

UNIVERSITE DE YAOUNDE I
UNIVERSITY OF YAOUNDE I



FACULTE DES SCIENCES
FACULTY OF SCIENCE

CENTRE DE RECHERCHE ET
FORMATION DOCTORALE EN
SCIENCES DE LA VIE, SANTE ET
ENVIRONNEMENT

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 préventifs et immunomodulateurs d'une posologie optimale de praziquantel et de l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* Retz. (Malvaceae) sur l'infection à *Schistosoma mansoni* dans un modèle murin

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

Option : Physiologie Animale

Par

FEMOE MEMBE Ulrich

Matricule : 09Q0588

Master ès-Sciences



Devant le jury constitué ainsi qu'il suit :

<u>Président</u> :	DIMO Théophile, Professeur	Université de Yaoundé I;
<u>Rapporteurs</u> :	TCHUEM TCHUENTE Louis-Albert, Professeur	Université de Yaoundé I;
	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHE, Maître de Conférences	Université de Yaoundé I;
<u>Membres</u> :	NJIOKOU Flobert, Professeur	Université de Yaoundé I;
	DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré, Professeur	Université de Yaoundé I;
	DONGMO Alain Bertrand, Professeur	Université de Douala.

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 **FEMOE MEMBE Ulrich**, matricule 09Q0588, soutenance autorisée par la correspondance N°223127/UY1/VREPDTIC/DAAC/DEPE/SSPE/CB-AP du Recteur de l'Université de Yaoundé I en date du 04 Novembre 2022 sur le sujet intitulé : « **Effets préventifs et immunomodulateurs d'une posologie optimale de praziquantel et de l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* Retz. (Malvaceae) sur l'infection à *Schistosoma mansoni* dans un modèle murin** », attestons que les corrections exigées au candidat lors de cette évaluation qui a eu le lieu le vendredi 30 Décembre 2022, 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 **25 JUL 2023**


L'Examineur

Le Président du jury

Le chef de Département



LISTE PROTOCOLAIRE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DES SCIENCES

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

ANNÉE ACADEMIQUE 2021/2022

(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION 31 Octobre 2022

ADMINISTRATION

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

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

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

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

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

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

1- DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (38)			
N°	NOMS ET PRENOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	BIGOGA DIAGA Jude	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	FOKOU Elie	Professeur	En poste
4	KANSCI Germain	Professeur	En poste
5	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
6	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	<i>Chef de Département</i>
7	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste
8	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
9	ATOGHO Barbara MMA	Maître de Conférences	En poste
10	AZANTSA KINGUE Gabin Boris	Maître de Conférences	En poste
11	BELINGA née NDOYE FOE M. C.	Maître de Conférences	Chef DAF / FS
12	DJUIDJE NGOUNOUE Marcelline	Maître de Conférences	En poste
13	EFFA NNOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste

14	EWANE Cécile Anne	Maître de Conférences	En poste
15	KOTUE KAPTUE Charles	Maître de Conférences	En poste
16	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	<i>Inspecteur de Service MINESUP</i>
17	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
18	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
19	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
20	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
21	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste
22	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
23	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
24	BEBOY EDZENGUELE Sara N.	Chargée de Cours	En poste
25	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
26	DJUIKWO NKONGA Ruth	Chargée de Cours	En poste
27	DONGMO LEKAGNE Joseph	Chargé de Cours	En poste
28	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
29	KOUOH ELOMBO Ferdinand	Chargé de Cours	En poste
30	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
31	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
32	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste
33	OWONA AYISSI Vincent Brice	Chargé de Cours	En poste
34	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
35	PECHANGOU NSANGO S.	Chargé de Cours	En poste
36	WILFRIED ANGIE Abia	Chargée de Cours	En poste
37	MBOUCHE FANMOE Marceline	Chargée de Cours	En poste
38	FOUPOUPOUOGNIGNI Y.	Assistant	En poste
2- DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (49)			
1	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	<i>Chef de Division-DAASR FS/UY1</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>Vice Doyen/FMSB/UYI</i>
7	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
8	KEKEUNOU Sévilor	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 H.	Professeur	En poste

15	ALENE Désirée Chantal	Maître de Conférences	<i>Chef Service/ MINESUP</i>
16	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
17	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
18	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Maître de Conférences	En poste
19	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHÉ	Maître de Conférences	En Poste
20	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Maître de Conférences	En poste
21	MBENOUN MASSE Paul Serge	Maître de Conférences	En poste
22	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
23	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
24	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
25	NGUEMBOK	Maître de Conférences	En poste
26	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste
27	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
28	BASSOCK BAYIHA Etienne D.	Chargé de Cours	En poste
29	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
31	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
32	FEUGANG YOUMSSI François	Chargé de Cours	En poste
33	GONWOUO NONO Legrand	Chargé de Cours	En poste
34	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
35	KOGA MANG DOBARA	Chargé de Cours	En poste
36	LEME BANOCK Lucie	Chargée de Cours	En poste
37	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
38	MOUNGANG Luciane Marlyse	Chargée de Cours	En poste
39	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
40	NGOULATEU KENFACK Omer B.	Chargé de Cours	En poste
41	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	Chef Div. UBA
42	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargé de Cours	En poste
43	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
44	TAMSA ARFAO Antoine	Chargé de Cours	En poste
45	YEDE	Chargé de Cours	En poste
46	YOUNOUSSA LAME	Chargé de Cours	En poste
47	AMBADA NDZENGUE Georgia E.	Assistante	En poste
48	FOKAM Alvine Epse KEGNE	Assistante	En poste
49	MAPON NSANGOU Indou	Assistant	En poste
50	NWANE Philippe Bienvenu	Assistant	En poste
3- DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VEGETALES (BPV) (34)			
1	AMBANG Zachée	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste

4	MBOLO Marie	Professeur	En poste
5	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
6	YOUMBI Emmanuel	Professeur	En poste
7	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste
8	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
9	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
10	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
11	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	<i>DAAC/ Udla</i>
12	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<i>CE / MINRESI</i>
13	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Maître de Conférences	En poste
14	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy	Maître de Conférences	<i>CT / MINRESI</i>
15	ONANA Jean Michel	Maître de Conférences	En poste
16	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
17	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
18	DJEUANI Astride Carole	Chargée de Cours	En poste
19	GODSWILL NTSOMBAH	Chargé de Cours	En poste
20	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
21	KABELONG BANAHOU Louis-Paul	Chargé de Cours	En poste
22	KONO Léon Dieudonné	Chargé de Cours	En poste
23	LIBALAH Moses BAKONCK	Chargé de Cours	En poste
24	LIKENG-LI-NGUE Benoit	Chargé de Cours	En poste
25	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargée de Cours	En poste
26	MAHBOU SOMO TOUKAM G.	Chargé de Cours	En poste
27	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
28	NGOUCO Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
29	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargée de Cours	En poste
30	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargée de Cours	En poste
31	NSOM ZAMBO Epse PIAL Annie	Chargée de Cours	<i>UNESCO MALI</i>
32	TAEDOUMG Evariste Hermann	Chargé de Cours	En poste
33	TEMEGNE NONO Carine	Chargée de Cours	En poste
34	MANGA NDJAGA JUDE	Assistant	En poste
4- DEPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (34)			
1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	En poste
2	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Professeur	En poste
3	ELIMBI Antoine	Professeur	En poste
4	Florence UFI CHINJE épouseMELO	Professeur	<i>Recteur U.Ndéré</i>
5	GHOOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé de Mission PR</i>
6	NANSEU NJIKI Charles Péguy	Professeur	En poste
7	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
8	NDIKONTAR Maurice KOR	Professeur	<i>Vice-Doyen/UBa</i>

9	NENWA Justin	Professeur	En poste
10	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>DOYEN FS UNdéré</i>
11	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancellor/UB</i>
12	ACAYANKA Elie	Maître de Conférences	En poste
13	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	<i>Chargée Mission P.R.</i>
14	EMADACK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
15	KAMGANG YOUNI Georges	Maître de Conférences	En poste
16	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean	Maître de Conférences	En poste
17	KENNE DEDZO Gustave	Maître de Conférences	En poste
18	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
19	MBEY Jean Aime	Maître de Conférences	En poste
20	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	<i>Chef de Département</i>
21	NEBA née NDOSIRI Bridget NDOYE	Maître de Conférences	<i>CT/ MINPROFF</i>
22	NJIOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
23	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste
24	NYAMEN Linda Dyorisse	Maître de Conférences	En poste
25	PABOUDAM GBAMBIE A.	Maître de Conférences	En poste
26	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Maître de Conférences	En Poste
27	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	En poste
28	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	<i>CS/ ENS Bertoua</i>
29	KOUOTOU DAOUDA	Chargé de Cours	En poste
30	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
31	NCHIMI NONO Katia	Chargée de Cours	En poste
32	NJANKWA NJABONG N. Eric	Chargé de Cours	En poste
33	PATOUOSSA ISSOFA	Chargé de Cours	En poste
34	SIEWE Jean Mermoz	Chargé de Cours	En poste
5- DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (40)			
1	DONGO Etienne	Professeur	<i>Vice-Doyen /FSE/UYI</i>
2	GHOGOMU TIH Robert Ralph	Professeur	<i>Dir. IBAF/UDA</i>
3	MBAZOA née DJAMA Céline	Professeur	En poste
4	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	<i>Chef de Départ. UDS</i>
5	NYASSE Barthélemy	Professeur	En poste
6	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP/ Chef de Département</i>
7	WANDJI Jean	Professeur	En poste
8	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	Vice-Doyen / DPSAA

9	AMBASSA Pantaléon	Maître de Conférences	En poste
10	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste
11	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste
12	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
13	KAMTO Eutrophe Le Doux	Maître de Conférences	En poste
14	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
15	KEUMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
16	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
17	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
18	MVOT AKAK Carine	Maître de Conférences	En poste
19	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	<i>Chef cellule MINERESI</i>
20	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	<i>CEA/MINESUP</i>
21	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	<i>DAAC/U Bertoua</i>
22	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
23	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
24	TAGATSING FOTSING Maurice	Maître de Conférences	En poste
25	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen /FS/ UYI</i>
26	TIH née NGO BILONG Anastasie	Maître de Conférences	En poste
27	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
28	ZONDENDEGOUMBA Ernestine	Maître de Conférences	En poste
29	MESSI Angélique Nicolas	Chargé de Cours	En poste
30	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
31	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
32	OUAHOUE WACHE Blandine	Chargée de Cours	En poste
33	SIELINOUE TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste
34	TCHAMGOUE Joseph	Chargé de Cours	En poste
35	TSAMO TONTSA Armelle	Chargée de Cours	En poste
36	TSEMEUGNE Joseph	Chargé de Cours	En poste
37	MUNVERA MFIFEN Aristide	Assistant	En poste
38	NONO NONO Éric Carly	Assistant	En poste
39	OUETE NANTCHOUANG Judith	Assistante	En poste
40	TSAFFACK Maurice	Assistant	En poste

6- DEPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (26)			
1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef Div.MINESUP</i>
2	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Chef Dpt ENS/Chef IGA.MINESUP</i>
3	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
4	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	<i>S/Dir MINFOPRA</i>
5	AMINOOU Halidou	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
6	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargée de Cours	En Poste
7	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Chargé de Cours	En Poste
8	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
9	HAMZA Adamou	Chargé de Cours	En poste
10	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Chargé de Cours	En poste
11	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
12	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
13	MONTHÉ DJIADEU Valéry M.	Chargé de Cours	En poste
14	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
15	OLE OLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	<i>Dir Adj. Enset. Ebolowa</i>
16	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
17	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
18	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
19	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste
20	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
21	EKODECK Stéphane Gaël	Assistant	En poste
22	MAKEMBE SOSSO Oswald	Assistant	En poste
23	MESSI NGUELE Thomas	Assistant	En poste
24	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistante	En poste
25	NKONDOCK. MI. BAHANACK.	Assistant	En poste
26	NZEKON NZEKO'O Armel	Assistant	En poste
7- DEPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (35)			
1	AYISSI Raoult Domingo	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2	EMVUDU WONO Yves S.	Professeur	<i>Inspecteur MINESUP</i>
3	KIANPI Maurice	Maître de Conférences	En poste
4	MBANG Joseph	Maître de Conférences	En poste
5	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
6	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Maître de Conférences	En poste
7	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
8	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>Chef service des programmes & Diplômes</i>
9	TAKAM SOH Patrice	Maître de Conférences	En poste
10	TCHAPNDA NJABO Sophonie	Maître de Conférences	<i>Directeur/AIMS Rwanda</i>
11	TCHOUNDJA Edgar Landry	Maître de Conférences	En poste
12	AGHOUKENG JIOFACK Jean G.	Chargé de Cours	<i>Chef Cellule MINEPAT</i>

13	BOGSO Antoine Marie	Chargé de Cours	En poste
14	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
15	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
16	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
17	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
18	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
19	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
20	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
21	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
22	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargé de Cours	En poste
23	OGADOA AMASSAYOGA	Chargée de Cours	En poste
24	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
25	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
26	TETSADJIO TCHILEPECK M.	Chargée de Cours	En poste
27	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste
28	TCHEUTIA Daniel Duviol	Chargé de Cours	En poste
29	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste
30	FOKAM Jean Marcel	Assistant	En poste
31	LOUMNGAM KAMGA Victor	Assistant	En poste
32	MBATAKOU Salomon Joseph	Assistant	En poste
33	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
34	MEFENZA NOUNTU Thierry	Assistant	En poste
35	TENKEU JEUFACK Yannick	Assistant	En poste
8-DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (22)			
1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2	NYEGUE Maximilienne A.	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>
3	NWAGA Dieudonné M.	Professeur	En poste
4	ASSAM ASSAM Jean Paul	Maître de Conférences	En poste
5	BOUGNOM Blaise Pascal	Maître de Conférences	En poste
6	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
7	KOUITCHEU MABEKU Epse KOUAM Laure Brigitte	Maître de Conférences	En poste
8	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
9	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste
10	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
11	ESSONO Damien Marie	Chargé de Cours	En poste
12	ESSONO OBOUGOU Germain	Chargé de Cours	En poste
13	MEYIN A EBONG Solange	Chargée de Cours	En poste
14	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
15	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste
16	LAMYE Glory MOH	Chargé de Cours	En poste
17	NKOUDOU ZE Nardis	Chargé de cours	En poste
18	TAMATCHO KWEYANG Blandine	Chargée de cours	En poste
19	TOBOLBAÏ Richard	Chargé de Cours	En poste
20	MONI NDEDI Esther Del F.	Assistante	En poste
21	NKOUÉ TONG Abraham	Assistant	En poste

22	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Assistant	En poste
9-DEPARTEMENT DE PHYSIQUE (PHY) (43)			
1	BEN-BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2	DJUIDJE K. épouse ALOYEM	Professeur	En poste
3	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Professeur	<i>Vice-Recteur. UN</i>
4	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
5	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
6	NANA NBENDJO Blaise	Professeur	En poste
7	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	<i>Chef de Département</i>
8	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
9	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	<i>S/Dir/ MINRESI</i>
10	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
11	SAIDOU	Professeur	<i>Chef Centre MINERESI</i>
12	TABOD Charles TABOD	Professeur	<i>Doyen Univ/Ba</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	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
22	MBANE BIOUELE César	Maître de Conférences	En poste
23	MBINACK Clément	Maître de Conférences	En poste
24	MBONO SAMBA Yves Christian	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	Maître de Conférences	<i>Directeur/ENS/UYI</i>
30	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
31	AYISSI EYEBE Guy François	Chargé de Cours	En poste
32	CHAMANI Roméo	Chargé de Cours	En poste
33	DJIOTANG TCHOTCHOU Lucie	Chargée de cours	En poste
34	EDONGUE Hervais	Chargé de Cours	En poste
35	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	<i>Chef Cell. MINADER</i>

36	MELI'I Joelle Larissa	Chargée de Cours	En poste
37	MVOGO Alain	Chargé de Cours	En poste
38	OTTOU ABE Martin Thierry	Chargé de Cours	En poste
39	TEYOU NGOUPOU Ariel	Chargé de Cours	En poste
39	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste
40	KAMENI NEMATCHOUA M.	Assistant	En poste
41	LAMARA Maurice	Assistant	En poste
42	NGA ONGODO Dieudonné	Assistant	En poste
43	WANDJI NYAMSI William	Assistant	En poste
10- DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (43)			
1	BITOM Dieudonné	Professeur	<i>Doyen / FASA / UDs</i>
2	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Professeur	En poste
3	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	<i>Chef de Département</i>
4	NDAM NGOUPAYOU Jules	Professeur	En poste
5	NGOS III Simon	Professeur	En poste
6	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
7	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
8	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
9	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
10	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	En poste
11	FUH Calistus Gentry	Maître de Conférences	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT</i>
12	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
13	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	<i>CD/Uma</i>
14	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/ MINIMDT</i>
15	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	<i>CEA/MINRESI</i>
16	NGO BIDJECK Louise Marie	Maître de Conférences	En poste
17	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
18	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
19	ONANA Vincent Laurent	Maître de Conférences	<i>Chef service Maintenance & du Matériel/UYII</i>
20	TCHAKOUNTE J. épouse NOUMBEM	Maître de Conférences	<i>Chef.cell / MINRESI</i>
21	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
22	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
23	TEMGA Jean Pierre	Maître de Conférences	En poste
24	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. /MINTP</i>

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	ELISE SABABA	Chargé de Cours	En poste
29	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
30	EYONG JOHN TAKEM	Chargé de Cours	En poste
31	LAMILEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
32	MBESSE Cécile Olive	Chargée de Cours	En poste
33	MBIDA YEM	Chargé de Cours	En poste
34	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
35	MINYEM Dieudonné-Lucien	Chargé de Cours	<i>CD/UMa</i>
36	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
37	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
38	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargée de Cours	En poste
39	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
40	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
41	FEUMBA Roger	Chargé de Cours	En poste
42	MBANGA NYOBE Jules	Chargé de cours	En poste
43	NGO'O ZE Arnaud	Assistant	En poste

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

NOMBRE D'ENSEIGNANTS					
Départements	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
BCH	9 (1)	14 (10)	16 (6)	1 (0)	40 (17)
BPA	14 (1)	12 (8)	19 (4)	4 (2)	50 (16)
BPV	7 (1)	10 (1)	16 (8)	1 (0)	34 (10)
CI	11 (1)	15 (4)	8 (1)	/	34 (6)
CO	7 (1)	21 (5)	8 (2)	4 (1)	40 (9)
IN	2 (0)	1 (0)	16 (1)	7 (1)	26 (2)
MAT	2 (0)	9 (1)	17 (2)	7 (1)	35 (4)
MIB	3 (1)	6 (2)	10 (4)	3 (1)	22 (8)
PHY	15 (1)	14 (2)	10 (3)	4 (0)	43 (6)
ST	7 (1)	18 (3)	17 (3)	1 (0)	43 (7)
Total	77 (8)	120 (36)	138 (35)	32 (6)	367 (85)

DEDICACE

A toi maman.

Tu nous as appris à ne jamais baisser les bras, J'avoue que c'est dur sans toi, sans ta voix. Mais depuis le ciel, tu es chaque seconde avec nous. Par ce travail, j'espère te rendre fière.

REMERCIEMENTS

Je voudrai dire merci au Seigneur, Dieu tout puissant qui m'a accordé santé, force et courage nécessaires à la réalisation de cette œuvre.

Je remercie profondément toutes les personnes qui, d'une façon ou d'une autre, ont contribué à la réalisation de ce travail. Je pense particulièrement :

Au Professeur JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHE du Laboratoire de Physiologie Animale de l'Université de Yaoundé I, pour m'avoir accueilli dans son équipe de recherche, guidé mes premiers pas dans la recherche et dirigé de bout en bout ce travail. Votre disponibilité, votre rigueur scientifique et votre sens du travail bien fait sont autant de vertus qui m'ont été d'un intérêt inestimable. Par votre patience, vos précieux conseils et vos encouragements incessants, vous avez été plus qu'un encadreur, une mère.

Au Professeur TCHUEM TCHUENTE Louis-Albert du Laboratoire de Parasitologie et Ecologie de l'Université de Yaoundé I, pour m'avoir accueilli au « Centre Schistosomiase et Parasitologie de Yaoundé (CSP) » et m'avoir ainsi permis d'effectuer ce travail dans de bonnes conditions matérielles, ce pourquoi je vous suis reconnaissant. Votre qualité de travailleur et votre rigueur font de vous un exemple pour moi.

Au Professeur DIMO Théophile du Laboratoire de Physiologie Animale de l'Université de Yaoundé I, pour votre aide inestimable dans la réalisation de ce travail. Vos orientations, vos précieux conseils et votre sens de la critique constructive ont constitué un atout majeur pour la réalisation de ce travail.

Au Professeur KAMTCHOUING Pierre du Laboratoire de Physiologie Animale de l'Université de Yaoundé I, pour votre collaboration grâce à laquelle les études histologiques de ce travail ont été effectuées.

A tous les enseignants du Département de Biologie et Physiologie Animales pour vos enseignements, vos conseils et vos encouragements.

Au Professeur PFAFF WILHEM Alexander, pour avoir accepté de m'accueillir au sein de son groupe de recherche à l'Institut de Parasitologie et de Pathologies Tropicales de Strasbourg, Faculté de Médecine de l'Université de Strasbourg comme boursier du Service de la Coopération de l'Action Culturelle (SCAC) de l'Ambassade de France au Cameroun et supervisé de bout en bout le travail réalisé pendant mon stage. Votre disponibilité, votre sens de l'hospitalité, votre simplicité, votre expérience scientifique et vos précieuses directives pour la réalisation des études d'immunologie et de biologie moléculaire de mon travail m'ont donné encore plus de la motivation pour la recherche.

A Mesdames CANNET Catherine et ACCART GRIS Nathalie, de l'Association Pathologie, Cytologie et Développement (PCD) et de l'Association Française d'Histotechnologie (AFH) pour leur aide précieuse dans la réalisation des analyses histopathologiques effectuées dans le cadre de ce travail. Votre gentillesse et votre bienveillance m'ont grandement marqué.

Aux Docteurs GREIGERT Valentin, ABOU-BACAR Ahmed et BRUNET Julie du laboratoire d'Immunologie de l'IPPTS pour la formation durant mon séjour dans votre laboratoire. Votre disponibilité, votre gentillesse, votre sens du partage des connaissances et vos encouragements m'ont marqué.

A Mesdames ARNOUX Lydia, BEAL Laetitia et GOMMENGINGER Chloé, techniciennes de laboratoire à l'IPPTS, pour votre aide précieuse dans la réalisation des différentes expérimentations et dosages et votre convivialité lors de mon séjour.

A tous mes aînés et camarades de laboratoire du Centre Schistosomiase et Parasitologie de Yaoundé pour l'environnement conviviale et d'échange facile. Je pense ici à Mesdames et Messieurs FEUSSOM GIPWE Nestor, KENFACK Christian Mérimé, DONGMO NOUMEDEM Calvine, FASSI KADJI Joseph, NKONDO TIENGA Emilienne, MOABOULOU Cyriaque, ELOUNDOU OMBEDE Roland, DJOMKAM Nelly, NGATOU Blandine et NAOUSSI SOH Roméo.

A Monsieur TCHUINKOM Samuel et Madame LIEHEU Germaine, pour leur disponibilité et leur assistance permanentes.

A tous mes camarades du Laboratoire de Physiologie Animale de l'Université de Yaoundé I. je pense particulièrement à M. MBOLANG NGUEGAN Lohik, NGAPOUT FIFEN Rodrigue et TCHUETCHOUA Yannick. Votre aide considérable ainsi que les bons moments passés avec vous m'ont permis de maintenir le rythme de travail et de ne pas ressentir le poids du travail tout au long de mon séjour au laboratoire.

A mon père M. MEMBE Martin, mes frères et sœurs M. NZALI MEMBE Cyrille, M. KEMMOE MEMBE William, Mme KOUEKEM MEMBE Jocelyn et Mlle KENMOE MEMBE Carine pour votre assistance, votre soutien moral et vos encouragements permanents.

A Mlle NGUEKENG FONGANG Oriane Hardy pour son soutien sans faille, ses encouragements et sa patience.

A mes amis et frères Messieurs TIFFO KEUYANTSAP Cherubin, WABO Pierre Ludovic, LIMALEBA Urben Florio et CHERMAPI DEMBENG Raphaël pour leur soutien et leur encouragement constants.

Au Dr NGANDJUI Yvan Anderson pour sa disponibilité, son assistance et son soutien multiforme.

A l'association PCD (Pathologie, Cytologie et Développement), pour l'apport logistique nécessaire à la réalisation de l'histomorphométrie dans cette étude.

A l'AFH (Association Française d'Histotechnologie) pour avoir entièrement financé mon premier stage à l'IPPTS de l'Université de Strasbourg.

A l'IPPTS (Institut de Parasitologie et de Pathologies Tropicales de Strasbourg) de l'Université de Strasbourg pour le financement de toutes les analyses immunologiques et de biologie moléculaire.

Au Ministère des Affaires étrangères et de l'Europe du gouvernement français à travers le Service de Coopération et d'Action Culturelle de l'ambassade de la République Française au Cameroun pour le financement 959139G qui m'a permis de réaliser une partie de ce travail à l'IPPTS de l'Université de Strasbourg.

Au projet « Yaounde-Bielefeld Graduate School for Natural Products with Antiparasitic and Antibacterial Activities (YaBINaPA, grant no. 57316173) » pour l'appui logistique et financier.

Ils sont nombreux ceux-là qui, par leur simple mot d'encouragement, par une simple pensée positive ont su me porter dans leur cœur pour contribuer par leurs prières à ma réussite. L'omission de leur nom ne saurait être considérée comme un oubli, encore moins comme un mépris. Qu'ils se sentent particulièrement indexés par ce paragraphe et acceptent de ce fait mes sincères remerciements.

SOMMAIRE

LISTE PROTOCOLAIRE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DES SCIENCES.....	i
DEDICACE	xii
REMERCIEMENTS	xiii
SOMMAIRE	xvi
RESUME	xix
ABSTRACT	xxi
LISTE DES ABREVIATIONS	xxiii
LISTE DES TABLEAUX.....	xxv
LISTE DES FIGURES	xxvii
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE	5
I.1- Généralités sur la schistosomiase à <i>Schistosoma mansoni</i>	5
I.1.1- Définition, prévalence et répartition géographique	5
I.1.2- Biologie, description, prévalence et répartition géographique de <i>Schistosoma mansoni</i>	6
I.1.3- Manifestations cliniques de la schistosomiase à <i>Schistosoma mansoni</i>	10
I.1.4- Diagnostic de la Schistosomiase à <i>Schistosoma mansoni</i>	11
I.1.5- Contrôle de la schistosomiase à <i>Schistosoma mansoni</i>	12
I.2- Schistosomiase à <i>Schistosoma mansoni</i> et stress oxydant.....	17
I.2.1- Généralités sur le stress oxydant	17
I.2.2- Déséquilibre de la balance oxydante au cours de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i>	18
I.3- Réponse immunitaire au cours de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i>	20
I.3.1- Généralités sur le système immunitaire	20
I.3.2- Déroulement de la réponse immunitaire au cours de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i>	21
I.3.3- Immunopathologie au cours de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i>	25
I.4- Généralités sur <i>Sida pilosa</i>	34
I.4.1- Systématique de <i>Sida pilosa</i>	34
I.4.2- Botanique et écologie	35
I.4.3- Données ethnopharmacologiques sur <i>Sida pilosa</i>	35
I.4.4- Activités pharmacologiques de quelques extraits et fractions de <i>Sida pilosa</i>	36
I.4.5- Etudes phytochimiques et activités biologiques des composés isolés de <i>Sida pilosa</i>	36
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	38
II.1- Matériel.....	38
II.1.1- Matériel végétal	38

II.1.2- Matériel animal	38
II.2- Méthodes	38
II.2.1- Préparation de l'extrait aqueux des parties aériennes de <i>Sida pilosa</i>	38
II.2.2- Réalisation du cycle expérimental de <i>Schistosoma mansoni</i>	39
II.2.3- Protocole expérimental de l'établissement d'une posologie préventive optimale de praziquantel contre la pathologie à <i>Schistosoma mansoni</i>	40
II.2.4- Protocole expérimental de l'évaluation des activités cercaricide, préventive et immunomodulatrice de l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i> sur la schistosomiase à <i>Schistosoma mansoni</i>	42
II.2.5- Paramètres évalués lors de l'étude des activités préventive et immunomodulatrice du praziquantel et de l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i> sur les phases aiguë et granulomateuse de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i>	44
II.2.6- Evaluation des paramètres parasitologiques des souris infestées à <i>Schistosoma mansoni</i>	48
II.2.7- Evaluation des paramètres hématologiques des souris infestées à <i>Schistosoma mansoni</i>	50
II.2.8- Evaluation des paramètres de la fonction hépatique des souris infestées par <i>Schistosoma mansoni</i>	51
II.2.9- Evaluation des activités antioxydantes <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i>	56
II.2.10- Evaluation de l'efficacité des différents traitements sur la réponse immunitaire des souris infestées par <i>Schistosoma mansoni</i>	64
II.2.11- Analyses histologique du foie, de l'intestin et de la rate des souris infestées par <i>Schistosoma mansoni</i>	81
II.2.12- Analyses statistiques	85
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION.....	86
III.1- Résultats.....	86
III.1.1- Effets du traitement préventif au praziquantel sur l'évolution pondérale des souris infectées par <i>Schistosoma mansoni</i>	86
III.1.2- Effets des différentes posologies de praziquantel sur la survie des souris infectées à <i>Schistosoma mansoni</i>	88
III.1.3- Effets préventifs des différentes posologies de praziquantel sur le poids relatif des organes cibles des souris infestées par <i>Schistosoma mansoni</i>	88
III.1.4- Effets du traitement au praziquantel sur la charge parasitaire et les charges ovulaires fécale, hépatique et intestinale des souris infestées à <i>Schistosoma mansoni</i>	90
III.1.5- Effets du traitement préventif au praziquantel sur les paramètres hématologiques des souris infectées par <i>Schistosoma mansoni</i>	93
III.1.6- Effets du traitement préventif au praziquantel sur la fonction hépatique des souris infectées par <i>Schistosoma mansoni</i>	96
III.1.7- Effets du traitement préventif au praziquantel sur le statut oxydant des souris infectées par <i>Schistosoma mansoni</i>	99

III.1.8- Effets du traitement préventif au praziquantel sur l'histologie et l'histomorphométrie du foie et de l'intestin des souris infectées par <i>Schistosoma mansoni</i>	103
III.1.9- Effets du traitement préventif au praziquantel sur la réponse immunitaire au cours des phases de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i> chez la souris.....	112
III.1.10- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux des parties aériennes de <i>Sida pilosa</i> au cours des différentes phases de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i> ...	120
III.1.11- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i> sur la pathologie induite par de <i>Schistosoma mansoni</i> chez la souris au cours de la phase granulomateuse de l'infection	138
III.2- Discussion	173
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	184
REFERENCES	186
ANNEXES	205
PUBLICATIONS ISSUES DE LA THESE.....	210

RESUME

La schistosomiase est une affection parasitaire causée par des vers plats du genre *Schistosoma*. La morbidité de cette maladie est liée à la présence des œufs du parasite dans les tissus où ils induisent une réaction inflammatoire granulomateuse pouvant évoluer vers une fibrose. L'un des défis majeurs dans la chimiothérapie de la schistosomiase est l'inefficacité du praziquantel (PZQ) lors de la phase initiale de l'infection d'une part et les échecs thérapeutiques conséquents d'autre part. La mise sur pied d'un régime thérapeutique efficace lors du stade initial de l'infection qui protégerait l'hôte vertébré de l'installation de la pathologie s'avère nécessaire. Ce travail a été entrepris afin d'évaluer les activités préventives et immunomodulatrices d'une posologie optimale de praziquantel et de l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* Retz. au cours des phases aiguë et granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris.

Afin de rechercher une posologie optimale de PZQ efficace lors du stade initial de l'infection, des souris infestées à *S. mansoni* ont été réparties en quatre groupes essais recevant par voie orale différentes posologies de PZQ à partir du jour 1 post-infection (*p.i.*). Il s'agissait de 100 mg/kg/jr pendant 5 jours (PZQ1), 100 mg/kg/jr pendant 28 jours (PZQ2), 18 mg/kg/jr pendant 28 jours (PZQ3) et une dose unique de 500 mg/kg (PZQ4). Afin d'évaluer les activités préventive et immunomodulatrice de l'extrait aqueux de *S. pilosa* (EASp) au cours des phases de l'infection à *S. mansoni*, la viabilité des cercaires a été d'une part évaluée avec des concentrations de 31,25 à 1000 µg/mL de EASp pendant 150 min d'incubation à intervalles de temps de 30 minutes. D'autre part, des souris infestées ont été traitées par voie orale à EASp aux doses de 100 et 200 mg/kg. Des groupes témoin sain (TS), témoin négatif (TI), témoin pharmacologique (Tph) et témoin positif correspondant au groupe PZQ3 ont été constitués. Le traitement a débuté le jour 1 *p.i* et s'est achevé le jour 28 *p.i.* Afin d'apprécier les modifications intervenant à la phase aiguë de l'infection, un pool de souris a été sacrifié au 36^{ème} jour *p.i.*, tandis que le second pool de souris sacrifié à 56 jours *p.i* permettait d'évaluer l'efficacité des différents traitements pendant la phase granulomateuse de l'infection. En plus du taux de survie des souris et des charges parasitaire et ovulaire, la biochimie hépatique, le statut oxydant hépatique et splénique, ainsi que l'histomorphométrie du foie et de l'intestin ont été évalués. Le taux sérique et l'expression hépatique des gènes des cytokines pro et anti-inflammatoires, et quelques chimiokines ont été mesurés.

Les résultats de cette étude ont montré que lors des deux phases de l'infection, le traitement préventif au PZQ a entraîné une réduction significative ($p < 0,001$) des charges parasitaire et ovulaires hépatique et intestinale dans les groupes PZQ2 et PZQ3 comparativement au groupe TI. Cette réduction était plus importante dans le groupe PZQ3 que dans les groupes PZQ1 et PZQ4 ($p < 0,001$). Dans ce groupe, le statut oxydant hépatique et splénique, de même que la fonction hépatique étaient préservés. Une réduction

significative ($p < 0,001$) du nombre de granulomes hépatiques et intestinaux a été observée dans les groupes PZQ2 et PZQ3 par comparaison au groupe TI. Pour la réponse immunitaire, le taux sérique des cytokines pro-inflammatoires (IFN- γ et TNF- α) ont significativement diminué au cours des deux phases de l'infection dans les groupes PZQ2 et PZQ3 par rapport au groupe TI, tandis qu'à la phase granulomateuse, ceux des cytokines profibrotiques (IL-13 et FGF-1) étaient dans la limite normale. Dans le groupe PZQ3, les gènes des facteurs immunorégulateurs (IL-10, TGF- β et RANTES) étaient surexprimés comparativement au groupe TI. Un taux de mortalité de 82% a été cependant enregistré dans le groupe PZQ2 alors que dans le groupe PZQ3 aucune mortalité n'a été notée. Ceci a permis de retenir la posologie PZQ3, soit 18 mg/kg/jour pendant 28 jours de PZQ comme la plus efficace. S'agissant de l'effet de l'extrait aqueux de *S. pilosa* sur les cercaires, avec une CL_{50} de 296,11 $\mu\text{g/mL}$ après 150 min d'incubation, EASp a exhibé une activité cercaricide notable. Le traitement préventif par EASp a entraîné une réduction significative ($p < 0,001$) des charges parasitaire et ovulaires hépatique et intestinale aux doses de 100 et 200 mg/kg par rapport au groupe TI au cours des deux phases de l'infection. A la phase granulomateuse de l'infection, le traitement par EASp a significativement maintenu dans les limites normales le statut oxydant hépatique et splénique ainsi que la biochimie hépatique des souris infestées. Le traitement par EASp s'est également traduit par une diminution significative ($p < 0,001$) du nombre et du volume des granulomes dans le foie et l'intestin des souris. Les taux sériques de IFN- γ et de TNF- α sont restés bas dans les groupes EASp₁₀₀ ($p < 0,01$) et EASp₂₀₀ ($p < 0,001$) par rapport au du groupe TI. Une diminution du taux sérique d'IL-13 a été enregistrée dans le groupe EASp₁₀₀ ($p < 0,05$). L'expression des gènes du MIP-1 α et du FGF-1 a été réduit dans les groupes EASp₁₀₀ et EASp₂₀₀ par rapport au groupe TI ($p < 0,001$), tandis que celle de l'IL-10, du TGF- β , du RANTES et du FoxP3, étaient élevées. Aucune différence n'a été observée entre les souris saines (TS) et celles ayant reçu EASp à la dose de 200 mg/kg (TPh), à l'exception du taux de lymphocytes qui était significativement élevé dans le groupe TPh, conférant ainsi à l'extrait des parties aériennes de *S. pilosa* une activité immunostimulante.

Cette étude a donc montré que la posologie de praziquantel de 18 mg/kg/jr pendant 28 jours (PZQ3), de même que l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa*, tous deux administrés dès le stade initial de l'infection protègent l'hôte contre l'installation de la pathologie à *S. mansoni* en préservant les fonctions hépatique, splénique et intestinale, et en modulant la réponse immunitaire antischistosomale.

Mots clés : *Schistosoma mansoni*, fonction hépatique, stress oxydant, inflammation granulomateuse, fibrose, réponse immunitaire, praziquantel, *Sida pilosa*.

ABSTRACT

Schistosomiasis is a parasitic disease caused by flatworms of *Schistosoma* genus. The morbidity related to schistosomiasis is mainly caused by the tissue-embolized eggs laid by adult worms, that induce a granulomatous response which leads to tissue injuries and fibrosis. One of the major challenges of schistosomiasis chemotherapy is the inefficacy of praziquantel (PZQ) at the initial stage of the infection and related therapeutic failures. The establishment of an effective therapeutic regimen during the initial stage of the infection that would protect against the severe pathology became a necessity. Thus, this work was undertaken to evaluate the preventive and immunomodulatory activities of an optimal praziquantel therapeutic regimen and the aqueous extract of *Sida pilosa* Retz. arial parts on the acute and granulomatous phases of *Schistosoma mansoni* infection in mice.

In order to find an optimal effective PZQ therapeutic regimen during the initial stage of infection, *S. mansoni*-infected mice were divided into four groups receiving different PZQ regimens from day 1 post-infection (*p.i*). It was 100 mg/kg/day for five consecutive days (PZQ1), 100 mg/kg/day for 28 days (PZQ2), 18 mg/kg/day for 28 days (PZQ3) and a single dose of 500 mg/kg (PZQ4). In order to evaluate the preventive and immunomodulatory activities of *S. pilosa* aqueous extract (EASp) during the phases of *S. mansoni* infection, its cercaricidal activity was evaluated by monitoring the viability of cercariae incubated with concentrations of EASp (31.25 – 1000 µg/mL) during 150 min. Afterwards, infected mice were treated orally with EASp at the doses of 100 and 200 mg/kg (EASp₁₀₀ and EASp₂₀₀). Healthy control group (TS), Infected-untreated group (TI), pharmacological control group (TPh) and reference control group corresponding to PZQ3 were formed. The treatment started on day 1 *p.i* and ended on day 28 *p.i*. In order to assess the modifications occurring in the acute phase of the infection, a pool of mice was sacrificed on the 36th day *p.i*, while the second pool of mice sacrificed at 56th days *p.i* allowed to evaluate the effectiveness of different treatments during the granulomatous phase of the infection. In addition to the mortality rate, parasitological burden, liver function tests, hepatic and splenic oxidative status as well as the histopathological analysis of the liver and the intestine were evaluated. The serum levels and the hepatic expression of genes of pro and anti-inflammatory cytokines and chemokines were also measured.

The results of this study showed that during the acute and granulomatous phases of the infection, treatment with PZQ led to a significant reduction ($p < 0.001$) of the worm burden and the hepatic and intestinal eggs loads in PZQ2 and PZQ3 groups in comparison to TI group. This reduction was greater in the PZQ3 group ($p < 0.001$) than in the PZQ1 and PZQ4 groups. Interestingly, in PZQ3 group, the hepatic and splenic oxidative status as well as hepatic function parameters were preserved. A significant reduction ($p < 0.001$) of the granulomas number and volume was observed in PZQ2 and PZQ3 groups in comparison to TI group. Regarding the immune response, the serum levels of pro-inflammatory cytokines

(IFN- γ and TNF- α) were significantly decreased at both infection phases in PZQ2 and PZQ3 groups in comparison to TI group, while during the granulomatous phase, the serum level and the genes expression of profibrotic cytokines (IL-13 and FGF-1) were normalized in PZQ2 and PZQ3 groups. In PZQ3 group, the genes of the immunoregulatory factors (IL-10, TGF- β and RANTES) were overexpressed in comparison to those of TI group. Interestingly, a mortality rate of 82% was recorded in the PZQ2 group in contrast to the PZQ3 group where no mortality was noted. These results allowed us to select the PZQ regimen of 18 mg/kg/day for 28 consecutive days as the most effective one. Regarding the effect of *S. pilosa* aqueous extract *S. mansoni* cercariae, with a LC₅₀ of 296.11 μ g/mL after 150 min of incubation, EASp exhibited a significant cercaricidal activity. In addition, the preventive treatment with EASp at doses of 100 and 200 mg/kg led to a significant reduction ($p < 0.001$) of the worm burden and the hepatic and intestinal eggs loads at both phases in comparison to TI group. The treatment of infected mice with EASp has significantly maintained the liver and spleen oxidative status and the hepatic biochemical parameters in normal ranges. The treatment with EASp also resulted to a reduction ($p < 0.001$) of the granulomas number and volume in the liver and intestine of infected mice. Similarly, the serum levels of INF- γ and TNF- α remained significantly lower in EASp₁₀₀ ($p < 0.01$) and EASp₂₀₀ ($p < 0.001$) groups in comparison to those of the TI group. A reduction of the serum level IL-13 was recorded in EASp₁₀₀ group ($p < 0.05$). In addition, the genes expression of MIP-1 α and FGF-1 was significantly reduced ($p < 0.001$) in the mice's liver of EASp₁₀₀ and EASp₂₀₀ groups in comparison to those of TI group, while the liver gene expression of IL-10, TGF- β , RANTES and FoxP3 was increased. Finally, no difference was observed between healthy control group (TS) and the pharmacological control group, except the lymphocyte count, which was significantly high ($p < 0.001$) in the TPh group, suggesting a potential immunostimulatory activity of the aqueous extract of *S. pilosa*.

This study revealed that the praziquantel regimen of 18 mg/kg/day for 28 days (PZQ3) as well as the aqueous extract of *S. pilosa* aerial parts administered at the early stage of the *S. mansoni* infection protect the host against *S. mansoni* pathology by preserving the hepatic, splenic and intestinal function and by modulating the immune response during *S. mansoni* infection.

Keywords : *Schistosoma mansoni*, hepatic function, oxidative stress, granulomatous inflammation, fibrosis, immune response, praziquantel, *Sida pilosa*.

