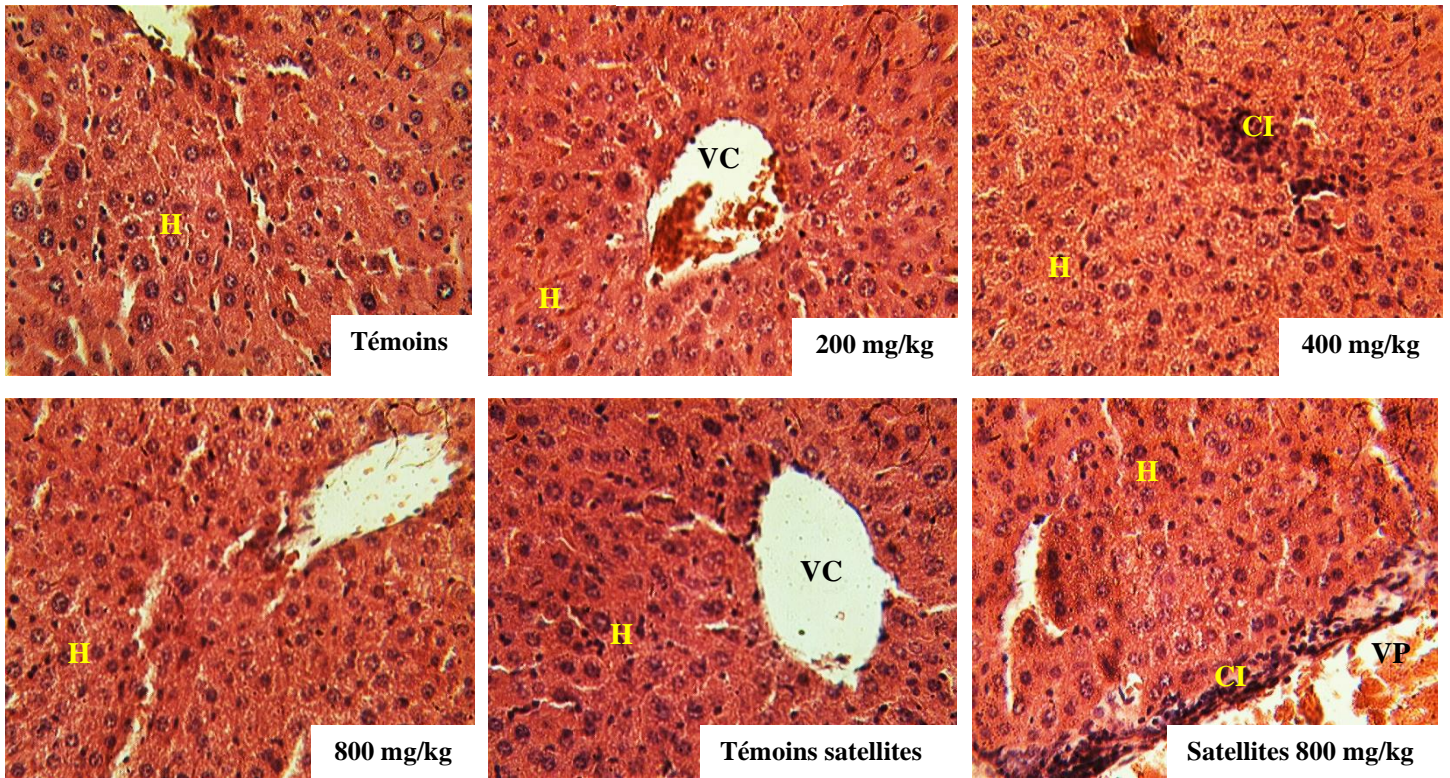
Chaque valeur représente la moyenne ± ESM / n=5 / * $p<0,05$; ** $p<0,01$: différence significative par rapport aux témoins.

III-1-6-2-4-Effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* sur la structure histologique du foie et du rein après 28 jours d'administration

Les coupes histologiques de foie des souris témoins ont révélé un tissu hépatique d'architecture normale avec des hépatocytes normaux (H). La même observation a été faite dans les groupes de souris femelles ayant reçu l'extrait aqueux à toutes les doses ainsi que dans les groupes satellites femelles. Chez les souris mâles traitées à l'extrait aqueux à la dose de 400 mg/kg et celles du groupe satellite essai, nous avons relevé une congestion vasculaire (CV) et des infiltrations de cellules inflammatoires (CI) dans les coupes de foie (Figure 32).

Les coupes histologiques des reins des souris témoins présentaient une structure normale avec des glomérules et des tubules bien distincts. Après 28 jours d'administration de l'extrait, les souris traitées aux doses de 200 et de 400 mg/kg présentaient des coupes histologiques de reins avec une architecture proche de celle des souris témoins. Dans les coupes de reins des souris mâles traitées à la dose de 800 mg/kg, nous avons observé une atrophie glomérulaire (AG) et des clarifications tubulaires (CT). Ces dernières ont également été observées chez les souris femelles essais traitées à l'extrait aqueux à la dose de 800 mg/kg. Ces altérations rénales étaient réversibles tel qu'observé dans le groupe essai satellite (Figure 33).

MÂLES



FEMELLES

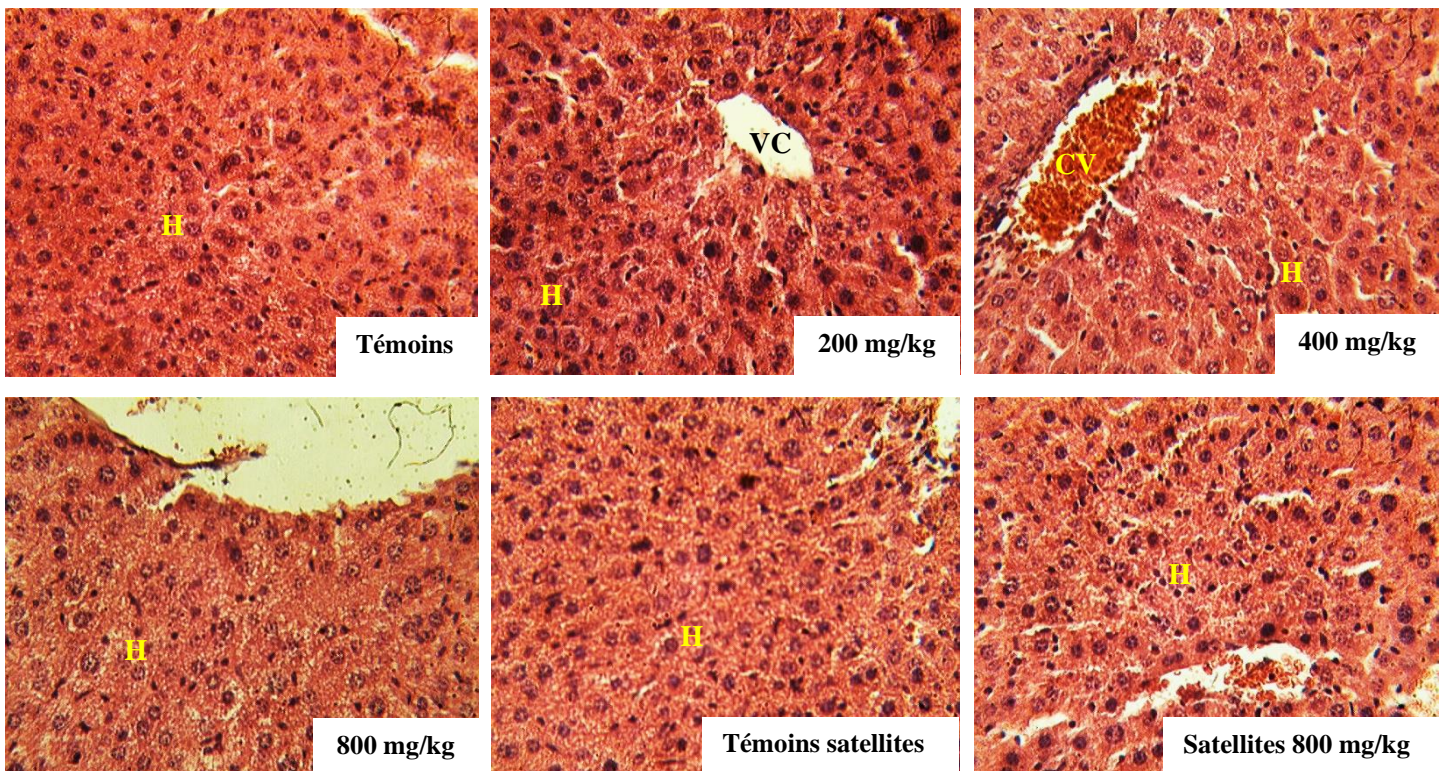
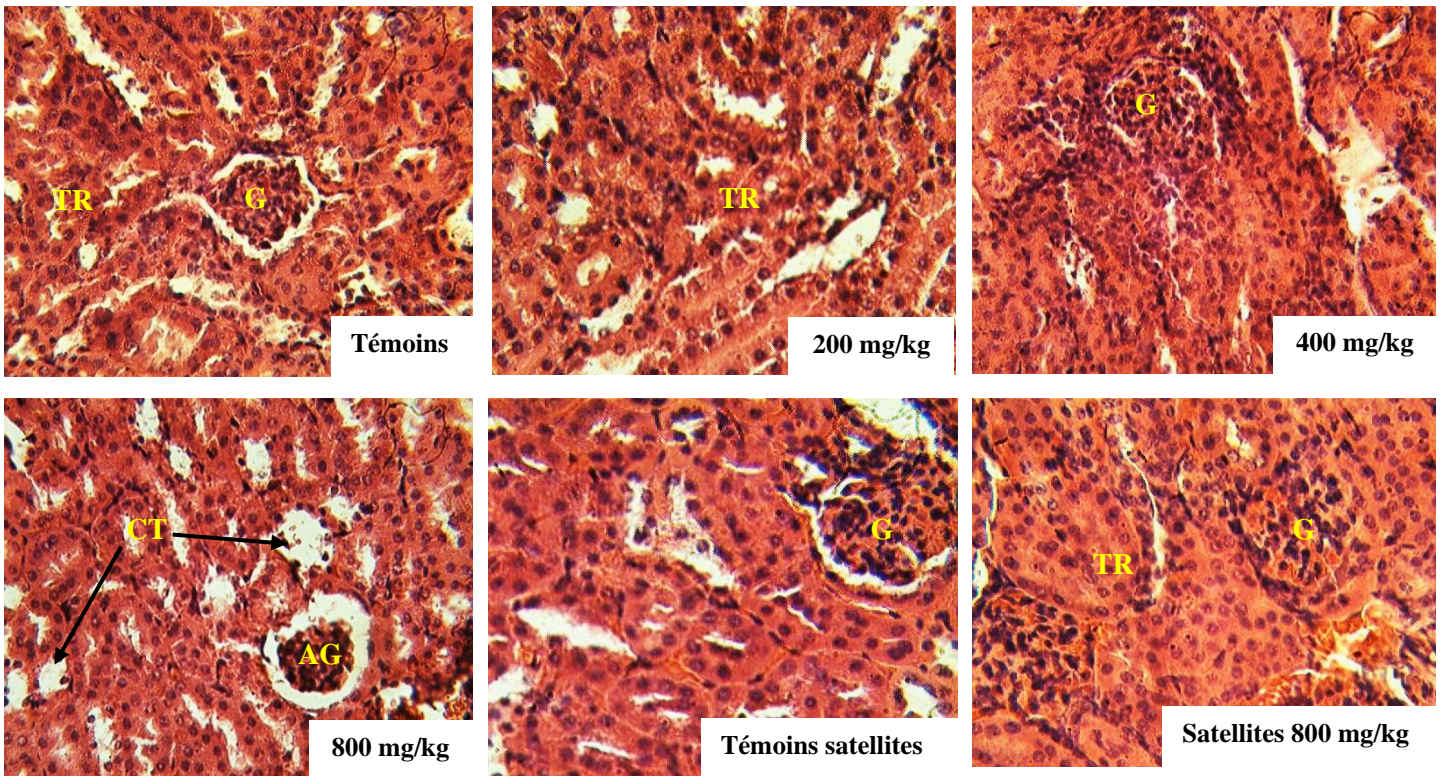
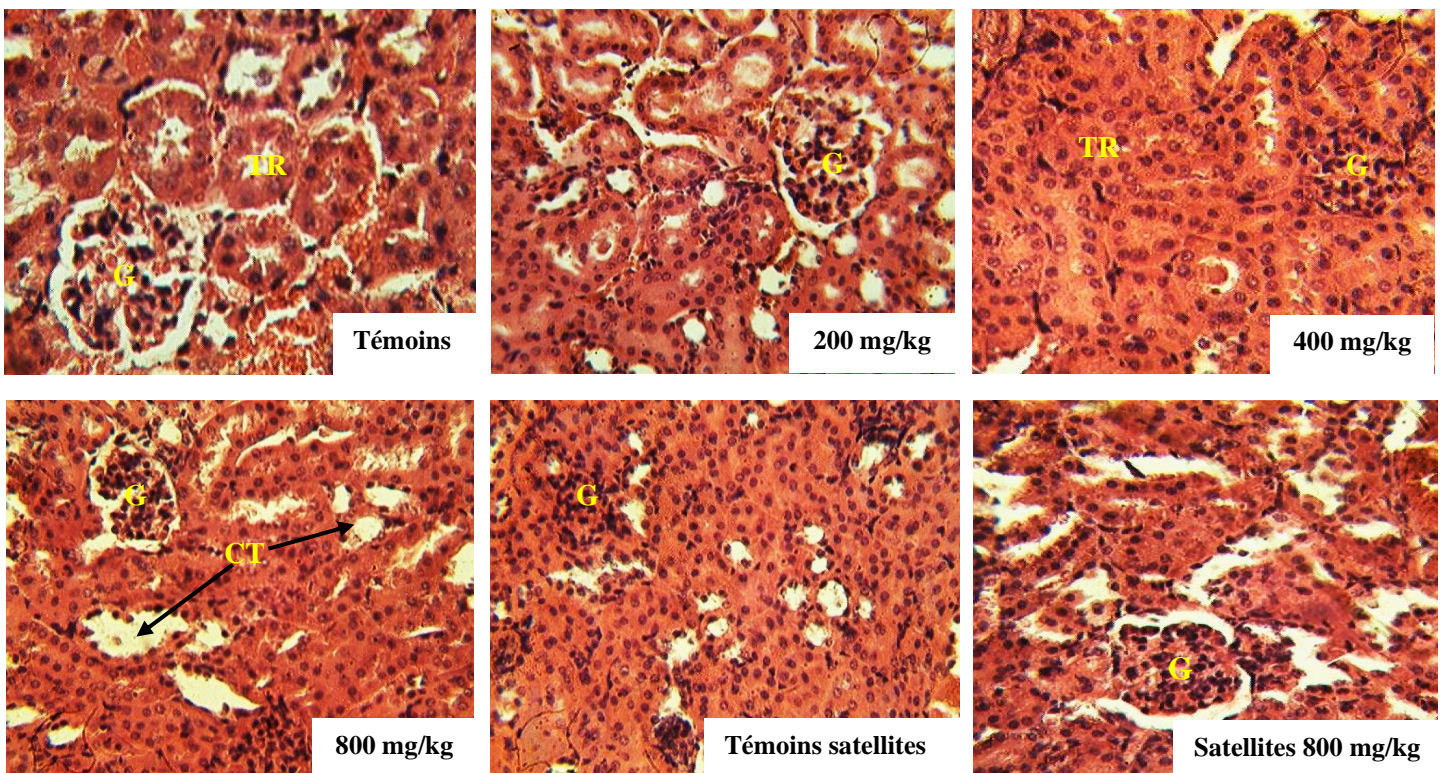