LISTE DES ABREVIATIONS

ADNc	: acide désoxyribonucléique complémentaire
ARN	: acide ribonucléique
CAT	: catalase
CCA	: “circulating cathodic antigen”
CCL11/eotaxin-1	: “chemokine (C – C motif) ligand 11”
CCL12 / MCP-5	: “monocyte chemoattractant protein-5”
CCL2 / MCP-1	: “monocyte chemoattractant protein-1”
CCL22 / MDC	: “macrophage-derived chemokine”
CCL24/eotaxin-2	: “chemokine (C – C motif) ligand 24”
CCL3 / MIP-1 α	: “macrophage inflammatory protein 1 α ”
CCL5 / RANTES	: “regulated on activation, normal T cell expressed and secreted”
CCL7 / MCP-3	: “monocyte chemoattractant protein-3”
CCR2	: “chemokine (C – C motif) receptor 2”
CD4	: “cluster of differentiation 4”
CD25	: “cluster of differentiation 25”
CD8	: “cluster of differentiation 8”
CE ₅₀	: concentration efficace 50
CL ₅₀	: concentration létale 50
CXCL10	: “C-X-C motif chemokine ligand-10”
DMEM	: “Dulbecco’s Modified Eagle’s Medium”
DMSO	: diméthyl sulfoxyde
DPPH	: “2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl”
EDTA	: “ethylenediaminetetraacetic acid”
ERs	: espèces réactives
FGF	: “fibroblast growth factor”
FoxP3	: forkhead box protein 3
FRAP	: “ferric reducing antioxidant power”
GAPDH	: glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase
GSH	: glutathione réduit
IFN- γ	: interféron gamma
IL	: interleukine

IP-10	: “Interferon- γ inducible protein”
MDA	: malondialdéhyde
MINSANTE	: Ministère de la Santé Publique
MIP-1 α	: Macrophage inflammatory protein 1 α
MEC	: “Matrix extracellular components”
MMPs	: “matrix-metalloproteinases”
NADPH	: nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
RANTES	: “Regulated on Activation Normal T-cell Expressed and Secreted”
RT-qPCR	: “Real time quantitative polymerase chain reaction”
PZQ	: praziquantel
SEA	: “schistosome egg antigen / soluble egg antigen”
Sm20	: “20-kilodalton calcium-binding protein of <i>S. mansoni</i> ”
SOD	: superoxyde dismutase
TBARS	: “thiobarbituric acid reactive substances”
TGF- β	: “transforming growth factor beta”
TIMPs	: “tissue inhibitor of metalloproteinases”
TLRs	: “Toll-like receptors”
TNF- α	: “tumour necrosis factor alpha”
WHO	: “World Health Organization”

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Liste de quelques composés isolés de <i>Sida pilosa</i> et leurs activités biologiques	37
Tableau II : Répartition et traitement des souris pour l'évaluation de l'activité préventive du praziquantel sur les phases aiguë et granulomateuse de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i>	41
Tableau III: Répartition et traitement des souris pour l'évaluation du traitement de l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i> sur les phases aiguë et granulomateuse de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i>	44
Tableau IV : Protocole de réalisation des courbes d'étalonnage des dosages des transaminases.	52
Tableau V : Protocole de dosage de la bilirubine totale.....	53
Tableau VI: Protocole de dosage des protéines totales	55
Tableau VII: Protocole de dosage des nitrites	57
Tableau VIII : Protocole de réalisation de la courbe d'étalonnage de la catalase	59
Tableau IX: Liste des amorces utilisées pour la mesure de l'expression des différents gènes testés	73
Tableau X : Protocole de préparation de la solution de travail pour la l'amplification par PCR	74
Tableau XI: Cycle d'amplification pour les différents gènes évalués	74
Tableau XII : Caractéristiques des gènes ayant servi à l'élaboration des courbes standards.	78
Tableau XIII: Poids relatifs des organes cibles des souris infestées à <i>Schistosoma mansoni</i> après le traitement par différentes posologies de praziquantel.	90
Tableau XIV: Effets du traitement préventif au praziquantel sur les paramètres hématimétriques des souris infectées par <i>Schistosoma mansoni</i>	94
Tableau XV: Effets du traitement préventif au praziquantel sur la formule leucocytaire des souris infectées par <i>Schistosoma mansoni</i>	96
Tableau XVI: Effets du traitement préventif au praziquantel sur les paramètres de la fonction hépatique des souris infectées par <i>Schistosoma mansoni</i>	98
Tableau XVII : Concentration léthale 50 (CL ₅₀) de l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i> sur les cercaires de <i>Schistosoma mansoni</i>	121
Tableau XVIII: Poids relatifs du foie, de l'intestin de la rate et du thymus	123

Tableau XIX: Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i> sur les paramètres hématimétriques et le taux de thrombocytes lors de la phase aiguë de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i> chez la souris.....	126
Tableau XX: Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i> sur quelques paramètres de la fonction hépatique au cours de la phase aiguë de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i> chez la souris.....	130
Tableau XXI : Poids relatifs du foie, de l'intestin, de la rate et du thymus au cours de la phase granulomateuse de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i>	140
Tableau XXII : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i> sur les paramètres hématimétriques et le taux de thrombocytes lors de la phase granulomateuse de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i> chez la souris.....	144
Tableau XXIII: Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i> sur le leucogramme lors de la phase granulomateuse de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i> chez la souris.	146
Tableau XXIV : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i> sur des biomarqueurs de la fonction hépatique des souris infectées par <i>Schistosoma mansoni</i> lors de la phase granulomateuse de l'infection.	148
Tableau XXV: Concentration efficace 50 (CE50) de l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i>	154

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Distribution mondiale des espèces de schistosomes pathogènes à l'Homme...6	6
Figure 2 : Cycle biologique des schistosomes.....10	10
Figure 3 : Evolution du traitement de la schistosomiase.....14	14
Figure 4 : Mécanismes de production des espèces réactives au cours de l'infection induite par la schistosomiase.19	19
Figure 5 : profil de la réponse immunitaire au cours de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i>23	23
Figure 6 : Différents types cellulaires, cytokines, chimiokines et anticorps au cours de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i>24	24
Figure 7 : Composition des granulomes bilharziens hépatique et intestinal.....29	29
Figure 8 : Mécanisme de fibrogénèse et régulation par les macrophages.....30	30
Figure 9 : Mécanisme de fibrogénèse et régulation de la fibrose au cours de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i>31	31
Figure 10 : Médiateurs majeurs impliqués dans le développement et la régulation de la réaction granulomateuse dans le foie.....34	34
Figure 11 : Parties aériennes de <i>Sida pilosa</i> Retz35	35
Figure 12 : Protocole de préparation de l'extrait aqueux des parties aériennes de <i>Sida pilosa</i>39	39
Figure 13 : schéma synoptique de la méthodologie d'étude.46	46
Figure 14 : Courbes d'étalonnage de l'activité enzymatique des transaminases.52	52
Figure 15 : Courbe d'étalonnage des protéines.....56	56
Figure 16 : Courbe d'étalonnage des nitrites.58	58
Figure 17 : Courbe d'étalonnage de l'activité de la catalase.60	60
Figure 18 : Schéma du protocole de dosage par la technique Luminex.....65	65
Figure 19 : Procédure de dilution des antigènes standards.....66	66
Figure 20 : Courbes standards des différents médiateurs de type Th1 (A), Th2 et Th17 (B) et immunorégulateurs (C).70	70
Figure 21 : Schéma de la procédure de la mesure de l'expression des gènes par la technique de RT-qPCR.....71	71
Figure 22 : Révélation par migration sur gel d'agarose des différents gènes.....76	76
Figure 23 : Courbes standards pour la mesure de l'expression des gènes des cytokines et du GAPDH (A) et des chimiokines et du FoxP3 (B).80	80

Figure 24 : Evolution pondérale des souris lors des phases aiguë (A) et granulomateuse (B) de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i> après traitement au praziquantel. ..	87
Figure 25 : Taux de survie des souris ayant reçu différentes posologies de praziquantel.	88
Figure 26 : Effets préventifs du praziquantel sur la charge parasitaire(A) et les charges ovulaires hépatique (B), intestinales (C) et fécales (D) chez les souris au terme de la phase aiguë (I) ou granulomateuse (II) de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i>	92
Figure 27 : Effets du traitement préventif au praziquantel sur le statut oxydant hépatique au cours des phases aiguë (I) et granulomateuse (II) de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i> chez la souris.	100
Figure 28 : Effets du traitement préventif au praziquantel sur le statut oxydant au niveau de la rate au cours des phases aiguë (I) et granulomateuse (II) de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i> chez la souris.....	102
Figure 29 : Effets du traitement préventif au praziquantel sur des coupes de foie colorées à l'hématoxyline-éosine.	104
Figure 30 : Effets du traitement préventif au praziquantel sur des coupes de foie colorées au picrosirius.....	105
Figure 31 : Effets du traitement préventif au praziquantel sur le nombre (A) et le volume (B) de granulomes au niveau du foie des souris infestées par <i>Schistosoma mansoni</i>	106
Figure 32 : Effets du traitement préventif au praziquantel sur des coupes d'iléon colorées à l'hématoxyline-éosine.	108
Figure 33 : Effets du traitement préventif au praziquantel sur des coupes d'iléon colorées au picrosirius.....	109
Figure 34 : Effets du traitement préventif au praziquantel sur le nombre (A) et le volume (B) des granulomes intestinaux ainsi que l'épaisseur de la musculature au niveau de l'iléon des souris infestées à <i>Schistosoma mansoni</i>	111
Figure 35 : Effets du traitement préventif au praziquantel sur les taux sériques des cytokines et d'une chimiokine au cours de la phase aiguë de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i> chez la souris.	113
Figure 36 : Effets du traitement préventif au praziquantel sur l'expression des gènes des cytokines et chimiokines au cours de la phase aiguë de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i> chez la souris.....	115

Figure 37 : Effets du traitement préventif au praziquantel sur les taux sériques des cytokines et d'une chimiokine au cours de la phase granulomateuse de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i> chez la souris.....	117
Figure 38 : Effets du traitement préventif au praziquantel sur l'expression des gènes des cytokines et chimiokines au cours de la phase granulomateuse de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i> chez la souris.....	119
Figure 39 : Profil de viabilité cercarienne (A) et activité cercaricide (B) de l'extrait aqueux des parties aériennes de <i>Sida pilosa</i>	121
Figure 40 : Evolution pondérale des souris traitées par l'extrait aqueux des parties aériennes de <i>Sida pilosa</i> au cours de la phase aiguë de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i>	122
Figure 41 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i> sur la charge parasitaire (A) et les charges ovulaires hépatique (B), intestinale (C) et fécale (D) chez les souris au cours de la phase aiguë de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i>	124
Figure 42 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i> sur quelques biomarqueurs du stress oxydant hépatique chez la souris au cours de la phase aiguë de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i>	132
Figure 43 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i> sur quelques biomarqueurs du stress oxydant splénique chez la souris au cours de la phase aiguë de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i>	133
Figure 44 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i> sur les taux sériques des cytokines et d'une chimiokine au cours de la phase aiguë de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i> chez la souris.....	135
Figure 45 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i> sur l'expression des gènes de quelques cytokines et chimiokines au cours de la phase aiguë de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i> chez la souris.....	137
Figure 46 : Evolution pondérale des souris ayant reçu un traitement préventif de l'extrait aqueux des parties aériennes de <i>Sida pilosa</i> au cours de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i>	139
Figure 47 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i> sur la charge parasitaire (A) et les charges ovulaires hépatique (B), intestinale (C) et fécale (D) des souris au cours de la phase granulomateuse de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i>	142

Figure 48 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i> sur le stress oxydant hépatique au cours de la phase granulomateuse de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i>	150
Figure 49 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i> sur le statut oxydant splénique lors de la phase granulomateuse de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i>	152
Figure 50 : Activité antioxydante <i>in vitro</i> de l'extrait aqueux des parties aériennes de <i>Sida pilosa</i>	153
Figure 51 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i> sur des coupes de foie de souris colorées à l'hématoxyline-éosine lors de la phase granulomateuse de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i>	155
Figure 52 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i> sur des coupes de foie de souris colorées au picrosirius lors de la phase granulomateuse de l'infection à <i>Schistosoma mansoni</i>	156
Figure 53 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux <i>Sida pilosa</i> sur le nombre (A) et le volume (B) de granulomes bilharziens hépatiques des souris infestées par <i>Schistosoma mansoni</i>	157
Figure 54 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i> sur des coupes d'iléon colorées à l'hématoxyline-éosine.	159
Figure 55 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i> sur des coupes d'iléon colorées au picrosirius.....	160
Figure 56 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i> sur le nombre (A) et le volume (B) de granulomes bilharziens intestinaux ainsi que l'épaisseur de la musculature (C) au niveau de l'iléon des souris infestées à <i>Schistosoma mansoni</i>	162
Figure 57 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i> sur la viabilité des œufs dans les granulomes hépatiques des souris infestées à <i>Schistosoma mansoni</i>	164
Figure 58 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i> sur la viabilité des œufs dans les granulomes iléaux des souris infestées à <i>Schistosoma mansoni</i>	165
Figure 59 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de <i>Sida pilosa</i> sur la dégradation des hématies au niveau de la rate des souris infestées par <i>Schistosoma mansoni</i> au cours de la phase granulomateuse de l'infection.	166

- Figure 60** : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur les taux sériques des cytokines et d'une chimiokine au cours de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris..... 169
- Figure 61** : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur l'expression des gènes des cytokines et chimiokines au cours de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris..... 172

INTRODUCTION

La schistosomiase ou bilharziose est une maladie parasitaire causée par des vers hémato-phages du genre *Schistosoma* appartenant à la classe des Trématodes et à l'embranchement des Plathelminthes. L'infestation a lieu lorsque les larves infestantes appelées cercaires, libérées par l'hôte intermédiaire un gastéropode d'eau douce, pénètrent dans l'organisme à travers la peau de l'hôte définitif (vertébré) lors du contact de ce dernier avec une eau contaminée par ces larves. Le genre *Schistosoma* comporte 19 espèces parmi lesquels 6 sont pathogènes pour l'Homme ; Il s'agit de *Schistosoma japonicum*, *S. intercalatum*, *S. guineensis*, *S. mekongi*, *S. haematobium* et *S. mansoni*. Ces deux dernières sont les espèces les plus retrouvées dans les cas de schistosomiase humaine (WHO, 2013). A l'exception de *S. haematobium* responsable de la schistosomiase urogénitale, les autres espèces suscitées sont à l'origine des formes intestinales et sont responsables de la schistosomiase hépatosplénique (Ross *et al.*, 2002; Gryseels *et al.*, 2006; Chuah *et al.*, 2014). La distinction entre ces espèces dépend de leur structure moléculaire, leur site de ponte des œufs par les vers femelles, la morphologie de leurs œufs ainsi que les symptômes de la pathologie associée et l'espèce du mollusque hôte intermédiaire (Gryseels *et al.*, 2006).

La bilharziose est une endémie majeure et constitue un réel problème de santé publique dans les pays situés dans les régions tropicales et subtropicales. Elle est classée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) au second rang mondial des maladies parasitaires, après le paludisme et au premier rang de celles transmises par l'eau. La transmission de l'affection est pérennisée par le mode de vie des habitants des pays tropicaux. D'après l'OMS, la transmission de la schistosomiase a été rapportée dans 78 pays et le nombre de personnes qui nécessitaient un traitement préventif contre la schistosomiase en 2019 était estimé à plus de 236 millions avec plus de 90 % vivant en Afrique. De plus, on estime que cette serait responsable de plus de 200 000 décès par an en Afrique sub-saharienne (WHO, 2022). Au Cameroun, D'après le rapport du Programme National de Lutte contre la Schistosomiase et les Helminthiases Intestinales (PNLSHI), plus de 7 millions d'enfants ont été traités contre la schistosomiase en 2019 (NPCSHI, 2020).

La morbidité attribuée à la schistosomiase est principalement causée par les œufs du parasite qui, piégés dans les tissus de l'hôte sont à l'origine d'une réaction inflammatoire aboutissant à la formation d'un granulome bilharzien qui pourrait faire place à une fibrose tissulaire (Burke *et al.*, 2009; Colley *et al.*, 2014). En effet, ce granulome est initialement composé de macrophages, d'éosinophiles, de neutrophiles et de lymphocytes T et B auxquels s'ajoutent progressivement les fibroblastes à l'origine de la fibrogénèse par activation de la sécrétion du collagène et des protéines de la matrice extracellulaire (Pearce

and MacDonald, 2002; Burke *et al.*, 2009; McManus *et al.*, 2020). De plus, l'action des cellules inflammatoires constitutives du granulome bilharzien entraîne une libération importante d'espèces réactives de l'oxygène à l'origine du déséquilibre de la balance oxydante et d'un affaiblissement des défenses antioxydantes (Rizk *et al.*, 2012; Jatsa *et al.*, 2018a, 2019a). L'infection à *Schistosoma* comporte principalement trois phases. Premièrement, une phase aiguë qui correspond à la pénétration cercarienne, la croissance du schistosomule, la migration et la maturation du parasite. Au cours de cette phase, les symptômes ne sont généralement observés que lors du premier contact avec le parasite. Ensuite, une phase active ou granulomateuse qui est principalement liée à la ponte des œufs du parasite et à leur piégeage au niveau tissulaire, aboutissant à la formation d'un granulome inflammatoire. Enfin, une phase chronique caractérisée entre autres par une hépatomégalie associée à une splénomégalie, une hypertension portale, une fibrose périportale et le développement d'une ascite (Pearce and MacDonald, 2002; Hams *et al.*, 2013; Colley *et al.*, 2014; McManus *et al.*, 2018). La réponse immunitaire antischistosomale principalement médiée par les lymphocytes TCD4⁺, varie en fonction des phases de l'infection. Ainsi, pendant la phase aiguë, nous avons une réponse prédominante de type T-helper 1 (Th1), avec la production des cytokines pro-inflammatoires telles que le « Tumor Necrosis Factor-alpha » (TNF- α), l'interféron-gamma (IFN- γ), les interleukines (IL)-1 et 6 et le « Macrophage Inflammatory Protein » (MIP)-1 α . La phase active quant à elle est caractérisée par une réponse de type Th-2 sous l'action des IL-4, IL-5 et IL-13 (Pearce and MacDonald, 2002; Burke *et al.*, 2009; McManus *et al.*, 2018; 2020). En absence de traitement ou lorsque les capacités de défense du système immunitaire sont dépassées, la réponse de type Th2 est inhibée et la pathologie passe dans sa phase chronique. La réaction inflammatoire granulomateuse autour des œufs du parasite nouvellement piégés est alors moins marquée (Pearce and MacDonald, 2002; Burke *et al.*, 2009; Hams *et al.*, 2013).

La lutte contre la schistosomiase implique plusieurs composantes à savoir la lutte anti-vectorielle, l'éducation sanitaire et la chimiothérapie qui reste la méthode la plus utilisée par les programmes de lutte contre la schistosomiase afin de réduire la morbidité liée à cette pathologie (WHO, 2013; 2021). S'agissant de cette chimiothérapie, après plus de 40 ans d'utilisation, le praziquantel (PZQ) reste le médicament de choix pour le traitement de la schistosomiase. Ses bons niveaux de tolérance et d'innocuité, son excellente acceptabilité par les patients, sa facilité d'administration à dose unique ou en cure très courte, son bon profil d'efficacité contre les vers adultes de toutes les espèces de schistosome parasitant l'Homme et son faible coût ont conduit à sa large utilisation (Thétiot-Laurent *et al.*, 2013;

Abdel *et al.*, 2018; Xiao *et al.*, 2018). Cependant, malgré les efforts pour lutter contre cette maladie, sa morbidité et sa mortalité sont encore importantes dans les régions endémiques. L'un des défis majeurs de la chimiothérapie de la schistosomiase est l'inefficacité du traitement à la phase initiale de la maladie (Vimieiro *et al.*, 2013). Plusieurs travaux ont permis de démontrer qu'au stade initial de leur développement, les vers immatures de *S. mansoni* sont moins sensibles à l'action schistosomicide du PZQ (Xiao *et al.*, 1985; Sabah *et al.*, 1986; Silva *et al.*, 2003; Pica-Mattoccia and Cioli, 2004). Des résultats similaires ont été également obtenus avec cinq médicaments à activité schistosomicide utilisés aux doses curatives contre les vers adultes. Il s'agissait de l'hycanphone, l'oxamniquine, le niridazol, l'amoscanate et l'artésunate (Botros *et al.*, 2005; Grandière-Pérez *et al.*, 2006). La mise sur pieds d'une posologie thérapeutique de PZQ lors du stade initial de l'infection serait un avantage indéniable pour la lutte contre la morbidité, car elle empêcherait la production d'œufs et, par conséquent, la sévérité de la pathologie consécutive à la réaction inflammatoire granulomateuse.

La dépendance au praziquantel à l'origine de son utilisation intensive pourrait par ailleurs conduire à un risque de résistance de certaines souches de schistosomes au traitement et à une augmentation du niveau de tolérance du parasite vis-à-vis de la molécule (Araujo *et al.*, 1996; Ismail *et al.*, 1999; Silva *et al.*, 2003; Doenhoff *et al.*, 2008; Melman *et al.*, 2009). Plusieurs travaux ont ainsi rapporté des échecs thérapeutiques à la suite du traitement au PZQ (Da Silva *et al.*, 2005; Alonso *et al.*, 2006; Praticò *et al.*, 2014). A tout cela s'ajoute le problème de réinfestation des individus vivant en zone endémique et l'absence de vaccin contre la schistosomiase. Face à cela, une stratégie préventive et alternative à la chimiothérapie conventionnelle offrirait une meilleure perspective de contrôle efficace et durable de la schistosomiase. La phytothérapie étant de nos jours considérée comme une source importante de molécules à visée thérapeutique, plusieurs groupes de recherche ont porté leur intérêt sur des plantes médicinales pour la recherche de leur activité antischistosomale. C'est entre autres le cas de *Allium cepa* et *Allium sativum* (Mona *et al.*, 2011; Mantawy *et al.*, 2012; Metwalley, 2015; Muema *et al.*, 2015; Wan *et al.*, 2017), *Clerodendrum umbellatum* (Jatsa *et al.*, 2009a; 2015a; Kenfack *et al.*, 2020), *Nigella sativa* (Salem, 2005; El Shenawy *et al.*, 2008; Sheir *et al.*, 2015), *Zingiber officinale* (Mostafa *et al.*, 2011; 2012; Aly *et al.*, 2013), *Ozoroa pulcherrima* (Jatsa *et al.*, 2018b; 2019a; 2019b; Feussom *et al.*, 2020) dont l'activité schistosomicide a été démontrée *in vitro* et/ou *in vivo*. C'est dans cette même optique que notre choix a été porté sur *Sida pilosa*, plante de la famille des Malvaceae. Dans la pharmacopée traditionnelle, il est recommandé, pour le traitement des helminthiases intestinales, de laisser macérer la plante entière de *Sida pilosa*

dans l'eau et de boire le macérat aussi souvent que possible jusqu'à la guérison (Adjanooun *et al.*, 1996). Des travaux antérieurs ont permis de montrer, l'activité antischistosomale *in vivo* et l'innocuité de l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* par réduction des charges parasitaire et ovulaire ainsi que la diminution de l'hépatosplénomégalie induit par l'infection à *S. mansoni* (Jatsa *et al.*, 2009b). L'activité schistosomicide *in vitro* de cet extrait aqueux ainsi que de ses fractions a également été mise en évidence sur les vers adultes de *S. mansoni* en culture (Jatsa *et al.*, 2015b). Plus récemment, Jatsa *et al.* (2016, 2018a) ont démontré les activités antioxydante et anti-inflammatoire de cet extrait après un traitement curatif sur un modèle murin de l'infection à *S. mansoni*. Ces études ont permis de démontrer que cet extrait agit en inhibant la peroxydation lipidique et en augmentant la production d'antioxydants nommément la catalase et le glutathion réduit d'une part. D'autre part, le traitement à l'extrait aqueux de *Sida pilosa* a entraîné une inhibition du recrutement intensif des neutrophiles et des éosinophiles au niveau des foyers granulomateux inflammatoire chez les animaux infestés par *S. mansoni*. Ceci suggère une possible activité immunomodulatrice de l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* au cours de l'infection à *S. mansoni*.

Cette étude a été entreprise pour évaluer les activités préventives et immunomodulatrices d'une posologie optimale de praziquantel et de l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* Retz (Malvaceae) au cours des phases aiguë et granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris BALB/c.

Spécifiquement, il s'est agi de :

- établir une posologie optimale de praziquantel efficace sur la croissance et la maturation du parasite lors de l'infection à *S. mansoni* chez la souris ;
- ressortir l'impact des différentes posologies de praziquantel sur la réponse immunitaire au cours de l'infection à *S. mansoni* chez la souris ;
- apprécier les effets de l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* sur la croissance et la maturation du parasite, ainsi que sur l'installation de la pathologie à *S. mansoni* chez la souris ;
- montrer l'impact du traitement préventif à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* sur la réponse immunitaire au cours de l'infection à *S. mansoni* chez la souris.

CHAPITRE I

REVUE DE LA LITTERATURE

I.1- Généralités sur la schistosomiase à *Schistosoma mansoni*

I.1.1- Définition, prévalence et répartition géographique

I.1.1.1- Définition

La schistosomiase ou bilharziose ou schistosomose est une maladie parasitaire à transmission urinaire ou fécale causés par des vers plats appelés schistosomes, faisant intervenir des hôtes intermédiaires qui sont des mollusques d'eau douce, et dont la symptomatologie est le reflet des lésions provoquées par la migration ou l'embolisation des œufs (Aubry and Gaüzère, 2021).

I.1.1.2- Prévalence et répartition de la schistosomiase

La schistosomiase représente la seconde endémie parasitaire mondiale après le paludisme. Elle figure sur la liste des maladies tropicales négligées et d'après le dernier rapport publié par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), on estime à plus de 236 millions, le nombre de personnes ayant eu recours à la chimiothérapie préventive contre la schistosomiase en 2019 dans le monde, avec plus de 90% en Afrique (WHO, 2022). Au Cameroun, le Programme National de lutte contre la Schistosomiase et les Helminthiases Intestinales (PNLSHI) rapporte que plus de 7 millions d'enfants, répartis dans 7 régions sur 10, ont été traités contre la schistosomiase en 2019 (NPCSHI, 2020).

Il existe six espèces de schistosome pathogènes à l'Homme réparties dans 78 pays dans le monde. Il s'agit de *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium*, *S. japonicum*, *S. intercalatum*, *S. guineensis* et *S. mekongi* (WHO, 2022). Les espèces *S. mansoni* et *S. haematobium* sont les plus rencontrées dans les cas de schistosomiase humaine. *S. japonicum* est strictement asiatique, avec des foyers en Chine, aux Philippines et en Indonésie. *S. mekongi* se limite en Thaïlande, au Laos et au Cambodge. L'aire de répartition de *S. haematobium* et *S. mansoni* couvre l'Afrique, le Proche et le Moyen Orient. *S. mansoni* est la seule espèce rencontrée en Amérique du Sud. *S. intercalatum* et *S. guineensis* se retrouvent en Afrique uniquement (**Figure 1**).

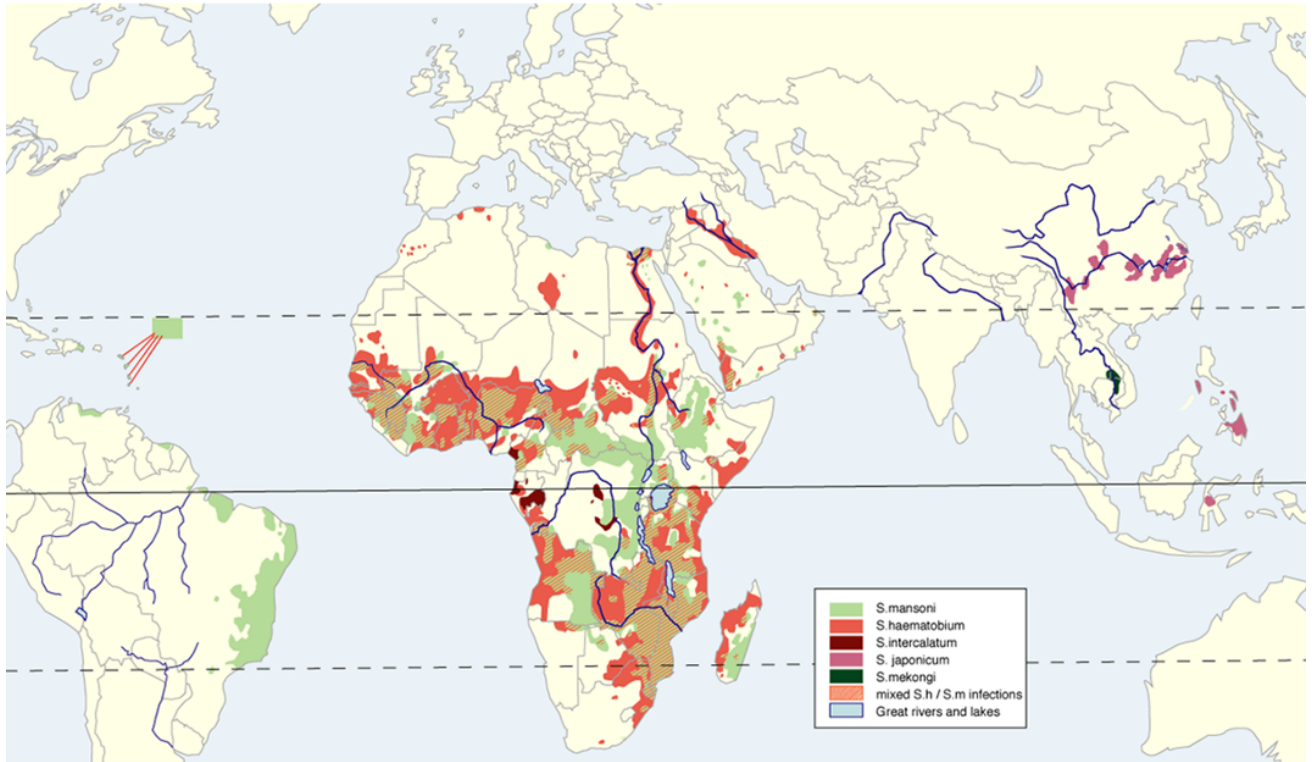


Figure 1 : Distribution mondiale des espèces de schistosomes pathogènes à l'Homme. (source : <https://www.itg.be/F/Article/schistosomiase>).

I.1.2- Biologie, description, prévalence et répartition géographique de *Schistosoma mansoni*

I.1.2.1- Taxonomie

Selon la classification des helminthes (Olson *et al.*, 2003), *S. mansoni* a la position taxonomique suivante :

Embranchement	: Plathelminthes (Gegenbauer, 1859) ;
Classe	: Trématodes (Rudolphi, 1808) ;
Sous-classe	: Digenea (Carus, 1863) ;
Ordre	: Strigeatida (La Rue, 1926) ;
Sous-ordre	: Strigeata (La Rue, 1926) ;
Super-famille	: Schistosomatoidea (Stiles and Hassal, 1898) ;
Famille	: Schistosomatidae (Stiles and Hassal, 1898) ;
Sous-famille	: Schistosomatinae (Stiles and Hassal, 1898) ;
Genre	: <i>Schistosoma</i> (Weiland, 1858) ;
Espèce	: <i>Schistosoma mansoni</i> (Sambon, 1907).

I.1.2.2- Description de *Schistosoma mansoni*

Le ver mâle est blanc et mesure 10 mm à 15 mm de long sur 1mm de large. Il possède 8 testicules et le corps plat qui paraît cylindrique par suite de l'enroulement de ses bords et délimitent ainsi un canal (le canal gynécophore), dans lequel la femelle est logée. La femelle

est cylindrique et plus longue que le mâle. Elle mesure de 15 à 29 mm de long et sa largeur augmente régulièrement d'avant en arrière (de 0,1mm en avant à 0,2mm en arrière). La couleur noire de son intestin, facile à voir par transparence, lui donne une teinte foncée. Il existe dans les deux sexes deux ventouses :

- une ventouse orale qui s'ouvre dans l'œsophage et qui se dédouble ensuite en deux branches intestinales. Ces deux branches se soudent en un caecum unique.
- une ventouse ventrale qui joue le rôle d'organe de fixation.

La femelle pond environ 300 œufs par jour. Ces œufs mesurent environ 150 µm de longueur et 60µm de large et possèdent un éperon latéral qui caractérise l'espèce (Aubry and Gaüzère, 2021).

I.1.2.3- Cycle biologique de *Schistosoma mansoni*

Le schistosome se développe au cours d'un cycle dixène et gonochorique. Pour son développement, le schistosome utilise donc un hôte intermédiaire qui est un mollusque d'eau douce, chez lequel s'effectue la multiplication asexuée et un hôte définitif, un vertébré, chez lequel se déroule la reproduction sexuée (**Figure 2**).

I.1.2.3.1- Développement de *Schistosoma mansoni* chez l'hôte intermédiaire

Les hôtes intermédiaires de *S. mansoni* sont des gastéropodes d'eau douce du genre *Biomphalaria*. En Afrique, on retrouve les espèces *Biomphalaria pfeifferi* Krauss, *B. camerunensis* Boettger, *B. alexandrina* Ehrenberg tandis qu'en Amérique du Sud nous avons *B. glabrata* Say, *B. tenagophila* Orbigny et *B. straminea* Dunker (Barbosa *et al.*, 2008).

Une fois rejetés à l'extérieur avec les matières fécales d'individus infectés, les œufs de *S. mansoni* tombent dans l'eau douce **(1)** et subissent l'influence de la faible osmolarité du milieu, de la lumière et de la température ambiante. Ces modifications photochimiques provoquent d'intenses mouvements de la larve et la rupture de la coque de l'œuf, conduisant ainsi à l'éclosion du miracidium à des températures optimales comprises entre 10°C et 37°C **(2)**. Le miracidium dont la durée de vie est d'environ huit heures, nage activement et se fixe au tégument du mollusque par son rostre, puis grâce aux mouvements contractiles et l'action d'enzymes protéolytiques, le miracidium pénètre dans le mollusque en une dizaine de minutes et abandonne son revêtement cilié **(3)**. Les points de pénétration préférentiels sont les tentacules et le pied (Ross *et al.*, 2002; Barbosa *et al.*, 2008). Le miracidium subit ensuite des modifications morphologiques qui conduisent en 72 heures au sporocyste de première génération ou sporocyste I. A l'intérieur de ce dernier vont bourgeonner des cellules germinatives, ce qui aboutira à l'obtention des sporocystes de seconde génération ou sporocystes II après deux semaines post-infestation dans les conditions optimales de

température (entre 25°C et 28°C). Ces sporocystes II ont la particularité qu'ils peuvent bourgeonner en une ou même plusieurs générations de sporocystes de troisième génération ou sporocystes III (4) ; ce qui accroît considérablement la production cercarienne des mollusques parasités. Ces sporocystes III vont migrer dans l'hépatopancréas, puis dans les espaces intertubulaires de la glande digestive où ils vont subir de profondes modifications anatomiques pour donner les furcocercaires (5), formes infestantes du parasite. Le sexe des schistosomes est déterminé dans le miracidium et par conséquent chaque sporocyste ne donnera en fin de cycle que des cercaires de même sexe. Ces cercaires vont s'échapper du mollusque pour le milieu aquatique et cette émission cercarienne se fait sous l'influence de facteurs externes comme la lumière et la température et le pic d'émission cercarienne est atteint lors des périodes les plus chaudes de la journée (entre 10h et 14h). La multiplication intense du parasite à l'intérieur du mollusque est considérable : un miracidium peut produire environ 300 000 cercaires. Dans les conditions optimales de température (28°C), la durée du cycle de *S. mansoni* dans le mollusque est de 27 à 30 jours (Ross *et al.*, 2002).

I.1.2.3.2- Développement de *Schistosoma mansoni* chez l'hôte définitif

Une fois que les cercaires sont émises dans le milieu aquatique, elles nagent activement à la surface de l'eau à la recherche de l'hôte définitif. Lors du contact de ce dernier avec une eau contenant des cercaires, celles-ci grâce à l'action conjuguée de leurs mouvements natatoires et la sécrétions des enzymes protéolytiques par leurs glandes acétabulaires et céphaliques, se fixent à l'épiderme de l'hôte définitif par leur ventouse orale et pénètrent dans le derme (6). L'adhésion des cercaires sur l'épiderme de l'hôte définitif est favorisée par la chaleur, les céramides et les acides gras libres et leur fixation est stimulée par la L- arginine (Haas *et al.*, 2002). La pénétration des cercaires dans la peau est sous l'influence de la température (optimale entre 27°C et 28°C), du temps d'exposition (optimale à 60 minutes) et de l'âge des cercaires (entre 1h et 3h après émission) car ces dernières perdent leur capacité de pénétration et de maturation 5 heures après émission. Au cours de cette phase de pénétration qui dure environ 15 minutes, les cercaires perdent leur queue et une grande partie de leur glycocalyx, subissent des transformations structurales et une accumulation des protéines de transport du glucose (SGTP4) sur le tégument. Toutes ces transformations aboutissent à l'obtention des schistosomules (7) (Whitfield *et al.*, 2003). L'évasion des schistosomules du derme pour les poumons se fait via le système veineux et rarement par les vaisseaux lymphatiques. Ils sont alors transportés par le courant sanguin jusqu'au ventricule droit, puis ils rejoignent les poumons via l'artère pulmonaire. Cette phase qui constitue la phase extra-hépatique dure entre 8 et

22 jours **(8)**. Des poumons, les schistosomules peuvent atteindre les veines du système porte-hépatique par trois voies qui sont (Barbosa *et al.*, 2008) :

- **La voie intravasculaire directe (modèle vasculaire passif)** : après être sortis des poumons, les schistosomules sont transportés passivement par l'aorte à travers le cœur, puis gagnent le système porte-hépatique par les artères hépatiques ou mésentériques.
- **La voie intravasculaire reverse (modèle vasculaire actif)** : après avoir atteint les poumons, certains schistosomules changent de direction et migrent à contre-courant sanguin à travers l'artère pulmonaire, le ventricule et l'oreillette droits, la veine cave postérieure et atteignent le foie par les veines hépatiques.
- **La voie ou le modèle transdiaphragmatique** : d'autres schistosomules s'échappent des capillaires pulmonaires par les alvéoles, migrent à travers le parenchyme pulmonaire pour arriver à la cavité pleurale. A partir de là, ils traversent le diaphragme et la capsule hépatique pour atteindre les vaisseaux portes intra-hépatiques.

Au cours de la phase hépatique, les schistosomules se développent plus activement dans les ramifications du système porte-hépatique grâce aux nutriments apportés par le sang portal. L'organogenèse est initiée à partir de 21 jours post-infestation, suivie de la gamétogenèse. Les schistosomules se transforment ainsi en vers adultes et se différencient en mâles et femelles **(9)**. Entre la quatrième et la cinquième semaine post-infestation, les vers adultes migrent à contre-courant vers les veines mésentériques **(10)** où ont lieu l'accouplement et l'oviposition. Des couples de *S. mansoni* ont été identifiées dans les veines mésentériques chez la souris à partir du 27^{ème} jour post-infestation. Un début d'oviposition entre le 30^{ème} et le 34^{ème} jour post-infestation et des œufs matures dans le foie et l'intestin entre le 34^{ème} et le 36^{ème} jour post-infestation ont été observés (Ross *et al.*, 2002). Le nombre d'œufs pondus par une femelle varie en fonction de l'hôte définitif et de la souche de parasite. La production ovulaire est en moyenne de 150 à 300 œufs/femelle/jour. De plus, le pourcentage de récupération des vers adultes qui est fonction du modèle animal, de la durée de l'infestation, de la charge cercarienne et de la méthode de récupération, varie de 4,3 % à 73,8 % ; avec une moyenne de 22,6% (Barbosa *et al.*, 2008). Le ver adulte de *S. mansoni* peu vivre jusqu'à 35 ans chez l'hôte définitif. De tous les œufs pondus, à peine 40 % seront capables de traverser l'endothélium vasculaire, puis la muqueuse intestinale pour tomber dans la lumière intestinale afin d'être éliminés avec les excréta. La grande partie des œufs sera bloquée dans les organes, principalement dans le foie et seront à l'origine de la formation de granulomes (Ross *et al.*, 2002).

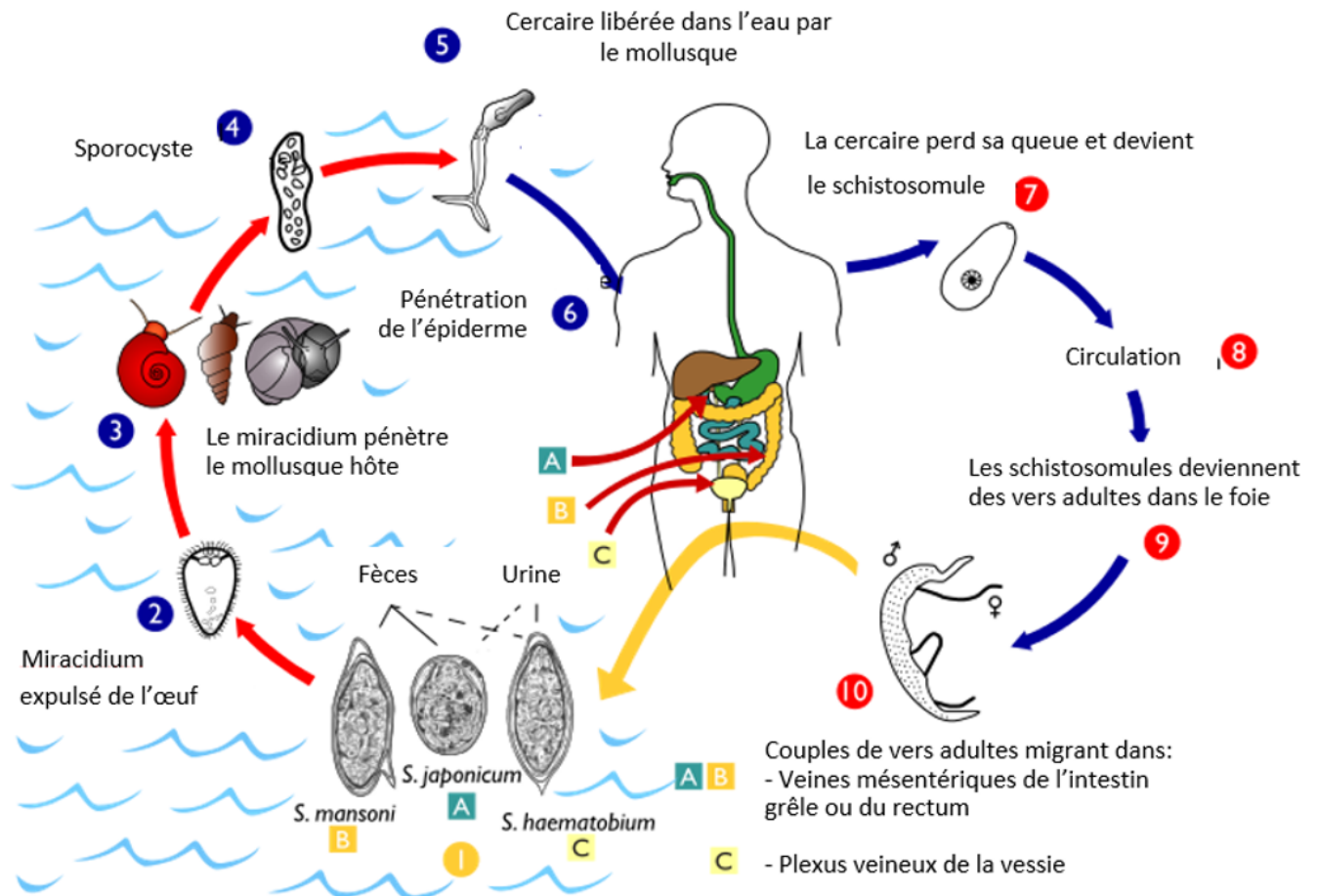


Figure 2 : Cycle biologique des schistosomes.

(Source : <https://www.cdc.gov/parasites/schistosomiasis/biology.html>)

I.1.3- Manifestations cliniques de la schistosomiase à *Schistosoma mansoni*

Les manifestations de la bilharziose évoluent en plusieurs phases et chacune de ces phases correspond à un stade précis du développement du parasite chez l'Homme (Ross *et al.*, 2002; McManus *et al.*, 2018). Ainsi, on va distinguer plusieurs phases.

La phase initiale ou de pénétration : elle correspond à la pénétration transcutanée des furcocercaires à l'origine d'une dermatite cercarienne. En effet, La dermatite cercarienne est une réaction d'hypersensibilité médiée par les IgE et dirigée contre la cercaire du schistosome. Elle se traduit par un prurit maculopapuleux et une réaction urticante qui disparaissent en quelques heures ou parfois peuvent persister jusqu'à 48 heures (Burke *et al.*, 2009; McManus *et al.*, 2018). La dermatite cercarienne est le plus souvent discrète chez les personnes vivant en zone endémique à la schistosomiase mais est perceptible chez des migrants ou des visiteurs après la première infestation (Burke *et al.*, 2009; McManus *et al.*, 2018).

La phase d'invasion ou toxémique: Elle est contemporaine de la migration et des transformations des schistosomules, elle correspond aux réactions de l'organisme au contact des substances antigéniques et toxiques des vers adultes (Burke *et al.*, 2009). Elle

se traduit par des réactions allergiques accompagnées de fièvre, de sueurs et de céphalées d'arthralgies et de myalgies, de la toux, de la dyspnée. Il peut exister une hépatosplénomégalie légère et la numération-formule sanguine montre une hyperleucocytose avec hyperéosinophilie. L'ensemble de ces symptômes est regroupé sous le terme syndrome de Katayama et peuvent durer entre 14 et 84 jours post-infestation. Cette phase n'est cliniquement marquée que lors des primo-infections (Burke *et al.*, 2009; McManus *et al.*, 2018).

La phase d'état : elle est en rapport avec la localisation des pontes des femelles. Dans le cas de *S. mansoni*, on parle de pathologie hépato-intestinale ou hépatosplénique (Burke *et al.*, 2009). Au niveau intestinal, la pathologie se manifeste par des douleurs abdominales, une perte de l'appétit et des troubles du transit intestinal caractérisé par des épisodes de diarrhée et de constipation. Ces symptômes résultent de la réponse du tractus intestinal à la présence des œufs au niveau de la muqueuse. Cette réponse est également à l'origine de micro-ulcérations et d'altérations superficielles au niveau de la paroi intestinale (McManus *et al.*, 2018). Par ailleurs, la pathologie hépatosplénique survient à la suite de l'accumulation des œufs du parasite au niveau du tissu hépatique entraînant une réaction inflammatoire intense aboutissant à la formation de granulomes bilharziens, la fibrose hépatique et une hépatomégalie (Burke *et al.*, 2009; Kamdem *et al.*, 2018).

La phase de complications : Elle est caractérisée par une pathologie hépatosplénique, avec dans les formes graves, l'apparition d'une hypertension portale. L'inflammation granulomateuse consécutive à la rétention des œufs au niveau du foie entraîne un dépôt excessif de collagène ainsi que d'autres composantes de la matrice extracellulaire à l'origine d'une fibrose périportale. Progressivement, cette fibrose hépatique entraîne une occlusion des veines portes hépatiques à l'origine du développement d'une hypertension portale, d'une splénomégalie, d'une ascite et de varices gastro intestinales qui peuvent être fatales (Burke *et al.*, 2009; Chuah *et al.*, 2014). D'autres complications telles que le retard de croissance et les troubles cognitifs chez les personnes parasitées ont été rapportées. Au cours de l'infection à *S. mansoni*, les complications hépatospléniques et intestinales peuvent survenir après 5 à 15 ans d'infection (Burke *et al.*, 2009).

I.1.4- Diagnostic de la Schistosomiase à *Schistosoma mansoni*

La confirmation du diagnostic de la schistosomiase à *S. mansoni* repose sur des examens paracliniques. Il existe des examens non spécifiques qui vont orienter vers une étiologie parasitaire, et des examens spécifiques permettant d'identifier le parasite.

Le diagnostic à partir d'examens non spécifiques permet d'établir l'évidence de la présence du parasite dans l'organisme de l'hôte. Il repose sur des éléments d'orientation épidémiologiques, cliniques et biologiques (McManus *et al.*, 2018).

- **L'orientation épidémiologique**, pour les patients revenant d'une zone endémique, un interrogatoire visant à rechercher une possible contamination, c'est-à-dire un contact avec un cours d'eau contaminé, est effectué.
- **L'orientation clinique** consiste à rechercher des symptômes tels que la fièvre ou bien des selles sanguinolentes ou encore l'évaluation des marqueurs biochimiques ou immunologiques qui caractérisent l'infection.
- **L'orientation biologique** par la recherche d'une leucocytose à hyperéosinophilie pouvant être évocatrice lorsqu'elle est associée aux données cliniques et épidémiologiques.

Le diagnostic à partir d'examens spécifiques : plusieurs techniques peuvent être effectuées. On distingue :

- **La méthode de Kato-Katz** : c'est la technique d'analyse parasitologique la plus recommandée qui permet de détecter les œufs de *S. mansoni* dans un échantillon de selles. Elle permet d'effectuer une analyse à la fois qualitative et quantitative (Katz *et al.*, 1972).
- **La méthode utilisant «Circulating Cathodic Antigen» (CCA)** : c'est une technique permettant de déterminer les antigènes sériques de *S. mansoni* éliminés dans les urines du patient (Tchuem Tchuente *et al.*, 2012).
- D'autres techniques comme les méthodes moléculaires (PCR), la biopsie rectale, l'échographie et l'endoscopie sont également spécifiques du diagnostic de cette maladie (Utzinger *et al.*, 2011).

I.1.5- Contrôle de la schistosomiase à *Schistosoma mansoni*

La schistosomiase est une pathologie transmise lors des séjours en eau douce contaminée par les cercaires du parasite. La lutte contre cette maladie impose une stratégie globale. Cette stratégie de contrôle de la schistosomiase à *S. mansoni* s'articule essentiellement autour de trois points à savoir de la chimiothérapie, la lutte antivectorielle et l'éducation sanitaire. En outre, bien qu'il n'existe pas à ce jour un vaccin contre la schistosomiase, le développement de potentiels vaccins contre cette maladie continue de faire l'objet de nombreuses études (McManus *et al.*, 2018).

I.1.5.1- La chimiothérapie

La chimiothérapie de la schistosomiase humaine a subi une évolution considérable au fil des années et son traitement est contemporain à sa découverte. Depuis lors, une dizaine de molécules ont été utilisées pour le traitement de la schistosomiase. Ainsi, on est parti de l'antimoine et ses dérivés en 1900 avant J-C au praziquantel en 1977. Malheureusement, A l'exception du praziquantel, les autres molécules (antimoine et dérivés, émétine, hycanthone, oltipraz, amoscanate) utilisées se sont révélées toxiques ou peu efficaces contre toutes les espèces de schistosomes anthropophiles (oxamniquine et cyclosporine A) ou encore le parasite a développé une résistance vis à vis de la molécule (oxamniquine, métrifonate, niridazole et hycanthone) (**Figure 3**).

Pour cette chimiothérapie, le praziquantel (PZQ) reste le médicament de choix pour le traitement de la schistosomiase. Ses bons niveaux de tolérance et d'innocuité, son excellente acceptabilité par les patients, sa facilité d'administration (à dose unique ou en cure très courte), son bon profil d'efficacité contre les vers adultes de toutes les espèces de schistosome parasitant l'Homme et son faible coût ont conduit à sa large utilisation (Thétiot-Laurent et al., 2013; Abdel et al., 2018; Xiao et al., 2018). Il a été inclus depuis 1992 par l'OMS sur la liste des médicaments essentiels (WHO, 2020). Administré en prise unique à la dose de 40 mg/kg de poids corporel, le praziquantel est efficace sur les très jeunes schistosomules et les vers adultes. Les schistosomules âgés de 7 à 28 jours sont cependant moins susceptibles au praziquantel (Utzingher *et al.*, 2003). Vendu sous plusieurs noms commerciaux (Biltricide®, Cestox®, Cysticide® entre autres), le praziquantel est un dérivé pyrazino-isoquinoléine.

Le mécanisme d'action du praziquantel contre les trématodes reste imprécis mas quelques théories ont été proposées. Le praziquantel agirait par activation de la sous-unité bêta des canaux calciques voltage-dépendants, entraînant un influx rapide d'ions calcium au niveau du tégument du ver. Cet influx d'ions calcium serait à l'origine d'une augmentation de la contraction musculaire du ver et la formation de vacuole au niveau du tégument qui aboutissent à la mort du parasite (Doenhoff *et al.*, 2008; Chai, 2013). La seconde hypothèse est celle selon laquelle, le praziquantel serait à l'origine du blocage des récepteurs de l'adénosine situés sur le tégument du ver ; ce qui entrainerait également un influx de calcium à l'origine de la destruction du tégument et de la mort du ver (Angelucci *et al.*, 2007; Chai, 2013).

* = toxiques
* = resistances

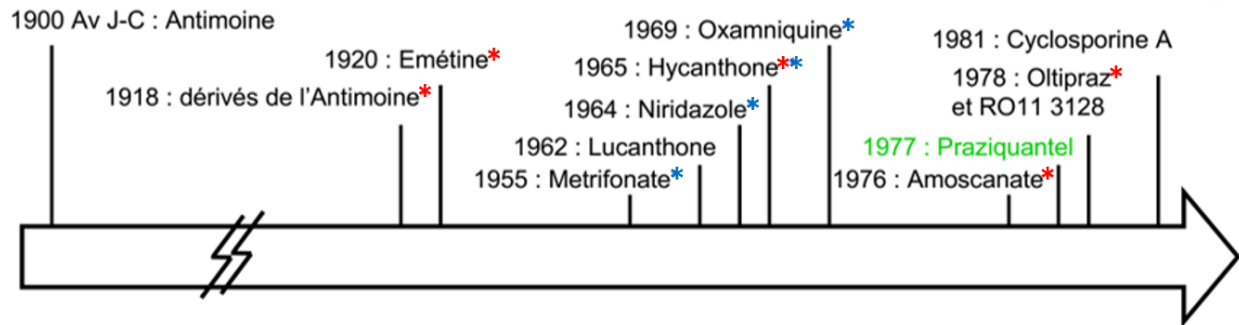


Figure 3 : Évolution du traitement de la schistosomiase (Thétiot-Laurent *et al.*, 2013).

I.1.5.2- Alternatives à la chimiothérapie

Le développement d'une chimiothérapie alternative au praziquantel est en plein essor depuis quelques décennies à cause du risque de développement d'une résistance du parasite à ce dernier. A cet effet, plusieurs molécules aussi bien de synthèse que d'origine naturelle, dont l'activité schistosomicide a été démontrée au cours des études cliniques et précliniques, ont montré un intérêt considérable. Il s'agit des trioxolanes (endoperoxyde de synthèse) (Xiao *et al.*, 2007; Boissier *et al.*, 2009; Portela *et al.*, 2012; Marker and Debbert, 2022), de l'artémisinine (sesquiterpène isolée de *Artemisia annua*) et de ses dérivées synthétiques que sont l'artémether et l'artésunate (Shuhua *et al.*, 2000; Liu *et al.*, 2011; Thétiot-Laurent *et al.*, 2013), du myrrh (résine extraite de *Commiphora molmol*) commercialisé sur le nom de Mirazid® (Al-Kazzaaz, 2017; Al-Kazzaz *et al.*, 2016, 2018; Botros *et al.*, 2004), de la berbérine (alcaloïde isolé de *Berberis vulgaris*) (Al-Quraishy *et al.*, 2013; Dkhil, 2014) et de la méfloquine (Holtfreter *et al.*, 2011; Fahmy *et al.*, 2014; El-Emam *et al.*, 2015). De plus, depuis plusieurs années, la phytothérapie est considérée comme une source importante de molécule à activité schistosomicide (Marques *et al.*, 2012; Ndjonka *et al.*, 2013). Ainsi, plusieurs plantes font l'objet de travaux scientifiques dans le but de montrer leur efficacité pour le traitement de la schistosomiase. C'est entre autres le cas de *Allium cepa* et *Allium sativum* (Mona *et al.*, 2011; Mantawy *et al.*, 2012; Metwalley, 2015; Muema *et al.*, 2015; Wan *et al.*, 2017), *Artemisia annua* et *Artemisa afra*. (Munyangi *et al.*, 2018), *Clerodendrum umbellatum* (Jatsa *et al.*, 2009a, 2015b; Kenfack *et al.*, 2020), *Nigella sativa* (Salem, 2005; El Shenawy *et al.*, 2008; Sheir *et al.*, 2015), *Zingiber officinale* (Mostafa *et al.*, 2011; 2012; Aly *et al.*, 2013), *Ozorora pulcherrima* (Jatsa *et al.*, 2018b; 2019a; 2019b; Feussom *et al.*, 2020), *Sida acuta* et *Sida rhombifolia* (Femoe *et al.*, 2022) et de *Sida pilosa*

(Jatsa *et al.*, 2009b, 2015a, 2016, 2018a) dont les activités schistosomicide et/ou cercaricide ont été démontrées *in vitro* et/ou *in vivo*.

I.1.5.3- Lutte antivectorielle

La stratégie de lutte antivectorielle vise à réduire l'abondance et la distribution des mollusques du genre *Biomphalaria*, par lesquels le parasite effectue sa multiplication asexuée (McManus *et al.*, 2018). Cette stratégie fait intervenir plusieurs aspects tels que :

- **Le contrôle chimique** : plusieurs produits chimiques avec le niclosamide (Bayluscide®) en tête de file, sont commercialisés à cet effet. Des composés naturels de toxicité moindre et à activité molluscicide ont été également identifiés dans des plantes telles que *Phytolacca dodecandra*, *Ambrosia maritima*, *Millettia thonningii* et *Euphorbia splendens*. Cependant, de nos jours, aucun de ces composés n'a été utilisé dans des campagnes de contrôle dans les pays endémiques (Barbosa *et al.*, 2008).
- **Le contrôle biologique** : il se fait à travers l'utilisation des compétiteurs, des parasites ou des éléments pathogènes qui ont la capacité de compromettre la survie ou la reproduction des mollusques hôte intermédiaires de *S. mansoni*. C'est le cas de *Thiara granifera* et *Melanoides tuberculata* utilisés pour le contrôle de *Biomphalaria glabrata* et *Biomphalaria straminea* dans les îles caribéennes (Pointier *et al.*, 1998), de *Melanoides tuberculata* a également été utilisé pour le contrôle de *B. pfeifferi* (Gashaw *et al.*, 2008) et de *Marisa cornuarietis* utilisé pour le contrôle *B. glabrata* au Venezuela (Pointier and David, 2004).
- **Le contrôle environnemental** : il consiste à réduire la prolifération des macrophytes aquatiques et péri-aquatiques par le curage et le désherbage réguliers des sites de transmissions (Barbosa *et al.*, 2008).

I.1.5.4- L'éducation à la santé

L'éducation à la santé relève généralement des programmes nationaux de lutte contre la schistosomiase et des organisations non gouvernementales qui visent à atteindre une modification des comportements individuels et communautaires en vue d'une implication efficace dans le contrôle de la transmission de la schistosomiase. Ceci se fait par l'implémentation de la stratégie EAH (eau, assainissement et hygiène) qui permet de réduire considérablement le contact avec les points de transmission.

I.1.5.5- Développement de vaccins contre *Schistosoma mansoni*

Malgré toutes les mesures ci-dessus mises en place pour le contrôle de la schistosomiase, les prévalences restent toujours élevées dans les pays tropicaux et

subtropicaux. La mise sur pieds d'un vaccin offrirait une solution de contrôle durable de la pathologie ainsi que de sa transmission ceci par réduction des charges parasitaires et ovulaires ainsi que le développement d'une immunité protectrice contre la schistosomiase. A ce jour, il n'existe pas de vaccin disponible contre l'infection à *S. mansoni*, encore moins pour les autres espèces. Néanmoins plusieurs études sont en cours de réalisation. De ces études, trois candidats vaccins contre la schistosomiase à *S. mansoni* ont montrées des résultats encourageants. Il s'agit de *Schistosoma mansoni* 14-kDa fatty acid-binding protein (Sm14/GLA-SE), *Schistosoma mansoni* tetraspanin (Sm-TSP-2/Alhydrogel®) et *Schistosoma mansoni* calpain (Sm-p80/GLA-SE, « SchistoShield® ») (Eyayu *et al.*, 2020a; Molehin *et al.*, 2022).

Sm14 ou 14-kDa « fatty acid-binding protein (FABP) »: c'est une protéine cytosolique de 14 kDa exprimée sur la lame basale du tégument et le tube digestif de la cercaire, la schistosomule et le ver adulte. Elle joue un rôle important dans l'absorption, le transport et la compartimentation des acides gras dérivés de l'hôte, ce qui est important pour la survie du parasite. Au cours des études préclinique, l'administration de cet antigène a des souris (Swiss) ou des rats (New Zeland) suivie d'une exposition à des cercaires de *S. mansoni* a entraîné des réductions de la charge parasitaire comprises entre 67% et 93% (Tendler *et al.*, 1996). Par la suite, des études cliniques de phase 1, effectués sur le recombinant de Sm14 formulé avec une émulsion lipidique de glucopyranosyl stable comme adjuvant (Sm14/GLA-SE), ont révélé son potentiel immunogène élevé ainsi que son innocuité chez des volontaires sains vivant dans une zone non-endémique à la schistosomiase au Brésil (Santini-Oliveira *et al.*, 2016). Puis à la suite d'une étude de phase 2 chez les adultes vivant dans une zone endémique à la schistosomiase au Sénégal, les résultats ont permis de démontrer que Sm14/GLA-SE est non toxique et a abouti à 92% de séroconversion après trois immunisations. (clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03041766). Une seconde étude de phase 2 chez des enfants d'âge scolaire vivant dans la même zone endémique au Sénégal a été conduite en 2019 et les résultats ne sont pas encore publié (clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03799510).

***Schistosoma mansoni* tetraspanin (Sm-TSP-2):** les tétraspanines sont des protéines transmembranaires à 4 domaines retrouvées sur la surface des cellules eucaryotes. Elles sont abondantes sur la membrane externe du ver adulte et constituent de ce fait une cible potentielle du système immunitaire de l'hôte. La Sm-TSP-2 joue un rôle dans la formation du tégument et la maturation structurale du ver adulte de *S. mansoni*. Des essais précliniques chez la souris ont montré qu'une immunisation avec le recombinant de Sm-TSP-2 des réduction de la charge parasitaire de 57% ainsi que de charge ovulaire

hépatique de 64% (Tran *et al.*, 2006). Des études de phase 1 ont montré une innocuité et une immunogénicité de Sm-TSP-2 formulé dans l'adjuvant à l'hydroxyde d'aluminium chez les individus sains vivant dans une zone non-endémique à *S. mansoni* (Keitel *et al.*, 2019). Après la seconde étude de phase 1 dans une zone endémique à *S. mansoni*, Sm-TSP-2 s'est révélé non toxique, immunogène chez les sujets humains infestés naturellement par *S. mansoni*, mais les résultats ne sont pas encore publiés (clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03110757). Une étude clinique de phase 1 à large échelle est en cours en Uganda et elle est prévue se terminée au début de l'année 2025 (clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03910972).

***Schistosoma mansoni* calpaïne (Sm-p80)** : la calpaïne est une protéase à cystéine retrouvée sur le tégument de tous les stades du parasite. Une étude récente effectuée chez les babouins a permis de démontrer que Sm-p80 entraîne la mort 90% des femelles adultes et 90% du nombre d'œufs dans les selles (Zhang *et al.*, 2018).

I.2- Schistosomiase à *Schistosoma mansoni* et stress oxydant

I.2.1- Généralités sur le stress oxydant

I.2.1.1- Définition

L'expression « stress oxydant » a été utilisée pour la première fois par Sies et Cadenas en 1985 (Sies et Cadenas, 1985). Le stress oxydant, se définit comme étant un déséquilibre de la balance oxydants/antioxydants en faveur des oxydants qui se traduit par des perturbations moléculaires et des dommages cellulaires. Il se développe lorsque les radicaux libres, des molécules oxydantes, sont produits plus rapidement qu'ils ne peuvent être neutralisés par l'organisme (Forman et Zhang, 2021).

I.2.1.2- Origine du stress oxydant

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules possédant un électron célibataire sur sa couche périphérique leur conférant une forte réactivité vis-à-vis d'autres molécules (Sies *et al.*, 2017). Dans une cellule vivante, ces radicaux libres se forment lorsque certaines molécules interagissent avec l'oxygène moléculaire en perdant ou en acceptant un électron (Liguori *et al.*, 2018; Forman et Zhang, 2021). Ces molécules, radicalaires ou non, résultant de ces processus d'oxydation ou de réduction, sont connues sous le nom d'espèces réactives (ERs). La production des ERs peut devenir excessive en cas de désordres mitochondriaux d'origine génétique ou inflammatoire ou résulter de phénomènes toxiques exogènes ; cela aboutit à un affaiblissement des défenses antioxydantes et donc à un déséquilibre de l'homéostasie redox, on parle de stress oxydant (Pizzino *et al.*, 2017 ; Forman et Zhang, 2021)

I.2.2- Déséquilibre de la balance oxydante au cours de l'infection à *Schistosoma mansoni*

L'infection à *S. mansoni* est associée à une production importante d'espèces réactives oxygénées et azotées aboutissant et un affaiblissement des défenses antioxydantes. Ces EROs et ERNs élevées entraînent des dommages tissulaires principalement au niveau du foie (Dkhil, 2014; Jatsa *et al.*, 2015a, 2018a, 2019b) et de la rate (Al-Quraishy *et al.*, 2013).

I.2.2.1- Niveaux des pro-oxydants au cours de l'infection à *Schistosoma mansoni*

La présence des œufs de *S. mansoni* dans le foie est à l'origine d'une cascade de réactions inflammatoires caractérisées par le recrutement intensif de leucocytes activés notamment les éosinophiles, les macrophages et les cellules de Küpffer autour de l'œuf (Andrade, 2004). Il en résulte la formation des granulomes bilharziens dont le rôle est de protéger le tissu de l'hôte de l'action cytotoxique des toxines et antigènes sécrétés et libérés par la larve contenue dans l'œuf de *S. mansoni*. Par ailleurs, la présence de ces granulomes est associée à une production accrue d'espèces réactives et aux dommages oxydants observés (Abdallahi *et al.*, 1999; Amina *et al.*, 2019).

Chez l'Homme, l'infection à *S. mansoni*, l'action délétère de ces ERs est associée à une surproduction des biomarqueurs de la peroxydation lipidique tels que le malondialdéhyde et les diènes conjugués (Amina *et al.*, 2019). De même dans le modèle murin de l'infection à *S. mansoni*, la peroxydation lipidique a également été mise en évidence à travers l'augmentation de la production de malondialdéhyde (Al-Quraishy *et al.*, 2013; Dkhil, 2014; Jatsa *et al.*, 2018a, 2019b; a). De plus, ces dommages oxydants des protéines par les ERs se traduisent par une augmentation de la concentration des espèces réactives carbonylées dans le foie et les reins des souris infestées par *S. mansoni* (De Oliveira *et al.*, 2013). L'infection à *S. mansoni* est également à l'origine de la production d'ERNs. En effet, une augmentation des concentrations du radical oxyde nitrique (NO[•]), du peroxyde nitrite et de la NO synthase dans le foie et la rate des souris parasitées à *S. mansoni* a été rapportée (Masamba et Kappo, 2021). Le mécanisme résumant la production de tous ces facteurs pro-oxydants au cours de l'infection induite par la schistosomiase est donné sur la **figure 4**. Contrairement à ce qui précède, d'autres auteurs ont rapporté que la sévérité de la pathologie induite par la schistosomiase est corrélée à un déclin de l'activité de la NO synthase entraînant une baisse de la production du monoxyde d'azote (Hirata *et al.*, 2001; Jatsa *et al.*, 2018a, 2019a). De plus, Shen *et al.* (2017) ont démontré que l'oxide nitrique et la iNOS sont des facteurs importants pour l'inhibition de la croissance du ver ainsi que la viabilité des œufs de *S. japonicum* dans un modèle murin.

Production des espèces réactives de l'oxygène

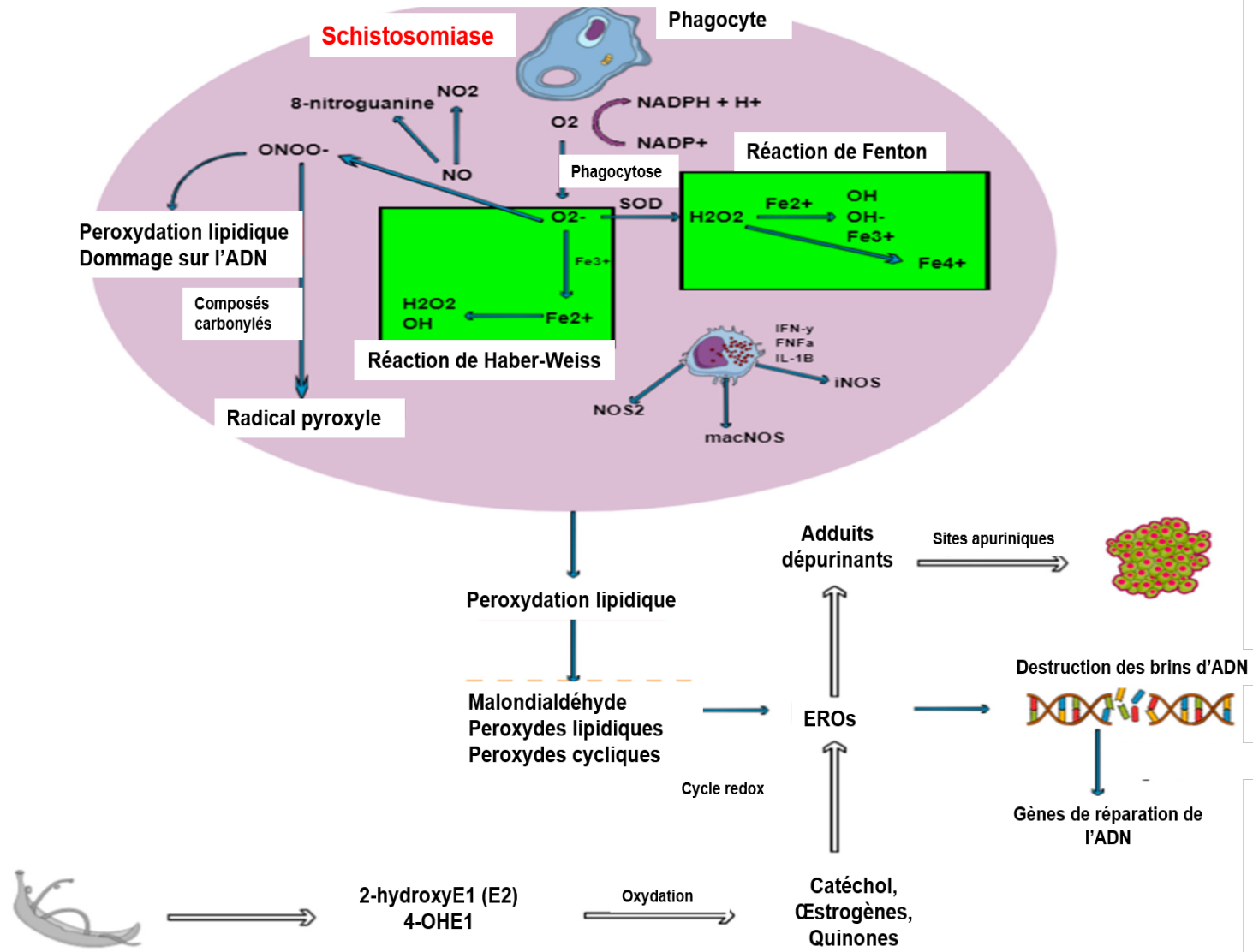


Figure 4 : Mécanismes de production des espèces réactives au cours de l'infection induite par la schistosomiase (Masamba et Kappo, 2021).

I.2.2.2- Profils des antioxydants au cours de l'infection à *Schistosoma mansoni*

L'infection à *S. mansoni* est marquée par une altération des mécanismes de défense antioxydante. Chez l'Homme, elle se caractérise par une diminution des activités de la catalase, de la superoxyde dismutase et de la glutathion peroxydase ainsi que des taux de glutathion et des vitamines (Elsammak *et al.*, 2008). Dans le modèle murin, Jatsa *et al.* (2018b, 2019a, 2019b,) ont démontré que l'activité des enzymes antioxydantes est considérablement réduite après 9 semaines d'infestation. En effet, on note une diminution des activités de la superoxyde dismutase et de la catalase ainsi que du taux de glutathion réduit dans le foie des souris infestées par *S. mansoni* (Rizk *et al.*, 2012; Dkhil, 2014; Jatsa *et al.*, 2019a). De même, les concentrations de ces antioxydants sont faibles au niveau de la rate des souris infestées par *S. mansoni* (Al-Quraishy *et al.*, 2013).

I.3- Réponse immunitaire au cours de l'infection à *Schistosoma mansoni*

L'infection à *S. mansoni* chez son hôte vertébré s'accompagne d'une réponse immunitaire pluricellulaire en réaction aux différents stades du parasite (cercaires, schistosomules, vers et œufs) ainsi que les substances immunogènes sécrétées (Pearce et MacDonald, 2002; Burke *et al.*, 2009).

I.3.1- Généralités sur le système immunitaire

I.3.1.1- Définition

Le système immunitaire est un complexe biologique fonctionnel constitué d'un ensemble coordonné d'organes, de cellules et de protéines qui détectent et défendent l'organisme contre les agents pathogènes exogènes et endogènes (Marieb and Hoehn, 2019). Le système immunitaire est composé principalement de deux mécanismes de défense intrinsèque qui fonctionnent à la fois individuellement ou de façon coordonnée pour assurer la résistance adéquate à un agent pathogène. Il s'agit du système de défense inné ou non spécifique et du système de défense adaptatif ou spécifique.

I.3.1.2- Le système de défense inné ou non spécifique

Le système de défense inné ou non spécifique se met en place en quelques minutes pour protéger l'organisme contre tout agent étranger. Il a pour rôle de neutraliser tout agent pathogène dès son entrée dans l'organisme ou de permettre la mise en route du système de défense adaptatif (Marieb and Hoehn, 2019). Par son action le système de défense inné érige deux barricades à savoir les barrières superficielles et les défenses internes.

I.3.1.2.1- Les barrières superficielles

Elles constituent la première ligne de défense de l'organisme et comprennent la peau et les muqueuses (digestive, voies respiratoires, urinaire et génitale) ainsi que les sécrétions de celles-ci (sébum, mucus, acide et suc gastrique et enzymes) (Marieb et Hoehn, 2019).

I.3.1.2.2- Les défenses internes non spécifiques

Elles constituent la deuxième ligne de défense innée de l'organisme. Elles font recours à un grand nombre de moyens cellulaires et chimiques non spécifiques. Il s'agit en particulier des phagocytes, des cellules tueuses naturelles, des protéines antimicrobiennes et la fièvre (Abbas *et al.*, 2016; Marieb and Hoehn, 2019).

I.3.1.3- Le système de défense adaptatif ou spécifique

Le système de défense adaptatif est un système fonctionnel de défense intégrée capable de traquer et d'éliminer, toujours avec la même précision presque tous les agents pathogènes présent dans l'organisme. Son action est spécifique à chaque antigène,

systémique et possède une mémoire. Ce système de défense nécessite l'intervention des lymphocytes B et T (Waltenbaugh et Melvold, 2012; Marieb et Hoehn, 2019).

I.3.1.3.1- Les lymphocytes B

En présence d'un antigène qui se lie à son récepteur spécifique présent sur la membrane plasmique des lymphocytes B immunocompétents. La formation du complexe antigène anticorps qui en découle entraîne la formation d'un clone de cellules dont la plupart se différencient en plasmocytes (cellules effectrices de la réponse humorale) qui sécrètent les anticorps spécifiques à l'antigène. L'autre partie des cellules du clone formé constitue les cellules mémoires prêtes à intervenir pour répondre plus rapidement à des expositions subséquentes au même antigène. Dans certains cas, les lymphocytes B peuvent jouer également le rôle de cellules présentatrices d'antigènes (CPA).

I.3.1.3.2- Les lymphocytes T

Les lymphocytes T constituent les principaux effecteurs de la réponse immunitaire à médiation cellulaire. La fixation du lymphocyte T immunocompétent sur le fragment antigénique présenté par la CPA, déclenche une sélection clonale des lymphocytes T qui se différencient en deux principales populations de lymphocytes T effecteurs. On distingue :

- **les lymphocytes T4 ou T CD₄** encore appelés lymphocytes T auxiliaires ou « helper » (Th). Il en existe deux sous types. Il s'agit des sous-types Th1 et Th2 dont les rôles sont bien distincts. Les lymphocytes Th1 produisent l'IFN- γ et l'IL-2 et induisent la réponse immunitaire à médiation cellulaires. Les lymphocytes Th2 produisent les IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 et IL13 ; ils sont responsables de l'activation de la réponse immunitaire à médiation humorale.
- **les lymphocytes T8 ou T CD8** encore appelés lymphocytes T cytotoxiques (Tc) qui jouent un rôle central dans l'élimination des cellules infectées par les virus (Waltenbaugh et Melvold, 2012).

I.3.2- Déroulement de la réponse immunitaire au cours de l'infection à *Schistosoma mansoni*

La réponse immunitaire induite au cours de l'infection à *S. mansoni* chez l'hôte vertébré est très dynamique et varie en fonction du stade de développement du parasite. Elle est étroitement impliquée dans l'installation de plusieurs pathologies liées à l'infection (Teixeira-Carvalho *et al.*, 2008). Les avancées réalisées pour la compréhension de la réponse immunitaire au cours de l'infection à *S. mansoni* ont été possibles grâce aux études expérimentales menées sur le modèle murin qui est le modèle approprié car la souris est

l'hôte vertébré parfaitement permissif à *S. mansoni* (Cheever *et al.*, 2002; Pearce et MacDonald, 2002; Burke *et al.*, 2009;).

I.3.2.1- Profil immunologique au cours de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris

I.3.2.1.1- Profil des cytokines

Plusieurs études expérimentales ont permis d'établir le profil immunologique au cours de l'infection à *S. mansoni* (**Figures 5 et 6**). Ce profil varie considérablement en fonction de l'évolution de l'infection. L'infection induite par la schistosomiase peut être divisée en trois phases à savoir, une phase aiguë qui va de la 1^{ère} à la 5^{ème} ou 6^{ème} semaine post-infestation, une phase active ou granulomateuse qui va de la 5^{ème} ou 6^{ème} à la 12^{ème} semaine post-infestation et une phase chronique qui va au-delà de la 12^{ème} semaine post-infestation (Pearce et MacDonald, 2002; Mcmanus *et al.*, 2020; Masamba et Kappo, 2021).

La phase aiguë correspond à la pénétration cercarienne, la migration des schistosomules, leur différenciation et leur maturation en ver adulte. Cette phase est principalement médiée par la réponse immunitaire de type Th1 caractérisée par la production de l'IFN- γ , le TNF- α , l'IL-2, IL-1 et l'IL-6 (Pearce et MacDonald, 2000; Burke *et al.*, 2009; Masamba and Kappo, 2021). Cette phase atteint son pic d'activité à la 5^{ème} semaine post-infestation. Entre la 5^{ème} et la 6^{ème} semaine post-infestation, les parasites adultes s'accouplent et les femelles commencent à pondre des œufs qui sont piégés au niveau des tissus. Il se produit donc une diminution des cytokines de type Th1 au profit d'une réponse immunitaire de type Th2 dirigée contre les antigènes solubles de l'œuf du schistosome (SEA) caractérisée par la production de l'IL-4, l'IL-5, IL-10 et l'IL-13 à l'origine de la formation du granulome bilharzien (**Figure 6**) (Pearce et MacDonald, 2002; Burke *et al.*, 2009; Chuah *et al.*, 2014; Kamdem *et al.*, 2018). Cette phase de formation du granulome va de la 6^{ème} à la 12^{ème} semaine post-infestation avec un pic d'activité à la 8^{ème} semaine (**Figure 5**) (Pearce et MacDonald, 2002; Chuah *et al.*, 2014; Masamba et Kappo, 2021).

La phase chronique qui débute à partir de la 12^{ème} semaine post-infestation est caractérisée par la modulation de la réponse granulomateuse de type Th2, une diminution de la production des cytokines Th2 (IL-4, IL-5 et IL-13) et une augmentation des cytokines immunorégulatrices IL-10 et TGF- β (**Figures 5 et 6**). A cette phase, les granulomes qui se forment sont de petite taille par rapport à ceux formés durant la phase granulomateuse de l'infection (Pearce et MacDonald, 2002; Burke *et al.*, 2009; Masamba et Kappo, 2021).

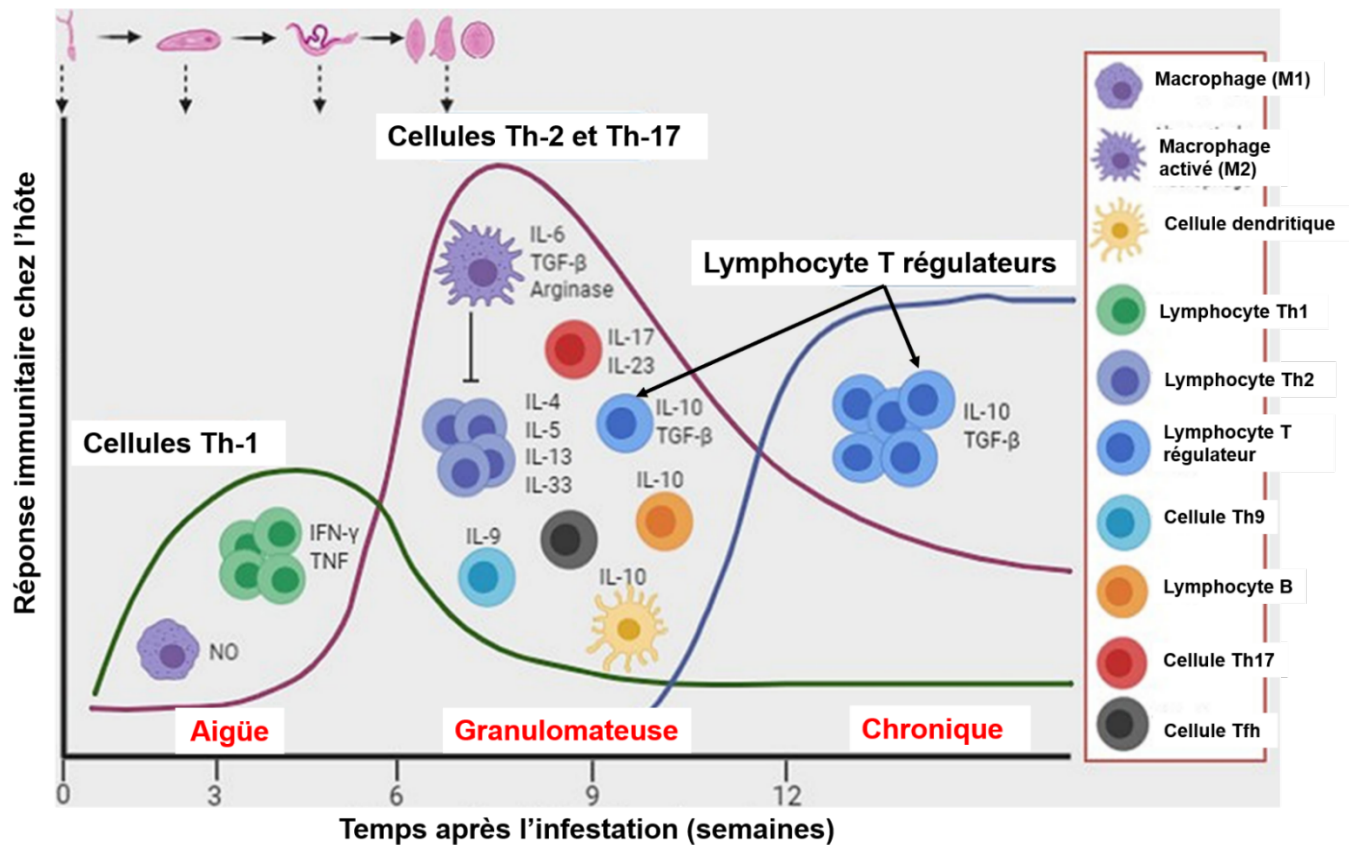


Figure 5 : profil de la réponse immunitaire au cours de l'infection à *Schistosoma mansoni* (Molehin, 2020).

I.3.2.1.2- Rôle des cellules et des chimiokines

Les chimiokines sont impliquées dans la mise en place de la pathologie à *S. mansoni*. Leurs activités ciblent principalement deux types cellulaires au cours de l'infection à *S. mansoni*. Il s'agit des éosinophiles et des macrophages. Les éosinophiles sont très élevés au cours de la phase aiguë de l'infection et constituent environ 70% de la population cellulaire présente lors de la formation du granulome bilharzien (Burke *et al.*, 2009; Chuah *et al.*, 2014). Leur migration de la circulation vers le foyer inflammatoire granulomateux est activée par l'éotaxine (CCL11), le MCP-3 (CCL7), la CCL22 et CCL24. Il a également été démontré que la déficience en MIP-1 α (CCL3) et CXCR3 entraîne une réduction de la taille du granulome associée à une faible activité de la peroxydase des éosinophiles (Chuah *et al.*, 2014). De plus des études expérimentales sur des modèles murins de l'infection à *S. mansoni*, ont permis de démontrer que l'inhibition de l'activité de CXCR4, CCL17 et CCR8 était associée à une inhibition de l'infiltration des éosinophiles au niveau des foyers inflammatoires granulomateux et à une réduction de la taille du granulome (Burke *et al.*, 2009; Chuah *et al.*, 2014).

Les macrophages quant à eux constituent environ 30% de la population cellulaire au niveau des foyers granulomateux inflammatoires hépatiques (Chuah *et al.*, 2014). Leur

recrutement est activé par l'action des chimiokines CCL2 (MCP-1) et CCR3. Il a été démontré chez des souris infectées par *S. mansoni* que la déficience en CCR2 est associée à une réduction de l'activité phagocytaire au niveau des foyers inflammatoires granulomateux, consécutive à un défaut de recrutement des macrophages (Chuah *et al.*, 2014).

I.3.2.1.3- Production des anticorps

Au cours de l'infection à *S. mansoni* les principales immunoglobulines produites sont les IgG1 et IgE (**Figure 6**). Ces anticorps sont des indicateurs d'un profil de type Th2 (Schwartz et Fallon, 2018; Pearce et MacDonald, 2002; Allam, 2009; Masamba et Kappo, 2021).