Figure 32 : Coupes histologiques des foies des souris après 28 jours d'administration de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* (Hématoxyline-Eosine x 400).
H= hépatocytes ; VC = veine centrolobulaire ; CV = congestion vasculaire ; VP = veine porte ; CI = cellules inflammatoires

MÂLES



FEMELLES



**Figure 33 : Coupes histologiques des reins des souris après 28 jours d'administration de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* (Hématoxyline-Eosine x 400).
G= glomérule ; TR= tubule rénal ; CT = clarification tubulaire ; AG = atrophie glomérulaire**

III-2-Discussion

La schistosomiase fait partie des maladies tropicales négligées (MTN). Les MTN se propagent facilement au sein des populations qui souffrent de pauvreté, d'accès limité à l'eau potable et aux services d'assainissement, et elles tiennent leurs victimes prisonnières dans un cycle de pauvreté et de maladie. Malgré les progrès réalisés par de multiples équipes de recherche à travers le monde en vue du contrôle voire de l'élimination de la schistosomiase, celle-ci reste un problème de santé publique dans plusieurs pays notamment à cause de l'absence d'un vaccin efficace (Nelwan, 2019 ; OMS, 2021 b). La substance de référence actuellement utilisée dans les programmes de chimiothérapie préventive coordonnés par l'OMS est le praziquantel. Son utilisation quasi-exclusive a entraîné des risques de développement de résistances par certaines souches de schistosomes (Greenberg, 2013). Il devient donc urgent de développer des molécules alternatives/complémentaires au praziquantel. Dans cette optique, l'équipe de recherche dont je fais partie a mis sur pieds un projet visant à rechercher des molécules à activité antibilharzienne dans les plantes médicinales camerounaises. *Clerodendrum umbellatum* est l'une des plantes sélectionnées dans le cadre de ce projet. Dans la présente étude, nous avons pour objectif d'évaluer les propriétés schistosomicide, antioxydante et antiinflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles de cette plante.

L'objectif à long terme étant d'isoler, à partir de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum*, des molécules à activité antibilharzienne, il était nécessaire de procéder au fractionnement de l'extrait aqueux afin de se focaliser sur la fraction la plus active. Ainsi, la première partie du travail a consisté à fractionner l'extrait aqueux et à étudier l'activité schistosomicide *in vitro* de l'extrait et de ses fractions sur des vers adultes de *Schistosoma mansoni*. Le premier paramètre évalué était la mortalité des schistosomes au contact de nos différentes substances. Notre étude a montré qu'au bout de 24h d'exposition, la concentration létale des fractions au *n*-hexane et au méthanol était de 2000 µg/mL. Cette concentration se situe dans la gamme de concentrations létales généralement enregistrées avec les extraits de plantes médicinales et les composés isolés testés contre *Schistosoma mansoni* notamment l'extrait aqueux et les fractions de *Sida pilosa* (Jatsa *et al.*, 2015), l'extrait méthanolique et les fractions des racines de *Ozoroa pulcherrima* (Feussom *et al.*, 2020), la curcumine isolée des rhizomes de *Curcuma longa* (De Paula Aguiar *et al.*, 2016), les lignanes isolés des graines de *Piper cubeba* (Parreira *et al.*, 2019). L'activité schistosomicide de l'extrait aqueux de *C. umbellatum* et de sa fraction au méthanol était concentration dépendante. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que l'activité antischistosomale des composés bioactifs contenus dans ces substances augmenterait en fonction de leurs concentrations. A partir des différents taux de mortalité enregistrés nous avons déterminé la concentration létale 50 des substances testées. La fraction au méthanol s'est avérée la plus active

avec une CL₅₀ de 343,1 µg/mL, suivie de l'extrait aqueux. Cela signifie que le fractionnement de l'extrait aqueux augmenterait son activité schistosomicide *in vitro* sur les vers adultes de *S. mansoni*. Jatsa *et al.*, (2015) ont observé un résultat similaire au cours d'une étude qui a révélé que l'extrait aqueux de *Sida pilosa* était moins actif que sa fraction au *n*-butanol. La mortalité des schistosomes observée durant notre étude pourrait être la conséquence de la perturbation de l'intégrité du tégument qui est la barrière protectrice du ver. En effet, le tégument des schistosomes est une structure particulièrement complexe possédant de multiples fonctions sensorielles mais également impliquée dans l'excrétion, l'osmorégulation ainsi que la protection contre le système immunitaire de l'hôte (Kusel *et al.*, 2007). L'activité schistosomicide de l'extrait aqueux de *C. umbellatum* et de ses fractions serait liée à la présence dans ces substances de composés bioactifs capables entre autres de perturber l'intégrité du tégument des schistosomes. La plupart des alcaloïdes exercent leur activité schistosomicide sur *S. mansoni* en provoquant une perturbation du tégument (Saeed *et al.*, 2016). Bien que son mécanisme d'action ne soit pas clairement élucidé actuellement, le praziquantel qui est un alcaloïde, plus précisément un pyrazino-isoquinoline, exercerait son activité schistosomicide en entraînant la paralysie et la mort du ver probablement via une modification du fonctionnement des canaux calciques voltage-dépendants. Ces derniers jouent un rôle prépondérant dans la régulation des taux intracellulaires du calcium et sont essentiels dans une série d'évènements cellulaires dont la contraction musculaire, l'expression des gènes et la libération du neurotransmetteur (Salvador-Recatalà *et al.*, 2008). L'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* et toutes ses fractions renfermant des alcaloïdes, nous pouvons penser qu'ils exerceraient leur activité schistosomicide au moins en partie via un mécanisme similaire à celui du praziquantel. En effet l'activité schistosomicide des alcaloïdes extraits du fruit de *Solanum lycocarpum* a été démontrée par Miranda *et al.* (2012) sur des vers adultes de *S. mansoni*. Il a en outre été démontré que les terpenoïdes sont responsables de la mort des vers adultes de *S. mansoni* et qu'ils causent une séparation totale des vers appariés avec une perturbation du tégument (De Moraes, 2015). Les terpenoïdes présents dans l'extrait aqueux de *C. umbellatum* et dans sa fraction au méthanol pourraient ainsi être impliqués dans la mort des vers adultes de *S. mansoni*.

L'activité motrice ou motilité est un indicateur de l'activité biologique des schistosomes. La concentration en calcium intracellulaire est très importante pour la contraction musculaire chez *S. mansoni*. L'entrée de calcium extracellulaire dans la cellule se fait via trois principaux types de canaux : les canaux calciques voltage-dépendants (VOCC), les canaux calciques récepteurs-dépendants (ROCC) et par les canaux calciques activés par une déplétion de calcium intracellulaire (DOCC) (Noël *et al.*, 2001 ; Noël, 2008). Durant notre étude nous avons enregistré une réduction significative de l'activité motrice chez les vers suite à l'ajout des différentes substances testées. Une réduction similaire de l'activité motrice a été observée après l'incubation des schistosomes

avec les huiles essentielles de *Citrus limonia* et de *Citrus reticulata* (Martins *et al.*, 2016), l'extrait aqueux et les fractions de *Sida pilosa* (Jatsa *et al.*, 2015) ainsi que l'extrait méthanolique et les fractions des racines de *Ozoroa pulcherrima* (Feussom *et al.*, 2020). La littérature rapporte également une réduction de la motricité des schistosomes par des composés isolés de plantes, notamment, la curcumine (De Paula Aguiar *et al.*, 2016), les alkylphénols issus de *Anacardium occidentale* (Alvarenga *et al.*, 2016), l'arctiine extraite de *Arctium lappa* (Saco *et al.*, 2017) et la primine isolée des feuilles de *Miconia willdenowii* (Viegas *et al.*, 2017). Dans notre étude, cette réduction significative de la motilité des vers après incubation en présence de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* et de la fraction au méthanol, pourrait être la conséquence de l'interférence entre ces substances et le mécanisme de contraction-relaxation des muscles lisses du schistosome (Doenhoff *et al.*, 2008). Certains composés bioactifs relevés par la phytochimie qualitative joueraient un rôle dans la réduction de motilité observée chez les vers. En effet, les flavonoïdes, bien qu'ils ne soient pas capables de tuer les vers, induiraient une réduction significative de leur activité motrice (Saeed *et al.*, 2016). Une étude a en outre révélé que certains flavonoïdes seraient des inhibiteurs sélectifs de la SmNACE, enzyme localisée sur la face externe du tégument du ver adulte et catabolisant le NAD⁺ chez *S. mansoni*. Elle est probablement impliquée dans la survie du parasite à l'intérieur de l'hôte via la perturbation des voies de régulation du système immunitaire de ce dernier (Braguine *et al.*, 2012). Dans notre étude, l'impact de l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* et de sa fraction au méthanol sur la motilité du ver adulte de *S. mansoni* était temps-dépendant, impliquant probablement une augmentation du nombre de récepteurs des canaux calciques voltage-dépendant (VOCC) et des récepteurs de la SmNACE recrutés par la fixation des composés bioactifs durant la période d'incubation.

Nous avons évalué la cytotoxicité de l'extrait aqueux et de sa fraction méthanolique sur une lignée de cellules hépatiques de mélanome de souris. Cette étude avait pour but de vérifier une éventuelle toxicité de ces substances sur des cellules de l'organisme en cas d'ingestion. A l'issue de cette étude, nous avons enregistré des CI₅₀ de 410,823 ± 32,93 µg/mL et 876,88 ± 18,14 µg/mL respectivement pour l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* et pour la fraction méthanolique. D'après le programme d'évaluation des plantes naturelles de l'Institut Américain du Cancer, un extrait est considéré comme cytotoxique *in vitro* si après incubation on obtient une CI₅₀ inférieure à 20 µg/mL (Boik, 2001). Les valeurs de CI₅₀ de l'extrait aqueux et de la fraction méthanolique sont de loin supérieures à 20 µg/mL, raison pour laquelle nous pouvons considérer ces substances comme faiblement cytotoxiques.

L'étude *in vitro* a permis d'identifier la fraction au méthanol comme étant la plus active sur les vers adultes de *Schistosoma mansoni*. Dans la suite du travail nous avons réalisé une étude *in vivo* portant sur l'administration de l'extrait aqueux et de cette fraction à des souris infestées à

S. mansoni. Le but était de vérifier si l'activité schistosomicide observée *in vitro* pourrait être reproduite *in vivo*. En effet, il serait dangereux de s'arrêter à l'étude *in vitro* et conclure à une probable activité *in vivo* car l'absorption et le métabolisme de ces substances pourraient modifier leur fonctionnalité et conduire à une activité pharmacologique différente de celle escomptée. Ainsi, les souris étaient infestées à 50 cercaires de *S. mansoni* et au 36^{ème} jour post-infestation, elles ont reçu les différents traitements pendant 28 jours. L'infection à *Schistosoma mansoni* s'accompagne généralement d'un retard de croissance chez les enfants (Assis *et al.*, 1998). Ce constat a également été fait chez des souris infestées à *S. mansoni* (Rizk *et al.*, 2012). A la fin de notre étude, tous les groupes ont présenté un gain de poids corporel y compris les souris infestées non traitées. Des résultats similaires ont été obtenus par Rizk *et al.* (2012) avec l'huile essentielle des feuilles fraîches de *Melaleuca armillaris*, ainsi que par Jatsa *et al.* (2018) avec l'extrait aqueux de *Sida pilosa*. Nos résultats suggèrent que l'extrait aqueux et sa fraction au méthanol contiendraient des composés bioactifs capables de tuer les vers de *S. mansoni* afin de limiter la perte de poids. En effet, les vers de schistosomes utilisent le glucose de l'hôte pour leur nutrition et leur métabolisme ; plongeant ainsi ce dernier dans un état d'hypoglycémie qui aboutirait à une perte de poids corporel. Par ailleurs, les schistosomes dégradent l'hémoglobine dans les hématies de l'hôte, provoquant ainsi une anémie qui peut conduire à une réduction du poids corporel (Skelly *et al.*, 1998).