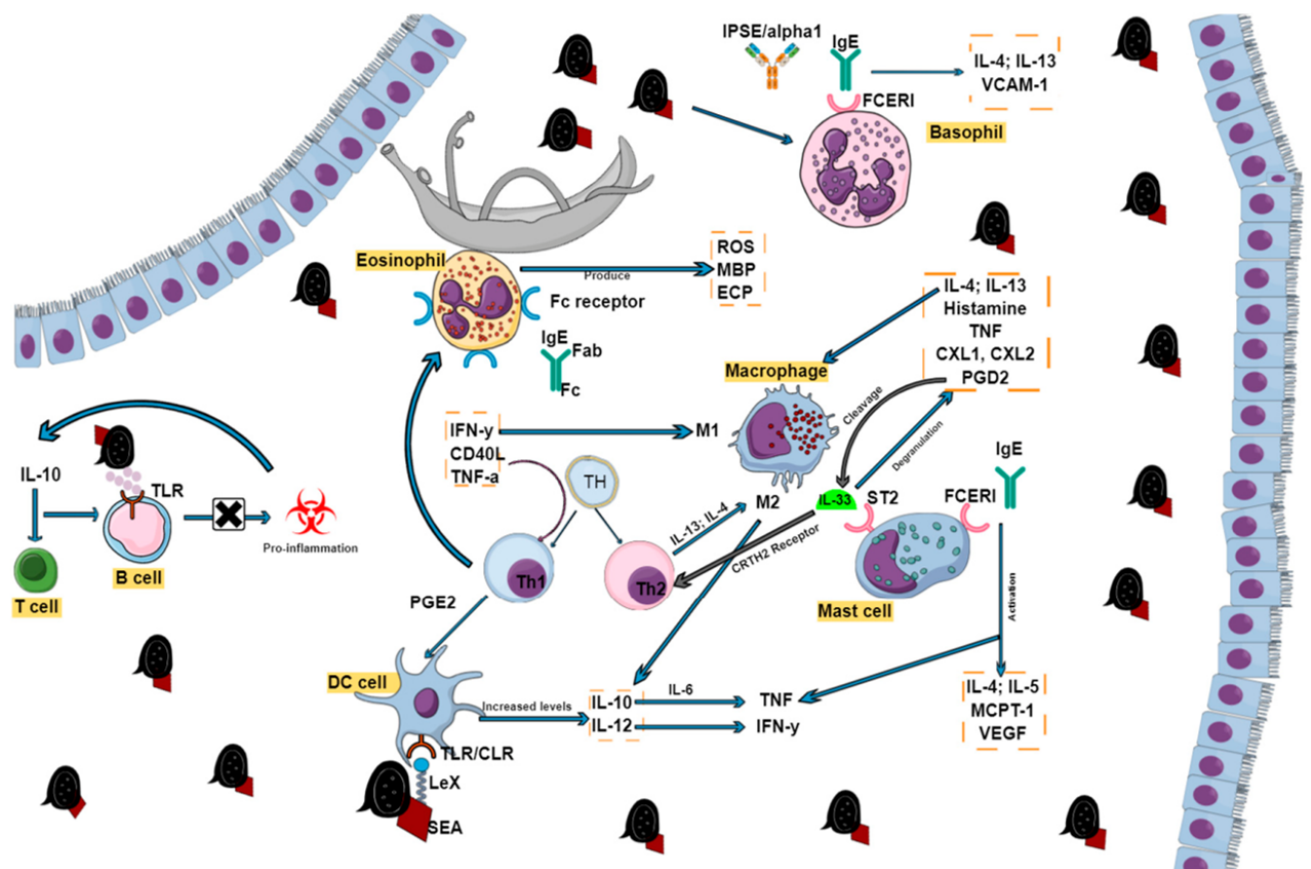


Figure 6 : Différents types cellulaires, cytokines, chimiokines et anticorps au cours de l'infection à *Schistosoma mansoni* (Masamba et Kappo, 2021).

I.3.2.2- Profil hématologique au cours de l'infection à *Schistosoma mansoni*

Plusieurs travaux ont permis de démontrer que l'infection à *S. mansoni* était associée à une anémie caractérisée par une réduction des taux d'hématies, d'hémoglobine et du pourcentage d'hématocrite (Rizk *et al.*, 2012; Thétiot-Laurent *et al.*, 2013; Sorgho *et al.*, 2017; Al-Kazzaz *et al.*, 2018). Des études expérimentales ont révélé que l'infection à *S. mansoni* est accompagnée d'une augmentation du taux de leucocytes et de granulocytes et

d'une diminution du taux de lymphocytes (Mohammed *et al.*, 2006; Pérez del Villar *et al.*, 2013; Sorci *et al.*, 2013; Mahmoud et Elbessoumy, 2014). Il a été démontré que l'infection à *S. mansoni* est à l'origine d'une thrombocytopénie. En effet plusieurs auteurs ont montré que l'infection à *S. mansoni* chez la souris ou chez l'humain est associée à une baisse du taux de thrombocytes (Ngaiza et Doenhoff, 1987; Drummond *et al.*, 2014; Eyayu *et al.*, 2020a). Stanley *et al.* (2003a, 2003b) ont rapporté une thrombocytopénie chez les souris infestées par *S. mansoni* quelques jours après la pénétration de la larve du parasite dans la circulation sanguine. Les résultats de Petroianu *et al.* (2005) ont démontré que la thrombocytopénie était associée à la splénomégalie et à la fibrose hépatique au cours de la phase active de l'infection à *S. mansoni*.

I.3.3- Immunopathologie au cours de l'infection à *Schistosoma mansoni*

I.3.3.1- Immunopathologie de la schistosomiase à *Schistosoma mansoni* au niveau du foie et l'intestin

La morbidité au cours de l'infection à *S. mansoni* est principalement le résultat de l'action des œufs du schistosome qui se logent dans le foie, l'intestin et d'autres organes causant des lésions tissulaires importantes. L'hôte immunocompétent monte une vaste riposte immunologique contre cette action des œufs du parasite avec le développement d'une vigoureuse réponse granulomateuse riche en collagène autour des œufs. Cette réponse finit par séquestrer ces œufs ainsi que leur produit de sécrétion, mais peut également conduire à la fibrose hépatique sévère, à l'hypertension portale, au développement des ascites et la perturbation de l'absorption intestinale (Pearce et MacDonald, 2002; Burke *et al.*, 2009; Hams *et al.*, 2013; Schwartz and Fallon, 2018).

I.3.3.1.1- Rappels anatomiques et fonctionnels sur le foie et l'intestin

I.3.3.1.1.1- Le foie

Le foie, un organe rougeâtre rempli de sang, est la plus grosse glande de l'organisme. Il occupe la plus grande partie des régions hypochondriaque droite et épigastrique et s'étend plus loin à droite qu'à gauche de la ligne médiane du corps. Il est placé sous le diaphragme et se trouve presque entièrement derrière les os formant la paroi de la cavité thoracique qui le protège (Marieb and Hoehn, 2019). Le foie est généralement divisé en quatre lobes. Le lobe droit (plus grand), le lobe gauche (plus petit), le lobe caudé (le plus postérieur) et le lobe carré situé sous le lobe gauche. Le foie porte dans la partie inférieure du lobe droit la vésicule biliaire. Il dispose d'une double vascularisation. L'une afférente constituée d'un système artériel qui approvisionne les cellules en oxygène et en nutriments et d'un système portal qui draine la totalité du sang veineux du tube digestif. L'autre efférente assurée par les veines sus-hépatiques, draine le sang hépatique jusqu'à la veine cave inférieure. Le

parenchyme hépatique est constitué de lobules hépatiques centrés chacun par une veine terminale sus-hépatique ou veine centro-lobulaire (Marieb et Hoehn, 2019). Chaque angle du lobule est constitué par un espace porte comprenant une branche de l'artère hépatique, la veine porte, les canaux biliaires et les capillaires lymphatiques.

Le foie assure diverses fonctions à savoir :

- La défense de l'organisme assurée par les cellules de Küpffer qui constituent une variété de leucocytes, de taille importante et à activité phagocytaire ;
- La production de la bile : les hépatocytes sécrètent la bile qui participe à la digestion des lipides dans l'intestin ;
- La détoxification du sang : le foie inactive les substances toxiques pour l'organisme (radicaux libres, xénobiotiques, ammoniac) ;
- Le métabolisme des lipides et glucides : par l'important potentiel enzymatique dont dispose le foie, il stocke les acides gras et le glucose issu de la digestion sous forme de triglycérides et de glycogène respectivement. Il est capable d'orienter ces derniers vers la cascade de production d'énergie (néoglucogenèse, glycolyse, cycle de Krebs). Le foie joue également un rôle important dans la synthèse de nombreuses protéines de structure et de fonctionnement (albumine, fibrinogène, transferrine) à partir des acides aminés (Marieb et Hoehn, 2019).

I.3.3.1.1.2- L'intestin grêle

L'intestin grêle est la partie du tube digestif qui va du sphincter pylorique à la valve iléocæcale. C'est le principal organe de la digestion. C'est dans ses méandres que se déroule l'essentiel de la digestion et que se produit pratiquement toute l'absorption. L'intestin grêle comprend trois segments : le duodénum, le jéjunum et l'iléon (Marieb et Hoehn, 2019). L'intestin grêle est innervé par les neurofibres parasympathiques issues du nerfs vagues et les neurofibres sympathiques issues du nerf splanchnique du thorax qui sont toutes relayées par le ganglion mésentérique supérieur et le ganglion coélique. L'irrigation artérielle de l'intestin grêle provient essentiellement de l'artère mésentérique supérieure dont les nombreuses branches anastomotiques desservent presque la totalité de l'intestin grêle par l'intermédiaire des artères intestinales. Les veines suivent un trajet parallèle à celui des artères et la veine mésentérique supérieure draine tout l'intestin grêle (Marieb et Hoehn, 2019).

Sur le plan microscopique, pour assurer sa fonction d'absorption des nutriments, les parois de l'intestin grêle possèdent trois types de modifications structurales qui amplifient plus de 600 fois sa surface. Il s'agit des plis circulaires, des villosités intestinales et des microvillosités.

Sur le plan histologique, les segments de l'intestin grêle se ressemblent beaucoup, mais ils sont en fait très différents par leur anatomie interne et microscopique. De la lumière intestinale vers l'extérieur, on distingue quatre tuniques principales à savoir la muqueuse, la sous-muqueuse, la musculuse et la séreuse encore appelée adventice (Marieb et Hoehn, 2019).

I.3.3.1.2- Formation du granulome bilharzien

Au cours de l'infection induite par *S. mansoni* le foie et l'intestin sont les organes les plus affectés par l'action cytolytique des antigènes produits par l'œuf. Le phénomène classique mis en place par l'organisme de l'hôte pour faire face à cette action cytolytique et hyper-immunogène est la mise en place d'une réaction inflammatoire granulomateuse autour des œufs du parasite piégés dans les tissus aboutissant à la formation d'un granulome bilharzien (Pearce et MacDonald, 2002; Burke *et al.*, 2009; Hams *et al.*, 2013; Masamba et Kappo, 2021). Le granulome bilharzien est une structure sphérique résultant de la réaction inflammatoire autour de l'œuf du schistosome se traduisant par un afflux d'éosinophiles, de neutrophiles, de macrophages et de lymphocytes qui sont progressivement remplacées par des fibroblastes producteurs de protéines de la matrice extracellulaires dont l'accumulation est à l'origine d'une fibrose tissulaire (**Figure 9**) (Pearce et MacDonald, 2002; Hams *et al.*, 2013).

I.3.3.1.2.1- Le granulome bilharzien hépatique

Au niveau du foie, l'évolution de la réponse de l'hôte vis-à-vis des œufs de schistosomes a été subdivisée en cinq principaux stades. Il s'agit des stades initial, exsudatif, exsudatif-prolifératif, prolifératif et involutif (Burke *et al.*, 2009).

Le stade initial est caractérisé par une accumulation graduelle des lymphocytes, des neutrophiles et des éosinophiles autour de l'œuf nouvellement déposé dans le foie. Ceci aboutit à la formation d'un micro-abcès caractéristique de la phase exsudative. Au fur et à mesure que la formation du granulome évolue jusqu'au stade exsudatif-prolifératif, les lymphocytes T CD4 activés après présentation d'antigènes d'œufs de schistosomes, se multiplient et produisent des cytokines chimiotactiques qui recrutent de nombreuses cellules telles que les cellules de Kupffer, les neutrophiles, les éosinophiles, les cellules endothéliales, les cellules de Ito et les plaquettes autour de l'œuf. A ce même stade, les histiocytes et les cellules épithélioïdes commencent à apparaître à la périphérie et remplacent graduellement la zone occupée par les différentes espèces leucocytaires. Les fibrocytes apparaissent également à la périphérie des lésions et forment une couche cellulaire autour des histiocytes et des cellules épithélioïdes. Durant le stade prolifératif, les

cellules recrutées se différencient et se multiplient. Simultanément, le granulome s'enrichit en fibroblastes, en fibres réticulaires, en cellules plasmiques et en fibres de collagène qui forment une architecture concentrique et les éosinophiles forment une couche additionnelle à la périphérie des lésions. Progressivement, les fibrocytes et les fibres de collagène finissent par devenir prédominant alors que les autres types de cellules diminuent en nombre (**Figure 9**). Au stade involutif, la taille des granulomes est considérablement réduite et les fibres de collagène sont dégradées. L'œuf est désintégré et le tissu hépatique est régénéré (Pearce et MacDonald, 2002; Burke *et al.*, 2009; Hams *et al.*, 2013; Schwartz et Fallon, 2018).

I.3.3.1.2.2- Le granulome bilharzien intestinal

A l'inverse du granulome hépatique, la formation du granulome n'est pas complète au niveau intestinal ; cela est dû au court séjour (6 à 10 jours) des œufs du parasite dans la paroi intestinale (Hams *et al.*, 2013; Schwartz et Fallon, 2018). En effet, pour se protéger de l'action cytolytique de la larve contenue dans les œufs du parasite, les cellules musculaires de la paroi intestinale sont activées sous l'action de l'IL-33 et de l'IL-25 produites par les macrophages et les cellules dendritiques ; ce qui entraîne une augmentation de la contraction de la musculature favorisant ainsi l'expulsion des œufs du parasite de la paroi vers la lumière intestinale (Schwartz et Fallon, 2018; Herbert *et al.*, 2019). Néanmoins, pendant le séjour effectué par l'œuf de *S. mansoni* dans la paroi intestinale, on note une forte densité de macrophages mais avec très peu d'éosinophiles, de lymphocytes B et T et de fibroblastes autour de l'œuf (**Figure 7**) (Mayer *et al.*, 2017; Schwartz et Fallon, 2018).

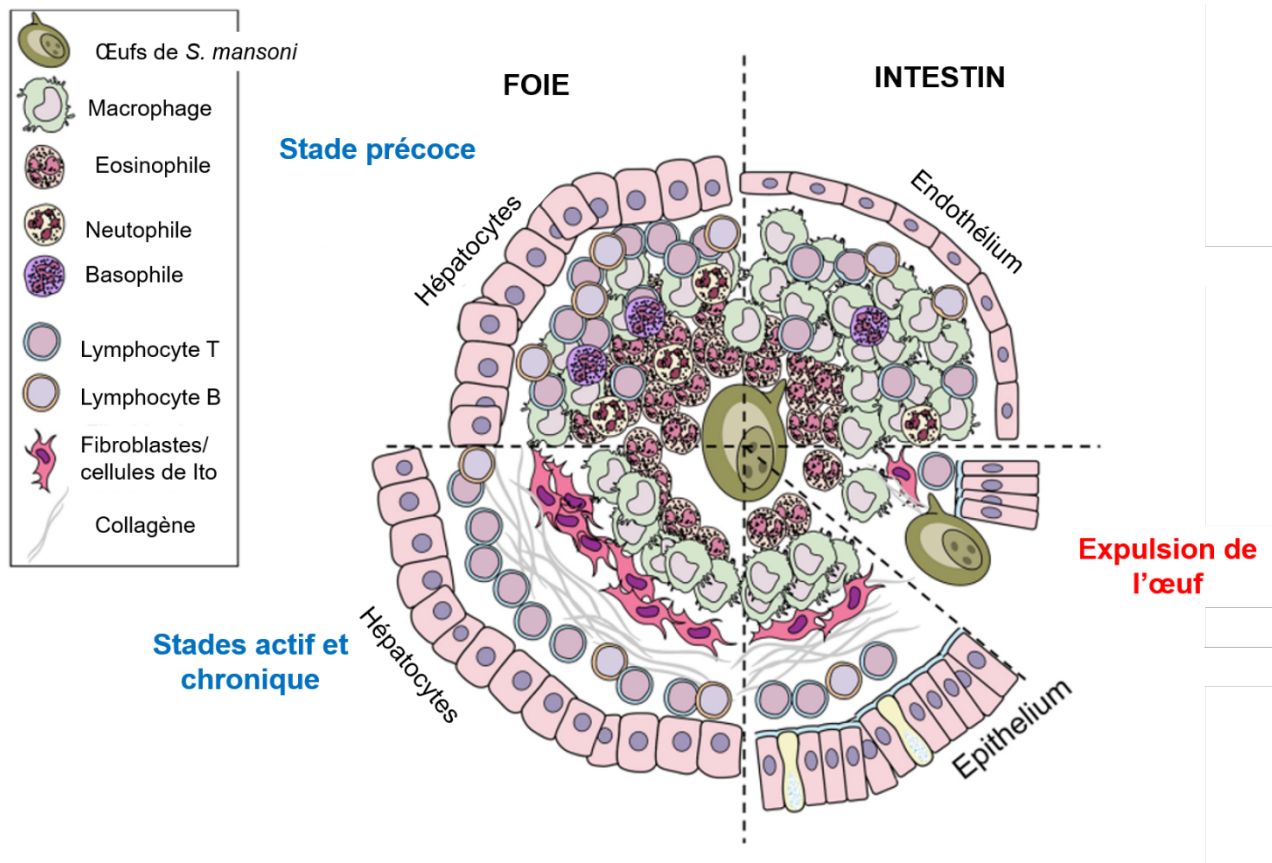


Figure 7 : Composition des granulomes bilharziens hépatique et intestinal (Schwartz et Fallon, 2018).

I.3.3.1.3- Fibrose hépatique au cours de l'infection à *Schistosoma mansoni*

La fibrose est la conséquence du déséquilibre entre la fibrogénèse et la fibrolyse. La fibrogénèse est le processus de synthèse et de dépôt des constituants de la matrice extracellulaire (MEC) tandis que la fibrolyse représente le processus de dégradation de ces constituants par les métalloprotéinases matricielles (MMPs). Le principal type cellulaire impliqué dans le mécanisme de fibrose est appelé cellules de Ito ou cellules étoilées du foie (HSCs). Dans un tissu hépatique sain, ces cellules sont désactivées. Elles y assurent principalement le stockage de la vitamine A produite par les hépatocytes et la synthèse des constituants de la MEC dont le collagène est la composante principale (Marieb et Hoehn, 2019).

Une caractéristique de l'infection à *S. mansoni* est le développement de la fibrose autour de l'œuf du parasite au niveau de l'espace porte hépatique. En réponse aux dommages tissulaires induites par l'œuf du parasite, les hépatocytes détruits vont libérer l'IL-33 qui constitue une molécule d'alerte. L'IL-33 va, à travers ses récepteurs ST2 présents sur les macrophages, induire l'activation alternative des macrophages (M2) qui, sous l'action de l'IL-13 et de l'IL-4 produites au cours de la réponse Th2, entraînent la production de collagène. Cette action va entraîner la fibrogénèse via la synthèse de la proline et de

polyamine à partir de la L-arginine sous l'action de l'arginase (**Figure 8**) (Pearce et MacDonald, 2002; Wilson *et al.*, 2007; Burke *et al.*, 2009). En outre, il a également été démontré que les macrophages (M2), via la molécule de surface appelée Fizz-1 (« Found in inflammatory zone-1/RELM α »), induisent l'activation et la différenciation des cellules de Ito en fibroblastes (Kamdem *et al.*, 2018).

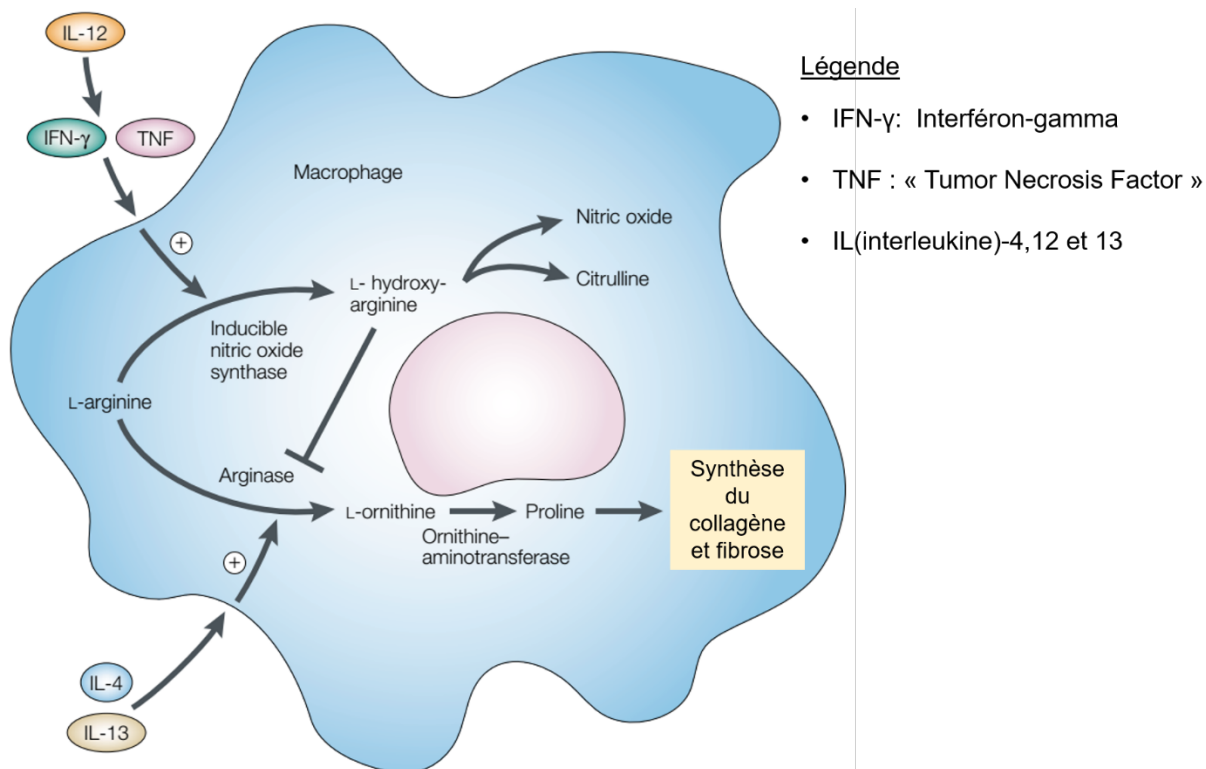
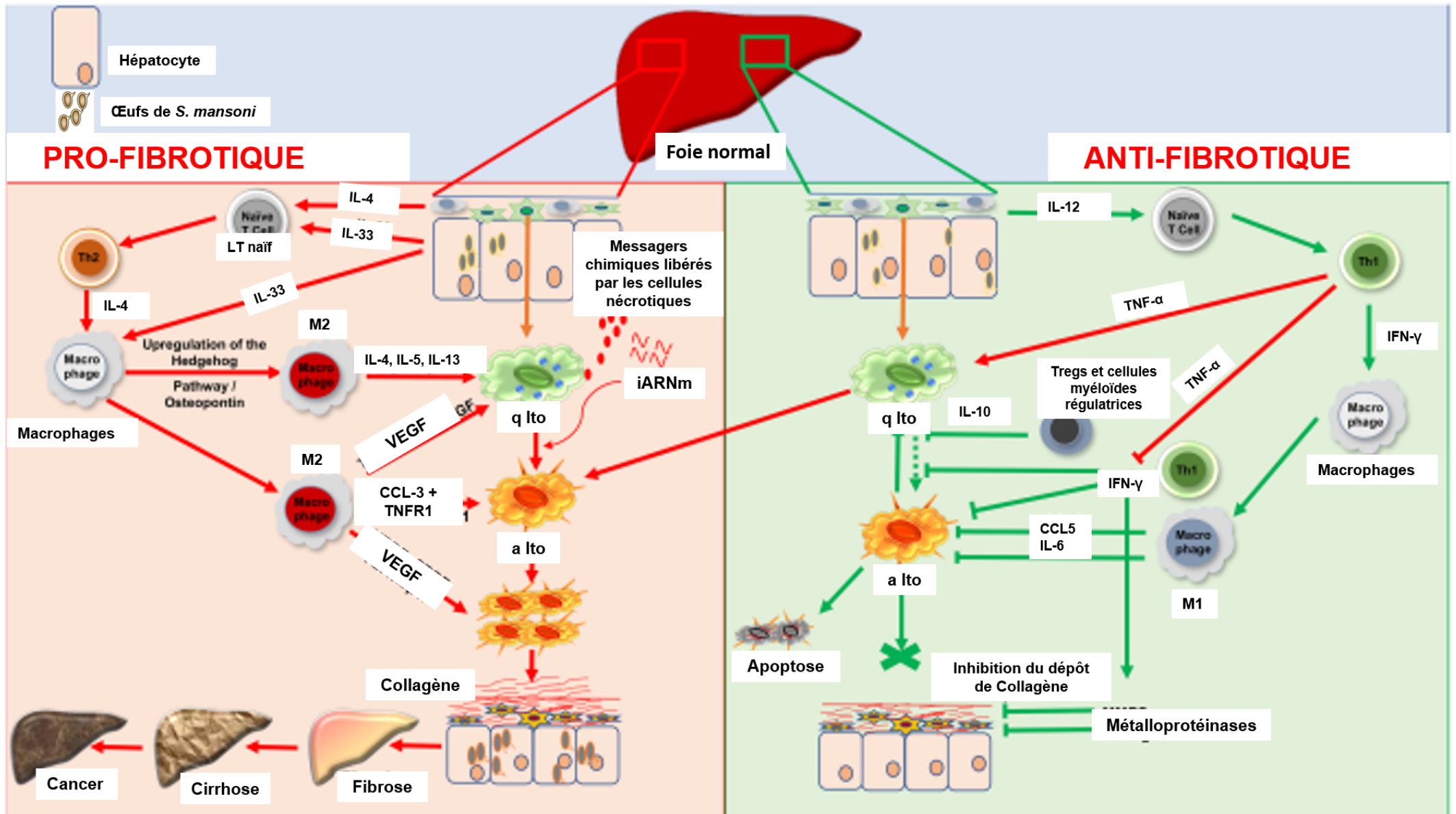


Figure 8 : Mécanisme de fibrogénèse et régulation par les macrophages (Pearce et MacDonald, 2002).

La présence des antigènes de sécrétés et libérés par le miracidium va activer les cellules lymphoïdes innées qui vont à leur tour libérer l'IL-4. En association avec l'IL-33 libérée par les hépatocytes détruits, l'IL-4 va agir sur les lymphocytes T immunocompétent et activer leur différenciation et promouvoir une réponse immune de type Th2 avec une production des IL-4, IL-5 et IL-13. L'IL-13 va à son tour entraîner l'activation des cellules de Ito quiescentes et leur différenciation en myofibroblastes producteurs de composantes de la matrice extracellulaire (MEC), de métalloprotéinases, ainsi que des inhibiteurs tissulaires des métalloprotéinases (TIMPs). L'accumulation de ces MECs, dont la composante principale est le collagène I, au niveau des tissus endommagés est à l'origine de la fibrose. Concomitamment, le processus de fibrogénèse est associé à une dégradation du tissu fibreux par protéolyse par l'action des métalloprotéinases. Leur activité est donc inhibée par l'action des TIMPs afin d'amplifier le processus de fibrogénèse (**Figure 9**) (Pearce et MacDonald, 2002; Burke *et al.*, 2009; Kamdem *et al.*, 2018).



LT : lymphocyte T ; IL (interleukine)-4,5,6,10,12,13 et 22 ; IFN (Interféron)- γ ; TNF (Tumor Necrosis Factor)- α ; CCL5 : chemokine-ligand-5 ; VEGF : Vascular endothelial growth Factor ; TNFR1 : Tumor Necrosis Factor Receptor 1 ; M1 : macrophage classique ; M2 : macrophage activé ; q Ito : cellule de quiescente ; a Ito : cellule de Ito activée.

Figure 9 : Mécanisme de fibrogénèse et régulation de la fibrose au cours de l'infection à *Schistosoma mansoni* (Kamdem *et al.*, 2018).

I.3.3.2- Régulation de l'immunopathologie induite par *Schistosoma mansoni*

Au cours de l'infection à *S. mansoni*, la modulation des réponses immunitaires de type Th1 et Th2 ainsi que de la fibrose est essentielle pour la prévention de la morbidité chronique et la survie de l'hôte. Cette modulation est assurée par l'action combinée des lymphocytes T régulateurs, des lymphocytes B, des cytokines (IL-10 et TGF- β), de la chimiokine CCL5 (RANTES), du facteur de transcription FoxP3 (« Forkhead box protein 3») et du récepteur α 2 de l'IL-13 (IL13R α 2) (Wilson *et al.*, 2007; Burke *et al.*, 2009; Hams *et al.*, 2013; Masamba et Kappo, 2021).

Par l'expression de l'IL-10 et par la stimulation des lymphocytes T régulateurs, les lymphocytes B acquièrent la capacité de bloquer la réponse pro-inflammatoire. En effet, lorsque les lymphocytes B spléniques se lient aux antigènes de l'œuf grâce aux « Toll like receptors (TLRs) » il se produit une sécrétion d'IL-10 qui stimule le développement des lymphocytes T régulateurs (Wilson *et al.*, 2007). De plus, il a été découvert que l'IL-10 régule l'expression des chimiokines CXCL9 et CXCL16 responsables du recrutement des lymphocytes B au niveau du foie et de ce fait régule la réponse inflammatoire dans cet organe (Masamba et Kappo, 2021).

Par ailleurs, la présence des cellules présentatrices d'antigène au niveau du granulome inflammatoire entraîne la différenciation des lymphocytes T immunocompétents en lymphocytes T régulateurs encore appelés CD4+CD25+ qui jouent un rôle important dans la régulation de la réponse granulofibrotique. On distingue deux sous-types de lymphocytes T régulateurs (Tregs) : les Tregs naturels (naTregs) ou CD4+CD25+FoxP3+ et les Tregs inductibles (iTregs) ou CD4+CD25+FoxP3-. Ces deux sous-types de Tregs par la sécrétion du Foxp3 et de l'IL-10, régulent les réponses Th1 et Th2 et contrôlent le développement de la fibrose hépatique (Wilson *et al.*, 2007; Burke *et al.*, 2009).

Pour induire la fibrogénèse, l'IL-13 se fixe sur ses récepteurs de type α 1 (IL13R α 1) situés sur les cellules de Ito et les macrophages (M2). La sécrétion du Foxp3 par les naTregs entraîne l'activation des récepteurs α 2 de l'IL-13 (IL13R α 2). Ces récepteurs jouent un rôle « decoy » et rentrent en compétition avec les IL13R α 1 pour la fixation de l'IL-13 et limitent considérablement la cascade de réactions pro-fibrotiques (Burke *et al.*, 2009; Kamdem *et al.*, 2018). Dans le même sens, la production d'IL-10 par les iTregs est à l'origine de la suppression de la réponse inflammatoire Th1 par inhibition de la sécrétion d'IFN- γ suite à la régulation de l'expression du couple IL-12/IL12R (Pearce and MacDonald, 2002; Burke *et al.*, 2009). De plus, l'IL-10 produite par les iTregs entraîne le blocage de l'activation des cellules de Ito et empêche de ce fait la production des MEC et l'inhibition de l'activité des TIMPs. D'autre part, l'IL-10 active les métalloprotéinases à l'origine de la dégradation par

protéolyse du collagène au niveau du tissu fibreux (**Figures 10 et 12**) (Burke *et al.*, 2009; Kamdem *et al.*, 2018).

S'agissant du TGF- β , bien que son rôle soit controversé, c'est une cytokine importante pour la régulation de l'immunopathologie induite par l'infection à *S. mansoni*. Après sa production par les iTregs activés, le TGF- β inhibe la production des cytokines Th2 (IL-4, IL-5, IL-13) et de ce fait régule la réaction inflammatoire granulomateuse et la fibrose au niveau hépatique (Fallon et Mangan, 2007; Molehin, 2020).

A l'inverse de toutes les autres chimiokines, le CCL5 ou RANTES (« Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted ») inhibe la réponse inflammatoire granulomateuse et prévient la sévérité de la pathologie hépatique induite par *S. mansoni*. En effet, Il a été démontré qu'en cas de déficience de CCL5, les souris infestées par *S. mansoni* développent une pathologie sévère (**Figure 10**) (Souza *et al.*, 2006, 2008; Burke *et al.*, 2009; Chuah *et al.*, 2014;). De même, il a été démontré que le CCL5 produit par les macrophages classiques (M1) a un rôle central dans le mécanisme de régulation des réponses Th1 et Th2. Il agit en contrôlant l'activation et la migration des cellules au niveau des foyers inflammatoires au cours de l'infection à *S. mansoni* (Booth *et al.*, 2004; Kamdem *et al.*, 2018). Également, cette chimiokine protégerait contre une fibrose hépatique sévère en inhibant la production des MEC et des TIMPs par les cellules de Ito (Kamdem *et al.*, 2018) (**Figure 9**).

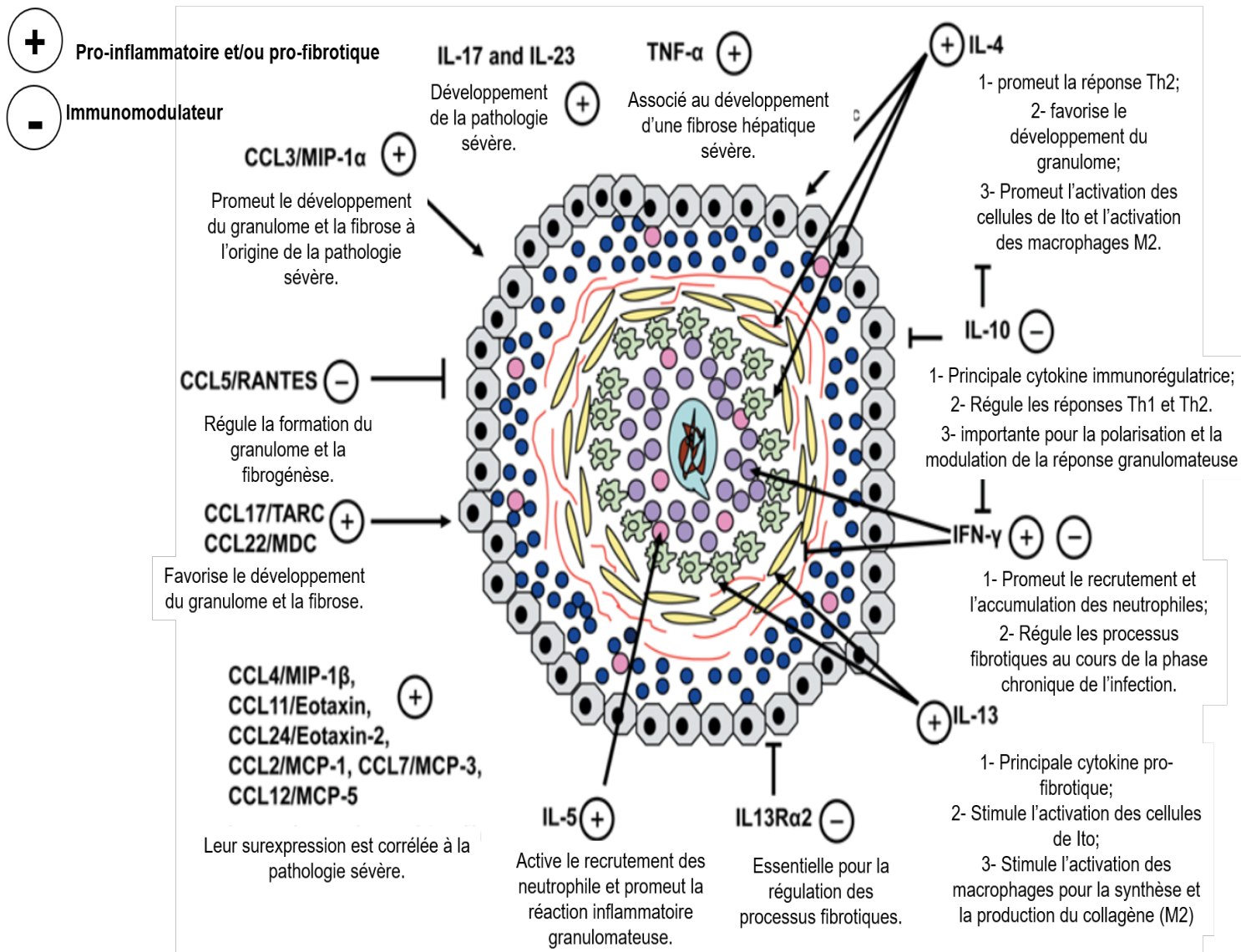


Figure 10 : Médiateurs majeurs impliqués dans le développement et la régulation de la réaction granulomateuse dans le foie (Burke *et al.*, 2009).

I.4- Généralités sur *Sida pilosa*

I.4.1- Systématique de *Sida pilosa*

Selon Hutchinson et Dalziel (1958), la systématique de *Sida pilosa* Retz est la suivante :

- Règne : Végétal
- Sous-règne : Plantes vasculaires
- Division : Spermaphytes
- Subdivision : Angiospermes
- Classe : Dicotylédones
- Ordre : Malvales
- Famille : Malvacées
- Genre : *Sida* Linn
- Espèce : *Sida pilosa* Retz

I.4.2- Botanique et écologie

La famille des malvacées compte environ treize genres parmi lesquels le genre *Sida* Linn. qui compte plus de 200 espèces (Brandão *et al.*, 2017; Rodrigues and de Oliveira, 2020). *Sida pilosa* Retz est une plante rampante qui se caractérise par son port rampant et sa tige grêle qui s'enracine généralement au niveau des nœuds. Cette plante présente une pubescence modérée. Le limbe, largement cordé à la base et acuminé au sommet, a une marge doublement dentée ; le pétiole est sensiblement aussi long que le limbe. Les fleurs sont solitaires ou par deux et de couleur jaune crème (Viarouge *et al.*, 1995; Adjanooun *et al.*, 1996;) (**Figure 11**). On la retrouve par exemple au Cameroun, en Inde et au Pakistan. Les synonymes de *Sida pilosa* Retz sont : *Sida cordata* (Burm.F.) Borss. Waalk., *Sida humilis* Willd., *Sida veronicifolia* Lam. et *Sida javensis* Cav. (Viarouge *et al.*, 1995; Adjanooun *et al.*, 1996).

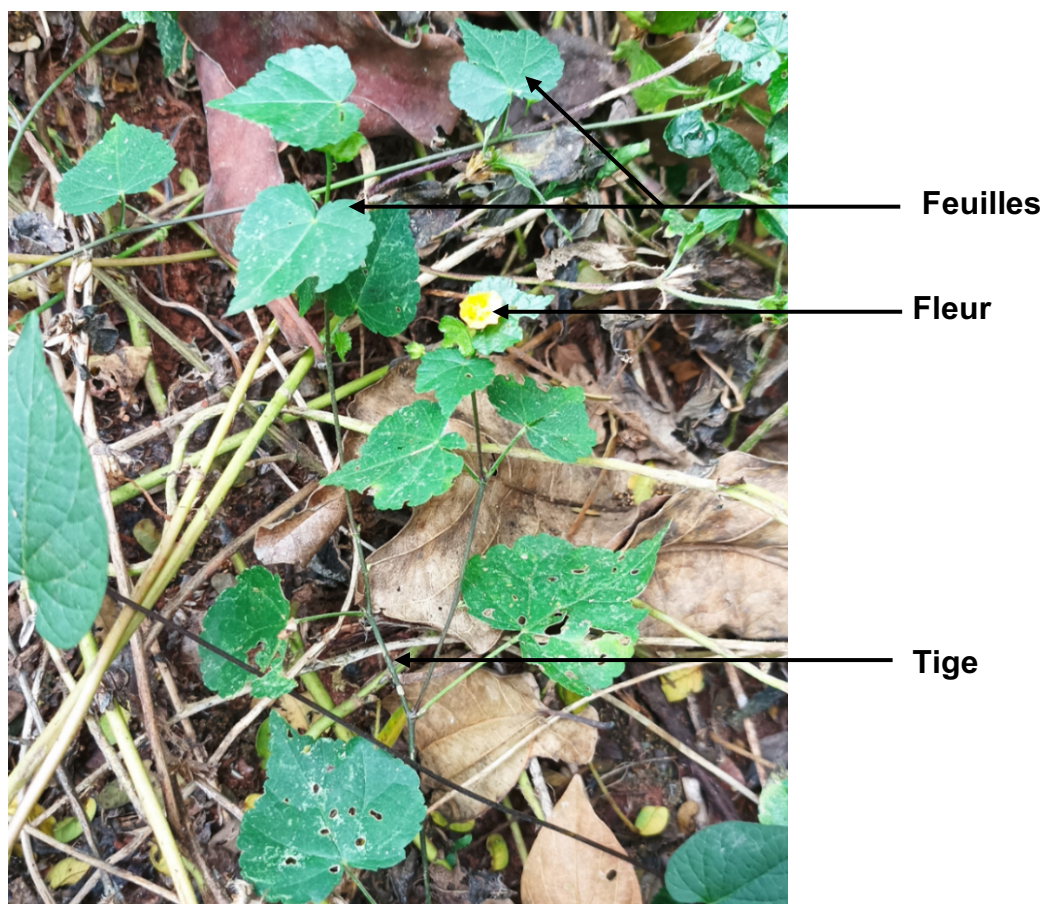


Figure 11 : Parties aériennes de *Sida pilosa* Retz (photo prise à Leboudi 2 en Octobre 2017 par Femoe).

I.4.3- Données ethnopharmacologiques sur *Sida pilosa*

Connu sous les noms vernaculaires de « Ivangnoe » en Bakwéri, « Obolsi » en langue Ewondo ou « Otonde » en langue Eton, *Sida pilosa* est utilisé au Cameroun pour le traitement des douleurs du bas ventre et des helminthiases intestinales. Pour ce faire, il est

recommandé de macérer la plante entière dans l'eau et de boire aussi souvent que possible jusqu'à guérison (Adjanooun *et al.*, 1996). Elle est également utilisée au Cameroun dans le traitement des douleurs liées à l'accouchement, des dysménorrhées, des troubles d'érection, des gonorrhées et des douleurs post-partum (Focho *et al.*, 2009). En Inde, dans la médecine traditionnelle «Siddha» et «Ayurveda», les racines de *S. cordata* sont utilisées comme diurétique, astringent, fébrifuge et adoucissant. Les graines sont utilisées comme laxatif et aphrodisiaque, ainsi que dans le traitement de la cystite et de la gonorrhée.

I.4.4- Activités pharmacologiques de quelques extraits et fractions de *Sida pilosa*

Des études expérimentales ont permis de montrer que l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* ainsi que sa fraction au *n*-butanol possèdent des activités, hépatoprotectrice, anti-inflammatoire, antioxydante et antifibrotique sur le modèle murin de la schistosomiase à *S. mansoni* (Jatsa *et al.*, 2016, 2018a). Il a également été montré que cet extrait est doté d'une toxicité moindre (Jatsa *et al.*, 2009b). L'activité hépatoprotectrice de l'extrait éthanolique de la plante entière de *S. cordata* a été démontrée *in vitro* sur des lignées cellulaires du foie humain (Gnanasekaran *et al.*, 2012). L'extrait éthanolique de ses feuilles était dotée d'une activité hépatoprotectrice *in vivo* contre l'hépatotoxicité induite par le tétrachlorure de carbone (Mistry *et al.*, 2013). Des effets antioxydants de l'extrait méthanolique de la plante entière de *S. cordata* et de ses différentes fractions (*n*-hexane, acétate d'éthyle et *n*-butanol) ont été prouvés *in vitro* (Shah *et al.*, 2013).

I.4.5- Etudes phytochimiques et activités biologiques des composés isolés de *Sida pilosa*

Le screening phytochimique de l'extrait aqueux de *Sida pilosa* a révélé la présence de composés bioactifs tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les triterpènes, les tanins et les phénols (Jatsa *et al.*, 2009b). L'analyse quantitative menée par Jatsa *et al.* (2016), a révélé une concentration de polyphénols totaux de $64,02 \pm 0,27$ mg/g d'extrait et de flavonoïdes de $6,21 \pm 1,22$ mg/g d'extrait.

Une liste non exhaustive de quelques composés isolés de *Sida pilosa* ainsi que de leurs activités biologiques (Ganesh et Mohankumar, 2017; Rodrigues et de Oliveira, 2020) est donnée sur le **tableau II**.