L'infection à *Schistosoma mansoni* a comme conséquence une atteinte du foie et de la rate qui entraîne une augmentation du volume de ces organes : c'est l'hépatosplénomégalie. Plusieurs études ont rapporté l'hépatosplénomégalie comme une manifestation de l'infection à *S. mansoni* chez des enfants d'âge scolaire d'une part et chez des adultes d'autre part (Vennervald *et al.*, 2004 ; Wilson *et al.*, 2007). L'hépatomégalie observée chez les souris infestées est le résultat de la formation des granulomes bilharziens par stimulation des réactions inflammatoires autour des œufs de *S. mansoni* coincés dans le foie. La présence des œufs serait à l'origine de réactions inflammatoires granulomateuses chroniques qui à leur tour entraîneraient de sévères modifications fibrotiques ou une vacuolisation des hépatocytes avec comme conséquence l'augmentation du poids du foie (Kadry *et al.*, 2013 ; Dkhil, 2014). La splénomégalie quant à elle, pourrait résulter d'une congestion passive ou d'une hyperplasie du système réticulo-endothélial de la rate ou d'une vacuolisation des cellules spléniques (Dkhil *et al.*, 2013). Le traitement aussi bien à l'extrait aqueux qu'à sa fraction méthanolique a significativement réduit l'hépatosplénomégalie induite par l'infestation. Le résultat était similaire chez les souris traitées au praziquantel. Ces résultats montrent que l'extrait aqueux et la fraction au méthanol contiennent des substances capables de tuer les vers, réduisant ainsi la ponte ovulaire ; de détruire directement les œufs qui sont à l'origine

de la réaction granulomateuse ou encore d'interférer avec les mécanismes inflammatoires qui conduisent à l'hépatosplénomégalie.

L'administration de l'extrait aqueux ou de la fraction au méthanol aux souris infestées a entraîné au bout de 28 jours une réduction significative de la charge parasitaire, de la charge ovulaire fécale, de la charge ovulaire hépatique et de la charge ovulaire intestinale comparativement aux souris infestées non traitées. La réduction de la charge parasitaire est corrélée à la réduction de la charge ovulaire dans les selles et dans les tissus étant donné qu'il existe une relation directe entre la charge parasitaire et le nombre d'œufs pondus (Miranda *et al.*, 2012). La réduction de la charge ovulaire hépatique permet de justifier au moins en partie la réduction de l'hépatomégalie observée précédemment. Tous ces effets bénéfiques observés suite aux traitements à l'extrait aqueux ou à la fraction au méthanol pourraient s'expliquer par la présence, dans ces substances, de composés bioactifs tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes et les tanins. En effet, l'activité schistosomicide des alcaloïdes a été mise en évidence chez des souris infestées à *Schistosoma mansoni* (Miranda *et al.*, 2012). Ils agissent en perturbant la structure et le fonctionnement du tégument des vers de *S. mansoni* (Saeed *et al.*, 2016). Les flavonoïdes possèdent la capacité de perturber la fécondité des vers femelles de schistosomes, réduisant ainsi l'oviposition (El-Naggar, 2007). Les tanins quant à eux auraient une activité anthelminthique marquée par leur capacité à réduire la motilité et la ponte ovulaire (Hoste *et al.*, 2015). Des auteurs ont également rapporté des réductions significatives des différentes charges parasitaire et ovulaires après traitement à l'extrait méthanolique des feuilles *Ziziphus spina-christi* (Almeer *et al.*, 2018) ; ainsi qu'après l'administration de l'allicine ou du curcumin isolés respectivement de *Allium sativa* et de *Curcuma longa* (Abu Almaaty *et al.*, 2021).

Les granulomes responsables de l'hépatomégalie susmentionnée ont été mis en évidence par l'étude histomorphométrique. En effet, les coupes des foies des souris infestées non traitées présentaient de nombreux et volumineux granulomes bilharziens, ainsi que d'intenses foyers fibrotiques caractérisés par des dépôts importants de collagène. L'étude histomorphométrique a confirmé cette observation en mettant en lumière une différence significative tant sur le nombre que sur le volume des granulomes chez les souris témoins négatifs comparativement aux souris infestées puis traitées. Le phénomène classique associé à l'infection à *S. mansoni* est une réaction inflammatoire granulomateuse multicellulaire autour des œufs du parasite piégés dans les tissus (Hams *et al.*, 2013). Dans le parenchyme hépatique, la réaction inflammatoire périovulaire mise en place par le système immunitaire de l'hôte permet de protéger les hépatocytes contre les antigènes hépatotoxiques et cytolytiques sécrétés par le miracidium retrouvé à l'intérieur de l'œuf de *Schistosoma mansoni*. Ces antigènes entraînent en fait la lyse des cellules environnantes. La réaction inflammatoire est caractérisée par un recrutement intense de leucocytes, principalement

les lymphocytes T CD4+. On y retrouve également les lymphocytes B et T CD8+, les macrophages et les polynucléaires éosinophiles et neutrophiles (Hams *et al.*, 2013). Simultanément, le granulome s'enrichit en fibroblastes, en fibres réticulaires, en certaines cellules plasmatiques et en fibres de collagène qui forment une architecture concentrique à l'origine d'une fibrose (Andrade, 2009). La fibrose observée résulte ainsi d'un déséquilibre entre la fibrogénèse, processus actif de synthèse et de dépôt des constituants de la matrice extracellulaire (MEC) et la fibrolyse, processus de dégradation de ces constituants par les métalloprotéinases matricielles (Xiong *et al.*, 2003). Outre la détermination des concentrations sériques des différents types de collagène, l'analyse histologique du foie constitue la méthode directe de diagnostic de la fibrose. En effet, dans cette étude, les granulomes bilharziens ont été identifiés sur les coupes histologiques de foies de souris infestées à *S. mansoni* et non traitées après coloration à l'hématoxyline-éosine. La coloration au picrosirius quant à elle a permis de mettre en évidence la fibrose sur les coupes. Au cours de l'évolution du granulome hépatique dans l'infection à *Schistosoma mansoni* chez des souris, deux types de collagène apparaissent successivement : d'abord le collagène de type III contenant des fibres réticulaires qui est par la suite remplacé par le collagène de type I contenant des fibres de collagène (Lenzi *et al.*, 2006). La fibrose hépatique peut cependant être réversible en cas de traitement au cours de la phase aigüe de l'infection.

En effet, dans le modèle murin de la schistosomiase, plusieurs auteurs ont rapporté une régression de la fibrose après traitement durant la phase aigüe de l'infection (Xiong *et al.*, 2003, Jatsa *et al.*, 2016). Au cours de notre étude, l'observation des coupes histologiques de foie des souris infestées à *S. mansoni* puis traitées à l'extrait aqueux ou à la fraction au méthanol de *C. umbellatum* a montré que non seulement les granulomes hépatiques sont réduits en nombre et en taille ; mais également que la quantité de collagène a considérablement diminué dans les granulomes. La réduction du nombre et de la taille des granulomes bilharziens après le traitement serait une conséquence de la diminution de la charge ovulaire hépatique consécutive à la diminution de la charge parasitaire. En effet, les réductions des charges parasitaire et ovulaire hépatique des souris infestées après traitement à l'extrait aqueux et à la fraction au méthanol semblent proportionnelles à la réduction du nombre et de la taille des foyers fibrotiques. La régression de la fibrose après le traitement pourrait être la résultante d'une diminution considérable de la synthèse du collagène et/ou d'une augmentation de sa dégradation. Ainsi, l'extrait aqueux de *C. umbellatum* et sa fraction au méthanol pourraient inhiber la fibrogénèse et activer la régénération cellulaire (Andrade, 2008 ; Rajendran *et al.*, 2009). En effet, l'extrait aqueux de *C. umbellatum* et sa fraction au méthanol auraient inhibé l'activation des cellules étoilées du foie, empêchant ainsi l'installation de la fibrose. Grâce aux polyphénols qu'elle renferme *C. umbellatum* pourrait inhiber la différenciation des cellules étoilées du foie en myofibroblastes ; processus

essentiel à la production du collagène (Hessien *et al.*, 2008). Une stimulation de l'expression des ARN messagers du gène impliqué dans l'inhibition de la prolifération des cellules de Ito pourrait être une autre voie empruntée par les composés bioactifs présents dans l'extrait aqueux et la fraction au méthanol de *C. umbellatum* pour inhiber l'activation des cellules étoilées du foie et réduire ainsi la production des molécules de la matrice extracellulaire (Fu *et al.*, 2008). Nos deux substances auraient réduit la fibrose en stimulant la production de métalloprotéinases par les hépatocytes. En effet, les métalloprotéinases sont des enzymes qui dégradent différents types de collagène et l'augmentation de leur production pourrait justifier la réduction de la fibrose (Almeer *et al.*, 2018).

Les œufs embolisés dans le tissu hépatique des souris infestées à *Schistosoma mansoni* entraînent également des dommages hépatocellulaires avec comme conséquence directe la libération de certaines enzymes dans le flux sanguin. C'est le cas de l'ALAT et de l'ASAT dont les taux plasmatiques élevés enregistrés chez les souris infestées non traitées seraient le reflet de ces dommages cellulaires issus de la présence des œufs et des toxines qu'ils libèrent (Saad *et al.*, 2011). L'infection à *S. mansoni* a entraîné chez les souris parasitées non traitées une baisse de l'activité de la phosphatase alcaline (PAL). Dans le foie, la PAL est localisée dans les microvillosités des canalicules biliaires et à la surface sinusoïdale des hépatocytes (Thapa et Walia, 2007). La baisse de l'activité de la PAL serait la conséquence du dysfonctionnement du métabolisme des hépatocytes suite à l'infection à *Schistosoma mansoni*. En effet, les œufs coincés dans le foie sont à l'origine d'une série de réactions inflammatoires qui affectent le fonctionnement normal des hépatocytes, justifiant ainsi une baisse de la production de la PAL par ces derniers (Thapa et Walia, 2007). Nous avons noté au terme de notre expérimentation une réduction significative du taux de protéines totales chez les souris parasitées non traitées comparativement aux souris témoins sains. Cette réduction serait liée soit aux dommages hépatiques causés par la présence des œufs de *S. mansoni* dans le tissu hépatique ; soit à une surproduction de radicaux libres de l'oxygène (EROs) capables d'oxyder les protéines réduisant ainsi leur taux plasmatique (Favier, 2003 ; Valko *et al.*, 2007). De plus, la présence des œufs de *S. mansoni* dans l'intestin entraînerait une série de dommages tissulaires à l'origine d'une réduction de l'absorption intestinale des acides aminés avec comme conséquence une baisse de la synthèse des protéines (Rizk *et al.*, 2006).

Le traitement des souris à l'extrait aqueux et à la fraction au méthanol a permis d'évoluer vers une normalisation des activités/taux des différents marqueurs de la fonction hépatique. Ces résultats suggèrent que l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* et sa fraction au méthanol pourraient contribuer à améliorer le fonctionnement du foie en préservant l'intégrité des hépatocytes et en réparant les dommages hépatiques causés par l'infection à *Schistosoma mansoni*.

Cette action hépatoprotectrice et anti-inflammatoire serait ainsi liée à la présence, dans nos deux substances, des composés capables de tuer les vers ou de détruire les œufs d'une part et d'autre part de réduire/réparer les dommages cellulaires nécrotiques liés à la présence des œufs dans le tissu hépatique. En effet, les glycosides et les phénols présents dans l'extrait aqueux et la fraction agiraient en stimulant la synthèse des gènes responsables de la régénération cellulaire hépatique (Rajendran, 2009). Par ailleurs, certains auteurs (Saad *et al.*, 2011 ; Kadry *et al.*, 2013) ont mis en exergue les activités antioxydantes des flavonoïdes, des phénols, des saponines et des tanins ; activités qui justifieraient la réduction de l'impact négatifs des EROs libérés suite à la présence des œufs dans le foie. De plus, la réduction des charges parasitaire et ovulaire hépatique grâce à l'action combinée des alcaloïdes, des flavonoïdes et des tanins, (El-Naggar, 2007 ; Miranda *et al.*, 2012 ; Hoste *et al.*, 2015) expliquerait aussi les résultats bénéfiques enregistrés après le traitement. En effet, la réduction de la charge parasitaire est généralement suivie d'une réduction de la charge ovulaire hépatique. Le nombre d'œufs étant réduit, les dommages tissulaires et la production des EROs sont également réduits. Dans le cas des protéines plasmatiques, l'augmentation de leur taux après le traitement pourrait, outre la réduction des dommages cellulaires, être lié à la présence dans l'extrait aqueux et la fraction des protéines tel que révélé par la phytochimie quantitative. De même, la réduction de la charge ovulaire intestinale après le traitement pourrait expliquer en partie l'augmentation du taux de protéines. En effet, l'hypoprotéïnémie a été en partie attribuée aux dommages tissulaires intestinaux liés à la présence des œufs ; dommages qui perturbent l'absorption intestinale des acides aminés (Rizk *et al.*, 2006).