Tableau I : Liste de quelques composés isolés de *Sida pilosa* et leurs activités biologiques

Classes	Composés	Activités biologiques
Acide aliphatique	1-Heptatriacotanol	Antimicrobien
	2-Méthyl-1-hexadécanol	Antimicrobien
	3,7,11,15-Tétraméthyl-2-hexadécan-1-ol	Antimicrobien, anti-inflammatoire
	1-Hexadécanol	Antimicrobien
Flavonoïde	Catéchine	Antihyperglycémiant
Alcaloïde	1-(4-Bromobutyl)-2-pipéridinone	Antimicrobien, anti-inflammatoire
Acide dicarboxylique	Acide 1,2-benzène dicarboxylique, mono (2-éthylhexyl) ester	Cytotoxique
Acide gras	Acide oléique	Anti-inflammatoire, anti-androgénique anticancéreux, hypocholestérolémiant
	Acide Octadécanoïque	Antioxydant, anti-inflammatoire
	Acide 9,12-Octadecadiénoïque méthyl ester	Hépatoprotecteur, antihistaminique, hypocholestérolémiant
Triterpène	Acide nonanoïque	Antimicrobien
	5 α -Cholestan-3 β -ol, 2-méthylène	Antimicrobien, anticancéreux, diurétique, antiasthmatique, antiarthritique
	Spiro[androst-5-ene-17,1'-cyclobutan]-2'-one	Antimicrobien, anticancer, diurétique, antiasthmatique, antiarthritique, anti-inflammatoire
	Phytol	Antinociceptif, antioxydant, anticancéreux, anti-inflammatoire antimicrobien
Autres	Squalène	Antioxydant, antitumoral
	Vitamines D3 et E	Antioxydant
	3-Trifluoroacétoxy-pentadécane	Antioxydant, anti-néphrotoxique
	1,2-15,16-Diepoxypentadécane	Antitumoral, anti-inflammatoire
	3-Hexadécyloxy-carbonyl-5-(2-hydroxyéthyl)-4-méthylimidazolium	Antifongique, antibactérien

CHAPITRE II

MATERIEL ET METHODES

II.1- Matériel

II.1.1- Matériel végétal

Les parties aériennes de *Sida pilosa* ont été récoltées dans la localité de Leboudi 2 arrondissement d'Okola, département de la Lékié, région du Centre (Cameroun) en Octobre 2016. La plante a été identifiée à l'Herbier National du Cameroun par comparaison à l'échantillon de Letouzey n°62/7 enregistré dans la collection de l'herbier sur le N°6974/SRFcam.

II.1.2- Matériel animal

II.1.2.1- Les mollusques

Les mollusques utilisés pour notre expérimentation étaient de l'espèce *Biomphalaria pfeifferi* naturellement infestés. Ils provenaient des abords de la rivière « Mock » située dans la localité de Makénééné, département du Mbam et Inoubou, région du Centre (Cameroun). Ils ont été élevés dans le molluscarium du Centre Schistosomiase et Parasitologie (CSP) de Yaoundé suivant les conditions standards c'est-à-dire une salle aérée et thermorégulée (25-26 °C), une nutrition à base de feuilles fraîches de laitue et un environnement aquatique adéquat constitué d'eau de source renouvelée tous les deux jours.

II.1.2.2- Les cercaires

Les cercaires utilisées pour cette expérimentation ont été obtenues à partir du test d'émission cercarienne réalisé sur les mollusques naturellement infestés provenant de la rivière « Mock ».

II.1.2.3- Les souris

Les souris blanches Balb/c de l'espèce *Mus musculus*, de sexe mâle âgées d'environ 60 jours et pesant entre 22 et 30 g ont été utilisées pour notre étude. Elles étaient élevées dans l'animalerie du Centre Schistosomiase et Parasitologie de Yaoundé dans les conditions standards d'élevage (température ambiante, aération suffisante, éclairage naturel de 12h jour/12h obscurité). Leur alimentation était constituée d'un mélange de farine de maïs (33%), farine de blé (32%), farine de poisson (12%), farine de soja (13%), tourteau de palmiste (5%), farine d'os (3%), sel de cuisine (1%) et vitamines (1%). L'eau de boisson (eau de robinet) et les aliments leur étaient fournis *ad libitum*.

II.2- Méthodes

II.2.1- Préparation de l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa*

Les parties aériennes de *S. pilosa* ont été séchées à l'ombre, puis pulvérisées à l'aide d'une moulinette. La poudre obtenue (1000 g) a été macérée à température ambiante

pendant 48 heures dans de l'eau de robinet dans la proportion 100 g de poudre pour 1 litre d'eau. Le macérat a été filtré à l'aide du papier Whatman N° 3 et le filtrat lyophilisé pour élimination totale du solvant. Ce procédé a permis d'obtenir 176,21 g d'une pâte de couleur marron correspondant à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* (EASp), soit un rendement d'extraction de 17,62% (Figure 12).

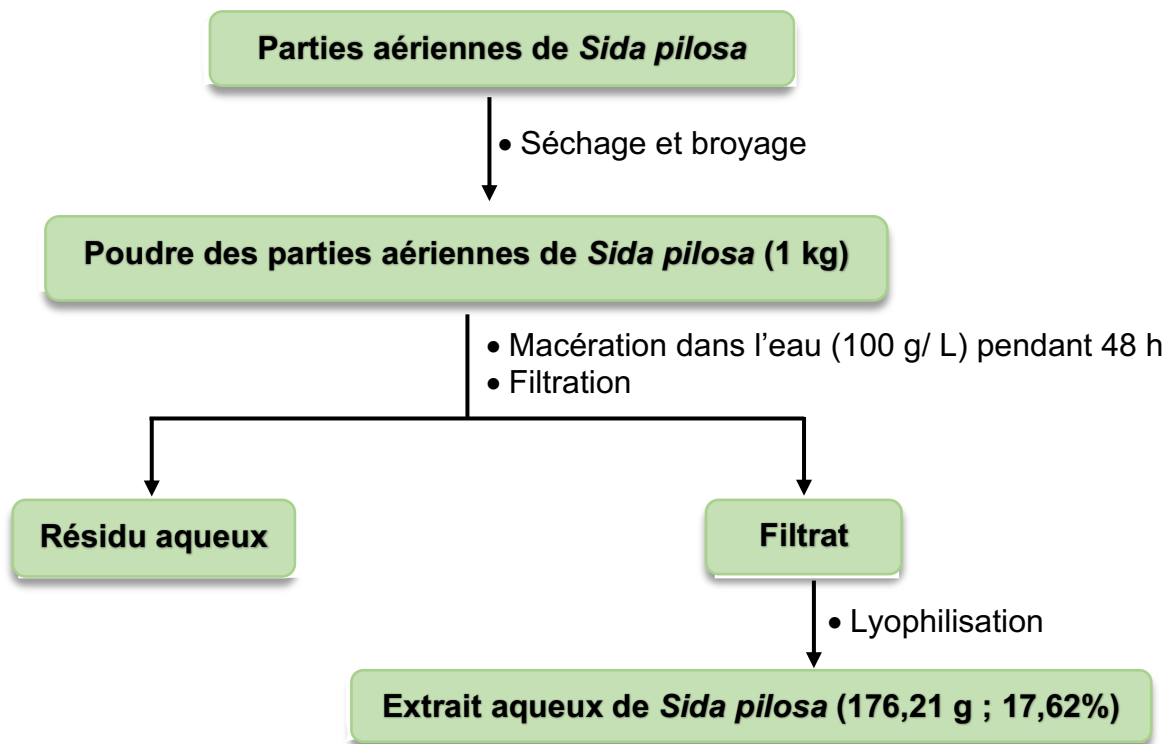


Figure 12 : Protocole de préparation de l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa*

II.2.2- Réalisation du cycle expérimental de *Schistosoma mansoni*

II.2.2.1- Récolte des mollusques

Pour les différentes expérimentations, nous avons utilisées des mollusques hôtes intermédiaires de *S. mansoni* appartenant à l'espèce *Biomphalaria pfeifferi*. Ils étaient naturellement infestés et étaient récoltés aux abords de la rivière « Mock » à Makénééné, une localité située dans le département du Mbam et Inoubou, région du Centre au Cameroun. De retour au laboratoire, ces mollusques ont été soumis à un test d'émission cercarienne afin d'identifier les mollusques infestés émetteurs de cercaires. Pour ce faire, les mollusques ont été individuellement placés dans des cupules contenant de l'eau de source et exposés à une source lumineuse (lampe de 40 Watt dont la proximité au bac constituait une source de chaleur) pendant 3 heures (entre 10 h et 13 h). Cette technique consiste à stimuler la libération des larves infestantes (furcocercaires) par les mollusques sous l'action combinée de la lumière et de la chaleur. A l'issue de l'exposition, l'eau contenue

dans chaque cupule a été examinée à la loupe binoculaire pour attester de l'émission des cercaires. Ce procédé a permis d'identifier 16 mollusques émetteurs de cercaires qui ont été utilisés pour les expérimentations *in vivo* et *in vitro*. Les mollusques non émetteurs quant à eux ont été mis en élevage et utilisés pour le maintien du cycle biologique de *S. mansoni* au laboratoire.

II.2.2.2- Infestation des souris

Pour chaque expérimentation *in vivo*, les souris adultes mâles de la souche BALB/c, âgées d'environ 60 jours ont été utilisées. Elles ont été infestées par la technique d'immersion de la queue et des pattes telle que décrite par Smithers et Terry (1965). Brièvement, après le test d'émission cercarienne effectué sur 16 mollusques hôtes intermédiaires, une partie de la suspension cercarienne obtenue a été versée dans une boîte de pétri en verre et déposée sur la platine d'un microscope inverse de marque Olympus CK 2 (Olympus, Tokyo, Japan). A l'objectif x4, à l'aide d'une pipette réglée à 1000 μ L, 80 cercaires de *S. mansoni* ont été prélevées puis introduit dans des bocaux en verre contenant chacun 10 mL d'eau de source. Les souris ont ensuite été individuellement introduites dans chaque bocal pour une durée de 120 minutes. Après la période d'exposition, les souris ont été retirées des bocaux et réparties dans les différentes cages prévues pour les expérimentations.

II.2.3- Protocole expérimental de l'établissement d'une posologie préventive optimale de praziquantel contre la pathologie à *Schistosoma mansoni*

Deux schémas expérimentaux distincts ont été adoptés pour la recherche de la posologie optimale de praziquantel administrée dès la phase initiale de l'infection à *S. mansoni* chez la souris. La première, a permis d'évaluer l'impact du traitement au praziquantel sur l'infection aigüe liée à la croissance et la maturation du schistosome. La seconde quant à elle a permis d'évaluer l'activité préventive du traitement au praziquantel sur l'installation de la pathologie à *S. mansoni* chez la souris. Pour ce faire, soixante-douze (72) souris mâles de souche BALB/c âgées d'environ 60 jours et pesant entre 22 et 27 ont été infestées individuellement par 80 cercaires de *S. mansoni*. Pour cette expérimentation, quatre différentes posologies de praziquantel ont été définies :

- Une dose unique de 500 mg/kg de poids corporel (Ribeiro *et al.*, 2004; Abdel *et al.*, 2018);
- Une dose de 100 mg/kg administrée quotidiennement pendant 5 jours consécutifs (Cioli *et al.*, 2004);
- Une dose de 100 mg/kg quotidiennement administrée pendant 28 jours ;

- Une dose de 18 mg/kg administrée quotidiennement pendant 28 jours. Cette dose a été obtenue en divisant la dose de 500 mg/kg par 28 jours.

Les souris infestées ont été réparties en quatre groupes de seize (16) souris chacun. Compte tenu du risque de toxicité du praziquantel à la dose de 100 mg/kg quotidiennement administrée pendant 28 jours, 24 souris infestées ont été affecté au groupe de souris recevant cette posologie. Un groupe, constitué de 12 souris non infestées a été utilisé comme témoin sain (**Tableau II**).

Tableau II : Répartition et traitement des souris pour l'évaluation de l'activité préventive du praziquantel sur les phases aiguë et granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni*

	Traitement	Posologie	Groupe	Nombre de souris
Souris non infestées	H ₂ O	10 mL/kg	TS	12
Souris infestées et non traitées	H ₂ O	10 mL/kg	TI	16
		100 mg/kg pendant 5 jours	PZQ1	16
Souris infestées et traitées	Praziquantel (PZQ)	100 mg/kg pendant 28 jours	PZQ2	24
		18 mg/kg pendant 28 jours	PZQ3	16
		Dose unique de 500 mg/kg	PZQ4	16

TS : souris non infestées ayant reçu de l'eau distillée ; TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ1 : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 5 jours ; PZQ2 : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; PZQ3 : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; PZQ4 : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose unique de 500 mg/kg.

Le traitement des souris a débuté le jour 1 post-infestation (*p.i*) et s'est terminée le jour 28 *p.i*. Les différentes solutions ont été administrées par gavage à l'aide d'une sonde œsophagienne. Le praziquantel (PZQ) utilisé était sous la forme de comprimé de Cesol™ (Merck KGaA, Darmstadt, Germany).

Il a été rapporté que l'évolution de l'infection à *S. mansoni* est caractérisée d'une part, par une phase aiguë associée à une réponse immunitaire dirigée contre les stades larvaire, juvénile et adulte du parasite et dont le pic d'action est observé autour du 36^{ème} jour post-infestation (*p.i*). D'autre part, cette phase aiguë fait place à une phase granulomateuse associée à une réponse immunitaire dirigée contre les œufs du parasite piégés dans les tissus avec une activité maximale relevée autour du 56^{ème} jour *p.i* (Pearce and MacDonald, 2002; Molehin, 2020). L'objectif de cette expérimentation qui consiste à évaluer les activités préventive et immunomodulatrice de différentes posologies de praziquantel sur les phases

aiguë et granulomateuse de l'infection à *S. mansoni*, deux schémas expérimentaux ont été adoptés :

- Une première série de souris de chaque groupe (6 ou 8 souris par groupe) a été sacrifiée le 36^{ème} jour *p.i* afin d'évaluer l'impact du traitement au PZQ sur la croissance et la maturation du parasite correspondant à la phase aiguë de l'infection.
- Pour la seconde série, avant le sacrifice qui a eu lieu au 56^{ème} jour *p.i*, les souris ont été laissées sans traitement et en observation pendant 28 jours afin d'évaluer l'effet du traitement au PZQ sur l'installation des pathologies hépatique et intestinale correspondant à la phase granulomateuse de l'infection.

II.2.4- Protocole expérimental de l'évaluation des activités cercaricide, préventive et immunomodulatrice de l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur la schistosomiase à *Schistosoma mansoni*

II.2.4.1- Évaluation de l'activité cercaricide de l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa*

L'activité cercaricide de l'extrait aqueux de *Sida pilosa* a été évaluée en utilisant la protocole décrit par Tekwu *et al.*(2017).

II.2.4.1.1- Emission cercarienne et détermination de volume de la solution contenant les cercaires

Un nombre de 16 mollusques émetteurs de cercaires a été mis dans un bécher contenant 20 mL d'eau distillé puis l'ensemble a été exposé à une source lumineuse pendant 1h pour l'émission des cercaires. A l'issue de l'exposition, les mollusques ont été retirés du bécher et un volume de 100 µL de la solution de cercaires a été déposé sur trois lames porte-objet. Ensuite, 100 µL d'une solution de Lugol a été ajouté à chaque lame afin de fixer et colorer les cercaires. Le nombre de cercaires a été ensuite compté à l'aide d'une loupe binoculaire GXMicroscope GXMXTX-1C (GT Vision Ltd, UK) afin d'estimer le nombre de cercaires par 100 µL. Ce procédé a permis de déterminer le volume de solution contenant approximativement 25 cercaires de *S. mansoni* (Tekwu *et al.*, 2017; Acheampong *et al.*, 2020).

II.2.4.1.2- Réalisation du test d'évaluation de l'activité cercaricide *in vitro*

Une solution stock de concentration 10 mg/mL a été préparée en faisant dissoudre 20 mg de EASp dans 2mL d'eau distillée. A partir de cette solution stock, des dilutions ont été effectuées de façon à obtenir une série de concentrations allant de 1000 à 31,25 µg/mL (1000, 500, 250, 125, 62,5 et 31,25 µg/mL) dans chaque puits d'une plaque de culture de 24 puits. Pour chaque concentration de EASp, un volume de 1 mL a été introduit dans les

puits. Ensuite, environ 25 cercaires de *S. mansoni* ont été ajoutées dans chaque puits. Deux puits constitués uniquement de la solution de cercaires ont été utilisés comme puits témoins. Le Niclosamide-olamide 5% (1 µg/mL; Jiangsu Aijin Agrochemical Co. Ltd., China) a été utilisé comme substance de référence (Feussom *et al.*, 2020). Etant donné que la mobilité et l'infectivité des cercaires décroissent rapidement après 12 heures (Holtfreter *et al.*, 2011), la mortalité des cercaires a été évaluée toutes les 30 minutes pendant 150 minutes (2h30 min). Pour ce faire, chaque puits de la plaque a été observé à l'objectif x4 d'un microscope inverse de marque Olympus CK 2 (Olympus, Tokyo, Japan) et la mortalité des cercaires enregistrée à 30, 60, 90, 120, et 150 min. Les cercaires immobiles, noyées au fond de la plaque, ou dépourvues de leur queue étaient considérées mortes (Eissa *et al.*, 2011). Chaque concentration de EASp a été testée en dupliquât et l'expérimentation a été répétée. Les résultats ont été exprimés sous forme de pourcentage de viabilité ou de mortalité cercarienne et la valeur de concentration létale 50 (CL₅₀) a été calculée à chaque période d'observation.

II.2.4.2- Evaluation des activités préventive et immunomodulatrice de l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur la pathologie à *Schistosoma mansoni*

Afin d'évaluer les effets d'un traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* (EASp) sur les phases aigue et granulomateuse de l'infection à *S. mansoni* chez la souris, deux schémas expérimentaux ont été adoptés. A la lumière des travaux antérieurs réalisés par Jatsa *et al.* (2009b; 2016; 2018a), les doses de 100 et 200 mg/kg de EASp ont été retenues pour les expérimentations. Pour ce faire, soixante-quatre (64) souris mâles de souche BALB/c âgées d'environ 60 jours et pesant entre 22 et 27 ont été infestées individuellement par 80 cercaires de *S. mansoni*. Elles ont ensuite été réparties en quatre groupes de 16 souris chacune et traitées soit au PZQ soit à EASp. Un groupe, constitué de 12 souris non infestées a été utilisé comme témoin sain et un autre groupe de 16 souris non infestées recevant EASp à la dose de 200 mg/kg a été établi comme groupe témoin pharmacologique (**Tableau III**).

Tableau III: Répartition et traitement des souris pour l'évaluation du traitement de l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur les phases aiguë et granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni*

	Traitement	Posologie	Groupe	Nombre de souris
Souris non infestées	H ₂ O	10 mL/kg	TS	12
Souris infestées et non traitées	H ₂ O	10 mL/kg	TI	16
Souris infestées et traitées	Praziquantel	18 mg/kg pendant 28 jours	PZQ	16
	EASp	100 mg/kg pendant 28 jours	EASp ₁₀₀	16
		200 mg/kg pendant 28 jours	EASp ₂₀₀	16
Souris non infestées	EASp	200 mg/kg pendant 28 jours	TPh	16

TS : souris non infestées ayant reçu de l'eau distillée ; TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₁₀₀ : souris infestées puis traitées au à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₂₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours; TPh : souris non infestées recevant l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours.

Le traitement par voie orale des souris a débuté le jour 1 *p.i* et s'est terminé le jour 28 *p.i*. Une première série de souris de chaque groupe (6 ou 8 souris par groupe) a été sacrifiée le 36^{ème} jour *p.i* afin d'évaluer l'impact du traitement à EASp sur la croissance et la maturation du parasite correspondant à la phase aiguë de l'infection. Pour la seconde série, avant le sacrifice qui a eu lieu au 56^{ème} jour *p.i*, les souris ont été laissées sans traitement et en observation pendant 28 jours afin d'évaluer l'effet de EASp sur l'installation des pathologies hépatique et intestinale ; ce qui correspond à la phase granulomateuse de l'infection.

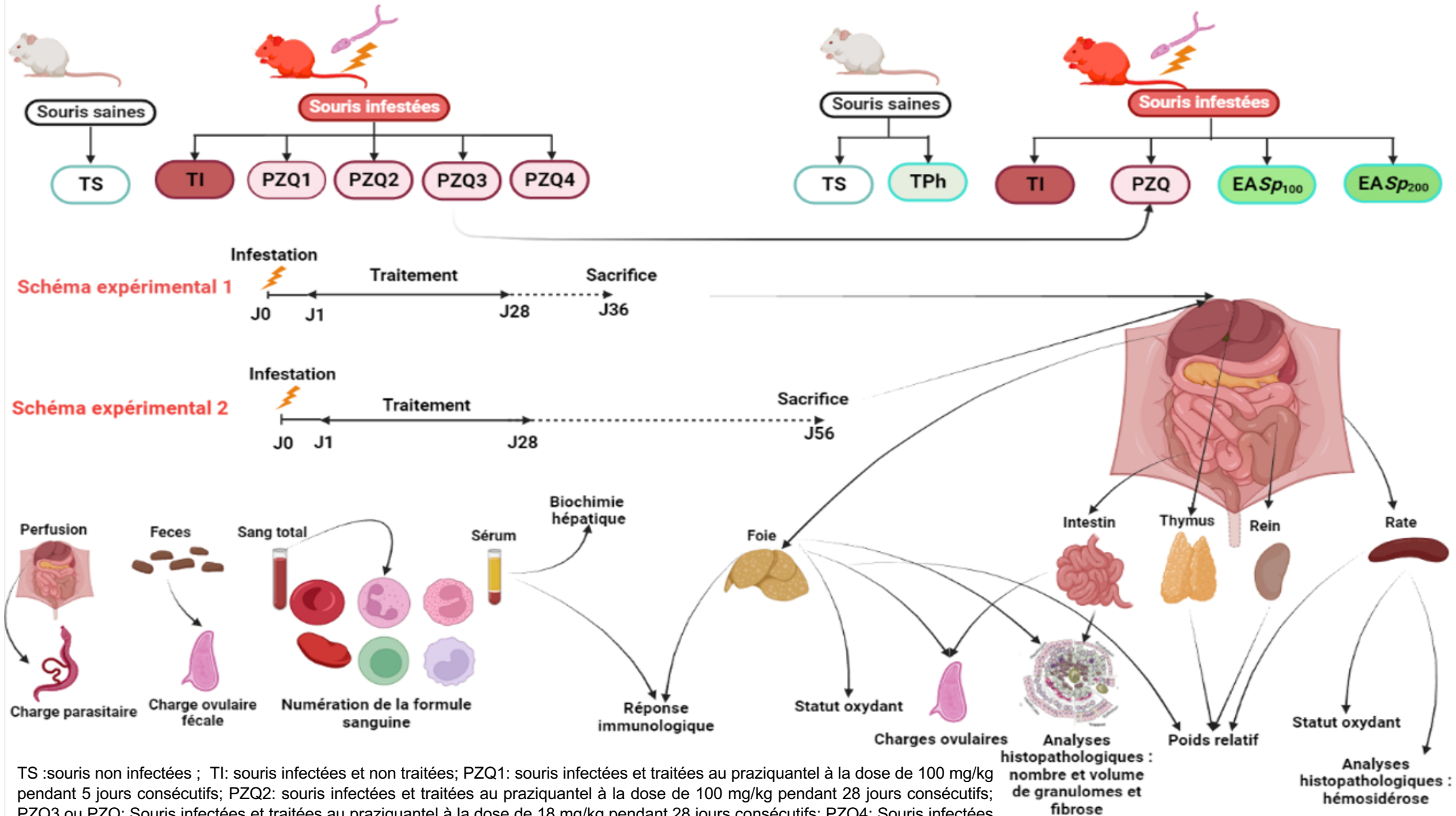
II.2.5- Paramètres évalués lors de l'étude des activités préventive et immunomodulatrice du praziquantel et de l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur les phases aiguë et granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni*

Afin d'évaluer l'effets du traitement au PZQ ou à EASp, pour chaque schéma expérimental, le poids corporel ainsi que le poids relatif du foie, de l'intestin, de la rate, du thymus et des reins ont été enregistrés. De même, la numération formule sanguine (NFS) de chaque souris a été effectuée afin de déterminer l'hématocrite, les taux d'hématies, de thrombocytes, de leucocytes totaux, d'espèces leucocytaires (lymphocytes, monocyte, granulocytes), d'hémoglobine ainsi que le volume globulaire moyen, la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine. Les

paramètres parasitologiques à travers la détermination des charges parasitaires ainsi que les charges ovulaires hépatique, intestinale et fécale ont été également évalués. Dans le sérum, la biochimie hépatique a été effectuée par la mesure des activités de l'alanine aminotransférase (ALAT), de l'aspartate aminotransférase (ASAT), de la phosphatase alcaline (PAL) et de la gamma-glutamyl transférase (γ -GT) ainsi que les taux de protéines et de bilirubine totales. La réponse immunitaire a également été évaluée dans le sérum. Les taux sériques du MCP-1, de l'IFN- γ , du TNF- α , du TGF- β , des IL-2, 4, 5, 10, 13 et 17 ont été mesurés. La réponse immunitaire a été évaluée au niveau des foyers granulomateux hépatique à travers la mesure de l'expression des gènes du MCP-1, du MIP-1 α , du TGF- β , du FGF-1, de l'IFN- γ , du TNF- α , des IL-10 et 13, du RANTES et du FoxP3. Les statuts oxydants hépatique et splénique ont été déterminés, ceci par l'évaluation des activités de la superoxyde dismutase et de la catalase ainsi que des taux de malondialdéhyde, de nitrites, et de glutathion réduit. Une analyse histopathologique du foie, de l'intestin et de la rate ainsi que l'étude histomorphométrique du foie et de l'intestin par la numération et la détermination du volume des granulomes bilharziens ainsi que la mesure de l'épaisseur de la musculature de l'iléon ont été effectuées (**Figure 13**).

Expérimentation 1: recherche d'une posologie de praziquantel efficace lors du stade initial de l'infection à *S. mansoni*

Expérimentation 2: évaluation des activités préventive et immunomodulatrice de l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur la pathologie à *S. mansoni*



TS :souris non infectées ; TI: souris infectées et non traitées; PZQ1: souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 5 jours consécutifs; PZQ2: souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ3 ou PZQ: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ4: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose unique de 500 mg/kg; AESp100 : souris infestées puis traitées au à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours; AESp200 : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours; TPh : souris non infestées recevant l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours.

Figure 13 : schéma synoptique de la méthodologie d'étude.

II.2.5.1- Prélèvement des échantillons

Durant la période expérimentale, le poids de chaque souris a été enregistré tous les trois jours jusqu'au jour du sacrifice. Ceci a permis de construire une courbe d'évolution pondérale des différents groupes d'animaux pour chaque expérimentation.

Le jour précédant le sacrifice, les souris ont été individuellement placées dans des bocalx dépourvus de litière pendant 5 heures pour la collecte des selles en vue de la quantification des œufs éliminés dans les fèces. Les selles collectées ont été pesées et conservées dans du formol 10 % tamponné au PBS.

A la fin de chaque expérimentation, avant le sacrifice, le sang de chaque souris a été prélevé par ponction retro-orbitaire. Une partie de ce sang a été introduite dans des tubes à EDTA et utilisée pour la numération formule sanguine L'autre partie du sang a été introduite dans des tubes secs puis centrifugée à 3500 tr/min pendant 15 minutes à 4°C à l'aide d'une centrifugeuse de marque Eppendorf 5810R (Eppendorf, Hambourg, Germany). Le sérum obtenu a été conservé à -70°C pour le dosage ultérieur des paramètres de la fonction hépatique, des protéines totales ainsi que de quelques cytokines et chimiokines.

Après le sacrifice des souris, le foie, l'intestin, la rate, les reins et le thymus de chaque souris ont été prélevés puis pesés. Le poids relatif de chaque organe a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$Pr (\%) = \left(\frac{\text{Poids de l'organe (g)}}{\text{Poids de la souris au sacrifice (g)}} \right) * 100$$

Avec Pr= Poids relatif de l'organe en % de poids corporel.

Pour chaque souris, les différents organes ont ensuite été traités comme suit :

- une portion du lobe gauche du foie et des portions de l'intestin (duodénum, jéjunum et caecum) ont été utilisés pour la détermination des charges ovulaires hépatique et intestinale.
- les deux-quarts du lobe droit du foie et la moitié de la rate ont été conservés dans du papier aluminium à -70°C pour la mesure de quelques biomarqueurs du statut oxydant hépatique et splénique.
- un quart du lobe droit du foie a été conservé dans un cryotube de marque eppendorf à -70°C pour la détermination de l'expression des gènes de quelques marqueurs de la réponse immunitaire.
- Le dernier quart du lobe droit et la portion latérale du lobe gauche ainsi que les lobes carré et caudé du foie, l'autre moitié de la rate et des portions de jéjunum et d'iléon ont été fixés dans le formol tamponné pour les études histologique et histomorphométrique.

II.2.5.2- Préparation des homogénats de foie et de rate

Les portions de rate et de foie conservées à -70°C ont été broyées dans un mortier en céramique sur un bac de glace. Les broyats obtenus ont été homogénéisés à 50 % (poids/volume) pour la rate (Al-Quraishy *et al.*, 2013; Dkhil *et al.*, 2014) et 20 % pour le foie (Jatsa *et al.*, 2015a) avec du tampon Tris-HCl 50 mM, KCl 150 mM pH 7,4. Les homogénats obtenus ont été centrifugés à 3500 trs/min à 4°C pendant 25 minutes. Le surnageant a permis d'effectuer le dosage des paramètres du stress oxydant.

II.2.6- Evaluation des paramètres parasitologiques des souris infestées à *Schistosoma mansoni*

Après le traitement des souris par les différents régimes thérapeutiques de praziquantel ou à l'extrait aqueux de *S. pilosa*, leur activité schistosomicide a été évalué par la mesure de la charge parasitaire et des charges ovulaires fécale, hépatique et intestinale.

II.2.6.1- Récupération des schistosomes

Après le prélèvement du sang, chaque souris a été sacrifiée par dislocation cervicale. Après laparotomie, les souris ont été individuellement perfusées suivant la technique de Duvall et DeWitt (1967) modifié par Tucker *et al.* (2013). Brièvement, une ligature a été faite au niveau de la portion terminale du rectum et les viscères ont été rincés au NaCl 0,9 % afin d'enlever le sang qui pourrait avoir coagulé. La souris a été ensuite suspendue dorsalement par les deux pattes au support vertical du bac de perfusion. La veine porte hépatique a été mise en évidence puis sectionnée. La branche descendante de l'aorte a été mise en évidence, un cathéter y a été introduit et la solution de perfusion (8,5g de chlorure de sodium et de 7,5g de citrate de sodium dissous dans 1000 mL d'eau distillée) a été injectée. Les schistosomes, entraînés par le courant du liquide de perfusion vers la veine porte sectionnée, ont été 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 des veines mésentériques. Les viscères ont été rincés par le jet de la solution de NaCl 0,9 % à l'aide d'une pissette, permettant ainsi de récupérer des vers éventuellement coincés entre les viscères. Après la perfusion, les schistosomes ont été recueillis par filtration du contenu du bécher à travers un tamis à mailles de 45 µm. Les vers récupérés ont été comptés à la loupe binoculaire. Les viscères de chaque rongeur ont été prélevés et examinés à la loupe afin de récupérer les schistosomes restés éventuellement coincés. La charge parasitaire pour chaque groupe a été déterminée et le pourcentage de réduction des schistosomes après traitement a été calculé selon la méthode de Tendler *et al.* (1986) :

$$P = \left(\frac{C - V}{C} \right) * 100$$

Avec P : pourcentage de réduction des schistosomes ou de protection du traitement administré ;

C : nombre moyen de schistosomes récupérés chez les souris infectées non traitées ;

V : nombre de schistosomes récupérés chez les souris infectées et traitées.

II.2.6.2- Détermination des charges ovulaires fécale, hépatique et intestinale

II.2.6.2.1- Quantification des œufs dans les selles des souris

Les selles, préalablement collectés et fixés dans du formol 10% tamponné, ont ensuite 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 le liquide physiologique (NaCl 0,9%) et les solutions obtenues ont été centrifugées à 1500 tr/min pendant 5 minutes, puis le surnageant a été éliminé. Le culot a ensuite subi une série de 3 à 4 lavages (centrifugation, élimination du surnageant, suspension du culot dans le liquide physiologique) jusqu'à l'obtention du surnageant clair. Le culot renfermant les œufs a enfin été conservé dans le formol 10% tamponné jusqu'au moment du comptage (Cheever, 1968). Pour le comptage des œufs de *S. mansoni*, deux aliquotes de 100 µL chacun ont été montés sur des lames porte-objet puis recouverts d'une lamelle de cellophane préalablement imbibé de solution de Kato-Katz. Le nombre d'œufs de *S. mansoni* a été compté au microscope optique (x100) de marque *LEICA* puis la charge ovulaire fécale a été exprimée en nombre d'œufs par gramme de selles.

II.2.6.2.2- Quantification des œufs dans le foie et l'intestin

Pour chaque souris, une partie du lobe gauche ainsi que l'intestin (duodénum, jéjunum et caecum) ont été entièrement digérés dans du KOH 4% dans un bain marie à 37°C pendant 4 à 6 h. La suspension renfermant les œufs de *S. mansoni* pour chaque organe a été transférée dans des tubes conique (Falcon®) de 15 mL pour le foie et 50 mL pour l'intestin, puis centrifugée à 1500 tr/min pendant 5 minutes à 25°C. Le surnageant a été éliminé, le culot a été à nouveau suspendu dans du NaCl 0,9% puis centrifugé. Ce procédé de lavage (centrifugation - élimination du surnageant - suspension du culot dans le liquide physiologique) a été répété plusieurs fois jusqu'à obtention d'un surnageant clair. Après le dernier lavage, le culot renfermant les œufs de *S. mansoni* a été conservé dans le formol 10 % tamponné jusqu'au moment du comptage (Cheever, 1968). Au moment du comptage, le culot a été homogénéisé puis deux aliquotes de 100 µL chacun ont été montés sur des lames porte-objet et recouverts de lamelles de cellophane préalablement imbibé de solution de Kato-Katz. Le nombre d'œufs de *S. mansoni* a été compté au microscope optique (x100) de marque *LEICA*,

puis les charges ovulaires hépatiques et intestinales ont été exprimées en nombre d'œufs de *S. mansoni* par gramme d'organe.

II.2.7- Evaluation des paramètres hématologiques des souris infestées à *Schistosoma mansoni*

La numération de la formule sanguine ou hémogramme a été réalisé sur du sang total des souris recueilli dans un tube à EDTA à l'aide d'un automate d'hématologie de marque Sysmex XP-300 Hematology Analyzer (Sysmex Corporation, Kobe, Japan). Pour effectuer une analyse à l'aide de cet appareil requiert trois principaux réactifs à savoir :

- une solution de dilution prête à emploi destinée à l'analyse du sang à l'aide d'un procédé par impédance ;
- une solution de lyse des érythrocytes qui permet la numération et l'analyse de la distribution volumétrique des leucocytes selon la méthode de l'impédance ;
- un détergent pour nettoyer l'appareil d'analyse afin d'éliminer les dépôts de réactifs, les résidus de cellules et les protéines du système de conduites des chambres de mesure et du conduit d'aspiration d'échantillons.

• Principe de fonctionnement

La mesure des différents paramètres repose sur la variation de l'impédance encore appelée principe de Coulter. L'appareil utilise les variations d'une résistance électrique afin de déterminer la taille des cellules sanguines. Les cellules en passant à travers une ouverture déplacent un volume égal de fluide conducteur. Un courant électrique est appliqué au niveau de cette ouverture. Chaque passage d'une cellule à travers l'ouverture provoque une augmentation de la résistance électrique. Cette augmentation est traduite en impulsions électriques dont la hauteur est directement proportionnelle au volume cellulaire. La détermination de la taille de cellule est basée sur le déplacement du liquide et on obtient par conséquent la mesure du volume cellulaire. Le nombre de globules rouges est déterminé par le nombre total d'impulsions enregistrées.

Pour le cas spécifique de l'hémoglobine, sa mesure se fait par spectrophotométrie. Après la lyse des hématies par destruction de leur paroi, le flux d'échantillon conduit les hémoglobines à l'entrée de la chambre de mesure. Le diluant vient se mélanger au flux d'échantillon et le mélange est compté par un photo-capteur sous la lumière d'une LED. Une lentille permet de focaliser la lumière sur le photo-capteur.

Dans le cadre de cette étude, les paramètres suivants ont été mesurés :

- l'hématimétrie par la mesure du nombre total d'hématie, du taux d'hémoglobine, de l'hématocrite, du volume globulaire moyen (VGM), de la teneur corpusculaire en

hémoglobine (TCMH) et de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) ;

- le nombre total de thrombocytes ;
- le leucogramme à travers la mesure du nombre total de leucocytes, le nombre et le pourcentage de lymphocytes, de monocytes et de granulocytes.

II.2.8- Evaluation des paramètres de la fonction hépatique des souris infestées par *Schistosoma mansoni*

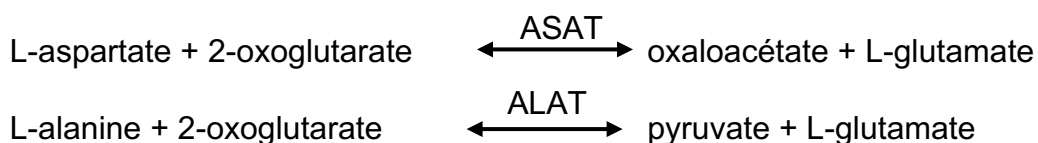
Afin d'évaluer les effets des traitements au praziquantel ou à l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur la fonction hépatique des souris infestées par *S. mansoni*, les activités sériques des transaminases (ALAT et ASAT), de la phosphatase alcaline (PAL), de la gamma-glutamyl transférase (γ -GT) ainsi que les concentrations de bilirubine et de protéines totales.

II.2.8.1- Dosage des transaminases

Les activités de l'alanine aminotransférase (ALAT) ainsi que celle de l'aspartate aminotransférase (ASAT) ont été déterminées dans le sérum à l'aide des kits de dosage de marque *BIOLABO* (BIOLABO, Maizy, France).

- **Principe**

Les transaminases ALAT et ASAT catalysent le transfert du groupement aminé respectivement de l'aspartate sur l' α -cétoglutarate pour former l'oxaloacétate et le glutamate, et de l'alanine vers l' α -cétoglutarate pour former le pyruvate et le glutamate. Le pyruvate ou l'oxaloacétate formé réagit avec le 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) pour donner le complexe de couleur marron d'oxaloacétate hydrazone (pour l'ASAT) ou de pyruvate hydrazone (pour l'ALAT). L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de pyruvate ou d'oxaloacétate dans le milieu et donc à l'activité de l'ASAT ou de l'ALAT (Reitman et Fankel, 1957). Les schéma réactionnels sont les suivants :



- **Mode opératoire**

Les courbes d'étalonnage de l'ASAT et de l'ALAT ont été obtenues à partir du protocole décrit dans le **tableau IV**.

Tableau IV : Protocole de réalisation des courbes d'étalonnage des dosages des transaminases.

Numéro des tubes	1	2	3	4	5	6
Eau distillée (µL)	20	20	20	20	20	20
Substrat ASAT/ALAT (µL)	100	90	80	70	60	50
Standard (µL)	-	10	20	30	40	50
Colorant (µL)	100	100	100	100	100	100
Les tubes ont été homogénéisés et incubés pendant 20 minutes à température ambiante.						
NaOH 0,4N (µL)	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Les tubes ont été homogénéisés et incubés pendant 5 minutes à température ambiante						
Activité ASAT (UI/L)	0	30	70	135	225	350
Activité ALAT (UI/L)	0	40	80	140	225	325

Après la période d'incubation, l'absorbance a été lue à 510 nm au spectrophotomètre de marque *SPECTRO BAS-120TS* (LABOMED INC, Los Angeles, USA) et le modèle polynomial ($y = ax^2 + bx + c$) de la courbe de tendance a été utilisé pour le tracé des courbes d'étalonnage (Figure 14).

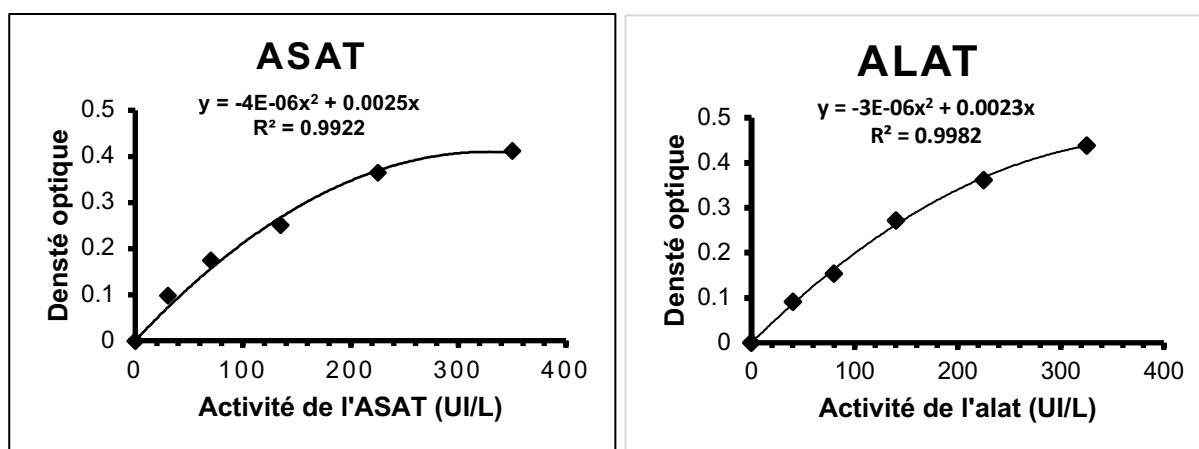


Figure 14 : Courbes d'étalonnage de l'activité enzymatique des transaminases.

Pour le dosage des transaminases, 100 µL de substrat ASAT ou de substrat ALAT a été introduit dans chaque tube puis incubé à 37°C pendant 5 minutes dans un bain-marie. Ensuite, 20 µL de sérum a été ajouté dans chaque tube et après homogénéisation au vortex, le mélange a été incubé à 37°C pendant 1 heure pour l'ASAT et 30 minutes pour l'ALAT. A l'issue de chaque incubation, 100 µL de 2,4-DNPH a été ajouté dans chaque tube et après homogénéisation, les tubes ont été incubés à nouveau pendant 20 minutes à température ambiante. Dans chaque tube a été ajouté 1000 µL d'hydroxyde de sodium à 0,4 N. Après homogénéisation, le mélange a été laissé au repos pendant 5 minutes puis les densités optiques ont été lues contre le blanc

à 510 nm au spectrophotomètre de marque *SPECTRO BAS-120TS* (LABOMED INC, Los Angeles, USA). Les activités des transaminases (en UI/L) ont été déterminées à partir des courbes d'étalonnage de l'ASAT et de l'ALAT.

II.2.8.2- Dosage de la bilirubine totale

Le taux de bilirubine totale a été déterminé dans le sérum à l'aide du kit de dosage de marque *BIOLABO* (BIOLABO, Maizy, France).

- **Principe**

La réaction entre la bilirubine et l'acide sulfanilique diazoté conduit à un composé coloré, l'azobilirubine, en milieu très acide ou basique. 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 étape est réalisée par l'addition de diméthyl sulfoxyde (DMSO) dans le milieu réactionnel. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de bilirubine (Walters et Gerarde, 1970).

- **Mode opératoire**

Le protocole de dosage de la bilirubine totale dans les échantillons de sérum est donné dans le **tableau V**.