L'embolisation des œufs de *S. mansoni* dans le foie et les autres tissus conduit à un syndrome sévère incluant l'inflammation. Au niveau des foyers inflammatoires il y a une abondante production des espèces réactives oxygénées (EROs) par les cellules inflammatoires qui entourent les œufs (Rizk *et al.*, 2006 ; El-Shenawy *et al.*, 2008). Ces EROs seront à l'origine de la peroxydation lipidique qui va libérer des produits toxiques tels que le malondialdéhyde (Saad *et al.*, 2011). Par ailleurs, l'infection à *S. mansoni* affaiblit les défenses antioxydantes de l'hôte via la diminution des niveaux hépatiques de la catalase et du glutathion réduit (GSH) (El-Rigal *et al.*, 2011 ; Dkhil, 2014). Dans la présente étude, nous avons enregistré chez les souris infectées non traitées comparativement aux souris témoins sains, une augmentation de la concentration hépatique de malondialdéhyde, une réduction de l'activité de la catalase et de la concentration du glutathion réduit dans le foie. La diminution de la concentration de glutathion réduit résulterait d'une surproduction des radicaux libres et d'une augmentation du potentiel cytotoxique du peroxyde d'hydrogène consécutive à l'inhibition de l'activité de la glutathion peroxydase (El-Shenawy *et al.*, 2008 ; El-Rigal *et al.*, 2011 ; Dkhil, 2014). La réduction de l'activité de la catalase serait liée soit à une surproduction de peroxyde d'hydrogène au niveau des foyers inflammatoires

granulomateux, soit à une inactivation des radicaux superoxydes aboutissant à la glycation de cette enzyme (Rizk *et al.*, 2006 ; Dkhil, 2014).

L'administration de l'extrait aqueux, de la fraction au méthanol et du praziquantel aux souris infestées a entraîné une diminution de la concentration de malondialdéhyde et une augmentation de l'activité de la catalase et de la concentration du glutathion réduit. Ceci suggère l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* et sa fraction au méthanol seraient capables de piéger les radicaux libres, de stimuler la production des enzymes antioxydantes ou de catalyser l'action des enzymes antioxydantes. En effet, le glutathion réduit joue un rôle important dans la défense antioxydante de façon directe à travers le piégeage des radicaux libres et de façon indirecte en tant que cofacteur d'autres enzymes antioxydantes. Compte tenu de ces rôles du glutathion réduit, l'augmentation de sa concentration après l'administration de l'extrait aqueux ou de la fraction au méthanol permettrait d'expliquer, au moins en partie, la réduction de la concentration de malondialdéhyde et l'augmentation de l'activité de la catalase. Nos deux substances pourraient protéger le foie du stress oxydant en piégeant les radicaux hydroxyles et peroxydes (El-Shenawy *et al.*, 2008). La phytochimie qualitative a révélé la présence des composés dotés d'activités antioxydantes : les flavonoïdes, les phénols, les saponines et les tanins. Les flavonoïdes ont la capacité de piéger les radicaux libres et de protéger les membranes cellulaires (El-Sawy et Sleem, 2010). En effet, ils chélatent les ions ferreux (Fe^{2+}), empêchant ainsi la production des radicaux hydroxyles ($\cdot OH$) via la réaction de Fenton ; ce qui leur permet de limiter la peroxydation lipidique (Vertuani *et al.*, 2004 ; Cillard et Cillard, 2006). Les polyphénols quant à eux ont la capacité de protéger contre le stress oxydant en piégeant l'anion superoxyde et certains métaux de transition (Vertuani *et al.*, 2004, Han *et al.*, 2007 ; Saad *et al.*, 2011). De plus, les polyphénols sont des donneurs d'hydrogène ou d'électrons et ont la capacité de stabiliser ou délocaliser les électrons non appariés. Par les actions suscitées, les polyphénols empêchent la formation des EROs et contribuent à limiter la peroxydation lipidique. Toutes les propriétés antioxydantes exhibées par les composés présents aussi bien dans l'extrait aqueux que dans la fraction au méthanol, justifieraient les résultats bénéfiques observés et renseignent sur le caractère hépatoprotecteur de ces deux substances.

L'activité antioxydante exhibée *in vivo* a également été observée durant l'étude de l'activité antioxydante *in vitro* de l'extrait aqueux et de sa fraction au méthanol. En effet, ces deux substances ont montré une capacité à inhiber les radicaux libres 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). L'extrait aqueux avait un potentiel antioxydant *in vitro* supérieur à celui de sa fraction méthanolique. Cette activité *in vitro* plus importante de l'extrait aqueux pourrait être due au fait qu'il contient des composés chélateurs en plus grande proportion que la fraction méthanolique. Effectivement, l'étude quantitative *in vitro* a révélé que les teneurs de polyphénols et flavonoïdes de l'extrait aqueux étaient supérieures à celles de la fraction méthanolique. Shah *et al* (2013) ont

montré *in vitro* qu'il existe une corrélation positive entre la concentration en polyphénols totaux et le potentiel antioxydant. Ceci milite en faveur du rôle des polyphénols dans l'activité antioxydante observée chez l'extrait aqueux et la fraction au méthanol aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*.

En théorie, l'activité exhibée par une mixture comme un extrait aqueux peut être due à la somme des activités de ses constituants pris individuellement. Ainsi, le fractionnement, qui conduit à l'isolation de ces composés individuels, pourrait produire des fractions ayant une activité supérieure à celle de l'extrait brut. Cette approche constitue la base de la découverte de composés nouveaux à partir des plantes naturelles (Houghton *et al.*, 2007). Sur les vers adultes de schistosomes, la fraction avait une DL₅₀ inférieure à celle de l'extrait aqueux et a entraîné des réductions de la motilité supérieures à celles de l'extrait aqueux ; ce qui expliquerait un taux de réduction de la charge parasitaire *in vivo* plus important après le traitement à la fraction méthanolique. Lors de l'étude *in vivo* chez des souris infestées à *Schistosoma mansoni*, la fraction a présenté des résultats semblables à ceux de l'extrait aqueux sur plusieurs paramètres évalués notamment le poids relatif de la rate, les charges ovulaires fécale, hépatique et intestinale, le nombre des granulomes bilharziens. L'extrait aqueux a présenté de meilleurs résultats sur la fonction hépatique et le volume des granulomes bilharziens, tandis que la fraction méthanolique était plus efficace contre le stress oxydant. Concernant la phytochimie qualitative, les deux substances avaient la même composition. La phytochimie quantitative a révélé que les teneurs des composés quantifiés notamment les flavonoïdes, les polyphénols, les protéines et les tannins de l'extrait aqueux étaient supérieures à celles de la fraction méthanolique ; ce qui justifierait que l'activité antioxydante *in vitro* de l'extrait aqueux soit supérieure à celle de la fraction méthanolique. De manière générale, la fraction a présenté les meilleurs résultats à la dose de 400 mg/kg. Quant à l'extrait aqueux, la dose de 100 mg/kg était celle ayant présenté les activités les plus significatives.

Fort de ces résultats, nous avons réalisé une étude toxicologique de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum*. En effet, quelle que soit la substance en contact avec l'organisme humain, il existe une dose pouvant causer un effet nocif. Pour ce faire, nous avons étudié la toxicité orale aiguë et la toxicité orale à doses répétées de 28 jours. A l'issue de l'étude de la toxicité aiguë, la dose de 2000 mg/kg n'a entraîné aucune mortalité durant les 14 jours d'expérimentation. Ceci nous a permis de conclure que la dose létale 50 de l'extrait aqueux serait supérieure à 2000 mg/kg. Ainsi l'extrait aqueux a été classé, conformément au Système de classification Globalement Harmonisé (SGH), dans la catégorie 5 correspondant aux substances relativement non toxiques (OCDE, 2001). L'étude de la toxicité de divers extraits aqueux, éthanolique, hydroéthanolique, acétique de quelques plantes du genre *Clerodendrum*, notamment

Clerodendrum infortunatum (Das *et al.*, 2011), *Clerodendrum inerme* (Bhushan *et al.*, 2014) et *Clerodendrum capitatum* (Idoh *et al.*, 2016) a permis de constater que plusieurs espèces du genre *Clerodendrum* sont relativement non toxiques et rangées dans la catégorie 5 du SGH.

Durant l'étude de la toxicité orale à doses répétées de 28 jours, à toutes les doses de l'extrait aqueux (200, 400 et 800 mg/kg), aussi bien chez les souris mâles que chez les souris femelles, nous n'avons pas enregistré de mortalité. La dose de 200 mg/kg est celle à laquelle aucun effet adverse n'a été observé aussi bien chez les souris mâles que chez les femelles. La variation du poids corporel est le premier signe de toxicité chez les animaux et un important indicateur des effets néfastes des médicaments et des produits chimiques (Cho *et al.*, 2016). Dans notre étude, les différences entre les poids corporels des souris des groupes essais et satellites et leurs témoins respectifs n'étaient pas significatives. Le poids relatif d'un organe est un indice important pour vérifier si cet organe a subi un dommage. Ainsi, si des souris sont exposées à des substances toxiques, le poids des organes endommagés pourrait augmenter ou diminuer (Rosidah *et al.*, 2009 ; Idoh *et al.*, 2016). Nos résultats ont montré que l'administration répétée de l'extrait aqueux n'a pas eu d'effets secondaires significatifs sur le poids relatif des organes vitaux.

Le système hématopoïétique étant l'une des cibles les plus sensibles aux composés toxiques, il est un important index du statut physiologique et pathologique chez l'Homme et l'animal (Mukinda et Syce, 2007). Dans cette étude, après 28 jours d'administration, l'extrait aqueux n'a modifié ni le nombre de globules rouges ni la concentration d'hémoglobine ni l'hématocrite ; suggérant qu'il n'affecte pas l'oxygénation et ne cause pas l'anémie (Atsafack *et al.* 2015). Nous n'avons pas enregistré de différence significative du nombre total de globules blancs et des espèces leucocytaires entre les groupes essais et satellites et leurs témoins respectifs. Ces résultats indiquent que l'extrait aqueux des feuilles de *C. umbellatum* n'interfère pas avec le système immunitaire.

Les taux des enzymes hépatiques sont généralement utilisés pour évaluer l'impact de substances toxiques sur le foie. Les transaminases sont des enzymes retrouvées principalement dans le cytoplasme et sont importantes pour l'évaluation de la fonction hépatique. Une élévation de leur taux sérique indique une altération de l'intégrité de la membrane, une lyse cellulaire ou une mort cellulaire (Idoh *et al.*, 2016 ; Njoya *et al.*, 2018). Nous avons enregistré une augmentation significative des taux sériques d'ALAT et d'ASAT chez les souris mâles traitées à l'extrait aqueux à la dose de 400 mg/kg et une augmentation significative du taux sérique d'ASAT chez les souris femelles traitées à l'extrait aqueux à la dose de 800 mg/kg ; traduisant des dommages tissulaires hépatiques. Ces observations ont été confirmées sur les coupes histologiques de foie de ces souris dans lesquelles des infiltrations de cellules inflammatoires ont été relevées. En dehors de cette anomalie, la structure du foie desdites souris était proche de celle des souris témoins. Outre

l'activité des transaminases, les protéines totales sériques sont le reflet du fonctionnement du foie (Fonseca *et al.*, 2018). Les résultats de notre étude révèlent que la prise répétée de l'extrait aqueux de feuilles de *C. umbellatum* n'altère pas la concentration de protéines totales. Ceci suggère que l'extrait ne promeut pas les altérations hépatiques sévères compte tenu du fait que la fonction de synthèse du foie demeure intacte.

Concernant le profil lipidique, nous n'avons pas observé de changement significatif des niveaux de cholestérol total dans tous les groupes essais et satellites. Lorsque le LDL-cholestérol circule dans le flux sanguin, il peut se déposer dans la paroi interne des artères, entraînant la formation de plaques qui conduisent progressivement à l'artériosclérose. À l'opposé, le HDL-cholestérol tend à transporter le cholestérol des artères vers le foie. Ainsi, l'augmentation du taux de HDL-cholestérol protège contre les maladies cardiovasculaires (Andersen *et al.*, 2013). Au regard de ce qui précède, notre extrait pourrait avoir des effets bénéfiques en réduisant les facteurs de risque cardiovasculaire.

La créatinine est un biomarqueur de la fonction rénale. Lorsque la fonction de filtration rénale est endommagée, on observe une augmentation de la concentration sérique de la créatinine (Atsafack *et al.* 2015 ; Idoh *et al.*, 2016). Dans la présente étude, nous avons enregistré une augmentation significative de la concentration de la créatinine chez les souris mâles traitées à la dose de 800 mg/kg. L'analyse des coupes histologiques des reins des souris de ce groupe a révélé une atrophie glomérulaire et des clarifications tubulaires. Toutefois, ces altérations rénales étaient réversibles 14 jours après l'arrêt de l'administration de l'extrait.