Tableau V : Protocole de dosage de la bilirubine totale.

Réactifs	Essai	Blanc
Réactif 1 (µL)	500	500
Eau distillée (µL)	/	25
Réactif 2 (µL)	25	/
Sérum (µL)	50	50

Les tubes ont été homogénéisés et incubés pendant 5 minutes à température ambiante et les absorbances (Abs) ont été lues à 546 nm contre les blancs au spectrophotomètre de marque *SPECTRO BAS-120TS*. Les concentrations de bilirubine totale (en µmol/L) ont été déterminées à l'aide de la formule suivante donnée par le kit :

$$[Bil. totale (\mu mol/L)] = (Abs\ Essai - Abs\ Blanc) * 195 * facteur\ de\ dilution$$

II.2.8.3- Dosage de la phosphatase alcaline

L'évaluation de l'activité de la phosphatase alcaline (PAL) a été réalisée à l'aide du kit *BIOLABO* (BIOLABO, Maizy, France).

- **Principe**

En milieu alcalin, les phosphatases alcalines catalysent l'hydrolyse du p-nitrophénylphosphate en p-nitrophénol et phosphate. La vitesse d'apparition du p-nitrophénol,

suivie par la variation de l'absorbance à 405 nm, est proportionnelle à l'activité de la PAL dans l'échantillon (Wu, 2006).

- **Mode opératoire**

La solution de travail a préalablement été préparée en mélangeant le réactif 2 dans le flacon du réactif 1. Après une incubation de 2 minutes, 1000 µL de cette solution a été introduite dans chaque tube à essai. Les tubes ont été déposés dans un bain-marie réglé à 37°C puis 10 µL de sérum ont été ajoutés dans chaque tube. Après une minute d'incubation, les valeurs des absorbances pour chaque échantillon ont été relevées toutes les minutes pendant 3 minutes à 405 nm à l'aide d'un spectrophotomètre de marque *SPECTRO BAS-120TS*. L'activité de la PAL pour chaque échantillon (exprimée en UI/L) a été déterminée grâce à la formule suivante fournie par le fabricant du kit :

$$\text{Phosphatase alcaline (UI/L)} = (\Delta\text{Abs/min}) * 5450 * \text{facteur de dilution}$$

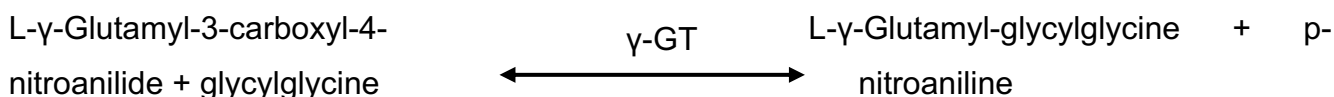
Avec $\Delta\text{Abs/min}$ qui représente la moyenne des variations d'absorbance par minute.

II.2.8.4- Dosage de la γ -glutamyl transférase

L'activité de la γ -glutamyl transférase (γ -GT) a été déterminée à l'aide du kit *BIOLABO* (BIOLABO, Maizy, France).

- **Principe**

En milieu réactionnel, la présence de L- γ -Glutamyl-3-carboxyl-4-nitroanilide et de glycyglycine, sous l'action de la γ -glutamyl transférase entraîne la formation de L- γ -Glutamyl-glycyglycine + p-nitroaniline. La vitesse de formation du P-nitroaniline est directement proportionnelle à l'activité γ -GT dans l'échantillon (Wu, 2006). Le schéma réactionnel est le suivant :



- **Mode opératoire**

Après obtention de la solution de travail par mélange du réactif 1 dans le flacon du réactif 2, 500 µL de cette solution a été introduit dans des tubes à essai qui ont ensuite été déposés dans un bain-marie à 37°C. Un volume de 25 µL de sérum a été ajouté dans chaque tube. Après 30 seconde d'incubation, les valeurs d'absorbances pour chaque échantillon ont été relevées toutes les minutes pendant 3 minutes à 405 nm à l'aide d'un spectrophotomètre de marque *SPECTRO BAS-120TS*. L'activité de la γ -GT pour chaque échantillon (exprimée en UI/L) a été déterminée grâce à la formule suivante fournie par le fabricant du kit :

$$[\gamma - \text{Glutamyl Transférase}] (\text{UI/L}) = (\Delta\text{Abs/min}) * 2121 * \text{facteur de dilution}$$

Avec $\Delta\text{Abs/min}$ qui représente la moyenne des variations d'absorbance par minute.

II.2.8.5- Dosages des protéines totales

Le dosage des protéines totales dans le sérum a été effectué par la méthode décrite par Gornall *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 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 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 BSA (« Bovine serum albumin »)** : la solution de BSA (3 mg/mL) a été obtenue en dissolvant 0,03 g de BSA dans 10 mL d'eau distillée.

- **Mode opératoire**

Les tubes du blanc, des étalons et des échantillons ont été préparés tel que décrit dans le **tableau VI**.

Tableau VI: Protocole de dosage des protéines totales

N° tube	1	2	3	4	5	6	7	X ₁ ...X _n	
	Blanc			Etalons				Echantillons	
BSA (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/mL)	0	0,15	0,30	0,45	0,60	0,75	0,90	?	?

Les tubes ont ensuite été homogénéisés à l'aide d'un agitateur puis incubés pendant 10 minutes à température ambiante. L'absorbance a été lues contre le blanc au spectrophotomètre de marque *SPECTRO BAS-120TS* à 540 nm. Le modèle d'une courbe de régression linéaire a été utilisé pour l'obtention de la courbe d'étalonnage qui a été utilisée pour déterminer les concentrations sériques de protéines totales (exprimées en mg/mL) (**Figure 15**).

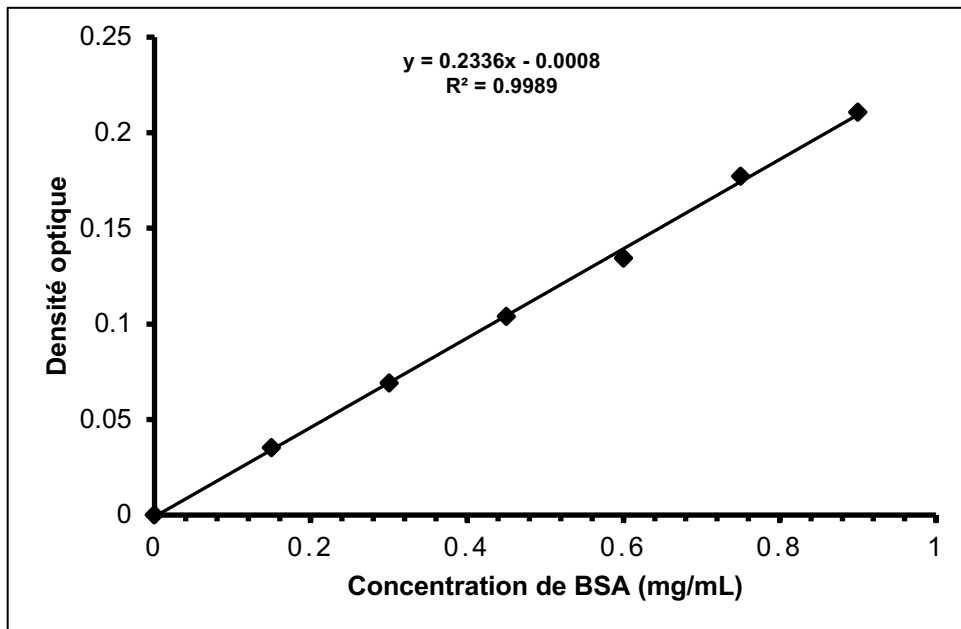


Figure 15 : Courbe d'étalonnage des protéines.

II.2.9- Evaluation des activités antioxydantes *in vivo* et *in vitro*

II.2.9.1- Evaluation des paramètres du stress oxydant hépatique et splénique des souris infestées par *Schistosoma mansoni*

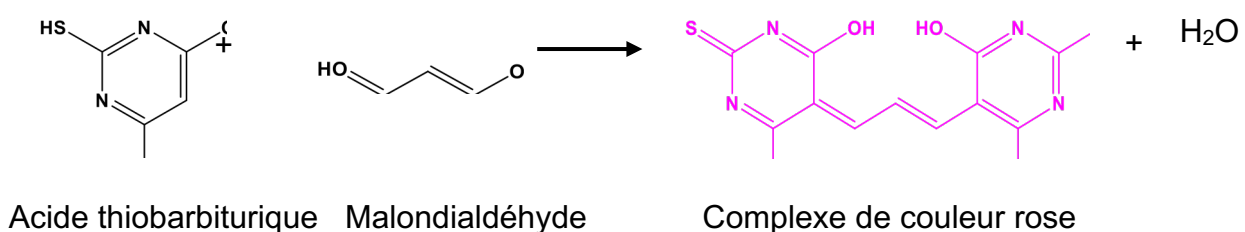
L'efficacité des traitements au praziquantel ou à l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur le statut oxydant splénique ou hépatique des souris infestées par *S. mansoni* a été évaluée par la mesure des taux de malondialdéhyde (MDA), de nitrites et de glutathion réduit (GSH) ainsi que des activités de la superoxyde dismutase (SOD) et de la catalase dans les homogénats de foie et de rate.

II.2.9.1.1- 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) de l'aldéhyde malonique qui réagit avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un complexe possédant un chromophore lui conférant la coloration rose. La concentration de MDA proportionnelle à l'intensité de la coloration est déterminée par mesure spectrophotométrique à 530 nm. Le mécanisme réactionnel est le suivant :



- **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 ensuite été 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 trs/min pendant 15 minutes à 25°C. Les surnageants ont été prélevés et les absorbances ont été lues contre le blanc à 530 nm au spectrophotomètre *SPECTRO BAS-120TS*. La concentration de malondialdéhyde (exprimée en nmol/g de tissu) a été déterminée à l'aide de la formule suivante :

$$[\text{Malondialdéhyde}](\text{nmol/g de tissu}) = \frac{\Delta \text{Abs}}{\varepsilon \times L \times m_i}$$

ΔAbs : Abs Echantillon – Abs Blanc (nm); ε : coefficient d'extinction molaire = $1,56 \times 10^5 \text{ mmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$; L : longueur de la cuve = 1 cm ; m_i : masse de tissu correspondant au volume de dosage (g).

II.2.9.1.3- Dosage des nitrites

Le dosage des nitrites a été effectué suivant le protocole décrit par Hibbs *et al.* (1988).

- **Principe**

En présence de l'amino-4-benzène sulfonamide (sulfanilamide) et de dichlorure de N-(naphtyl-1)-diamino-1,2-éthane ou N-1-naphtyléthylène diamine (NED) en milieu acide, les nitrites subissent la réaction de diazotation. La coloration du produit obtenu est proportionnelle à la quantité de nitrites présents dans l'échantillon.

- **Mode opératoire**

Les réactifs ont été ajoutés dans les différents tubes suivant la procédure décrite dans le **tableau VII**.

Tableau VII: Protocole de dosage des nitrites

N° tubes	1	2	3	4	5	6	7	X1...Xn	
	Blanc			Étalons				Échantillons	
NaNO₂ (µL)	-	100	100	100	100	100	100	-	-
Échantillon (µL)	-	-	-	-	-	-	-	100	100
Eau distillée (µL)	500	400	400	400	400	400	400	400	400
Réactif de Griess (µL)	500	500	500	500	500	500	500	500	500
[NaNO₂] (µmol/L)	0	0,0312	0,0625	0,125	0,25	0,5	1	?	?

Ces tubes ont ensuite été incubés à l'abri de la lumière pendant 10 minutes et les densités optiques ont été lues contre le blanc au spectrophotomètre *SPECTRO BAS-120TS* à 560 nm. Le modèle d'une courbe de régression linéaire ($y = ax + b$) du logiciel *EXCEL* a été utilisé pour

l'obtention de la courbe d'étalonnage (**Figure 16**). La concentration de nitrites (exprimée en $\mu\text{mol/g}$ de tissu) a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage de NaNO_2 .

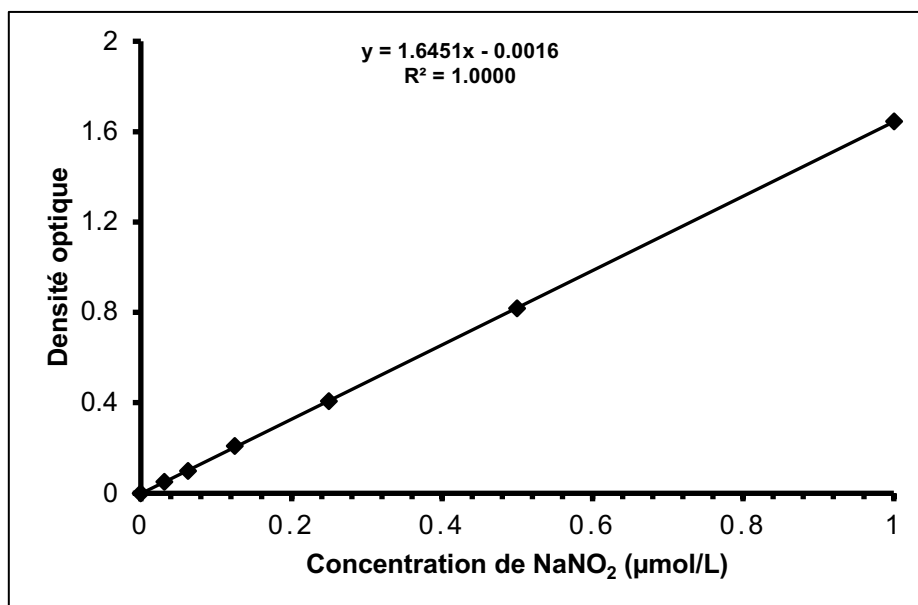


Figure 16 : Courbe d'étalonnage des nitrites.

II.2.9.1.4- Détermination de l'activité de la superoxyde dismutase

Le protocole utilisé pour déterminer l'activité de la superoxyde dismutase dans chaque échantillon est celui décrit par Misra et Fridovich (1972).

- **Principe**

La présence de la superoxyde dismutase (SOD) dans l'échantillon inhibe l'oxydation de l'adrénaline en adrénochrome. L'augmentation de la variation de l'absorbance entre 20 et 80 secondes à 480 nm est proportionnelle à l'activité de la SOD.

- **Mode opératoire**

Dans chaque tube, ont été introduits 134 μL d'homogénat d'organe pour l'essai et 1666 μL de tampon carbonate. Pour le tube témoin (blanc), un volume de 1800 μL de tampon carbonate a été utilisé. La réaction a été déclenchée en ajoutant 200 μL d'adrénaline (0,3 mM) dans chaque tube. Les tubes ont été homogénéisés par agitation manuelle. Les absorbances ont été lues après 20 et 80 secondes à 492 nm à l'aide d'un spectrophotomètre de marque *SPECTRO BAS-120TS*. L'activité spécifique de la SOD est définie en unité de SOD nécessaire pour causer une inhibition de 50 % de l'oxydation de l'adrénaline en adrénochrome pendant une minute.

- **Détermination de l'activité de la SOD**

- La variation de la DO : $\Delta\text{DO} (\text{min}) = \text{DO } 20\text{s} - \text{DO } 80\text{s}$
- Pourcentage d'inhibition = $(\Delta\text{DO}_{\text{blanc}} - \Delta\text{DO}_{\text{essai}}) / \Delta\text{DO}_{\text{blanc}} \times 100$
 $= 100 - (\Delta\text{DO}_{\text{essai}} \times 100 / \Delta\text{DO}_{\text{blanc}})$

50 % d'inhibition de SOD correspond à 1 unité de SOD

X % d'inhibition correspond à N unités

L'activité spécifique de la SOD (exprimée en unité de SOD/g de tissu) est égale au nombre d'unité de SOD/g de tissu.

II.2.9.1.5- Détermination de l'activité de la catalase

Le dosage de la catalase a été réalisé suivant le protocole décrit par Sinha (1972).

- **Principe**

Le peroxyde d'hydrogène est rompu en présence de la catalase. Le résidu (peroxyde) 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.

- **Mode opératoire**

Les différents réactifs ont été mélangés selon la procédure indiquée dans le **tableau VIII**.

Tableau VIII : 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	5	10	20	40
Solution de dichromate de potassium/acide acétique glacial (µL)	500	500	500	500	500
Après formation du précipité bleu, les solutions ont été chauffées jusqu'à ébullition pendant 10 minutes et refroidies à température ambiante.					
Eau distillée (µL)	250	245	240	230	210
Activité catalase (mM de H ₂ O ₂ /min/mL)	0	2	4	8	16

Les densités ont été lues au spectrophotomètre de marque *SPECTRO BAS-120TS* à 570 nm. Le modèle d'une courbe de régression linéaire ($y = ax + b$) du logiciel *EXCEL* a été utilisé pour l'obtention de la courbe d'étalonnage (**Figure 17**).

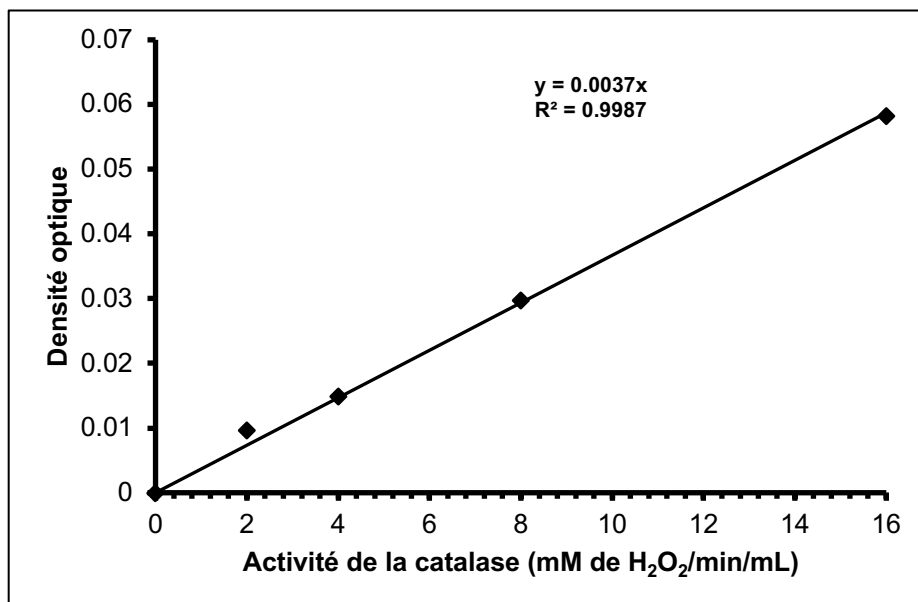


Figure 17 : Courbe d'étalonnage de l'activité de la catalase.

Pour la mesure de l'activité de la catalase dans les échantillons, 12,5 µL d'homogénat et 187,5 µL de tampon phosphate (0,1 M, pH 7,5) ont été introduits dans les tubes tests. Dans le tube témoin (blanc), l'homogénat a été remplacé par 12,5 µL de tampon Tris-HCl 50 mM, KCl 150 mM pH 7,4. Le chronomètre a été déclenché après ajout de 50 µL de peroxyde d'hydrogène 50 mM dans chaque tube. Après 1 min, la réaction a été arrêtée par ajout de 500 µL de solution de dichromate de potassium - acide acétique. Les tubes ont été chauffés à 100°C pendant 10 minutes et après refroidissement, la densité optique a été lue contre le blanc au spectrophotomètre *SPECTRO BAS-120TS* à 570 nm. La quantité restante de peroxyde d'hydrogène dans la solution après ajout de la solution de dichromate de potassium/acide acétique glacial a été évaluée en utilisant la pente de la courbe d'étalonnage. L'activité spécifique de la catalase a été déterminée puis exprimée en mM de H₂O₂/min/g de tissu d'après la formule suivante :

$$\text{Activité catalase (mM de H}_2\text{O}_2/\text{min/g de tissu)} = \frac{\Delta Abs}{a \times t \times m_i}$$

ΔAbs : Abs Blank – Abs Echantillon; a : coefficient de la droite d'équation de la courbe d'étalonnage ($a = 0,0036$) ; t : temps de réaction ($t = 1$ min) ; m_i : masse de tissu correspondant au volume de dosage (g).

II.2.9.1.6-Dosage du glutathion réduit

Le taux de glutathion réduit (GSH) a été évalué suivant le protocole décrit par Ellman (1959).

- **Principe**

En milieu réactionnel, l'acide 2,2-dithio-5,5'-dinitrobenzoïque (DTNB) réagit avec les groupements -SH du glutathion pour former un complexe de couleur jaune dont l'intensité est proportionnelle à la concentration de glutathion réduit.

- **Mode opératoire**

Un volume de 1500 µL du réactif d'Ellman a été introduit dans des tubes contenant préalablement 100 µL d'homogénat pour les tubes test ou 100 µL de tampon tris-HCl pour le tube témoin (blanc). Les mélanges ont ensuite été incubés pendant 1 heure à température ambiante et l'absorbance de chaque échantillon a été lue contre le blanc à 405 nm au spectrophotomètre de marque *SPECTRO BAS-120TS*. La concentration de glutathion réduit (exprimée en mmol/g de tissu) a été déterminée à l'aide de la formule ci-après :

$$[\text{Glutathion réduit}] (\text{mmol/g de tissu}) = \frac{\Delta \text{Abs}}{\epsilon \times L \times \text{mi}}$$

ΔAbs : Abs Echantillon – Abs Blanc (nm); ϵ : coefficient d'extinction molaire = 13600 mol⁻¹ cm⁻¹; L : longueur de la cuve = 1 cm ; mi : masse de tissu correspondant au volume de dosage (g).

II.2.9.2- Détermination du pouvoir antioxydant *in vitro* de l'extrait aqueux de *Sida pilosa*

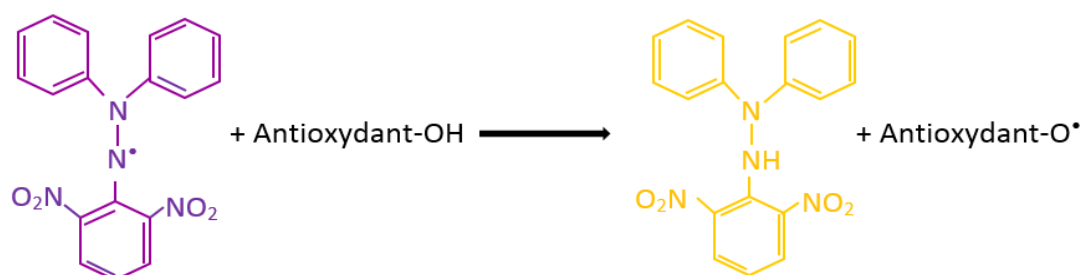
L'activité antioxydante *in vitro* de l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* (EASp) a été déterminée à travers la mesure de son activité antiradicalaire à l'aide des tests au 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl et à l'ABTS ainsi que du pouvoir réducteur ferrique.

II.2.9.2.1- Test antiradicalaire au 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl

L'évaluation de l'activité antiradicalaire de EASp contre le DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) a été effectuée suivant le protocole décrit par Mensor *et al.* (2001) et Alothman *et al.* (2009) . Ce test encore appelé réduction au DPPH, permet d'évaluer la capacité de l'extrait à céder des atomes d'hydrogène.

- **Principe**

Le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl ou le α -diphényl - β -picrylhydrazyl est un radical libre stable de couleur violet foncé dont l'absorption maximale est située autour de 520 nm. En présence d'une substance antioxydante pourvoyeuse d'atome d'hydrogène, il se réduit et donne un composé jaune, le diphénylpicrylhydrazine. Le changement de la coloration du violet au jaune est proportionnel à l'activité antioxydante (Brand-Williams *et al.*, 1995). L'équation de la réaction est la suivante :



1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH)

Diphénylpicrylhydrazine

- **Mode opératoire**

A partir de la solution stock d'extrait, une série de concentrations (de 250 µg/mL à 7,8125 µg/mL) a été préparée en diluant la solution stock avec de l'eau distillée. Dans les puits d'une plaque de 96 puits, un volume de 50 µL de chaque concentration de EASp a été mélangé à 150 µL de solution de DPPH à 0,02% afin d'obtenir une série de concentrations finales comprises entre 62,5 µg/mL et 1,9531 µg/mL (62,5, 31,25, 15,625, 7,8125, 3,9062 et 1,9531 µg/mL). L'acide ascorbique (vitamine C), aux mêmes concentrations, a été utilisé comme substance de référence tandis que le mélange eau distillée-DPPH a été utilisé comme témoin négatif. Chaque concentration a été réalisée en triplicat et la plaque a été incubée pendant 30 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière. A l'issue de cette période d'incubation, le changement de coloration dans chaque puits a été quantifié par la mesure des densités optiques à 517 nm à l'aide d'un lecteur de plaque (Infinite M200, TECAN, Suisse). Trois expérimentations indépendantes ont été effectuées et la capacité de EASp ou de la vitamine C à réduire le DPPH, appelée activité antiradicalaire ou activité antioxydante (%AA) a été calculée à l'aide de la formule suivante :

$$\%AA = \left(\frac{\text{Absorbance } T - \text{Absorbance } S}{\text{Absorbance } T} \right) * 100$$

T : Témoin négatif

S : substance à tester (EASp ou vitamine C)

AA : activité antiradicalaire au DPPH

Une courbe a été tracée à partir des pourcentages de l'activité antiradicalaire (%AA) en fonction des concentrations de EASp ou de vitamine C dans le but de déterminer la concentration efficace 50 (CE₅₀) qui est la concentration de la substance nécessaire pour piéger 50% de DPPH.

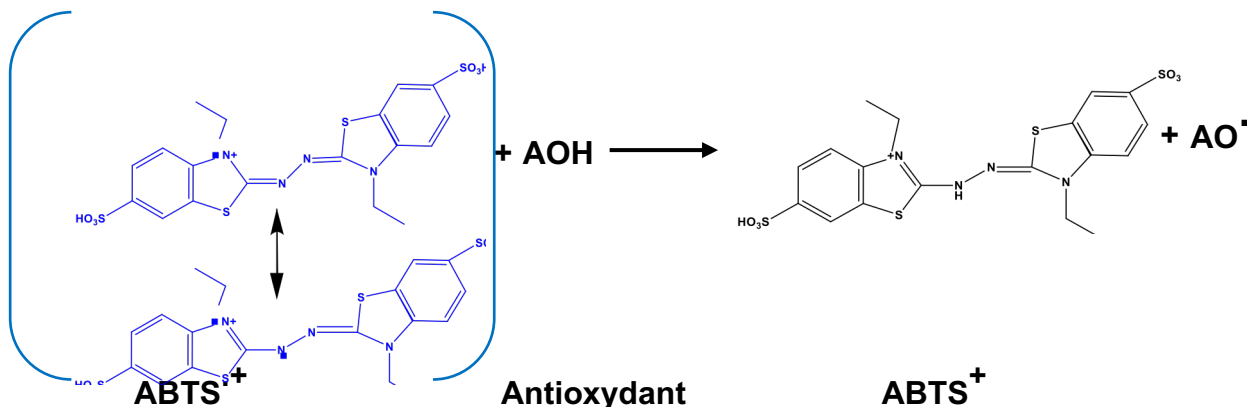
II.2.9.2.2- Test antiradicalaire à l'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)

L'activité antioxydante totale de EASp est déduite de sa capacité à inhiber le radical ABTS•+, obtenu à partir de l'ABTS, un sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) comparativement à un antioxydant de référence. Ce test a été réalisé suivant la méthode décrite par Re *et al.* (1999).

- **Principe**

En réagissant avec le persulfate de potassium, l'ABTS (acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) après avoir perdu un électron au niveau d'un atome d'azote, forme le radical ABTS•+ de couleur bleue à verte. Après l'ajout d'un antioxydant donneur de proton (H+), l'atome d'azote concerné va piéger un H+ conduisant à la réduction de ce radical (ABTS•+) en ABTS+ et à la décoloration du mélange. La décoloration du radical

mesurée par spectrophotométrie à 734 nm est proportionnelle à l'activité antioxydante de l'extrait ou du composé testé. L'équation de la réaction est la suivante :



- **Mode opératoire**

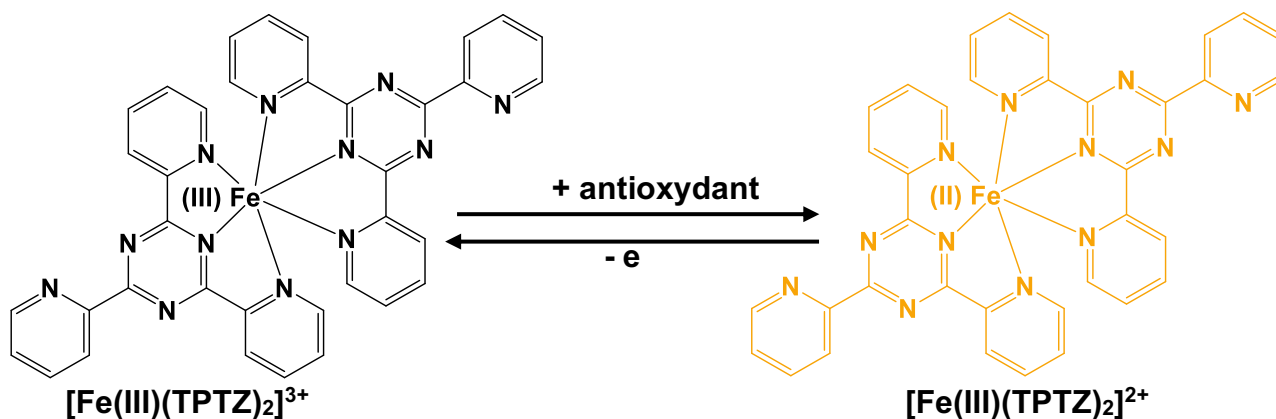
La réalisation du test de l'activité antioxydante à l'ABTS de EASp a suivi le même mode opératoire que celui du test au DPPH avec des concentrations finales de EASp dans ABTS•+ comprises entre 62,5 µg/mL et 1,9531 µg/mL et l'acide ascorbique comme témoin de référence. Le mélange H₂O - ABTS•+ constituait le témoin négatif et la plaque était incubée pendant 30 min à température ambiante. Les absorbances étaient lues à 734 nm. La capacité antioxydante (%AA) de EASp ou de la vitamine C et leur CE₅₀ ont été déterminées par la même procédure que celle décrite pour le test au DPPH.

II.2.9.2.3- Test du pouvoir réducteur de l'ion ferrique en ion ferreux

L'évaluation du pouvoir réducteur de EASp a été effectuée à l'aide du test « Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) » suivant le protocole décrit par Berker *et al.* (2007).

- **Principe**

En milieu acide, les composés antioxydants réduisent l'ion ferrique (Fe³⁺) en ion ferreux (Fe²⁺). Ici, l'ion ferrique est complexé à la 2,4,6-tri(2-pyridyl)-1,2,5-triazine (TPTZ). A la suite de la réduction du fer et en présence de l'ortho-phenanthroline, le complexe prend une coloration rouge-orangé dont l'intensité de la coloration est proportionnelle au pouvoir réducteur de la substance testée. L'équation de la réaction est la suivante :



- **Mode opératoire**

La réalisation du test de réduction de l'ion ferrique de EASp a suivi le même mode opératoire que celui du test au DPPH avec des concentrations finales de EASp dans la solution de Fe³⁺ comprises entre 62,5 µg/mL et 1,9531 µg/mL et l'acide ascorbique comme témoin de référence. Le mélange H₂O - Fe³⁺ constituait le témoin négatif et la plaque était incubée pendant 30 min à température ambiante. Les absorbances ont été lues à 505 nm. Le pouvoir réducteur (%PR) de EASp ou de la vitamine C et leur CE₅₀ ont été déterminées tel que décrit pour le test au DPPH.

II.2.10- Evaluation de l'efficacité des différents traitements sur la réponse immunitaire des souris infestées par *Schistosoma mansoni*

II.2.10.1- Détermination des taux sériques de quelques cytokines et chimiokine

L'évaluation du taux sérique de quelques médiateurs immunitaires a été effectué par analyse multiplexé par la technologie Luminex à l'aide du kit "mouse ProtocartaPlex 10-plex immunoassay kit" (ThermoFisher Scientific, Vienna, Austria). Ces médiateurs étaient l'IFN-γ, le TNF-α, le TGF-β1, le MCP-1, les IL-2, 4, 5, 10, 13 et 17.

- **Principe**

La technologie Luminex allie les compétences de la technique de cytométrie en flux à deux lasers et l'utilisation de microsphères ou microbilles magnétiques, qui servent de phase solide pour la détection simultanée de plusieurs analytes dans un échantillon biologique. Les billes, mélangées au début de l'analyse, sont entraînées dans la veine liquide, séparées et identifiées pendant la phase d'acquisition des données. À la sortie de la veine liquide, les billes excitées par le laser rouge à 633 nm vont réémettre une fluorescence rouge (675 nm) et infrarouge (> 712 nm). Chaque bille réémet d'une façon différente et sera identifiée par les intensités des deux fluorescences rouge et infrarouge enregistrées par un capteur à la sortie du flux. Les billes, via leurs groupements carboxylates, servent de support solide à différentes molécules se liant de façon covalente par des groupements aminés : il s'agit d'antigènes purifiés, de différents anticorps de capture. La proportion de cibles fixées à une microsphère est d'environ 1 à 2x10⁶.

- **Mode opératoire**

Le dosage des médiateurs immunitaires a été effectué suivant les instructions données par le fabricant du kit telles que résumées par la **figure 18**.

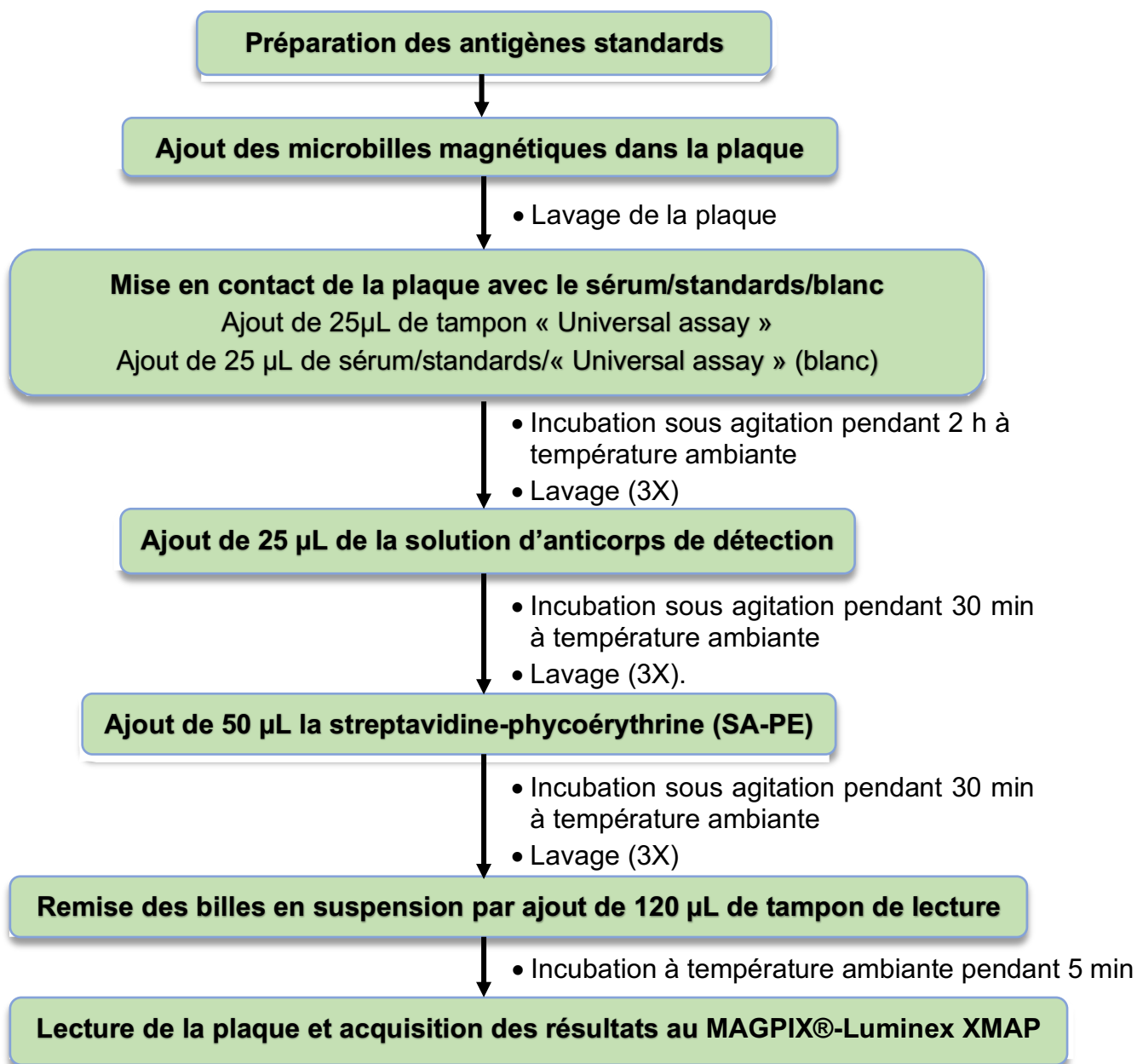


Figure 18 : Schéma du protocole de dosage par la technique Luminex.

- **Reconstitution et préparation du pool de standards**

Les tubes contenant les différents antigènes purifiés ont été centrifugés à 2000 g pendant 10 secondes et 50 µL de tampon « Universal assay » a été ajouté dans chaque tube pour la reconstitution du standard. Chaque tube standard a été homogénéisé à l'aide d'un vortex pendant 10 secondes puis centrifugé à 2000 g pendant 10 secondes afin de récupérer l'antigène standard au fond de chaque tube. Chaque tube a ensuite été incubé dans de la glace pendant 10 minutes pour assurer une reconstitution complète des standards. A l'issue de cette incubation, un pool d'antigènes standards a été constitué dans un tube en mélangeant le contenu de chaque tube d'antigène standard et le volume a été complété à 250 µL avec du tampon « Universal assay ». La suspension a été homogénéisée pendant 10 secondes puis centrifugée à 2000 g pendant 10 secondes afin de récupérer tout le pool d'antigène standard au fond du tube. Le tube a ensuite été incubé dans de la glace jusqu'à utilisation

- **Dilution du pool d'antigènes pour l'élaboration de la gamme d'étalonnage**

Le tube d'antigènes standards purifiés et reconstitués précédemment incubé dans de la glace a été retiré puis porté à un agitateur de type vortex pendant 10 secondes. Ensuite, 200 μL ont été transférés dans le 1^{er} tube de PCR. Dans les tubes 2 à 7, 150 μL de tampon « Universal assay » ont été ajoutés puis une série de dilutions au quart a été effectuée par transfert de 50 μL du tube 1 vers le tube 2 suivi d'une homogénéisation par 10 séries d'aspiration-refoulement à l'aide d'une pipette. Ce procédé a été effectué pour les tubes de 2 à 7. Le tube 8, contenant uniquement 200 μL de tampon « Universal assay » a servi de blanc. Les tubes ont été conservés dans la glace jusqu'à l'utilisation (**Figure 19**).

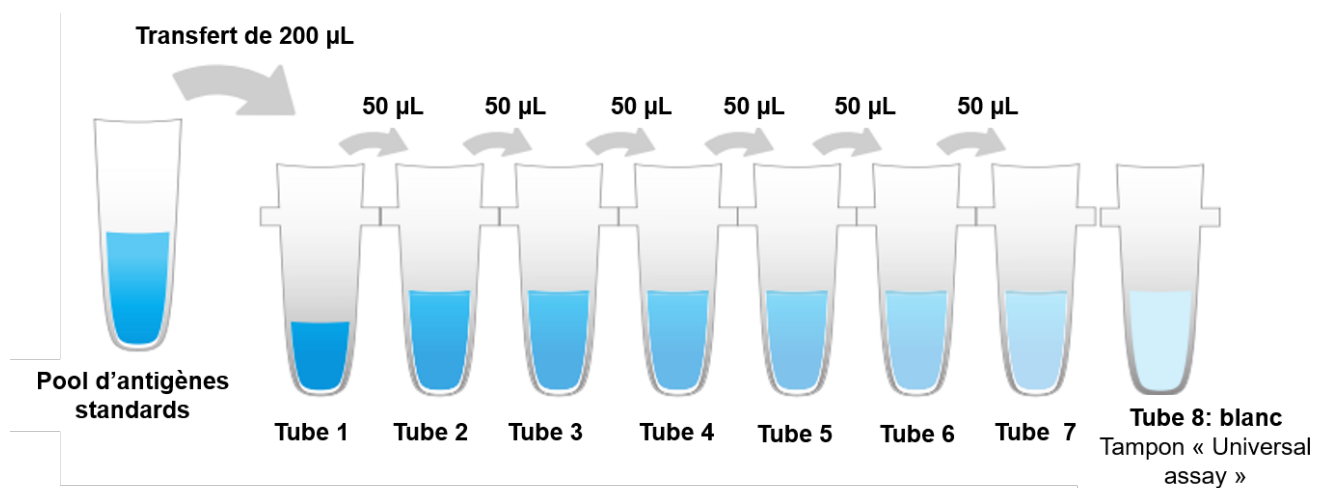


Figure 19 : Procédure de dilution des antigènes standards.

- **Préparation des microbilles magnétiques**

La microplaque de 96 puits a tout d'abord été fixée sur une barre aimantée. A l'aide d'une pipette distributrice, 50 μL de la solution de billes magnétiques préalablement homogénéisée à l'aide d'un agitateur de type vortex pendant 30 secondes, a été introduit dans chaque puits de la microplaque. Après une sédimentation de 2 min pendant laquelle les microbilles s'agglutinent au fond du puits, le tampon de conservation des billes a été vidé et la plaque séchée sur du papier absorbant. Ensuite, 150 μL de tampon de lavage (1X) ont été ajoutés dans chaque puits puis éliminés après 30 secondes par inversion rapide de la microplaque et séchée sur du papier absorbant afin d'éliminer le maximum de tampon de lavage.

- **Mise en contact des microbilles avec les standards, les échantillons et le blanc**

Dans chaque puits de la microplaque, 25 μL de tampon « Universal assay » a été ajouté. Par la suite, dans chacun des 80 puits de la microplaque réservés pour les échantillons, 25 μL de sérum a été ajouté. Le même volume (25 μL) des différentes concentrations des standards a également été prélevé et introduit dans deux séries de 7 puits pour la réalisation des courbes standards. Les deux derniers puits représentant le blanc renfermaient 25 μL de tampon

« Universal assay ». La plaque a ensuite été retirée de la barre aimantée, scellée à l'aide du papier film fournit par le kit et recouverte avec son couvercle. L'ensemble a été incubé à température ambiante pendant 2 heures sous agitation (500 tr/min).

- **Ajout des anticorps de détection**

À l'issue de l'incubation, la plaque a été à nouveau fixée sur la barre aimantée. Après 2 min de sédimentation, les différentes solutions ont été éliminées par inversion rapide de la plaque qui a ensuite été séchée sur du papier absorbant. Après une série de trois lavages, avec 150 µL de tampon de lavage par puits, la plaque a été essorée et 25 µL de la solution d'anticorps de détection a été ajouté dans chaque puits. La microplaque a été retirée de la barre aimantée, scellée à l'aide du film plastique puis recouverte et portée à incubation à la température ambiante pendant 30 minutes sous agitation (500 tr/min).