CONCLUSION ^{ET} PERSPECTIVES

L'objectif de la présente étude était d'évaluer les activités schistosomicide, antioxydante et anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* Poir. (Labiatae) et de ses fractions chez la souris BALB/c infestée à *Schistosoma mansoni*. A l'issue de cette étude nous retenons que :

➤ L'extrait aqueux et sa fraction méthanolique ont présenté les meilleures activités *in vitro* entraînant une importante mortalité et une réduction considérable de la motilité des vers adultes de *Schistosoma mansoni*. De plus les deux substances étaient faiblement cytotoxiques ;

➤ L'étude *in vivo* réalisée sur des souris infestées aux cercaires de *Schistosoma mansoni* a montré que l'extrait aqueux et sa fraction méthanolique ont une activité schistosomicide qui se traduit par une importante réduction dose-dépendante de la charge parasitaire et des charges ovulaires fécale, hépatique et intestinale ;

➤ L'extrait aqueux et sa fraction méthanolique ont un potentiel antioxydant qui s'est manifesté *in vivo* par une réduction de la concentration du malondialdéhyde et l'augmentation de l'activité de la catalase et de la concentration du glutathion réduit. *In vitro*, ce potentiel antioxydant s'est exprimé à travers la séquestration des radicaux libres DPPH ;

➤ L'administration de l'extrait aqueux et de la fraction méthanolique aux souris infestées a contrecarré l'impact négatif de l'inflammation liée à l'infection à *Schistosoma mansoni* en régulant l'activité des transaminases et de la phosphatase alcaline, en réduisant le nombre et le volume des granulomes bilharziens hépatiques, et en réduisant la densité des fibres de collagène;

➤ L'investigation du potentiel toxique de l'extrait aqueux a révélé qu'en administration aiguë, il peut être rangé dans la catégorie des plantes relativement non toxiques car il ne cause aucune mortalité à la dose de 2000 mg/kg. En administration répétée de 28 jours, l'extrait aqueux ne cause aucune mortalité, n'impacte pas le poids corporel et le poids relatif des organes vitaux, n'interfère pas avec le système hématopoïétique et n'a pas un impact sévère sur le foie. Les altérations hépatiques et rénales enregistrées étaient réversibles après l'arrêt de l'administration de l'extrait.

Notre étude a montré que l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* et sa fraction méthanolique possèdent des activités schistosomicide, hépatoprotectrice, antioxydante et anti-inflammatoire contre l'infection à *Schistosoma mansoni*. Ces activités sont probablement dues à la présence dans ces substances de composés bioactifs tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les phénols et les tannins identifiés lors de l'étude phytochimique. Bien que l'extrait aqueux et sa fraction méthanolique aient présenté des activités pharmacologiques assez proches, nous pouvons considérer l'extrait aqueux à la dose de 100 mg/kg comme étant plus efficace. Nos résultats militent en faveur de l'utilisation de l'extrait aqueux par les populations locales dans le traitement de la schistosomiase à *Schistosoma mansoni* d'une part et en faveur de l'utilisation de la fraction

méthanolique comme point de départ pour le développement de molécules alternatives et/ou complémentaires au praziquantel d'autre part.

Dans nos prochaines investigations nous envisageons :

- de vulgariser nos résultats auprès des populations en zones endémiques à *Schistosoma mansoni* afin de les inciter à consommer l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* qui sera ultérieurement standardisé sous la forme d'un médicament traditionnel amélioré;
- d'évaluer les activités schistosomicide, antiinflammatoire, antioxydante, antifibrotique et immunomodulatrice de l'extrait aqueux des feuilles de *Clerodendrum umbellatum* en combinaison thérapeutique avec le praziquantel;
- de rechercher, à l'aide des techniques phytochimiques, les composés responsables des effets bénéfiques de la fraction méthanolique, puis les isoler et les tester *in vitro* et *in vivo* sur les espèces de schistosomiase humaine.

REFERENCES

- Abu Almaaty A.H., Rashed H.A.E., Soliman M.F.M., Fayad E., Althobaiti F., El-Shenawy N.S.** (2021). Parasitological and biochemical efficacy of the active ingredients of *Allium sativum* and *Curcuma longa* in *Schistosoma mansoni* infected mice. *Molecules*, 26 :1-15.
- Abdulla M-H, Ruelas D.S., Wolff B., Snedecor J., Lim K-C, Xu F., Renslo A.R., Williams J., McKerrow J.H., Caffrey C.R.** (2009). Drug discovery for Schistosomiasis: hit and lead compounds identified in a library of known drugs by medium-throughput phenotypic screening. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 3 (7):1-14.
- Adjanohoun J.E., Aboubakar N., Dramane K., Ebot M.E., Ekpere J.A., Enow-Orock E.G., Focho D., Gbile Z.O., Kamanyi A., Kamsu Kom J., Keita A., Mbenkum T., Mbi C.N., Mbiele A.L., Mbome L.L., Mubiru N.K., Naney W.L., Nkongmeneck B., Satabie B., Sofowora A., Tamze V., Wirmum C.K.** (1996). Traditional medicine and pharmacopoeia: Contribution to ethnobotanical and floristic studies in Cameroon. CNPMS Yaoundé, 641p.
- Ahsan H., Ali A., Ali R.** (2003). Oxygen free radicals and systemic autoimmunity. *Clinical and Experimental Immunology*, 131: 398-404.
- Allam G.** (2009). Immunomodulatory effects of curcumin treatment on murine *Schistosomiasis mansoni*. *Immunobiology*, 214:712-27.
- Almeer R.S., El-Khadragy M.F., Abdelhabib S., Abdel Moneim A.E.** (2018). *Ziziphus spinachristi* leaf extract ameliorates schistosomiasis liver granuloma, fibrosis, and oxidative stress through downregulation of fibrinogenic signaling in mice. *Public Library of Science ONE*, 13(10): 1-23.
- Alvarenga T.A., De Oliveira F., De Souza J.M., Tavares D.C., Andrade e Silva M.L., Cunha W.R., Groppo M., Januário A.H., Magalhães L.G., Pauletti P.M.** (2016). Schistosomicidal activity of alkyl-phenol from the cashew *Anacardium occidentale* against *Schistosoma mansoni* adult worms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64: 8821-8827.
- Amaral K.B., Silva T.P., Dias F.F., Malta K.K., Rosa F.M., Costa-Neto S.F., Gentile R., Melo R.C.N.** (2017). Histological assessment of granulomas in natural and experimental *Schistosoma mansoni* infections using whole slide imaging. *Public Library of Science ONE*, 12(9) :1-20.
- ANAES** (2003). Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé. Indications des examens de selles chez l'adulte. *Gastroenterology Clinical Biology*, 27 : 627-642.
- Andersen C., Schjoldager J.G., Trotzen C.G., Vegge A., Hufeldt M.R., Skaanild M.T., Vogensen F.K., Kristiansen K., Hansen A.K., Nielsen J.** (2013) 2-Heptylformononetin increases cholesterol and induces hepatic steatosis in mice. *BioMed Research International*, 13: 1-13.
- Andrade Z.** (2008). Schistosomiasis and hepatic fibrosis regression. *Acta Tropica*, 108:79-82.
- Andrade Z.** (2009). Schistosomiasis and liver fibrosis. *Parasite Immunology*, 31: 656-663.
- APG IV** (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181:1-20.
- Aslantürk O.S.** (2018). *In vitro* cytotoxicity and cell viability assays: Principles, Advantages, and Disadvantages. *IntechOpen*, 1: 1-18.
- Assis A.M.O., Barreto M.L., Prado M.S., Reis M.G., Parraga I.M., Blanton R.E.** (1998). *Schistosoma mansoni* infection and nutritional status in schoolchildren: a randomized, double-blind trial in northeastern Brazil. *American Journal of Clinical Nutrition*, 68:1247-53.

- Atsafack S.S., Kuate J-R., Mouokeu R.S., Mogtomo M.L.K., Tchinda A.T., Tamokou J.D.D., Magnifouet Nana H., Ebelle Etame R.M., Biyiti L., Ngonon Ngane R.A.** (2015). Toxicological studies of stem bark extract from *Schefflera barteri* Harms (Araliaceae). *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15 : 44-52.
- Aubry P., Gaüzère B-A.** (2019). Schistosomoses ou bilharzioses. Actualités 2019. www.medecinetropicale.com. Mise à jour le 20/12/2019.
- Ayoola G.A., Coker H.A.B., Adesegun S.A., Adepoju-Bello A.A., Obaweya1 K., Ezennia E.C., Atangbayila T.O.** (2008). Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(3): 1019-1024.
- Bainbridge Z., Tomlins K., Westby A.** (1996). Methods for assessing quality characteristics of non-grain starch staples. (Part 3. Laboratory methods). Natural Resources Institute, Chatham, Kent, UK.
- Barbarino E., Lourenço S.O.** (2005). An evaluation of methods for extraction and quantification of protein from marine macro- and microalgae. *Journal of Applied Phycology*, 17: 447-460.
- Barrett J.** (2009). Forty years of helminth biochemistry. *Parasitology*, 136: 1633-42.
- Bartels H., Bohmer M., Heierli C.** (1972). Serum creatinine without protein precipitation. *Clinica Chimica Acta*, 37:193-197.
- Bekalo T.H., Woodmatas S.D., Woldemariam Z.A.** (2009). An ethnobotanical study of medicinal plants used by local people in the lowlands of Konta Special Woreda, southern nations, nationalities and peoples regional state, Ethiopia. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 5(26): 1-15.
- Bhushan B., Sardana S., Bansal G.** (2014). Acute and subacute toxicity study of *Clerodendrum inerme*, *Jasminum mesnyi* Hance and *Callistemon citrinus*. *Journal of Acute Diseases*, 3 :324-327.
- Bismuth C., Garnier F. B., Jaegar A.** (2002). Toxicologie Clinique. Paris, Flammarion, 1092p.
- Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V.** (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A Review. *Annals of Botany*, 91: 179-194.
- Boik J.** (2001). Natural Compounds in Cancer Therapy. *Oregon Medical Press*, Princeton, Minnesota, USA. 521pp. ISBN 0-9648280-1-4.
- Bonnard P., Kalach N., Cadranel J.F., Remoué F., Riveau G., Capron A.** (2000). Manifestations digestives et hépatiques de la bilharziose. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, 24 : 409-419.
- Bonnefont-Rousselot D., Peynet J., Beaudoux J. L., Thérond P., Legrand A., Delattre J.** (2002). Stress oxydant, fonctions vasculaires et athérosclérose. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 16 : 260-267.
- Booth M., Vounatsou P., N’Goran E.K., Tanner M., Utzinger J.** (2003). The influence of sampling effort and the performance of the Kato-Katz technique in diagnosing *Schistosoma mansoni* and hookworm co-infections in rural Côte d’Ivoire. *Parasitology*, 127: 525-531.
- Braguine C.G., Bertanha C.S., Gonçalves U.O., Magalhães L.G., Rodrigues V., Melleiro Gimenez V.M., Gropo M., Andrade e Silva M.L., Cunha W.R., Januário A.H., Pauletti P.M.** (2012) Schistosomicidal evaluation of flavonoids from two species of *Styrax* against *Schistosoma mansoni* adult worms. *Pharmaceutical Biology*, 50 : 925-929.

- Carip C.** (2014). Physiopathologie. Bases physiopathologiques de la diététique 3^e édition. Lavoisier, France, 445p.
- Catarino L., Havik P.J., Romeiras M.M.** (2016). Medicinal plants of Guinea-Bissau: Therapeutic applications, ethnic diversity and knowledge transfer. *Journal of Ethnopharmacology*, 183: 71-94.
- Cheever A.W.** (1968). Conditions affecting the accuracy of potassium hydroxide digestion techniques for counting *Schistosoma mansoni* eggs in tissues. *Bulletin of the World Health Organization*, 39: 328-331.
- Chitsulo L., Engels D., Montresor A., Savioli L.** (2000). The global status of schistosomiasis and its control. *Acta Tropica*, 77: 41-51.
- Cho M., Shin G-H., Kim J-M., Lee J-H., Park S-O., Lee S-J., Shin H., Lee B-Y., Kang I-J., Lee O-H.** (2016). Acute and subchronic (13-week) toxicity of fermented *Acanthopanax koreanum* extracts in Sprague Dawley rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 77: 93-99.
- Chu W.L., Lim Y.W., Radhakrishnan A.K., Lim P.E.** (2010). Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10 (53): 2-8.
- Chuah C., Jones M.K., Burke M.L., McManus D.P., Gobert G.N.** (2014). Cellular and chemokine-mediated regulation in schistosome-induced hepatic pathology. *Trends in Parasitology*, 3 : 141-150.
- Cillard J., Cillard P.** (2006). Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *OCL - Oilseeds and fats, Crops and Lipids*, 13 : 24-29.
- Cioli D., Botros S.S., Wheatcroft-Francklow K., Mbaye A., Southgate V., Tchuenté L.T, Pica-Mattocchia L., Troiani A.R., El-Din S.H.S., Sabra A.A., Albin J., Engels D., Doenhoff M.J.** (2004). Determination of ED₅₀ values of praziquantel in praziquantel-resistant and susceptible *Schistosoma mansoni* isolates. *International Journal for Parasitology*, 34 (8) : 979-987.
- Claverie I., Hedde H.** (2018). Pharmacologie générale toxicologie, Mécanisme fondamentaux. Edition porphyre, 3^{ème} édition, 114p.
- Coelho P.M.Z, Andrade Z.A., da Cunha Borges C.M., Ribeiro F., Barbosa L.** (2008). Migração e desenvolvimento de *Schistosoma mansoni* no hospedeiro intermediário. In: *Schistosoma mansoni & esquistossomose. Uma visão multidisciplinar*. 1^a edição. Edited by Carvalho OS, Coelho PMZ, Lenzi HL. Rio de Janeiro: Fiocruz ,147-160.
- Cohen J.H., Kristal A.R., Stanford J.L.** (2000). Fruit and vegetable intakes and prostate cancer risk. *Journal of the National Cancer Institute*, 92: 61-68.
- Colley D.G., Binder S., Campbell C. et al.** (2013). A five-country evaluation of a point-of-care circulating cathodic antigen urine assay for the prevalence of *Schistosoma mansoni*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 88: 426-432.
- Colley D.G., Bustinduy A.L., Secor W.E, King C.H.** (2014). Human schistosomiasis. Seminar. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61949-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61949-2).
- Collins J.J. III, King R.S., Cogswell A., Williams D.L., Newmark P.A.** (2011). An atlas for *Schistosoma mansoni* organs and life-cycle stages using cell type-specific markers and confocal microscopy. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 5 (3):1-17.