- **Révélation à la streptavidine-phycoérythrine**

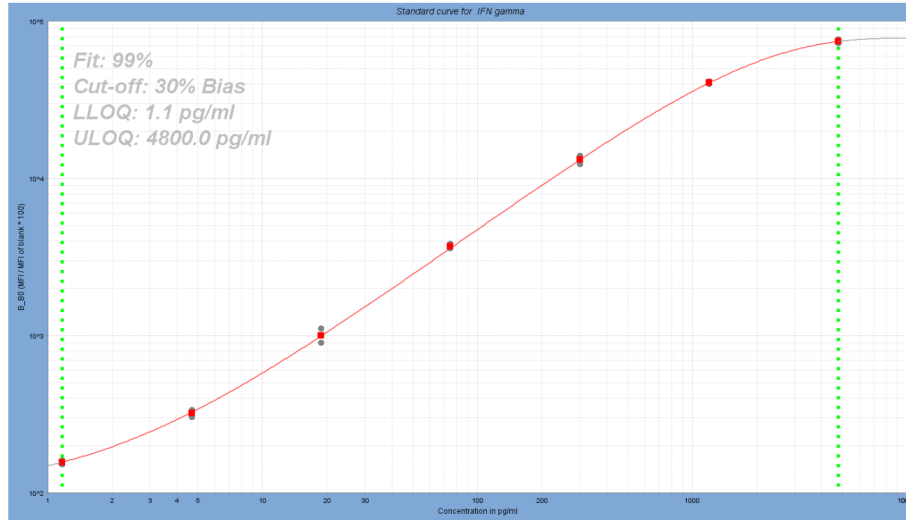
Après incubation, la microplaque a été réinsérée sur la barre aimantée et laissée pour sédimentation pendant 2 min. Les différentes solutions ont été éliminées et la plaque séchée. Trois séries de lavage à l'aide du tampon de lavage ont suivi. Enfin, 50 µL de la solution de streptavidine-phycoérythrine a été transféré dans chaque puits et la plaque a été retirée de la barre aimantée, scellée à l'aide du papier film, recouverte et incubée pendant 30 minutes à la température ambiante sous agitation (500 tr/min). Pendant l'incubation de la plaque, le tampon de lecture a été sorti du réfrigérateur.

- **Préparation de la microplaque pour la lecture**

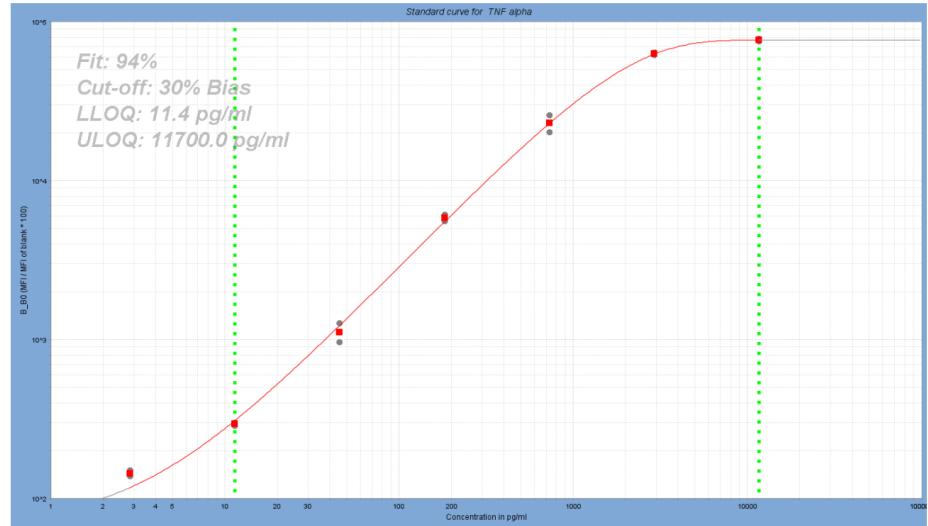
À la fin de l'incubation, la plaque a une fois de plus été insérée sur la barre aimantée. Après 2 min de sédimentation, la solution de streptavidine-phycoérythrine a été éliminée puis trois séries de lavage effectuées à l'aide du tampon de lavage et la plaque a été essorée. Un volume de 120 µL de tampon de lecture a été transféré dans chaque puits de la plaque qui a ensuite été scellée, recouverte et incubée pendant 5 min à la température ambiante sous agitation de 500 tr/min. À l'issue de l'incubation, le couvercle et le papier film ont été retirés et la plaque a été insérée dans l'appareil Luminex de marque MAGPIX®-Luminex XMAP Technology (Merck Millipore, Darmstadt, Germany) préalablement calibré. La lecture a été effectuée et les résultats exprimés en intensité médiane de fluorescence (MFI) ont été générés à l'aide du logiciel Luminex XPONENT software solutions. Les courbes d'étalonnage ont également été générées (**Figures 20A, 20B et 20C**) et les concentrations sériques (en pg/mL) de chaque médiateur immunitaire ont été déterminées à partir des différentes courbes standards à l'aide du logiciel ProtocartaPlex Analyst 1.0 software (eBioscience, Thermo Fisher Scientific, USA).

A

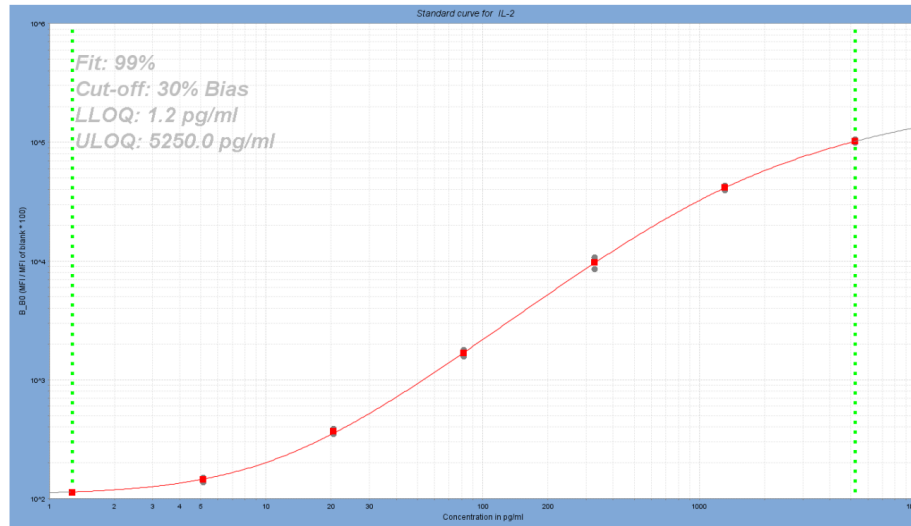
IFN- γ



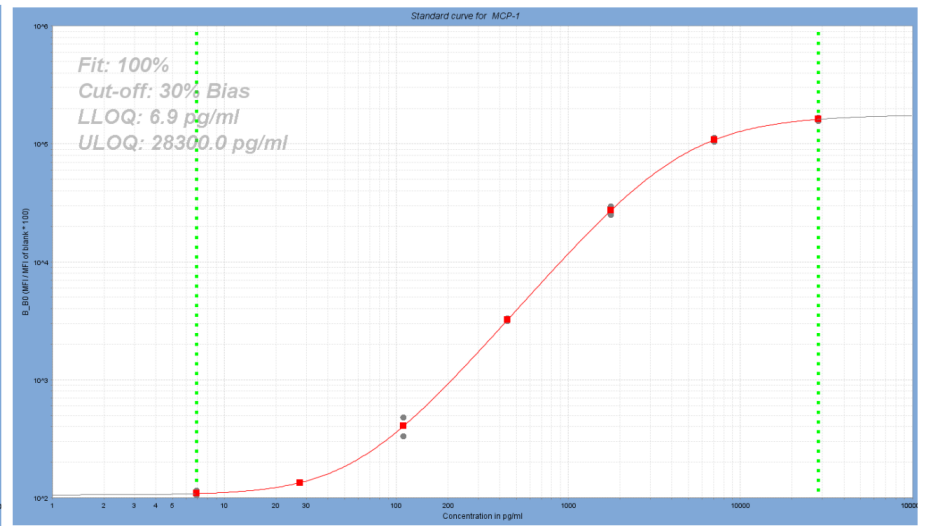
TNF- α

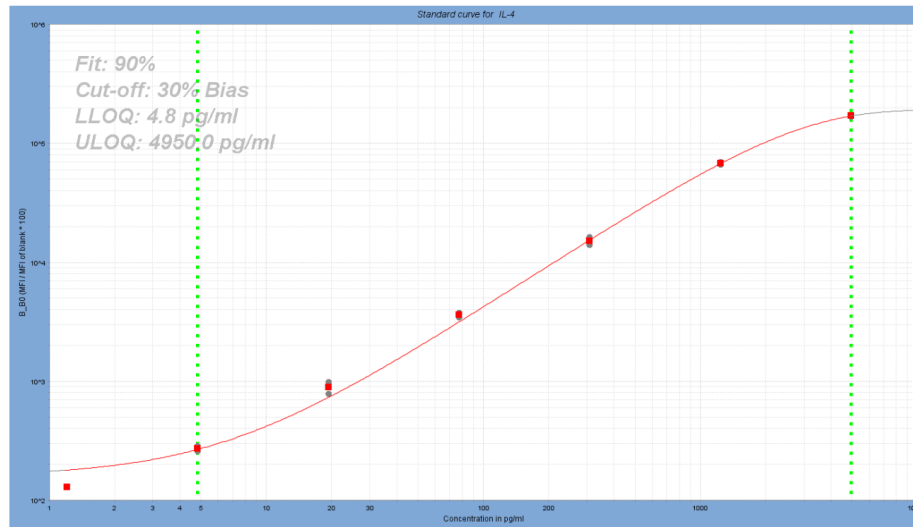
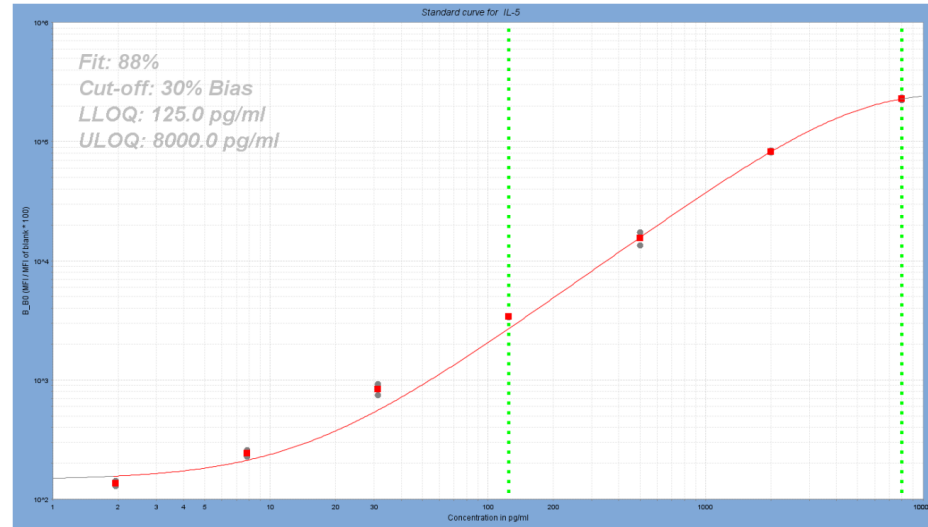
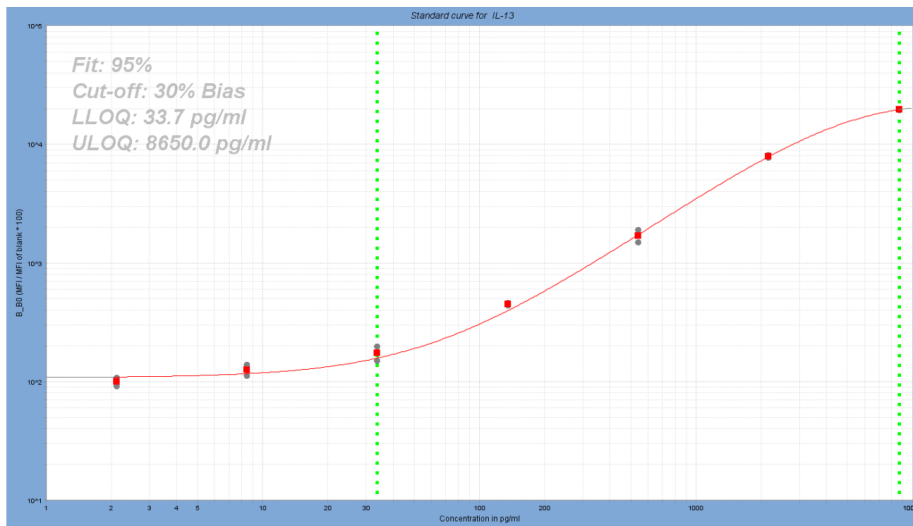
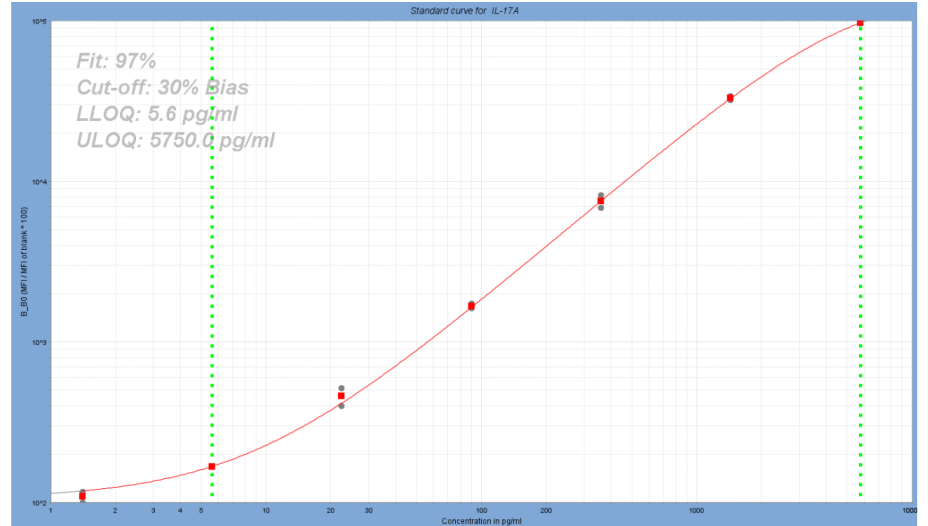


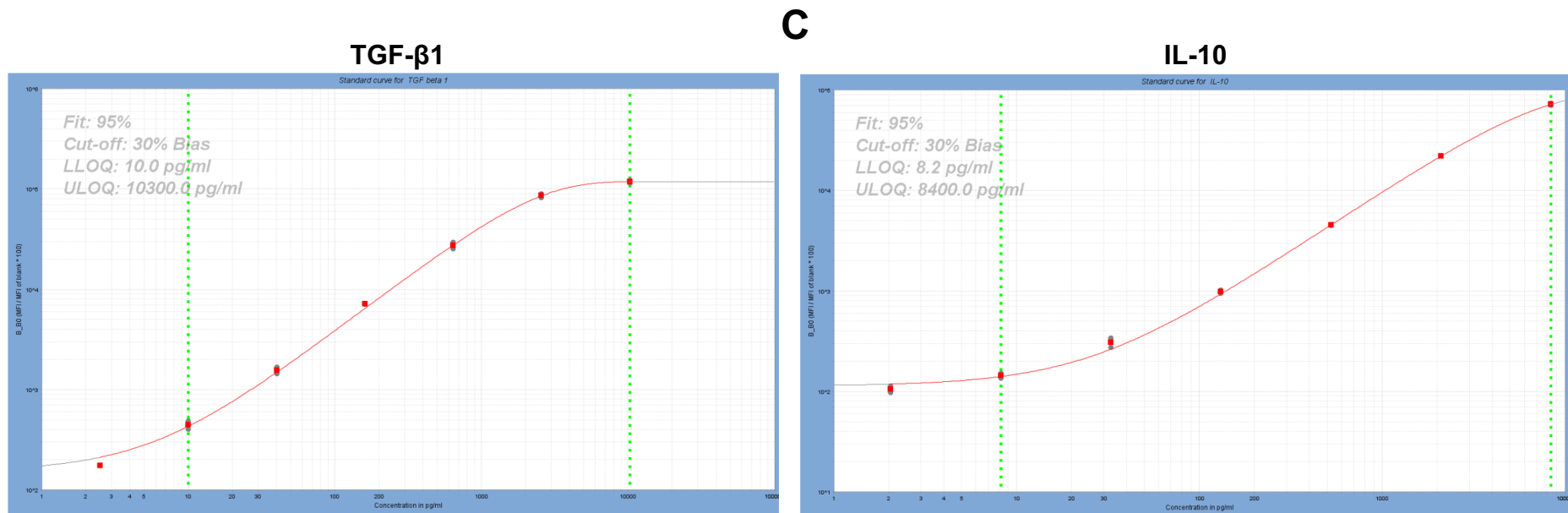
IL-2



MCP-1



B**IL-4****IL-5****IL-13****IL-17A**



L'axe des abscisses représente les concentrations du médiateur en pg/mL tandis que l'axe des ordonnées représente les intensités médianes de fluorescence (MFI).

Figure 20 : Courbes standards des différents médiateurs de type Th1 (A), Th2 et Th17 (B) et immunorégulateurs (C).

II.2.10.2- Mesure de l'expression des gènes de quelques médiateurs immunologiques au niveau des foyers inflammatoire granulomateux

La mesure de l'expression hépatique des gènes des médiateurs immunologiques a été effectuée par la technique de « Real time - quantitative Polymerase Chain Reaction (RT-qPCR)».

II.2.10.2.1- Principe

La réaction en chaîne par polymérase en temps réel repose sur la possibilité de suivre la quantité d'ADN présente dans la réaction à tout instant. Un composé fluorescent (SYBR-Green I) se fixe sur l'ADN double brin, et un seuil de fluorescence est établi par le programme du thermocycleur. Une fois que la quantité d'ADN amplifiée permet une fluorescence supérieure au seuil de détection, on obtient un numéro de cycle qui permet de calculer la quantité absolue ou relative de l'ADN dans un échantillon à partir d'une courbe standard.

Les différentes étapes ayant conduit à la quantification de l'expression des gènes de chaque cytokine et chimiokine dans le foie des souris sont résumées par la **figure 21**.

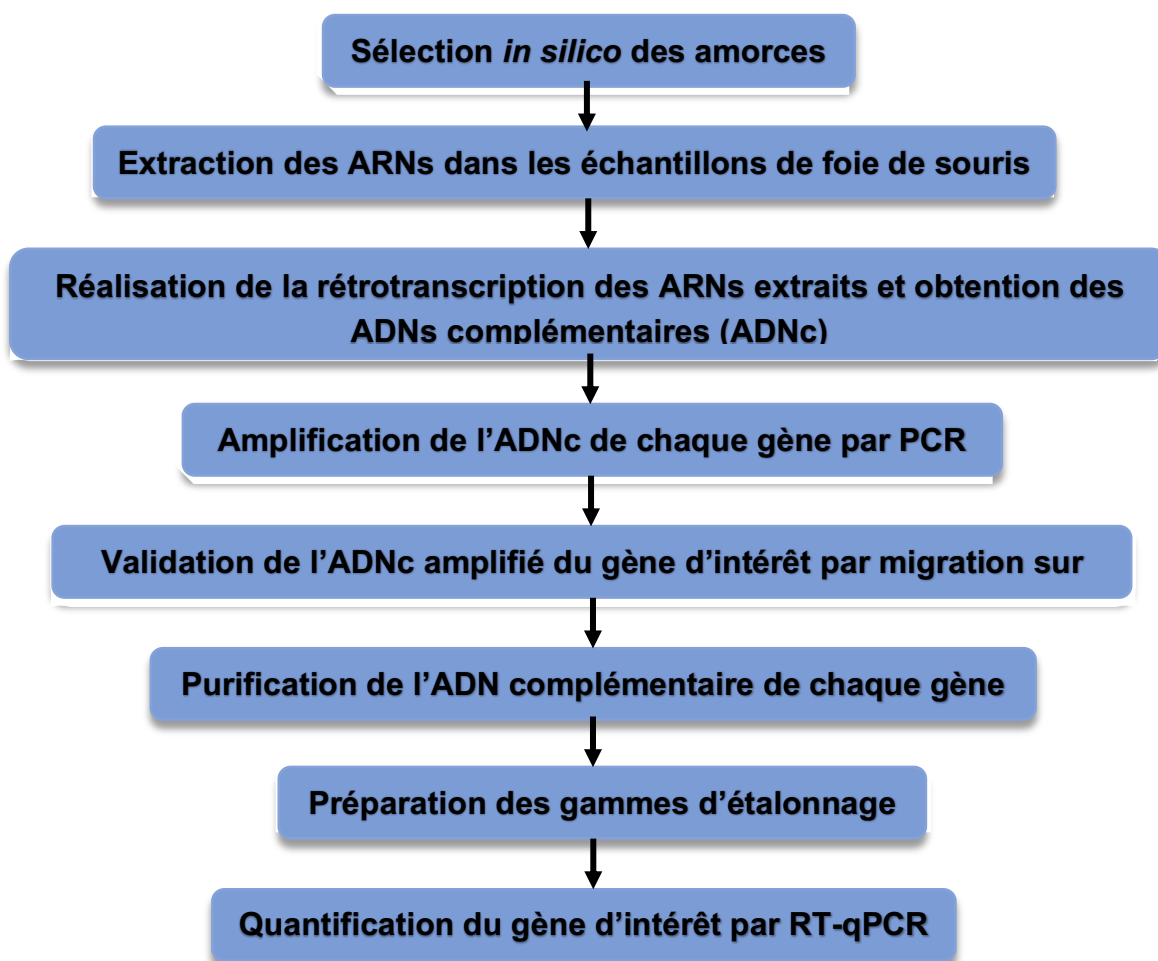


Figure 21 : Schéma de la procédure de la mesure de l'expression des gènes par la technique de RT-qPCR.

II.2.10.2.2- Extraction de l'ARN total

L'extraction des ARNs a été effectuée à l'aide du kit « NucleoZOL » (Macherey-Nagel GmbH & Co.KG, Düren, Germany). Le protocole décrit par le fabricant permet d'extraire l'ARN total dans l'échantillon, comportant les petits ARNs (taille < 200 nucléotides) et les grands ARNs (taille > 200 nucléotides). Pour ce faire, 10 mg de chaque échantillon de foie a été prélevé et introduit dans un tube stérile de 1,5 mL. Sous une hotte préalablement désinfectée et nettoyée avec une solution décontaminante de « RNase/DNase Away surface decontaminant » (ThermoFisher Scientific, USA), 500 µL de « NucleoZOL » ont été ajoutés au tube qui a été homogénéisé à l'aide d'un agitateur de type vortex pour la lyse du tissu hépatique. Afin de précipiter le contaminant, 200 µL d'eau ultrapure dépourvue d'acide nucléique (« Nuclease-free water », Invitrogen, Strasbourg, France) a été ajouté au lysât. Le mélange a été homogénéisé pendant 30 secondes puis incubé à température ambiante pendant 5 min. Après incubation, le mélange a été centrifugé à 12000 g pendant 15 min. Afin de précipiter l'ARN total, 500 µL de surnageant ont été transférés dans un nouveau tube stérile puis 500 µL d'isopropanol 100% y ont été ajoutés. Le mélange a été homogénéisé. Les tubes ont été incubés à température ambiante et centrifugés à 12000g pendant 10 min. Le surnageant a été éliminé et le culot (l'ARN total) a été lavé par ajout d'une solution d'éthanol à 75% suivi d'une centrifugation à 8000g pendant 3 min à l'issue de laquelle le surnageant a été éliminé. Cette étape de lavage a été répétée deux fois afin d'éliminer le maximum d'impuretés de l'ARN. Le culot d'ARN a ensuite été dissout dans 10 µL d'eau ultrapure dépourvue d'acide nucléique (« Nuclease-free water ») puis homogénéisé à température ambiante pendant 3 min. La concentration, ainsi que la pureté de l'ARN total (en ng/µL) pour chaque échantillon ont été déterminées par lecture au NanoDrop 2000c spectrophotometer (Thermo Scientific, USA).

II.2.10.2.3- Réalisation de la rétrotranscription

Après avoir déterminé la concentration d'ARN total, 1 µg d'ARN a été rétro-transcrit en ADN complémentaire (ADNc) à l'aide du kit qScript cDNA synthesis kit (Quanta Bioscience, Beverly, USA) selon les recommandations du fabricant. Brièvement, à 1 µg d'ARN ont été ajoutés successivement 2 µL de la solution de travail (qScript Reaction Mix), 0,5 µL de rétrotranscriptase (qScript RT) et de l'eau dépourvue d'acide nucléique (« Nuclease-free water ») afin d'obtenir un volume total de 10 µL. Le mélange a été homogénéisé puis centrifugé pendant 5 secondes pour collecter les constituants. Ensuite, chaque tube a été introduit dans un thermocycleur et a subi une série de chauffage selon le programme suivant : 22°C pendant 5 min, 42°C pendant 30 min et 85°C pendant 5 min. A l'issue de cette série de chauffage marquant la fin de la synthèse de l'ADNc, les échantillons

ont été dilués au 1/10^{ème} par ajout de 90 µL de « Nuclease-free water » puis conservé à -20°C.

II.2.10.2.4- Amplification des ADN complémentaire par PCR et réalisation de la courbe standard

- **Sélection *in silico* des paires d'amorces pour chaque médiateur**

La séquence des paires d'amorces utilisées pour chaque gène évalué est donnée dans le **tableau IX** Ces paires d'amorces, spécifiques à la l'espèce *Mus musculus*, ont été sélectionnées dans les bases de données « GenBank » (www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide) et « PrimerBank » (<https://pga.mgh.harvard.edu/primerbank/>) de l'université de Harvard. Elles ont été validées à l'issu d'un test *in silico* effectué à l'aide du logiciel UniPro Ugene software (UniPro, Novosibirsk Akademgorodok, Russie). Après validation, ces amorces ont été fabriquées et fournies par Eurofins Genomics (Ebersberg, Allemagne).

Tableau IX: Liste des amorces utilisées pour la mesure de l'expression des différents gènes testés

Gène	Sens (5'→3')	Antisens (5'→3')
GAPDH	AGGTCGGTGTGAACGGATTTG	TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA
CXCL-10 (IP10)	CCAAGTGCTGCCGTCATTTTC	TCCCTATGGCCCTCATTCTCA
MCP-1 (CCL2)	TTAAAAACCTGGATCGGAACCAA	GCATTAGCTTCAGATTTACGGGT
MIP-1α (CCL3)	TTCTCTGTACCATGACACTCTGC	CGTGGAATCTTCCGGCTGTAG
RANTES (CCL5)	GCTGCTTTGCCTACCTCTCC	TCGAGTGACAAACACGACTGC
IFN-γ	ACAGCAAGGCGAAAAAGGATG	TGGTGGACCACTCGGATGA
IL-10	GCTCTTACTGACTGGCATGAG	CGCAGCTCTAGGAGCATGTG
IL-13	CCTGGCTCTTGCTTGCCCTT	GGTCTTGTGTGATGTTGCTCA
FGF1	CCCTGACCGAGAGGTTCAAC	GTCCCTTGTCCCATCCACG
TGF-β1	CTCCCGTGGCTTCTAGTGC	GCCTTAGTTTGGACAGGATCTG
FOXP3	CCCATCCCCAGGAGTCTTG	ACCATGACTAGGGGCACTGTA

- **Amplification de l'ADN complémentaire par PCR**

Pour amplifier l'ADN complémentaire (ADNc) par PCR, cinq échantillons ont été sélectionnés de façon aléatoire. Pour chaque gène, dans un puits d'une microplaque de PCR (BioRad, France), 5 µL de chaque échantillon sélectionné a été mélangé à 15 µL de la solution de travail constituée de 1 µL de la solution des paires d'amorces correspondantes au gène d'intérêt, 10 µL de l'élément fluorescent (SsoAdvanced Universal SYBR Green Supermix, BioRad, France) et de 4 µL d'eau stérile (QSP) (**Tableau X**). Un puits témoin négatif pour chaque gène d'intérêt, dans lequel

l'échantillon a été remplacé par de l'eau stérile, a été préparé ; ceci dans le but de vérifier la spécificité et l'absence de contamination dans les différents puits tests.

Tableau X : Protocole de préparation de la solution de travail pour la l'amplification par PCR

	Concentrations finales	Volumes (µL) pour PCR
Amorce F 20µM	0,5 µM	0,5
Amorce R 20µM	0,5 µM	0,5
SYBR Green 2X (MgCl ₂ 10mM)	1 X	10
H ₂ O stérile	Qsp 15 µL	4
Echantillon	/	5
Volume final	/	20

Le mélange a ensuite été porté dans un thermocycleur de marque CFX connect (BioRad, France) pour amplifier les ADNc du gène d'intérêt. Tous les échantillons ont été dénaturés pendant 3 min à 95 °C, puis s'en est suivi un cycle d'appariement - élongation répété 40 fois. Le procédé d'amplification (dénaturation, appariement et élongation) correspondant à chaque gène est donné dans le **tableau XI**.

Tableau XI: Cycle d'amplification pour les différents gènes évalués

Gène	Dénaturation	Appariement	Elongation
GAPDH	10" à 95°C	10" à 60°C	15" à 72°C
CXCL-1 (KC)	10" à 95°C	10" à 59°C	15" à 72°C
CXCL-10 (IP10)	10" à 95°C	10" à 60°C	15" à 72°C
MCP-1 (CCL2)	10" à 95°C	10" à 59°C	15" à 72°C
MIP-1α (CCL3)	10" à 95°C	10" à 59°C	15" à 72°C
RANTES (CCL5)	10" à 95°C	10" à 60°C	15" à 72°C
IFN-γ	10" à 95°C	10" à 58°C	15" à 72°C
IL-10	10" à 95°C	10" à 60°C	15" à 72°C
IL-13	10" à 95°C	10" à 60°C	15" à 72°C
FGF1	10" à 95°C	10" à 60°C	15" à 72°C
TGF-β1	10" à 95°C	10" à 60°C	15" à 72°C
FOXP3	10" à 95°C	10" à 61°C	15" à 72°C

II.2.10.2.5- Validation de l'amplification par migration sur gel d'agarose

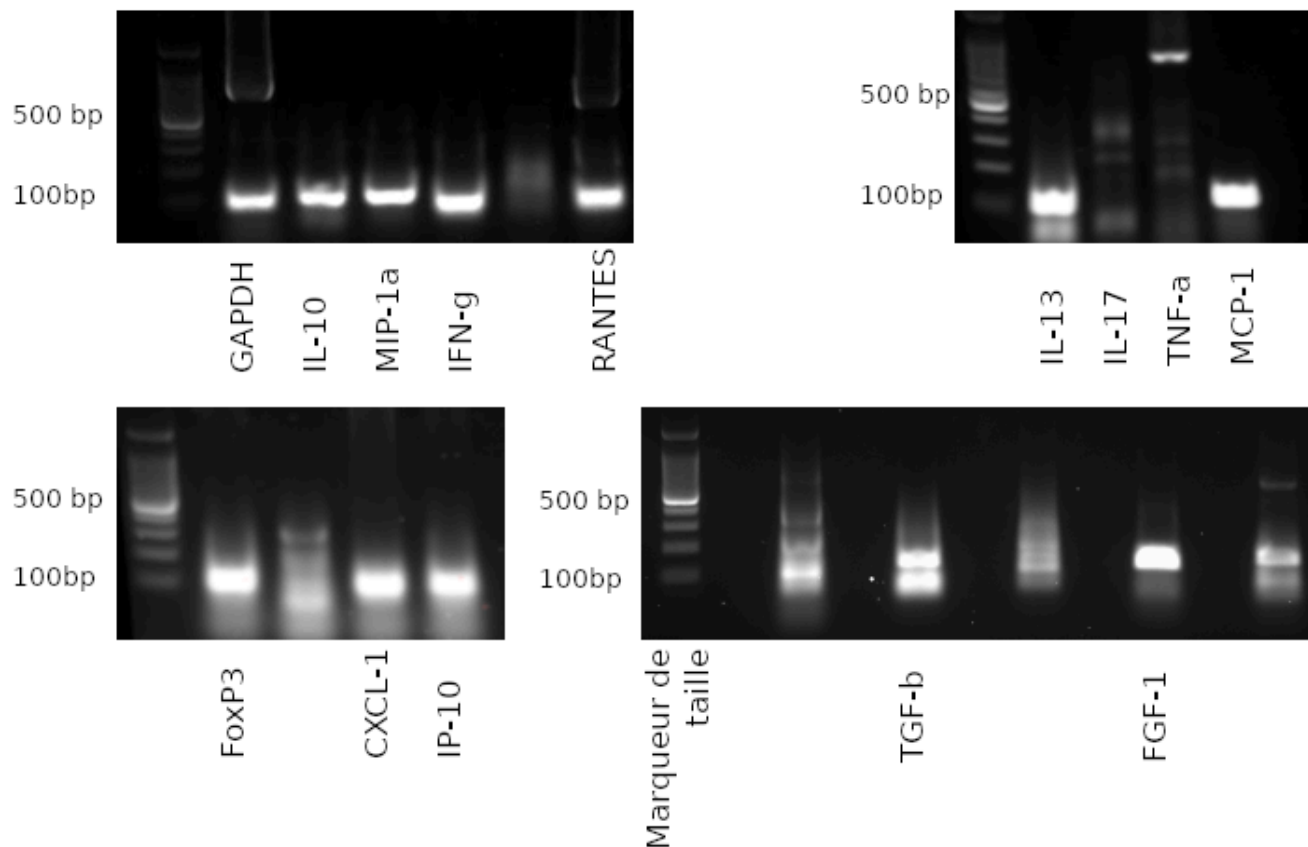
La validation de l'amplification a été effectuée par une révélation du gène amplifié sur gel d'agarose. L'objectif était de séparer les acides nucléiques par leur taille et les visualiser sur gel d'agarose.

- **Principe de la migration sur gel d'agarose**

Les acides nucléiques déposés sur gel d'agarose sont séparés grâce à un courant électrique ; l'ADN étant chargé négativement, migre vers l'anode. La vitesse de migration des acides nucléiques est fonction de leur poids moléculaire. La détection se fait grâce au bromure d'éthidium (BET) révélé sous lumière ultra-violette (UV).

- **Mode opératoire**

A l'issue de l'amplification par PCR, les différents puits ayant exprimé les gènes d'intérêt ont été identifiés puis la plaque a été portée en post-PCR. Un volume de 200 mL de tampon TBE (1X) a été introduit dans le tank de migration puis le gel préalablement préparé a été inséré sur la plateforme du tank de migration. Ensuite 4 μ L de la solution de marqueur de taille (Benchtop 400 bp DNA Ladder, Promega Corporation, France) a été introduit dans le premier puit du gel. Pour les échantillons, 4 μ L de tampon de charge (15 mg de bleu de bromophénol dissout dans 65 mL de TBE 1X) a été ajouté au produit de PCR (correspondant au gène d'intérêt amplifié), puis le mélange a été introduit dans un puits du gel (différent de celui du marqueur de taille). Le tank a ensuite été fermé et les électrodes y ont été connectées. Le boîtier électrique a été paramétré à 130 mV de tension et à une intensité de 400 mA et le processus de migration a été lancé pendant 35 min. A l'issue de la migration, la révélation a été effectuée à l'aide d'un révélateur de marque Molecular Imager ChemiDoc XRS+ (BioRad, France) dans lequel le gel a été inséré. L'acide nucléique des différents gènes d'intérêt ont été mis en évidence en fonction de leur taille à l'aide du logiciel ImageLab software (**Figure 22**).



bp : paires de bases.

Figure 22 : Révélation par migration sur gel d'agarose des différents gènes.

II.2.10.2.6- Purification de l'ADNc et préparation des gammes de concentrations pour la réalisation de la courbe standard

- **Purification de l'ADN transcript**

Pour chaque gène d'intérêt, la purification de l'ADNc amplifié (produit de PCR) a été effectuée à l'aide du kit « Nucleospin® Gel and PCR-Cleanup for RNA/DNA and protein purification » (MACHEREY-NAGEL GmbH & Co.KG, Düren, Germany) suivant les recommandations du fabricant. Brièvement, pour potentialiser l'adhésion de l'ADN, 20 µL du produit de PCR (ADN amplifié) et 40 µL de tampons de fixation (NT1) ont été transférés dans un tube de 1,5 mL. Le volume du mélange a été ajusté à 100 µL avec du « RNase/DNase-free Water » (QSP). Ensuite, pour fixer l'ADN, le Gel de Nucleospin et la colonne PCR Clean-up ont été placés dans un tube collecteur stérile de 2 mL (fourni par le kit). Le mélange a ensuite été versé à travers la colonne puis centrifugé à 11000g pendant 30 secondes à 25°C. Le tube collecteur a été jeté et la colonne placée dans un nouveau tube collecteur. La membrane de silice a ensuite été lavée par ajout de 700 µL de tampon de lavage (NT3), préalablement mélangé à 100 mL d'éthanol pur, à travers le Gel de Nucleospin et la colonne PCR Clean-up. L'ensemble a été centrifugé de nouveau à 11000g pendant 30 secondes à 25°C puis le tube collecteur a été jeté et la colonne placée dans un

nouveau tube collecteur. Cette étape de lavage a été reprise pour potentialiser la purification des ADNc amplifiés. A l'issu de cette étape, la membrane de silice a été séchée par centrifugation à 11000g pendant 1 min à 25°C afin d'éliminer le tampon de lavage et l'éthanol résiduel a été complètement éliminé en incubant la colonne à 70 °C pendant 3 min car il pourrait inhiber les réactions enzymatiques ultérieures. Par la suite, le gel de Nucleospin ainsi que la colonne PCR-Clean-up ont été placés dans un tube stérile de 1,5 mL. La membrane de silice a ensuite été éluée par ajout de 30 µL du tampon d'éluion (NE) à travers la colonne et l'ensemble a été incubé pendant 1 min à température ambiante, puis centrifugé à 11000g pendant 1 min à 25°C. La colonne et le Gel de Nucleospin ont été jetés et la concentration de l'ADN a été déterminée dans l'éluât à l'aide de NanoDrop 2000c Spectrophotometer.

- **Préparation des gammes de concentrations pour la réalisation des courbes standards**

En utilisant la concentration de l'ADN purifié, la taille et le poids d'un amplicon du gène de chaque médiateur (disponibles sur les bases de données « PrimerBank » et « GenBank »), le nombre de copies d'ADN amplifié pour chaque gène a été déterminé à partir de la formule ci-dessous :

$$\text{Copies de l'ADN purifié } (\mu\text{L}^{-1}) = \frac{[\text{ADN purifié}] \text{ (ng/}(\mu\text{L))}}{\text{Poids amplicon du gène (ng)}}$$

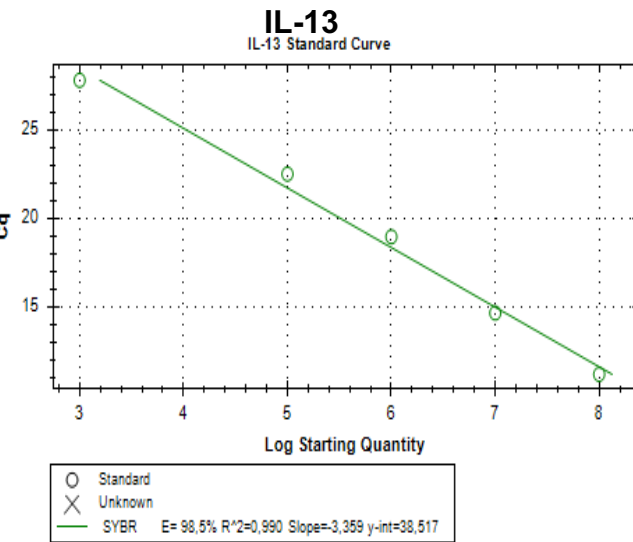
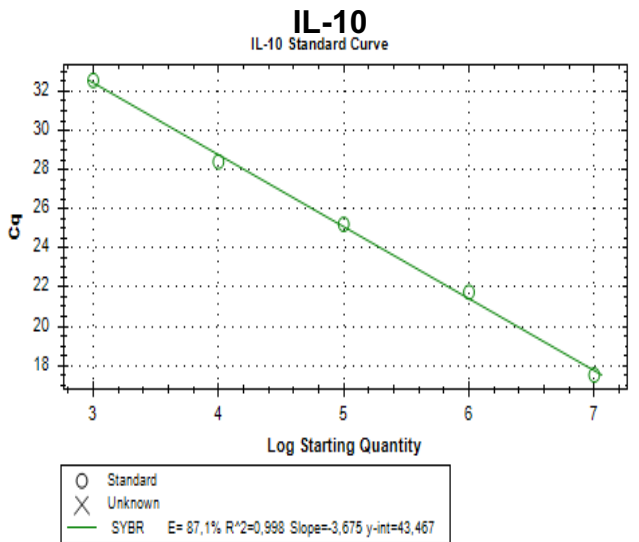
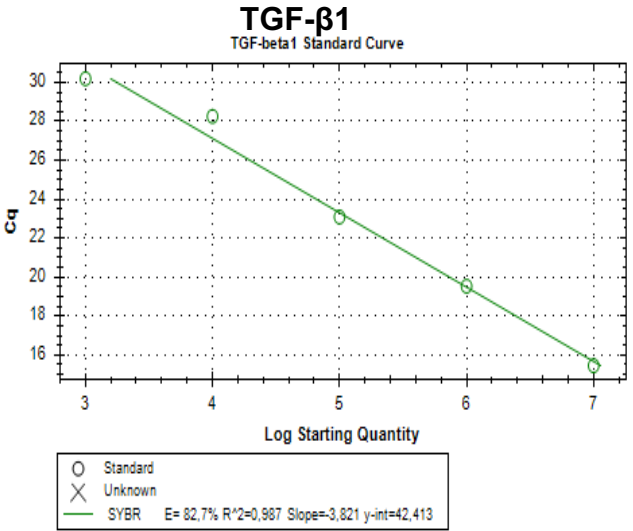
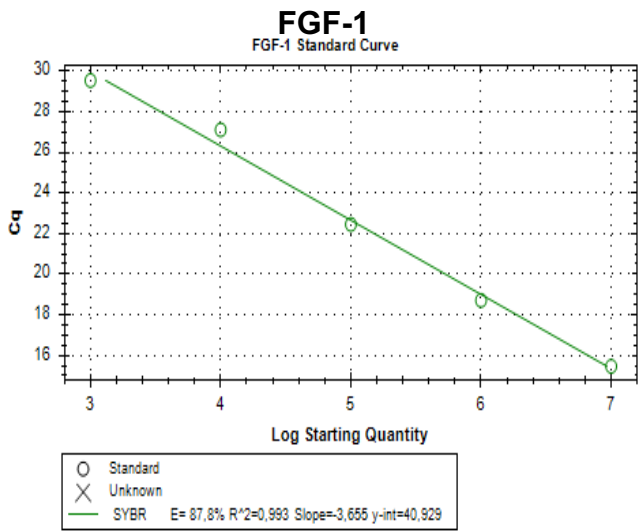
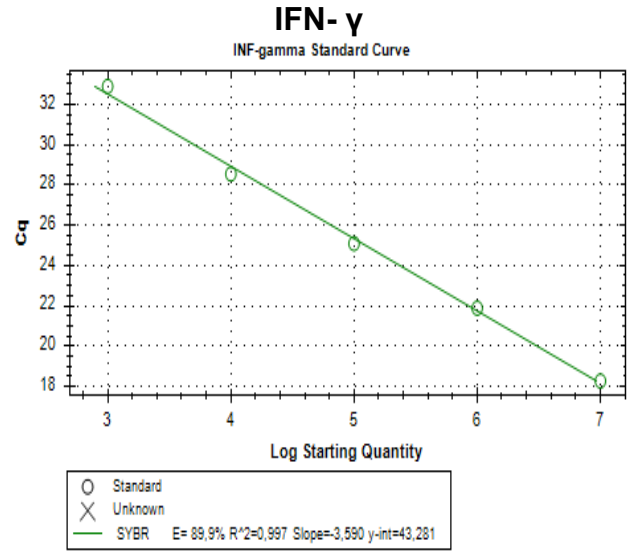
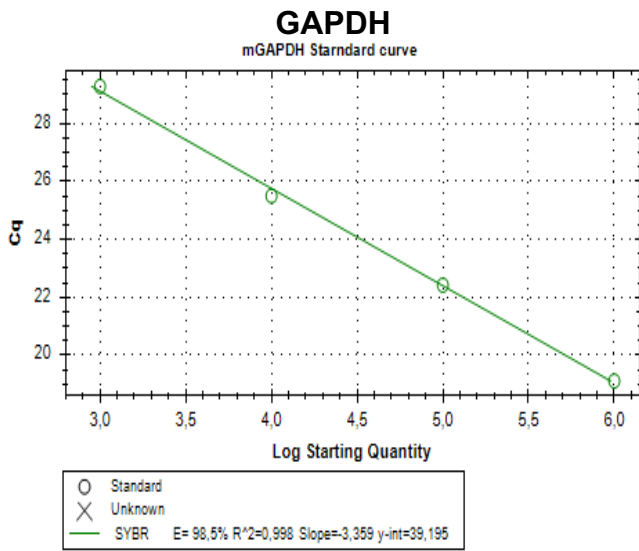
Les différentes caractéristiques des gènes qui ont servi à l'élaboration des courbes standards sont présentées dans le **tableaux XII**. Une gamme de concentrations (10^7 , 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 copies d'ADN/µL) a été préparée pour élaborer les différentes courbes standards (**Figure 23**) qui ont permis de mesurer l'expression des ARNm des différents gènes après amplification par RT-qPCR à l'aide du logiciel Bio-Rad CFX Manager (BioRad, France) installé sur l'ordinateur relié au thermocycleur.