- Cringoli G., Maurelli M.P., Levecke B., Bosco A., Vercruyse J., Utzinger J., Rinaldi L.** (2017). The Mini-FLOTAC technique for the diagnosis of helminth and protozoan infections in humans and animals. *Nature Protocols*, 12 (9):1723-1732.
- Cunha G.M., Silva V.M., Bessa K.D., Bitencourt M.A., Macêdo U.B., Freire-Neto F.P., Assis C.F., Martins R.R., Lemos T.M., Freire A.C., Almeida M.G.** (2012). Levels of oxidative stress markers: correlation with hepatic function and worm burden patients with schistosomiasis. *Acta Parasitologica*, 57:160-166.
- Das S., Bhattacharya S., Biswas M., Kar B., Kumar R.B.S., Pramanik G., Haldar P.K.** (2011). Acute and sub-chronic toxicity study of *Clerodendron infortunatum* leaf in adult male albino mice. *American-Eurasian Journal of Scientific Research*, 6:188-191.
- Davis A.** (2009). Schistosomiasis. In Manson's Tropical Diseases. 22nd Ed, Chapter 82, pages 1425-1460. Saunders Elsevier.
- De Melo N.I., Magalhães L.G., De Carvalho C.E., Wakabayashi K.A.L., Aguiar G., Ramos R.C., Mantovani A.L.L., Turatti I.C.C., Rodrigues V., Groppo M., Cunha W.R., Veneziani R.C.S., Crotti A.E.M.** (2011) Schistosomicidal activity of the essential oil of *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae) against adult *Schistosoma mansoni* worms. *Molecules*, 16:762-773.
- De Moraes J.** (2015). Natural products with antischistosomal activity. *Future Medical Chemistry*, 7(6):801-820.
- De Mota L.S., de Almeida F.C., Teixeira R.D.L., de Silva S.F., de Mesquita L.S.U., Soares A.M.** (2014). Ectopic cutaneous schistosomiasis - Case report. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 89(4):646-648.
- Delattre J., Beaudoux J.L., Bonnefont-Rousselot D.** (2005). Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris, 1- 405.
- De Paula Aguiar D., Brunetto Moreira Moscardini M., Rezende Morais E., Graciano de Paula R., Ferreira P.M., Afonso A., Belo S., Tomie Ouchida A., Curti C., Cunha W.R., Rodrigues V., Guidi Magalhães L.G.** (2016). Curcumin generates oxidative stress and induces apoptosis in adult *Schistosoma mansoni* worms. *Public Library of Science ONE*, 11(11) : 1-25.
- Dkhil M.A., Al-Khalifa M.S., Al-Quraishy S.** (2013). Role of berberine on schistosomiasis-induced oxidative stress and damage in spleen of mice. *Life Science Journal*, 10(4): 135-139.
- Dkhil M.A.** (2014). Role of berberine in ameliorating *Schistosoma mansoni*-induced hepatic injury in mice. *Biological Research*, 47(8):1-7.
- Doenhoff M.J., Cioli D., Utzinger J.** (2008). Praziquantel: mechanisms of action, resistance and new derivatives for schistosomiasis. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 21 (6): 659-667.
- Duwall R.H., Dewitt W.B.** (1967). An improved perfusion technique for recovering adult schistosomes from laboratory animals. *American Journal of Parasitology*, 7: 293-297.
- Ellman G.L.** (1959). Tissue sulfhydryl group. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82: 70-77.
- El-Naggar D.M.** (2007). Anthibilharzial study of some extracts from *Citharexylum quadrangular* Jacq. Ph D. thesis, Fac. Pharm. Girls, Al-Azhar Univ. 203p.
- El-Rigal N., Metwally M.N., Mohamed A.M., Mohamed N.Z., Rizk Z.M.** (2011). Protection against oxidative damage induced by *Schistosoma mansoni* using Susceptible/Resistant

Nucleoproteins from *Biomphalaria alexandrina* snails. *Asian Journal of Biological Sciences*, 4: 445-456.

El-Sakkary N. (2017). A study of the *Schistosoma mansoni* nervous system: Characterization of catecholamine and phenolamine signaling. A thesis submitted to McGill University in partial fulfilment of the requirements of the degree Doctorate of Philosophy. Montreal, Quebec, Canada, 220p.

El-Sawy S.A., Sleem A.A. (2010). Flavonoids and hepatoprotective activity of leaves of *Senna surattensis* (burm.f.) in CCl₄ induced hepatotoxicity in rats. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 4: 1326-1334.

El-Shenawy N.S., Soliman M.F.M., Reyad S.I. (2008). The effect of antioxidant properties of aqueous garlic extract and *Nigella sativa* as anti-schistosomiasis agents in mice. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 50:29-36.

Endriss Y., Escher E., Rohr B., Rohr H., Weiss N. (2005). KATO-Katz technique for helminth eggs. In: *Methods in Parasitology*. Swiss Tropical Institute, Basel, 9p.

Evans W.J. (2000). Vitamin E, vitamin C and exercise. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72: 647-652.

FAO/WHO (2000). Food additive, guidelines for the preparation of toxicological working papers for the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Genève.

Favier A. (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, 108-115.

Feussom N.G., Jatsa H.B., Kenfack M.C., Nkondo E.T., Femoe U.M., Fassi J.B.K., Tsague C.D., Dongo E., Dzeufiet D.D., Tchuem Tchuente L.A. (2020). *In vitro* Activity of *Ozoroa pulcherrima* Schweinf. extracts, fractions on *Schistosoma mansoni* cercariae, adult worms. *European Journal of Medicinal Plants*, 31(8):17-30.

Figliuolo da Paz V.R., Figueiredo-Vanzan D., dos Santos Pyrrho A. (2019). Interaction and involvement of cellular adhesion molecules in the pathogenesis of *Schistosomiasis mansoni*. *Immunology Letters*, 206 :11-18.

Fonseca A.G., Dantas L.L.S.F.R., Fernandes J.M., Zucolotto S.M., Lima A.A.N., Soares L.A.L. (2018). *In vivo* and *in vitro* toxicity evaluation of hydroethanolic extract of *Kalanchoe brasiliensis* (Crassulaceae) leaves. *Journal of Toxicology*, doi:10.1155/2018/6849765.

Foti M. (2016). Mécanismes moléculaires de la cancérogénèse hépatique. *Annales d'Endocrinologie*, 77(4) :241-247.

Franco N.H. (2013). Animal Experiments in Biomedical Research: A Historical Perspective. *Animals*, 3(1) :238-273.

Fu Y., Zheng S., Lin J., Ryerse J., Chen A. (2008). Curcumin protects the rat liver from CCl₄-caused injury and fibrogenesis by attenuating oxidative stress and suppressing inflammation. *Molecular Pharmacology*, 73: 399-409.

Fukushige M., Chase-Topping M., Woolhouse M.E.J., Mutapi F. (2021). Efficacy of praziquantel has been maintained over four decades (from 1977 to 2018): A systematic review and meta-analysis of factors influence its efficacy. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 15(3) :1-19.

- Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z., Jore D.** (2003). Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? *L'actualité chimique*, 91-96.
- Gégot S., Joubert O.** (2021). Le futur des expérimentations en toxicologie. *Environnement, Risques & Santé*, 20 (5) : 457-465.
- Gornal A., Bardwil G.S., David M.M.** (1949). Determination of serum proteins by the mean of the biuret reactions. *Biochemistry*, 177: 751-766.
- Greenberg R.M.** (2005). Ca²⁺ signaling, voltage-gated Ca²⁺ channels and praziquantel in flatworm neuromusculature. *Parasitology*, 131: 97-108.
- Greenberg R.M.** (2013). New approaches for understanding mechanisms of drug resistance in schistosomes. *Parasitology*, 140(12): 1534-1546.
- Gryseels B., Polman K., Clerinx J., Kestens L.** (2006). Human schistosomiasis. *The Lancet*, 368 (9541): 1106-1118.
- Gülçin I., Mshvildadze V., Gepdiremen A., Elias R.** (2006). The antioxidant activity of a triterpenoid glycoside isolated from the berries of *Hedera colchica*: 3-O-(β-D glucopyranosyl) - hederagenin. *Phytotherapy Research*, 20:130-134.
- Gülçin I., Huyut Z., Elmastas M., Aboul-Enein H.Y.** (2010). Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry*, 3: 43-53.
- Guzik T.J., Korbust R., Adamek-Guzik T.** (2003). Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 54 (4): 469-487.
- Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C., Chapelle J.P.** (2007). Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège*, 62(10) : 628-638.
- Hall J.E.** (2011). Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. Twelfth edition. *Saunders Elsevier USA*, 1112p.
- Halton D.W., Maule A.G.** (2004) Flatworm nerve-muscle: structural and functional analysis. *Canadian Journal of Zoology* 82 (2): 316-333.
- Hamilton M.A., Russo R.C., Thurston R.V.** (1977) Trimmed Spearman-Kärber Method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environmental Science & Technology*, 11:714-719.
- Hams E., Aviello G., Fallon P.G.** (2013). The Schistosoma granuloma: friend or foe? *Frontiers in Immunology*, 4:1-8.
- Han X., Shen T., Lou H.** (2007). Dietary polyphenols and their biological significance. *International Journal of Molecular Sciences*, 8 : 950-988.
- Hanslik T, Flahault A.** (2013). Urologie, Néphrologie. *Collège National des Enseignants de Médecine Interne, UMVF - Université Médicale Virtuelle Francophone*, 18p.
- Harfelach T., Bacher U., Theml H., Diem H.** (2013). Atlas de poche Hématologie. *Médecine Sciences Publications*, 3^e édition, 256p.
- HAS** (2007). Haute Autorité de Santé : Bilharziose compliquée. Guide-affection de longue durée, 15p.

- Hessien M., El Sharkawi I., El Barbary A.** (2008). Regression of thioacetamide, alcohol and schistosomiasis induced liver fibrosis in mice by silymarin. *Turkish Journal of Biochemistry*, 33: 131-137.
- Hoste H., Torres-Acosta J.F.J., Sandoval-Castro C.A., Mueller-Harvey I., Sotiraki S., Louvandinif H., Thamsborg S.M., Terrill T.H.** (2015). Tannin containing legumes as a model for nutraceuticals against digestive parasites in livestock. *Veterinary Parasitology*, 212 : 5-17.
- Hotez P.J., Bundy D.A., Beegle K., Brooker S., Drake L., De Silva N., Montresor A., Engels D., Jukes M., Chitsulo L., Chow J., Laxminarayan R., Michaud C., Bethony J., Correa-Oliveira R., Shuhua X., Fenwick A., Savioli L.** (2006). Helminth infections: soil-transmitted helminth infections and schistosomiasis. In *Disease Control Priorities in Developing Countries*. 2nd edition, Chapter 24. World Bank, Washington (DC).
- Houghton P.J., Howes M.-J., Lee C.C., Steventon G.** (2007). Uses and abuses of *in vitro* tests in ethnopharmacology: Visualizing an elephant. *Journal of Ethnopharmacology*, 110: 391-400.
- Huang S.C.-C., Freitas T.C., Amiel E., Everts B., Pearce E.L., Lok J.B., Pearce E.J.** (2012). Fatty acid oxidation is essential for egg production by the parasitic flatworm *Schistosoma mansoni*. *PLoS Pathogens*, 8 (10): 1-7.
- Idoh K., Agbonon A., Potchoo Y., Gbeassor M.** (2016). Toxicological assessment of the hydroethanolic leaf extract of *Clerodendrum capitatum* in Wistar rats. *Pan African Medical Journal*, 24 (66): 1-13.
- IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicines)** (1983). methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, 21: 731-748.
- Jamieson B.G.M.** (2016). *Schistosoma: Biology, Pathology and Control*. CRC Press, pp523.
- Jatsa H.B., De Jesus Pereira C.A., Pereira A.B.D., Negrão-Corrêa D.A., Braga F.C., Maciel G.M., Castilho R.O., Kamtchouing P., Teixeira M.M.** (2015). *In Vitro* evaluation of *Sida pilosa* Retz (Malvaceae) aqueous extract and derived fractions on *Schistosoma mansoni*. *Pharmacology & Pharmacy*, 6:380-390.
- Jatsa H.B., Ngo Sock E.T., Tchuem Tchuente L.A., Kamtchouing P.** (2009). Evaluation of the *in vivo* activity of different concentrations of *Clerodendrum umbellatum* Poir against *Schistosoma mansoni* infection in mice. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines*, 6: 216-221.
- Jatsa H.B., Russo R.C., Pereira C.A.J., Aguilar A.C., Garcia C.C., Araújo E.S., Oliveira J.L.R., Rodrigues V.F., De Oliveira V.G., Alvarez-Leite JI, Braga F.C., Tchuem Tchuente L-A, Kamtchouing P., Negrão-Corrêa D.A., Teixeira M.M.** (2016). Improvement of the liver pathology by the aqueous extract and the *n*-butanol fraction of *Sida pilosa* Retz in *Schistosoma mansoni*-infected mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 180:114-123.
- Jatsa H.B., Femoe U.M., Njiaza J., Tombe T.D.S., Mbolang N.L., Nkondo E.T., Tchuem Tchuente L.A., Dimo T., Kamtchouing P.** (2018). Efficacy of *Sida pilosa* Retz aqueous extract against *Schistosoma mansoni*-induced granulomatous inflammation in the liver and the intestine of mice: histomorphometry and gastrointestinal motility evaluation. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18 (1):1-15.
- Jatsa H.B., Gipwe Feussom N., Femoe U.M., Kenfack C.M., Nkondo E.T., Kadji Fassi J.B., Simo N.D., Moaboulou C., Dongmo Noumedem C., Dongmo Tsague C., Dongo E.,**

- Kamtchouing P., Tchuem Tchuente L.A.** (2019). Evaluation of the schistosomicidal, antioxidant and anti-inflammatory activities of the ethyl acetate fraction from *Ozoroa pulcherrima* Schweinf. roots on *Schistosoma mansoni*-induced liver pathology in mice and its phytochemical characterization. *Journal of Ethnopharmacology*, 238 (111883): 1-13.
- Kadry S.M., Mohamed A.M., Farrag E.M., Fayed D.B.** (2013). Influence of some micronutrients and *Citharexylum quadrangular* extract against liver fibrosis in *Schistosoma mansoni* infected mice. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 7 (28): 2628-2638.
- Kalpakcioglu B., Senel K.** (2008). The interrelation of glutathione reductase, catalase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and glucose-6-phosphate in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clinical Rheumatology*, 27: 141-145.
- Kamatenesi M., Acipa A., Oryem-Origa H.** Medicinal plants of Otwal and Ngai Sub Counties in Oyam District, Northern Uganda. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 2011, 7(7): 1-36.
- Katz N., Chaves A., Pellegrino J.** (1972). A simple device for quantitative stool thick-smear technique in *Schistosomiasis mansoni*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 14: 397-400.
- Kempf S., Hortsch M., MacCallum D.K.** (2017). Don MacCallum's Michigan Histology, Volume 4 (2nd Edition): Endocrine organs, urinary system, Male reproductive organs, Female reproductive organs, Mammary gland. *Michigan Publishing Services*, USA, 292 p.
- Ketsawatsakul U., Whiteman M. Halliwell B.** (2000). A reevaluation of the peroxynitrite scavenging activity of some dietary phenolics. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 279: 692-699.
- Kunz W., Gohr L., Greveling C., Schussler P., Sommer G., Menrath M., Anja M.** (1995). *Schistosoma mansoni*: control of female fertility by the male. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 90 (2) :185-189.
- Kusel J.R., Al-Adhami B.H., Doenhoff M.J.** (2007). The schistosome in the mammalian host: Understanding the mechanisms of adaptation. *Parasitology*, 134:1477-1526.
- Lancelot J.** (2013). Caractérisation des sirtuines de *Schistosoma mansoni* : cibles thérapeutiques potentielles. *Thèse de Doctorat. Médecine humaine et pathologie. Université du Droit et de la Santé-Lille II*, 2013. Français.
- Lapointe G.** (2004). Notions de Toxicologie. *Commission de la Santé et de la Sécurité du Travail du Québec, Québec*, p. 67.
- Lee J., Koo N., Min D.B.** (2004). Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3 (1): 21-33.
- Lenzi H.L., Romanha W.D.S., Santos R.M., Rosas A., Mota E.M., Manso P.P.A., Caputo L.F.G., Pelajo-Machado M.** (2006). Four whole-istic aspects of schistosome granuloma biology: fractal arrangement, internal regulation, autopoietic component and closure. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 101: 219-231.
- Lewis F.A., Frietas T.C., Tucker M.S., Karunaratne L.B., Liang Y-S.** (2013). Schistosomiasis. *Current Protocols in Immunology*, 19(1):1-19.
- Li H., Wang W.** (2017). Apropos: Critical analysis of molluscicide application in schistosomiasis control programs in Brazil. *Infectious Diseases of Poverty*, 6(54):1-5.

- Long T., Neitz J., Beasley R., Kalyanaraman C., Suzuki B.M., Jacobson M.P., Dissous C., McKerrow J.H., Drewry D.H., Zuercher W.J., Singh R., Caffrey C.R.** (2016). Structure-bioactivity relationship for benzimidazole thiophene inhibitors of polo-like kinase 1 (PLK1), a potential drug target in *Schistosoma mansoni*. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 10 (1):1-21.
- Malloy H.T., Evelyn K.A.** (1937). The determination of bilirubin with the photometric colorimeter. *Journal of Biological Chemistry*, 119: 481-490.
- Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E., Kefalas P.** (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food and Chemistry*, 89: 411-426.
- Marieb E.N., Hoehn K.** (2016). Human Anatomy & Physiology. Eleventh edition. *Pearson Education USA*, 1249p.
- Martins M.H., Fracarolli L., Vieira T.M., Dias H.J., Cruz M.G., Deus C.C., Nicolella H.D., Stefani R., Rodrigues V., Tavares D.C., Magalhães L.G., Crotti A.E.** (2016). Schistosomicidal effect of essential oils of *Citrus limonia* and *Citrus reticulata* against *Schistosoma mansoni*. *Chemistry and Biodiversity*, 14(1) : 1-19.
- Masamba P., Kappo A.P.** (2021). Immunological and biochemical interplay between cytokines, oxidative stress and schistosomiasis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22 (7216) : 1-22.
- Mayer P.** (1896). Über schleimfärbung. *Mitteilungen aus der Zoologischen Station zu Naepel*, 12: 303-330.
- Megarbane B., Deye N., Baud F.** (2007). Foie toxique : mécanismes lésionnels et thérapeutiques pharmacologiques spécifiques. *Reanimation*, 16: 632-642.
- Mendonça-Silva D.L., Pessôa R.F., Noël F.** (2002). Evidence for the presence of glutamatergic receptors in adult *Schistosoma mansoni*. *Biochemical Pharmacology*, 64:1337-1344.
- Miranda M.A., Magalhães L.G., Tioffi R.F.J., Kuehn C.C., Oliveira L.G.R., Rodrigues V., McChesney J.D., Bastos J.K.** (2012). Evaluation of the schistosomicidal activity of the steroidal alkaloids from *Solanum lycocarpum* fruits. *Parasitology Research*, 111:257-62.
- Molgaard P., Nielsen S.B., Rasmussen D.E., Drumond R.B., Makaza N., Andreassen J.** (2001). Anthelmintic screening of Zimbabwean plants traditionally used against schistosomiasis. *Journal of Ethnopharmacology*, 74: 257-264.
- Muhammad S., Bierhaus A., Schwaninger M.** (2009). Reactive oxygen species in diabetes-induced vascular damage, stroke, and Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 16: 775-785.
- Mukinda J.T., Syce J.A.** (2007). Acute and chronic toxicity of the aqueous extract of *Artemisia afra* in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 112:138-44.
- Negrusz A., Cooper G.** (2013). Clarke's Analytical Forensic Toxicology. Pharmaceutical Press, 2nd edition, ISBN 9780857111333.
- Nelwan M.L.** (2019). Schistosomiasis: Life Cycle, Diagnosis, and Control. *Current Therapeutic Research*, 91:5-9.
- Njoya E.M., Kamini M.F.G., Abia W.A., Pechangou S.N., Njayou F.N., Tchana A.N., Moundipa P.F.** (2018). Acute and subchronic toxicity evaluation of the aqueous extract of

Codiaeum variegatum leaves on Wistar albino rodents of both sexes. *Journal of Complementary Medicine Research*, 7:108-14.

Noël F. (2008). Sistema neuromuscular e controle da motilidade no verme adulto. In: *Schistosoma mansoni* & esquistossomose. Uma visão multidisciplinar. 1^a edição. Edited by Carvalho OS, Coelho PMZ, Lenzi HL. Rio de Janeiro: Fiocruz, 207-244.

Noël F., Cunha V.M.N., Silva C.L.M., Mendonça-Silva D.L. (2001). Control of calcium homeostasis in *Schistosoma mansoni*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96: 85-88.

Nozais J-P., Datry A. (1985). L'examen coprologique en parasitologie courante. Fascicule du laboratoire de parasitology, CHU Pitié Salpêtrière, pp 1-16, Paris.

OCDE. (1998). Etude de toxicité orale à dose répétées-rongeurs 90 jours. *Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques*, 4 : 1-10.

OCDE. (2001). Toxicité orale aiguë-Méthode par classe de toxicité aiguë. *Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques*, 4 : 1-14.

OCDE. (2008). Étude de toxicité orale à dose répétée pendant 28 jours sur les rongeurs. *Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques*, 4 : 1-14.

OECD. (2001). Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances, 2: 20-24.

OMS (1992). Research guideline, for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines; RS/92/CE/15 (PHL); Manila; Philippines, p. 38.

OMS (2000 a). General guideline for methodologies on research and evaluation of traditional medicine. WHO/EDM/TRM/1. pp 27-31.

OMS (2000 b). WHO manual of the standardized investigation, diagnosis and management of the infertile male, the Bath press, Bath, 91 p.

OMS (2002). WHO launches the first global strategy on traditional medicine: Press release WHO/38.

OMS (2021a). Schistosomiase.
<https://www.who.int/fr/newsroom/factsheets/detail/schistosomiasis>.
Consulté le 12 Novembre 2021.

OMS (2021b). Lutter contre les maladies tropicales négligées pour atteindre les objectifs de développement durable : feuille de route pour les maladies tropicales négligées 2021-2030. Vue d'ensemble. ISBN 978-92-4-001885-3, 7p.

Packer L., Weber S.U. (2001). The role of vitamin E in the emerging field of nutraceuticals. In: Kramer K., Hoppe P.P. and Packer L. *Nutraceuticals in Health and Disease Prevention*. New York (Marcel Dekker), pp: 27-43.

Pagán A.J., Ramakrishnan L. (2018). The formation and function of granulomas. *Annual Review of Immunology*, 36:639-665.

Pagès J.R., Jourdane J., Southgate V.R., Tchuem Tchuente L.A. (2003). Reconnaissance de deux espèces jumelles au sein du taxon *Schistosoma intercalatum* Fisher, 1934, agent de schistosomiase humaine rectale en Afrique. Description de *Schistosoma guineensis n.sp.* In *Taxonomy, Ecology and Evolution of Metazoan parasites. Volume 2*. Edited by Combes C., Jourdane J. Perpignan : Presses Universitaires de perpignan, France, 139-146.

- Pagliazzo L.** (2018). Rôles biologiques de l'histone désacétylase 8 chez le parasite plathelminthe *Schistosoma mansoni*. *Thèse de Doctorat*. Médecine humaine et pathologie. Université du Droit et de la Santé-Lille II, 183p.
- Pal R., Girhepunje K., Upadhayay A., Thirumoorthy N.** (2012). Antioxidant and free radical scavenging activity of ethanolic extract of the root of *Morinda citrifolia* (Rubiaceae). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6: 278-282.
- Paraense W.L.** (2008). Histórico do gênero *Biomphalaria*, morfologia e sistemática morfológica. In: *Schistosoma mansoni & esquistossomose. Uma visão multidisciplinar*. 1ª edição. Edited by Carvalho OS, Coelho PMZ, Lenzi HL. Rio de Janeiro: Fiocruz, 285-308.
- Parma N.S., Kumar P. Rajesh K.T.** (2004). Early signs of oxidative stress in wheat plants subjected to zinc deficiency. *Journal of Plant Nutrition*, 27(3): 451-463.
- Parreira R.L.T., Costa E.S., Heleno V.C.G., Magalhães L.G., Souza J.M., Pauletti P.M., Cunha W.R., Januário A.H., Símaro G.V., Bastos J.K., Laurentiz R.S., Kar T., Caramori G.F., Fábio Kawano D., Andrade e Silva M.L.** (2019). Evaluation of lignans from *Piper cubeba* against *Schistosoma mansoni* adult worms: A combined experimental and theoretical study. *Chemistry and Biodiversity*, 16: 1-12.
- Pellegrino J., Katz N.** (1968). Experimental chemotherapy of schistosomiasis mansoni. *Advances in Parasitology*, 6: 233-290.
- Pessôa R.F., Castro N.G., Noël F.** (2005). Binding of [³H] MK-801 in subcellular fractions of *Schistosoma mansoni*: evidence for interaction with nicotinic receptors. *Biochemical Pharmacology*, 69 : 1509-1516.
- Phanithavong M., Richeval C., Boumrah Y., Caous A.-S., Deheul S., Humbert L., Allorge D.** (2015). Apport d'une stratégie analytique combinant des approches *in vitro*, *in silico* et *in vivo* dans un cas de polyintoxication impliquant deux nouvelles drogues de synthèse. *Toxicologie Analytique et Clinique*, 27 (2) : 20-21.
- PNLSHI (Programme National de Lutte contre la Schistosomiase et les Helminthiases Intestinales au Cameroun)** (2005). Plan Stratégique 2005-2010, 92p.
- PNLSHI (Programme National de Lutte contre la Schistosomiase et les Helminthiases Intestinales au Cameroun)** (2020). Rapport d'avancement 2003-2019, 180p.
- Prabst K., Engelhardt H., Ringgeler, S., Hubner H., Ates G., Vanhaeke T., Rogiers V., Rodrigues R., Chan L.L.-Y., McCulley K.J.** (2017). Cell Viability Assays. *Humana Press*, Chapters 1-4,8, Volume 1601, pp. 1-43, 89-97, USA.
- Prata AR, Coura JR.** (2008). Fases e formas clínicas da esquistossomose mansoni. In: *Schistosoma mansoni & esquistossomose. Uma visão multidisciplinar*. 1ª edição. Edited by Carvalho OS, Coelho PMZ, Lenzi HL. Rio de Janeiro : Fiocruz, 739-787.
- Rajendran R., Hemalatha S., Akasakalai K.M., Adkukrishra C.H., Sohil B., Sundaram R.M.** (2009). Hepatoprotective activity of *Mimosa pudica* leaves against carbon tetrachloride induced toxicity. *Journal of Natural Products*, 2: 116-122.
- Ramirez B., Bickle Q., Yousif F., Fakorede F., Mourie M.A., Nwaka S.** (2007) Schistosomes: Challenges in Compound Screening. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 2:53-61.

- Ratard R.C., kouemeni L.E., Ekani Bessala M.M., Damkou C.N., Greer G.J., Spilburg J., Cline B.L.,** (1990). Human schistosomiasis in Cameroon. Distribution of Schistosomiasis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 42 (6): 561-572.
- Reitman S., Frankel S.** (1957). A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *American Journal of Clinical Pathology*, 28:56-63.
- Reuben A.** (2005). The biliary cycle of Moritz Schiff. *Hepatology*, 42:500-505.
- Reuter S., Gupta S.C., Chaturvedi M.M., Aggarwal B.B.** (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radical Biology & Medicine*, 49: 1603-1616.
- Ribeiro P., Geary T.G.** (2010). Neuronal signaling in schistosomes: current status and prospects for postgenomics the present review is one of a series of occasional review articles that have been invited by the Editors and will feature the broad range of disciplines and expertise represented in our Editorial Advisory Board. *Canadian Journal of Zoology*, 88 (1) :1-22.
- Rizk M., Ibrahim N., El-Rigal N.** (2012). Comparative *in vivo* antioxidant levels in *Schistosoma mansoni* infected mice treated with praziquantel or the essential oil of *Melaleuca armillaris* leaves. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 15 (20): 971-978.
- Rizk M.Z., Fayed T.A., Badawy H.D., El-Rigal N.S.** (2006). Effect of different durations of *Schistosoma mansoni* infection on the levels of some antioxidants in mice. *Trends in Medical Research*, 1: 66-74.
- Roderfeld M.** (2018). Matrix metalloproteinase functions in hepatic injury and fibrosis. *Matrix Biology*, 68: 452-462.
- Rodrigo R., Miranda A., Vergara L.** (2011). Modulation of endogenous antioxidant system by wine polyphenols in human disease. *Clinica Chimica Acta*, 412: 410-424.
- Rosidah Y.M.F., Sadikun A., Ahmad M., Akowuah G.A., Asmawi M.Z.** (2009). Toxicology evaluation of standardized methanol extract of *Gynura procumbens*. *Journal of Ethnopharmacology*, 123:244-249.
- Ross A.G., Vickers D., Olds G.R., Shah S.M., McManus D.P.** (2007). Katayama syndrome. *The Lancet Infectious Diseases*, 7 (3): 218-224.
- Ross A.G., McManus D.P., Farrar J., Hunstman R.J., Gray D.J., Li Y.S.** (2012). Neuroschistosomiasis. *Journal of Neurology*, 259:22-32.
- Saad M.B.D., Shati A.A., Mohamed A.A., Osama M.A., Essam H.I., Osama M.S.M.** (2011). Green tea (*Camellia sinesis*) ameliorates female *Schistosoma mansoni*-induced changes in the liver of BALB/c mice. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 18: 361-368.
- Saco L.C., Dias M.M., Zaquine M., Emidio N.B., Marconato D.G., Nascimento J.W.L., Moraes J.D., Pinto L.S., Coelho M.Z., Vasconcelos E.G., Filho A.A.D.S., Faria-Pinto D.** (2017). *In vivo* and *in vitro* of Arctiin schistosomicidal activity. *Journal of Clinical and Experimental Pharmacology*, 7(1):1-7.
- Saeed M.E.M., Krishna S., Greten H.J., Kremsner P.G., Efferth T.** (2016). Antischistosomal activity of artemisinin derivatives *in vivo*, in patients. *Pharmacological Research*, 110:216-226.
- Salvador-Recatalà V., Schneider T., Greenberg R.M.** (2008). Atypical properties of a

conventional calcium channel beta subunit from the platyhelminth *Schistosoma mansoni*. *BMC Physiology*, 8:1-11.

Sandhar H.K., Kumar B., Prasher S., Tiwari P., Salhan M., Sharma P. (2011). A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1 (1): 25-41.

Schuppan D., Dayan A.D., Charlesworth F.A. (2014). The contribution of acute toxicity testing to the evaluation of pharmaceuticals. *Springer*, 31-32.

Shah N.A., Khan M.R., Ahmad B., Noureen F., Rashid U., Khan R.A. (2013). Investigation on flavonoid composition and anti free radical potential of *Sida cordata*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13: 276-288.

Sharififar F., Derakhshanfar A., Dehghan-Nudeh G., Abbasi N., Abbasi R., Gharaei R.R., Koohpayeh A., Daneshpajouh M. (2011). *In vivo* antioxidant activity of *Zataria multiflora* Boiss essential oil. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 24(2): 221-225.

Singh I. (2011). Textbook of HUMAN HISTOLOGY (With Colour Atlas & Practical Guide). Sixth edition, *Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd.* New Dehli, India, 394p.

Sinha A.K. (1972). Colorimetric assay of catalase. *Annals of Biochemistry*, 47: 389-394.

Skelly P.J., Tielens A.G.M., Shoemaker C.B. (1998). Glucose transport and metabolism in mammalian-stage schistosomes. *Parasitology Today*, 14 (10): 402-406.

Smith A., Bruton J. (1977). Histological staining procedure. *Wolfe Medical Publication*. ISBN: 9780723407218. 192p.

Southgate V.R., Jourdane J., Tchuente L.A.T. (1998). Recent studies on the reproductive biology of the schistosomes and their relevance to speciation in the Digenea. *International Journal of Parasitology*, 28(8): 1159-1172.

Souza A.L.S., Souza P.R.S., Pereira C.A., Fernandes A., Guabiraba R., Russo R.C., Vieira L.Q., Corrêa A. Jr, Teixeira M.M., Negrão-Corrêa D. (2011). Experimental infection with *Schistosoma mansoni* in CCR5-deficient mice is associated with increased disease severity, as CCR5 plays a role in controlling granulomatous inflammation. *Infectious Immunology*, 79:1741-1749.

Sparg S.G., Van Staden J., Jäger A.K. (2000) Efficiency of traditionally used South African plants against schistosomiasis. *Journal of Ethnopharmacology*, 73: 209-214.

Tang S.Y., Halliwell B. (2010). Medicinal plants and antioxidants: What do we learn from cell culture and *Caenorhabditis elegans* studies? *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 394 :1-5.

Tchuem Tchuente L.A. (1993). Interactions hôte-parasite et compétition interspécifiques dans le modèle *Schistosoma intercalatum* : Implications épidémiologiques. *Thèse de Doctorat*. Université de Perpignan, 165p.

Tchuem Tchuente L-A., Kamwa Ngassam, R.I., Sumo L., Ngassam P., Dongmo Noumedem C., Luogbou Nzu D.D., Dankoni E., Kenfack C.M., Feussom Gipwe N., Akame J., Tarini A., Zhang Y., Angwafo III F.F. (2012a). Mapping of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis in the regions of Centre, East and West Cameroon. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 6(3): 1-12.

- Tchuem Tchuenté L-A., Kueté Fouodo C.J., Kamwa Ngassam R.I., Sumo L., Dongmo Noumedem C., Kenfack C.M., Feussom Gipwe N., Dankoni Nana E., Stothard J.R., Rollinson D.** (2012b). Evaluation of circulating cathodic antigen (CCA) urine-tests for diagnosis of *Schistosoma mansoni* infection in Cameroon. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6 (7): 1-10.
- Tchuem Tchuenté L-A., Dongmo Noumedem C., Ngassam P., Kenfack C.M., Feussom Gipwe N., Dankoni Nana E., Tarini A., Zhang Y.** (2013): Mapping of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis in the regions of Littoral, North-West, South and South- West Cameroon and recommendations for treatment. *BMC Infectious Diseases*, 13 (1): 1-12
- Tendler M., Pinto R.M., Oliveira L.A., Gelara G., Katz N.** (1986): *Schistosoma mansoni* vaccination with adults worm antigens. *International Journal of Parasitology*, 16: 352-374.
- Thapa B.R., Walia A.** (2007). Liver function tests and their interpretation. *Indian Journal of Pediatrics*, 4: 663-671.
- Tietz N.W.** (1999). Text book of clinical chemistry. 3^{ème} Edition C.A. Burtis, E. R. Ashwood, W.B.Saunders. p. 676-689 et p. 129-1431.
- Turkington C., Mitchell D.** (2010). The encyclopedia of poison and antidotes. *Facts On File*, 3rd edition, 337p.
- Utzinger J., N’Goran E.K., Caffrey C.R., Keiser J.** (2011). From innovation to application: social-ecological context, diagnostics, drugs and integrated control of schistosomiasis. *Acta Tropica*, 120 (1):121-137.
- Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J.** (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39(1): 44-84.
- Van Meerlo J., Kaspers G.J.L., Cloos J., Glaysher S., Cree I.A., Hartley J.M., Spanswick V.J., Hartley J.A.** (2013). Cancer Cell Culture Methods and Protocols. *Humana Press*, 2nd edition, Chapters 20-22, 25, Volume 731, pp. 237-259, USA.
- Vennervald B.J., Kenty L., Butterworth A.E., Kariuki C.H., Kadzo H., Ireri E., Amaganga C., Kimani G., Mwatha J., Otedo A., Booth M., Ouma J.H., Dunne D.W.** (2004). Detailed clinical and ultrasound examination of children and adolescents in a *Schistosoma mansoni* endemic area in Kenya: hepatosplenic disease in the absence of portal fibrosis. *Tropical Medicine & International Health*, 9: 461-470.
- Vertuani S., Angusti A., Manfredini S.** (2004). The antioxidants and pro-antioxidants network: an overview. *Current Pharmaceutical Design*, 10: 1677-1694.
- Viegas F.D., De Castro A.T., Castro A.P., Siqueira Í., Rosa W., Espuri P.F., Coelho L.F.L., Marquesb M.J., Soares M.G.** (2017). *In vitro* schistosomicidal activity of the crude extract, fractions and Primin, the major active benzoquinone constituent from the leaves of *Miconia willdenowii* (Melastomaceae). *South African Journal of Botany*, 111:365-370.
- Vorbach C., Harrison R., Capecchi M.R.** (2003). Xanthine oxidoreductase is central to the evolution and function of the innate immune system. *Trends in Immunology*, 24: 512-517.
- Weerakoon K.G.A.D., Gobert G.N., Cai P., McManus D.P.** (2015). Advances in the diagnosis of human schistosomiasis. *Clinical Microbiology Reviews*, 28: 939-67

- Webster B.L., Littlewood T.J.** (2012). Mitochondrial gene order change in *Schistosoma* (Platyhelminthes: Digenea: Schistosomatidae). *International Journal for Parasitology*, 42: 313-321.
- Weiner I.D., Mitch W.E., Sands J.M.M.** (2015). Urea and Ammonia Metabolism and the Control of Renal Nitrogen Excretion. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 10: 1444-1458.
- Wilbur K.M., Bernheim F., Shapiro O.W.** (1949). Determination of lipid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 24: 305-310.
- Wilson S., Vennervald B.J., Kadzo H., Ileri E., Amaganga C., Booth M., Kariuki H.C., Mwatha J.K., Kimani G., Ouma J.H., Muchiri E., Dunne D.W.** (2007). Hepatosplenomegaly in Kenyan schoolchildren: exacerbation by concurrent chronic exposure to malaria and *Schistosoma mansoni* infection. *Tropical Medicine & International Health*, 12: 1442-1449.
- Witthawaskul P., Ampai P., Kanjanapothi D., Taesothikul, Lertprasertsuke N.** (2003). Acute and subacute toxicities of mixture isolated from *Scheffera leucantha* Viguier. *Journal of Ethnopharmacology*, 89: 115-121.
- Xiong L-J, Zhu J-F, Luo D-D, Zen L-L, Cai S-Q.** (2003). Effects of pentoxifylline on the hepatic content of TGF- β 1 and collagen in *Schistosomiasis japonica* mice with liver fibrosis. *World Journal of gastroenterology*, 9:152-154.
- Zhang D., Hamauzu Y.** (2004). Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chemistry*, 88 (4): 503-509.
- Zhang S., Coultas K.A.** (2013). International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance. *International Journal for Parasitology*, 3: 28-34.

PUBLICATIONS ISSUES DE LA THESE