Tableau XII : Caractéristiques des gènes ayant servi à l'élaboration des courbes standards.

Gène	Taille de l'amplicon	Concentration d'ADN dans l'éluât (ng/μL)	Poids unitaire de l'amplicon (Da)	Poids unitaire de l'amplicon (ng)	Copies d'ADN purifié/μL
GAPDH	123	35,00	38077,60	$6,32 \times 10^{-11}$	$5,54 \times 10^{11}$
CXCL-1 (KC)	114	109,20	35106,70	$5,83 \times 10^{-11}$	$1,87 \times 10^{12}$
CXCL-10 (IP10)	133	171,10	41163,54	$6,84 \times 10^{-11}$	$2,50 \times 10^{12}$
MCP-1 (CCL2)	121	35,90	37314,29	$6,20 \times 10^{-11}$	$5,79 \times 10^{11}$
MIP-1α (CCL3)	100	44,10	30560,69	$5,07 \times 10^{-11}$	$8,69 \times 10^{11}$
RANTES (CCL5)	104	48,40	31816,48	$5,28 \times 10^{-11}$	$9,16 \times 10^{11}$
IFN-γ	106	23,80	32773,24	$5,44 \times 10^{-11}$	$4,37 \times 10^{11}$
IL-10	105	58,80	32421,90	$5,38 \times 10^{-11}$	$10,92 \times 10^{11}$
IL-13	116	40,90	35663,95	$5,92 \times 10^{-11}$	$6,90 \times 10^{11}$
FGF1	122	61,60	37677,33	$6,26 \times 10^{-11}$	$9,84 \times 10^{11}$
TGF-β1	133	70,10	41051,41	$6,82 \times 10^{-11}$	$10,28 \times 10^{11}$
FOXP3	183	71,60	56210,12	$9,33 \times 10^{-11}$	$7,67 \times 10^{11}$

- **Quantification de l'expression des gènes des médiateurs immunologiques**

L'ADNc de chaque gène a été amplifié dans nos échantillons par RT-PCR en utilisant la solution de travail selon la procédure d'amplification décrite précédemment dans le **tableau XII**. L'expression de chaque gène a ensuite été quantifiée à l'aide sa courbe standard et exprimée par rapport à l'expression d'un gène rapporteur, celui de la glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase (GAPDH).

A

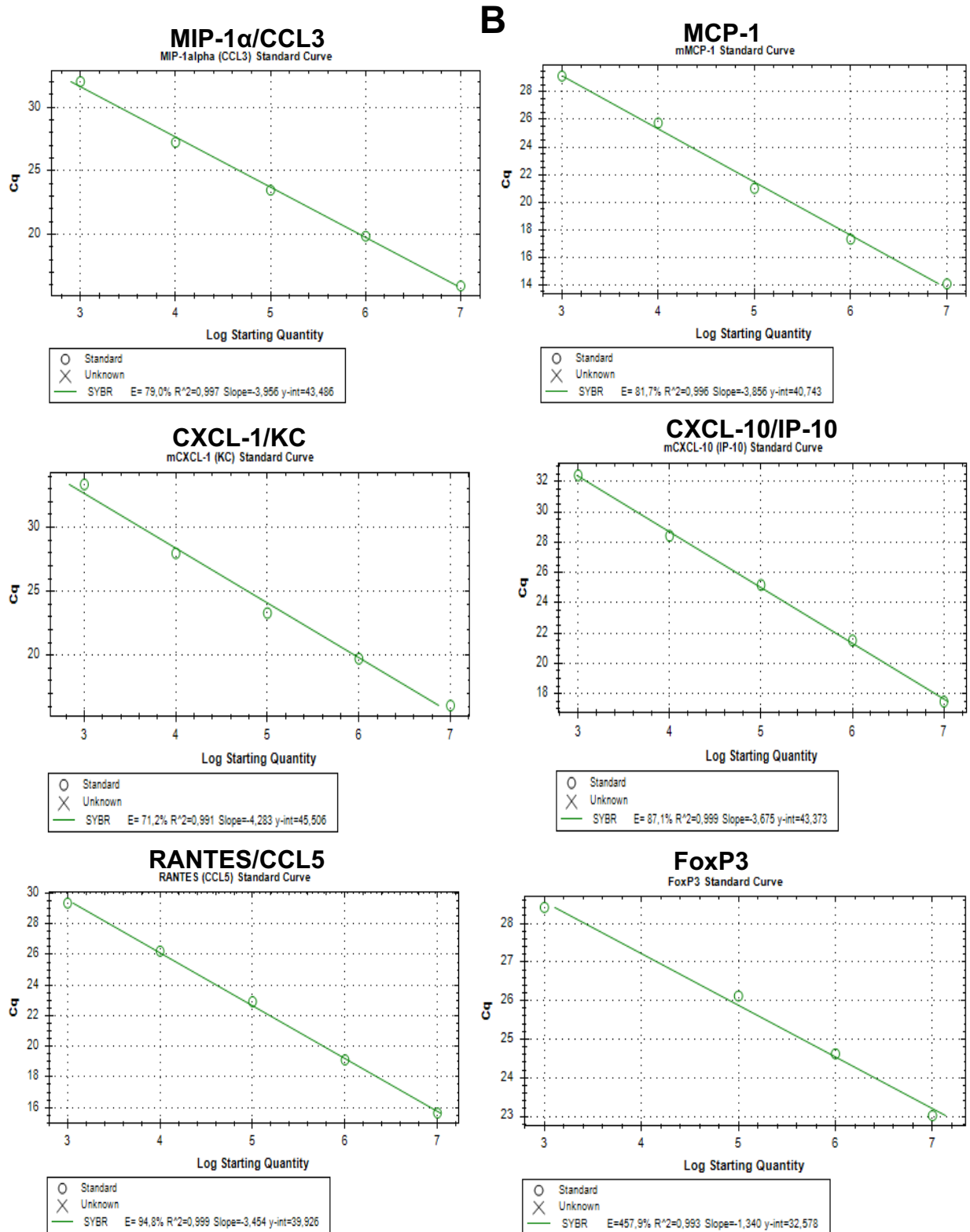


Figure 23 : Courbes standards pour la mesure de l'expression des gènes des cytokines et du GAPDH (A) et des chimiokines et du FoxP3 (B).

II.2.11- Analyses histologique du foie, de l'intestin et de la rate des souris infestées par *Schistosoma mansoni*

Les analyses histopathologique et histomorphométrique du foie, de l'intestin et de la rate des souris infestées par *S. mansoni* puis traitées au praziquantel ou à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* ont été effectuées à l'aide des colorations à l'hématoxyline-éosine, au picrosirius, au « Periodic Acid Schiff » et au Perls.

II.2.11.1- Traitement des échantillons

Les différentes sections de foie, d'intestin et de rate, prélevées puis fixées dans du formol 10% tamponné au PBS pH 7,2, ont été déshydratées dans des bains d'éthanol de degré croissant (50%, 70%, 95% et 100%), éclaircies dans du xylène et incluses dans de la paraffine. Des coupes de 5 µm d'épaisseur ont été effectuées à l'aide d'un microtome (Reichert-Jung 2030, Germany). Les sections obtenues ont été dépliées dans un bain marie à 40°C et placées sur des lames porte-objet. Trois jeux de lames ont été préparés par animal, puis les lames ont été séchées dans une étuve (Memmert, Germany) à 45°C pendant 24 heures. Après séchage, les coupes ont été déparaffinées dans trois bains de xylène pour un séjour de 5 min par bain. Elles ont ensuite été réhydratées par passages successifs dans une série de trois bains d'éthanol 100° (5 min par 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 les colorations à l'hématoxyline-éosine (H&E), au picrosirius (PS) et au Periodic Acid Schiff (PAS) réalisées sur les coupes de foie et d'intestin et la coloration de Perls sur les coupes de rate.

II.2.11.2- Coloration à l'hématoxyline-éosine

La coloration à l'hématoxyline-éosine (H&E) a été effectuée afin d'évaluer les infiltrations leucocytaires et la réaction granulomateuse liée à l'infection induite par la schistosomiase chez la souris.

- **Principe**

L'hématoxyline oxydée (hématéine) combinée à des mordants métalliques (acides phosphotungstique et phosphomolybdique) se fixe avec une très forte affinité aux noyaux des cellules pour former des laques d'aluminium de couleur rouge qui deviennent bleu en milieu faiblement alcalin. L'éosine quant à lui est utilisé comme contre colorant après une coloration nucléaire afin d'observer le cytoplasme. L'éosine se fixe sur les protéines plasmatiques pour donner une coloration rose à un pH situé entre 4,5 et 5,0.

- **Mode opératoire**

Après la réhydratation des coupes et le rinçage des lames de foie et d'intestin, elles ont été immergées pendant 10 min dans un bac contenant de l'hématoxyline (Color Index (CI) 75290, Sigma Aldrich, Germany), préparée selon Mayer (1986). Elles ont ensuite été rincées à l'eau courante pendant 10 min puis plongées tour à tour dans un bain d'éthanol à 70%, éthanol à 95% pendant 5 min et enfin contrecolorées dans une solution d'éosine Y (CI 45380, Sigma Aldrich, Germany) à 0,5% pendant 5 min. Les coupes ont enfin été déshydratées par immersion des lames dans trois bains d'éthanol à 100% (5 min par bain), avant d'être éclaircies par trois séjours de 5 min chacun dans du xylène. Le montage des lames a été effectué à l'aide d'une lamelle après ajout de quelques gouttes de résine (Pertex®, VWR, Germany).

II.2.11.3- Coloration au picrosirius

La coloration au picrosirius (PS) a été entreprise pour mettre en évidence la fibrose au niveau des foyers granulomateux hépatiques et intestinaux. Le Sirius F3BA qui rentre dans la composition du picrosirius est un colorant spécifique du collagène (Puchtler *et al.*, 1973; Junqueira *et al.*, 1979).

- **Principe**

La coloration au picrosirius repose sur la compétition entre deux colorants acides dont la taille et le coefficient de diffusion sont très différents. L'acide picrique, molécule de petite taille va se fixer sur les structures denses (cytoplasme). La spécificité de cette méthode réside dans la conformation de la molécule de rouge Sirius. Cette molécule linéaire interagit avec le collagène au niveau des groupements lysine, hydroxylysine et guanidine du collagène.

- **Mode opératoire**

Les lames de foie et d'intestin déparaffinées et réhydratées ont été plongées dans la solution d'hématoxyline de Weigert pendant 12 min, puis rincées à l'eau de robinet courante pendant 10 min puis 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% (10 à 20 secondes par bain). À l'issue de cette étape de différenciation, les lames ont été égouttées pendant 2 min, puis déshydratées dans deux bains d'éthanol 100% (5 min par bain), éclaircies dans trois bain de xylène (5 min par bain) et enfin montées sous résine Pertex®.

II.2.11.4- Coloration au « Periodic Acid Schiff »

La coloration Periodic Acid Schiff (PAS) a été réalisée afin de mettre en évidence les glycoprotéines des œufs du parasite ainsi que la larve (miracidium) qu'ils renferment.

- **Principe**

L'acide périodique oxyde les groupements glycols (CHOH-CHOH) en rompant la liaison entre deux carbones. Cette oxydation fait apparaître des groupes aldéhydes (HC=O). Les fonctions aldéhydes sont révélées par oxydation du leuco-dérivé de la fuchsine basique de Schiff qui se recolore en rose pourpre en se fixant (McManus, 1946).

- **Mode opératoire**

Les lames de foie déparaffinées et réhydratées ont été plongées dans la solution d'acide périodique à 0,5% pendant 5 min. Après un rinçage à l'eau distillée pendant 5 min, les lames ont été plongées dans le réactif de Schiff pendant 15 min, puis dans l'eau sulfureuse pendant 5 min et rincées à nouveau à l'eau courante (5 min) puis à l'eau distillée (2 min). Les lames ont ensuite été colorées à l'hématoxyline de Mayer pendant 5 min et rincées également à l'eau courante puis à l'eau distillée. A l'issue de cette étape de rinçage, les lames ont été déshydratées par immersion dans trois bains d'éthanol (un à 80% et deux autres à 100%) pendant 5 min par bain. Elles ont enfin été éclaircies dans trois bains de xylène (5 min par bain) et enfin montées sous résine Pertex® (VWR).

II.2.11.5- Coloration de Perls

La coloration de Perls a été effectuée pour mettre en évidence l'hémosidérose au niveau de la rate des souris infectées par *S. mansoni*. Ceci a été réalisé à travers la mise en évidence du fer ferrique des érythrocytes phagocytés par les macrophages appelés sidérophages ou erythrophages.

- **Principe**

En milieu acide, les ions ferriques (Fe^{3+}), forment avec le ferrocyanure de potassium, un complexe de ferrocyanure ferrique de couleur bleu-vert (bleu de Prusse) (Perls, 1867).

- **Mode opératoire**

Après déparaffinage et réhydratation, les lames portant les coupes de rate ont été plongées pendant 10 min dans la solution d'incubation renfermant du ferrocyanide de potassium à 2%. Elles ont ensuite été rincées à l'eau de robinet courante pendant 3 min puis plongées dans la solution de rouge nucléaire solide à 0,1% (3 min), rincées à l'eau distillée (1 min) et déshydratées dans trois bains d'alcool absolu (5min par bain). Après cette

déshydratation, les lames ont été éclaircies dans trois bains de xylène (5 min par bain) et enfin montées sous résine Pertex® (VWR).

II.2.11.6- Analyses microscopiques

Après 24 heures de séchage à température ambiante, toutes les coupes ont été observées au microscope optique à fond clair (Axiophot, Zeiss®) connecté à une caméra digitale CMOS (IDS, Germany). Les cartographies ont été réalisées au grossissement 10x et 20x et analysées à l'aide du logiciel PathScan Touch (Excilone, France).

II.2.11.7- Quantification des granulomes, mesure du volume des granulomes et de l'épaisseur de la musculature de l'iléon

Afin de déterminer le nombre et le volume de granulomes dans le foie et l'intestin et de mesurer l'épaisseur de la musculature de l'iléon, des images successives de chaque lame d'organe ont été capturées à l'aide d'une caméra digitale de type AmScope MD 500 (AmScope, USA) montée sur un microscope optique et dotée du logiciel de prise d'images «ImageView». L'analyse des images a été réalisée à l'aide du logiciel ImageJ version 1.32 (NIH, USA). Le calibrage des images a été fait grâce à une lame de calibration graduée fournie par le fabricant de la caméra où une distance de 0,01 mm correspondant au côté du plus petit carré de la cellule est l'équivalent de 159 pixels.

Le nombre de granulomes présents dans le foie et l'intestin de chaque souris a été évalué en dénombrant les granulomes par champ microscopique. Sur chaque coupe, au grossissement x100, le nombre total de champs microscopiques et de granulomes ont ainsi été déterminés et la moyenne du nombre de granulomes/10 champs microscopiques pour chaque souris calculée. La moyenne par groupe a été trouvée et le résultat exprimé en nombre de granulomes/10 champs microscopiques.

La mesure du volume des granulomes sur des coupes de foie et d'intestin par souris a été faite sur un minimum de vingt (20) granulomes renfermant un œuf de *S. mansoni* au grossissement x100. Les granulomes centrés autour de plus d'un œuf ou ceux ne renfermant pas d'œuf étaient exclus de l'analyse. Partant du fait qu'un granulome a une forme sphérique, deux diamètres perpendiculaires ont été mesurés par granulome et le diamètre moyen trouvé. Le volume de chaque granulome hépatique a été calculé à partir de la formule ci-après (Allam, 2009; Souza *et al.*, 2011).

$$\text{Volume du granulome } (\mu\text{m}^3) = \frac{4(\pi * R^3)}{3}$$

Avec R représentant le rayon moyen (μm) obtenu en divisant le diamètre moyen par 2.

L'épaisseur de la musculature de l'iléon de chaque souris a été mesurée au grossissement x100 en au moins dix (10) points différents de chaque section transversale (Jatsa *et al.*, 2018a).

II.2.12- Analyses statistiques

Les résultats de cette étude ont été exprimés en moyenne \pm Erreur Standard sur la Moyenne (ESM). L'analyse statistique a été effectuée à l'aide du logiciel *GraphPad Prism version 8.0.1* (GraphPad Software, San Diego, California, USA). Les comparaisons entre groupes, tant pour les tests *in vitro* que *in vivo* ont été effectuées à l'aide du test d'analyse des variances (ANOVA) suivi du post-test de comparaison multiple de Tukey. Le test *t* de Student a été utilisé pour les études comportant deux groupes. Les différences étaient considérées comme significatives à partir des valeurs de $p < 0,05$.

CHAPITRE III
RESULTATS ET DISCUSSION

III.1- Résultats

III.1.1- Effets du traitement préventif au praziquantel sur l'évolution pondérale des souris infectées par *Schistosoma mansoni*

Les courbes d'évolution du poids corporel des souris au cours de chaque phase expérimentale sont présentées sur la **figure 26**. Au cours de la phase aiguë de l'infection, aucune différence statistiquement significative de la variation du poids corporel des souris n'a été observée entre les groupes de souris non-infestées (TS), infestées et non traitées (TI) et celles infestées et recevant différentes posologies de praziquantel (**Figure 24A**). Durant la phase granulomateuse de l'infection, entre les jours 48 et 56 *p.i*, il a été observé une perte significative du poids corporel chez les souris infestées et non traitées (TI) comparativement au groupe de souris saines (TS). Une perte du poids corporelle similaire à celle du groupe TI a été enregistrée dans les groupes PZQ1, PZQ2 et PZQ4. Par comparaison au groupe TI, le traitement des souris infestées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg/jour pendant 28 jours (PZQ3) a significativement limité la perte de poids ($p < 0,001$). La baisse du poids corporel était significative ($p < 0,001$) dans les groupes PZQ1 et PZQ4 comparativement au groupe PZQ3. Aucune différence de poids corporel n'a été observée entre les groupes de souris ayant reçu les posologies de praziquantel de 100 mg/kg/jour pendant 28 jours (PZQ2) et celles ayant reçu 18 mg/kg/jour pendant 28 jours (PZQ3), bien que des baisses de 15,55 à 24,74% aient été enregistrées entre le 48^{ème} et le 56^{ème} jour *p.i* dans le groupe PZQ2 par rapport au groupe PZQ3. Aucune différence statistiquement significative n'a été enregistrée entre le gain de poids corporel du groupe PZQ3 et celui des souris non infestées (TS) (**Figure 24B**).

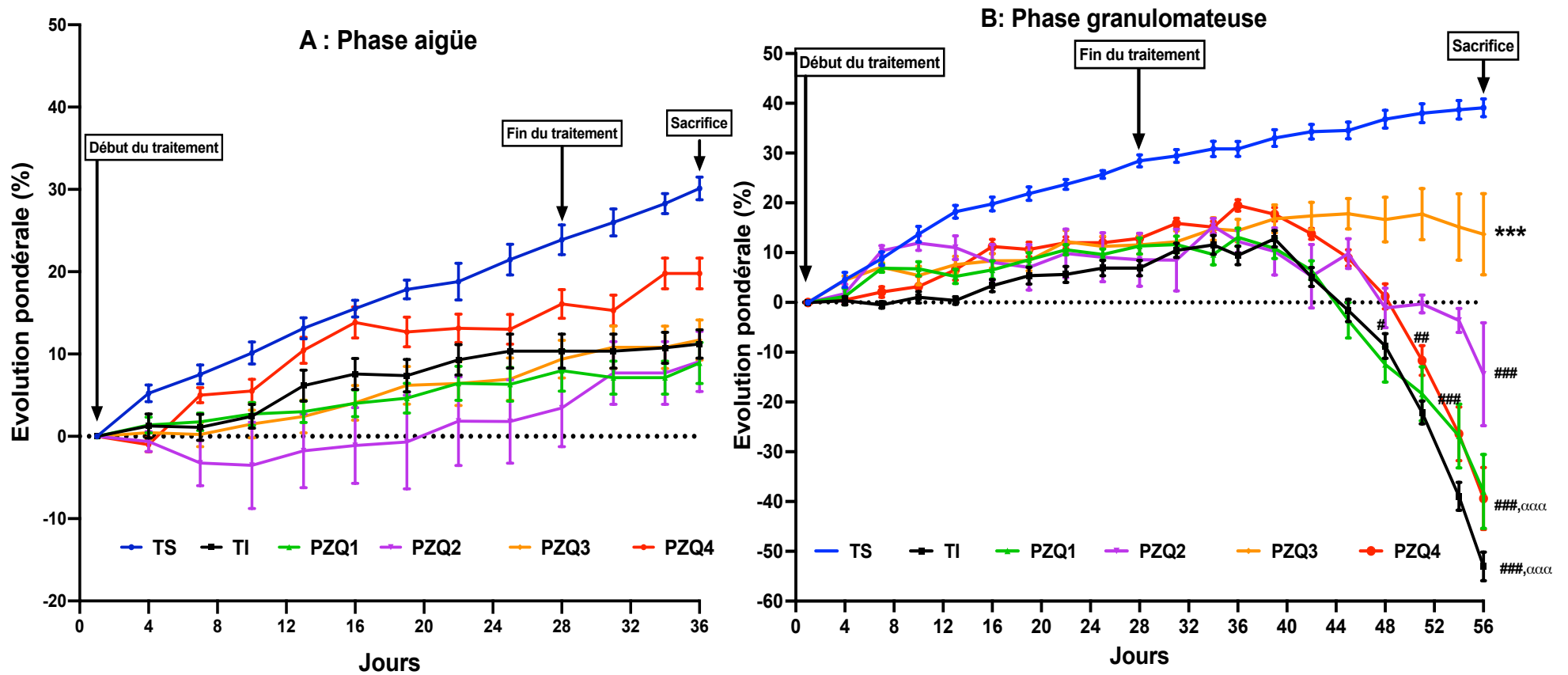


Figure 24 : Evolution pondérale des souris lors des phases aiguë (A) et granulomateuse (B) de l'infection à *Schistosoma mansoni* après traitement au praziquantel.

TS : Souris non infectées ; TI: souris infectées et non traitées, PZQ1: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 5 jours consécutifs; PZQ2: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ3: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ4: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose unique de 500 mg/kg. #p < 0,05, ##p < 0,01, ###p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infectées (TS). ***p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI). αααp < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs.

III.1.2- Effets des différentes posologies de praziquantel sur la survie des souris infectées à *Schistosoma mansoni*

Au cours de la période expérimentale, aucun décès n'a été noté dans les groupes de souris saines (TS), de souris infestées et non traitées (TI), celles infestées puis traitées à la dose de 18 mg/kg/jour pendant 28 jours (PZQ3) ou à la dose unique de 500 mg/kg de praziquantel (PZQ4) (**Figure 25**). Le taux de mortalité le plus élevé a été enregistré dans le groupe de souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg/jour pendant 28 jours (PZQ2). Dans ce groupe des taux de survie de 82,71%, 42,86% et 18,75% ont été relevés aux semaines 6, 7 et 8 *p.i* respectivement. Un taux de survie de 53,57% a été enregistré dans le groupe de souris infestées ayant reçu la posologie de 100 mg/kg/jours pendant 5 jours (PZQ1).

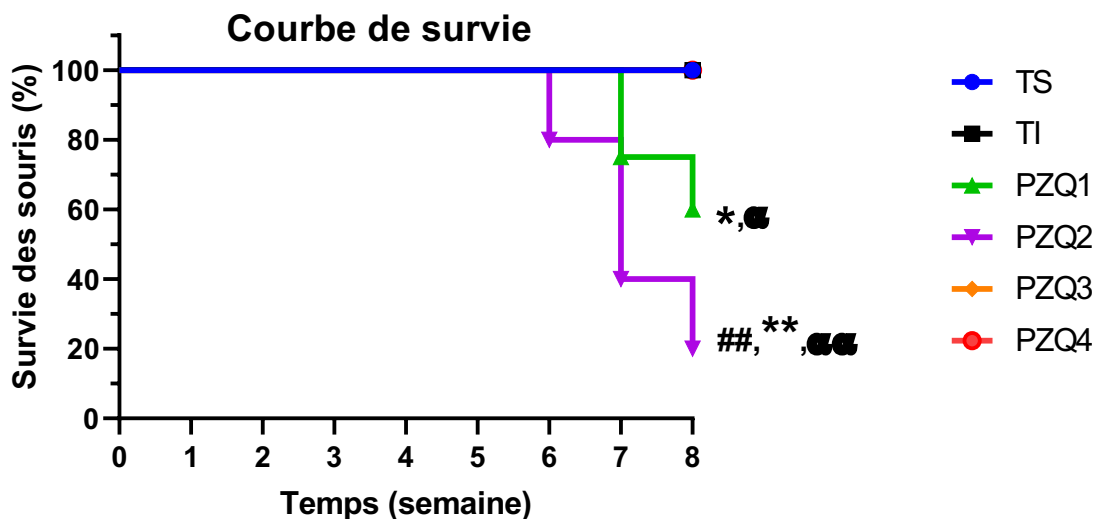


Figure 25 : Taux de survie des souris ayant reçu différentes posologies de praziquantel.

TS : Souris non infectées ; TI: souris infectées et non traitées ; PZQ1: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 5 jours consécutifs; PZQ2: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ3: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ4: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose unique de 500 mg/kg. Les données sont exprimées sous forme de pourcentage (n = 6 ou 8). L'analyse statistique a été effectuée à l'aide du test de Chi² de comparaison des proportions. ##p < 0,01: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infectées (TS). *p < 0,05, **p < 0,01: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI). °p < 0,05, °°p < 0,01: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs (PZQ3).

III.1.3- Effets préventifs des différentes posologies de praziquantel sur le poids relatif des organes cibles des souris infestées par *Schistosoma mansoni*

A la phase aiguë de l'infection, aucune différence significative du poids relatif du foie, de l'intestin et du thymus n'a été observée entre le groupe de souris infestées et non traitées (TI) et celui des souris non infestées (TS), ou les groupes de souris infestées puis traitées par différentes posologies de praziquantel. Une splénomégalie a été observée dans le groupe de souris infestées et non traitées (TI) par comparaison à celui du groupe de souris

non infestées (TS) avec une augmentation significative ($p < 0,01$) du poids relatif de la rate de 90,56%. Chez les groupes de souris infestées et traitées au praziquantel, une baisse significative du poids relatif de la rate a été observée dans les groupes PZQ2 ($p < 0,05$), PZQ3 ($p < 0,001$) et PZQ4 ($p < 0,05$) par comparaison au groupe de souris infestées et non traitées (TI).

Au terme de la phase granulomateuse de l'infection, dans le groupe de souris infestées et non traitées, des augmentations significatives du poids relatif du foie, de l'intestin, de la rate et du thymus de 131,51%, 161,87%, 179,66% et de 218,18% respectivement, ont été enregistrées par comparaison au groupe de souris saines (TS). Le traitement des souris au praziquantel à la dose de 18 mg/kg/jour pendant 28 jours (PZQ3) a quasiment prévenu l'augmentation du poids relatif de ces organes. Des diminutions significatives du poids relatif du foie ($p < 0,01$), de l'intestin ($p < 0,001$), de la rate ($p < 0,001$) et du thymus ($p < 0,05$) ont été notées chez les souris du groupe PZQ3 par comparaison à ceux du groupe TI. Comparativement aux souris du groupe TI, aucune différence significative du poids relatif du foie et du thymus dans les groupes PZQ1, PZQ2 et PZQ4 n'a été relevée. S'agissant du poids relatif de la rate, sa valeur est restée significativement élevée chez les souris des groupes PZQ1 (145,95% ; $p < 0,001$), PZQ2 (82,43% ; $p < 0,05$) et PZQ4 (63,51% ; $p < 0,05$) par comparaison à celle des souris du groupe PZQ3. Pour le thymus, des résultats similaires caractérisés par des augmentations significatives chez les souris des groupes PZQ1 ($p < 0,05$) et PZQ4 ($p < 0,01$) ont été obtenus (**Tableau XIII**).

Tableau XIII: Poids relatifs des organes cibles des souris infestées à *Schistosoma mansoni* après le traitement par différentes posologies de praziquantel.

Groupes	Foie	Intestin	Rate	Thymus
Phase aiguë				
TS	7,55 ± 0,25	5,25 ± 0,29	0,53 ± 0,04	0,23 ± 0,02
TI	7,02 ± 0,33	5,99 ± 0,27	1,01 ± 0,12 ^{##}	0,24 ± 0,02
PZQ1	7,46 ± 0,39	4,83 ± 0,13	0,83 ± 0,08	0,23 ± 0,02
PZQ2	7,65 ± 0,28	5,70 ± 0,31	0,68 ± 0,07*	0,23 ± 0,02
PZQ3	7,41 ± 0,20	6,32 ± 0,39	0,57 ± 0,04 ^{***}	0,25 ± 0,02
PZQ4	7,19 ± 0,21	5,00 ± 0,17	0,70 ± 0,05*	0,34 ± 0,02 ^α
Phase granulomateuse				
TS	5,30 ± 0,33	4,56 ± 0,29	0,59 ± 0,05	0,11 ± 0,01
TI	12,27 ± 0,64 ^{###}	13,56 ± 0,61 ^{###}	1,65 ± 0,13 ^{###}	0,35 ± 0,03 ^{##}
PZQ1	10,08 ± 0,48	16,01 ± 0,87 ^{ααα}	1,82 ± 0,08 ^{ααα}	0,36 ± 0,02 ^α
PZQ2	10,58 ± 1,42	10,10 ± 0,93 ^{*,ααα}	1,35 ± 0,18 ^α	0,30 ± 0,06
PZQ3	7,77 ± 0,60 ^{**}	4,43 ± 0,40 ^{***}	0,74 ± 0,06 ^{***}	0,17 ± 0,01 [*]
PZQ4	10,67 ± 0,93	10,84 ± 0,77 ^{*,ααα}	1,21 ± 0,12 ^{*,α}	0,36 ± 0,05 ^{αα}

TS : Souris non infectées ; TI: souris infectées et non traitées ; PZQ1: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 5 jours consécutifs; PZQ2: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ3: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ4: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose unique de 500 mg/kg. ^{##}p < 0,01, ^{###}p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infectées (TS). *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI). ^αp < 0,05, ^{αα}p < 0,01, ^{ααα}p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs (PZQ3).

III.1.4- Effets du traitement au praziquantel sur la charge parasitaire et les charges ovulaires fécale, hépatique et intestinale des souris infestées à *Schistosoma mansoni*

Les charges parasitaires et ovulaires hépatique, intestinale et fécale évaluées au cours des deux phases de l'infection à *Schistosoma mansoni* dans notre expérimentation sont représentées sur la **figure 26**. Le nombre de vers récupérés chez les souris infestées et non traitées (TI) était de 42,14 ± 2,87 au cours de la phase aiguë de l'infection et de 45,62 ± 3,56 à la phase granulomateuse. Lors de la phase aiguë de l'infection, par comparaison au groupe TI, le traitement au praziquantel a entraîné une réduction significative (p < 0,001) de la charge parasitaire dans les groupes PZQ2 (97,65%) et PZQ3 (97,29%) (**Figure 26I.A**). A la phase granulomateuse cette réduction était de 71,50% pour le groupe PZQ2 et de 84,04% pour le groupe PZQ3 (**Figure 26II.A**). Au cours des deux phases de l'infection, aucune différence significative n'a été observée entre les souris du groupe PZQ1 et celles du groupe TI tandis qu'une différence significative (p < 0,01) a été trouvée entre les souris des groupes PZQ4 et TI au cours de la phase granulomateuse. A chaque phase de l'infection, en se référant à la charge parasitaire du groupe de souris ayant reçu la posologie

de 18 mg/kg/jour de praziquantel (PZQ3), celle des souris des groupes PZQ1 et PZQ4 sont restées significativement élevées ($p < 0,001$) (**Figures 26I.A et 26II.A**).

Au cours des deux phases de l'infection, les charges ovulaires sont restées significativement faibles ($p < 0,001$) dans le foie et dans l'intestin des souris des groupes PZQ2 et PZQ3 par comparaison à celles des souris du groupe TI. Chez les souris des groupes PZQ1 et PZQ4, les charges ovulaires hépatique et intestinale étaient significativement élevées ($p < 0,001$) par rapport à celles des souris du groupe PZQ3 (**Figures 26I.B, 26I.C, 26II.B et 26II.C**).

A la phase aiguë de l'infection, bien qu'aucune différence statistiquement significative n'ait été observée entre les charges ovulaires fécales des groupes PZQ2 et PZQ3 par rapport à celle du groupe TI, des réductions de 79,24% et de 77.81% ont été respectivement relevées. Une augmentation non significative mais environ 4 fois supérieure de la charge ovulaire fécale a été relevée dans les groupes PZQ1 et PZQ4 comparativement à celle du groupe PZQ3 (**Figure 26I.D**).

Lors de la phase granulomateuse, les charges ovulaires fécales étaient significativement réduites chez les souris des groupes PZQ2 ($p < 0,01$) et PZQ3 ($p < 0,05$) comparativement à celle du groupe TI. Par comparaison aux souris du groupe PZQ3, cette charge est demeurée significativement élevée chez les souris du groupe PZQ1 ($p < 0,01$) et PZQ4 ($p < 0,05$) (**Figure 26II.D**).

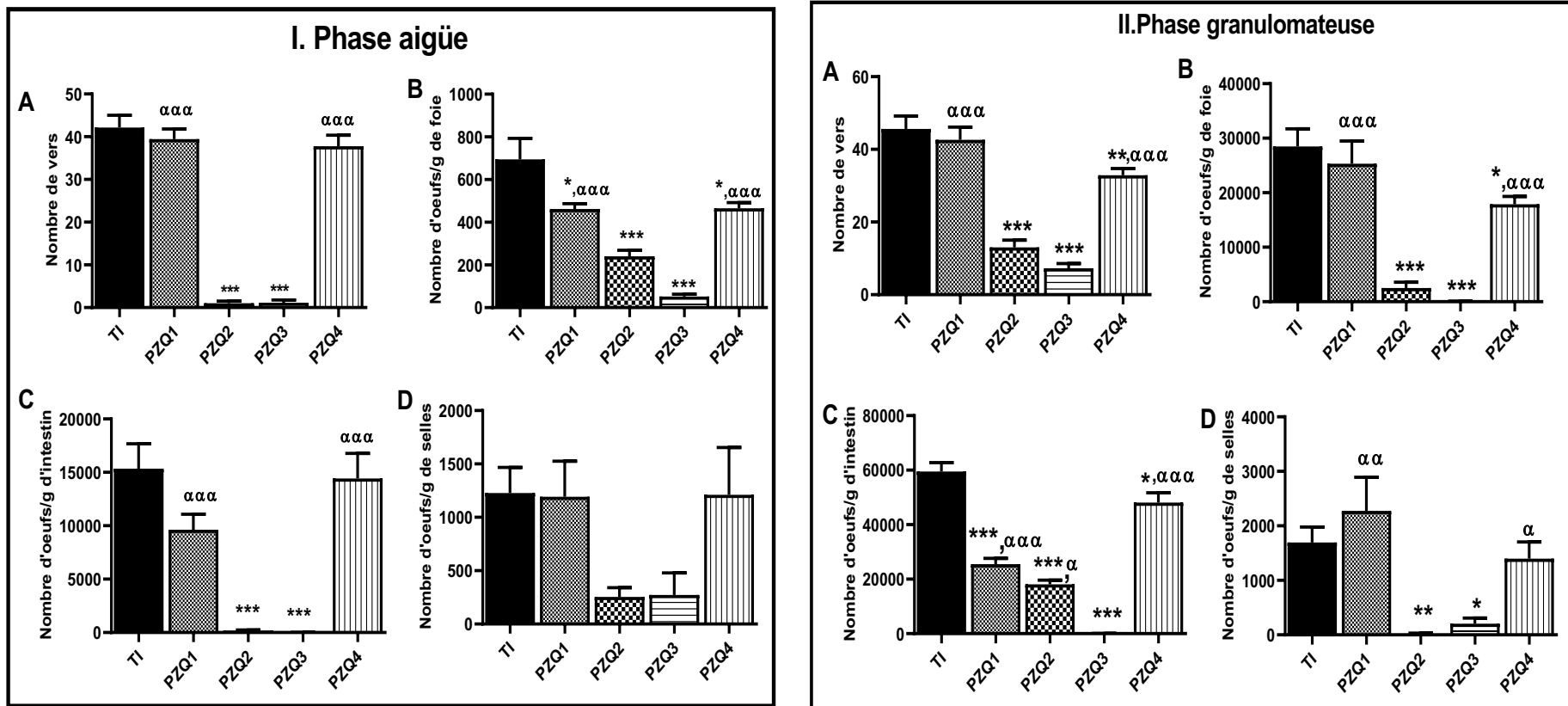


Figure 26 : Effets préventifs du praziquantel sur la charge parasitaire(A) et les charges ovulaires hépatique (B), intestinales (C) et fécales (D) chez les souris au terme de la phase aiguë (I) ou granulomateuse (II) de l'infection à *Schistosoma mansoni*

TI: souris infectées et non traitées ; PZQ1: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 5 jours consécutifs; PZQ2: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ3: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ4: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose unique de 500 mg/kg. *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI). αp < 0,05, ααp < 0,01, αααp < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs (PZQ3).

III.1.5- Effets du traitement préventif au praziquantel sur les paramètres hématologiques des souris infectées par *Schistosoma mansoni*

III.1.5.1- Effets du traitement préventif au praziquantel sur les paramètres hématimétriques et le taux de thrombocytes des souris infectées par *Schistosoma mansoni*

Les données sur les paramètres hématimétriques et le taux de thrombocytes chez les souris infestées à *S. mansoni* puis traitées à différentes posologies de praziquantel sont présentées dans le **tableau XIII**. L'infection aiguë à *S. mansoni* a induit une réduction significative des taux d'hématies ($p < 0,001$), d'hémoglobine ($p < 0,05$) et d'hématocrite ($p < 0,001$), associée à une augmentation significative ($p < 0,001$) du volume globulaire moyen (VGM) et de la teneur globulaire moyenne d'hémoglobine (TGMH) chez les souris infestées et non traitées (TI) par comparaison aux souris non infestées (TS). À cette phase, l'infection a également entraîné une diminution significative du taux de thrombocytes ($p < 0,001$). Des observations similaires ont été faites au cours de la phase granulomateuse de l'infection pour les constantes hématimétriques et le taux de thrombocytes chez les souris du groupe TI par rapport à celles du groupe TS ($p < 0,001$), à l'exception du taux d'hémoglobine.

Après traitement au praziquantel, à la phase aiguë de l'infection, seule la posologie de 18 mg/kg/jour pendant 28 jours (PZQ3) a significativement empêché la réduction du taux d'hématies ($p < 0,05$), le volume globulaire moyen ($p < 0,001$), la teneur globulaire moyenne en hémoglobine ($p < 0,001$), ainsi que la concentration de thrombocytes ($p < 0,001$) par comparaison au groupe TI. A la phase granulomateuse, à l'exception du taux d'hémoglobine, la concentration des hématies et les constantes érythrocytaires ont été maintenues proches des valeurs normales chez les souris des groupes PZQ2 et PZQ3. En effet, par rapport aux souris du groupe TI, les posologies de praziquantel de 100 mg/kg/jr pendant 28 jours (PZQ2) et de 18 mg/kg/jr pendant 28 jours (PZQ3) ont entraîné une augmentation des taux d'hématies ($p < 0,001$), et de l'hématocrite ($p < 0,05$) et une réduction significative du VGM ($p < 0,01$), de la TGMH ($p < 0,001$) et de la CCMH ($p < 0,05$). Une augmentation significative de la concentration de thrombocytes ($p < 0,05$) a également été notée. A l'inverse, chez les souris des groupes PZQ1 et PZQ4, le traitement au praziquantel n'a pas réussi à maintenir les valeurs des paramètres hématimétriques dans les limites normales (**Tableau XIV**).

Tableau XIV: Effets du traitement préventif au praziquantel sur les paramètres hématimétriques des souris infectées par *Schistosoma mansoni*.

Groupes	Hématies (10 ⁶ /mm ³)	Hémoglobine (g/dL)	Hématocrite (%)	VGM (µm ³)	TGMH (pg)	CCMH (g/dL)	Thrombocytes (10 ³ /mm ³)
Phase aiguë							
TS	8,62 ± 0,39	14,03 ± 0,53	49,70 ± 1,67	58,83 ± 1,74	16,67 ± 0,26	27,77 ± 0,69	525,67 ± 29,14
TI	4,56 ± 0,51 ^{###}	9,33 ± 0,76 [#]	28,38 ± 2,04 ^{###}	86,00 ± 1,23 ^{###}	26,78 ± 0,87 ^{###}	31,11 ± 0,83	264,14 ± 25,10 ^{###}
PZQ1	4,01 ± 0,51 ^{αα}	9,80 ± 1,42	31,60 ± 4,53	78,14 ± 3,04 ^{ααα}	24,41 ± 1,66 ^{αα}	31,07 ± 1,41	278,14 ± 31,61 ^{ααα}
PZQ2	4,02 ± 0,50 ^{αα}	10,01 ± 1,16	32,77 ± 3,58	78,43 ± 3,85 ^{ααα}	23,91 ± 1,47 ^{αα}	30,56 ± 1,01	255,86 ± 18,65 ^{ααα}
PZQ3	7,19 ± 0,88 [*]	10,66 ± 0,65	37,61 ± 2,94	50,18 ± 1,69 ^{***}	17,75 ± 0,27 ^{***}	29,39 ± 1,11	486,28 ± 11,19 ^{***}
PZQ4	5,34 ± 0,41	10,57 ± 0,80	30,08 ± 2,49	86,44 ± 2,05 ^{ααα}	24,47 ± 1,13 ^{αα}	35,43 ± 0,86 ^{αα}	214,89 ± 23,07 ^{ααα}
Phase granulomateuse							
TS	9,77 ± 0,56	12,73 ± 0,93	55,51 ± 0,78	60,08 ± 1,81	14,95 ± 0,76	24,01 ± 0,80	521,50 ± 16,78
TI	5,13 ± 0,33 ^{###}	10,03 ± 0,36	39,78 ± 2,12 ^{###}	80,50 ± 2,58 ^{##}	25,61 ± 1,06 ^{###}	31,80 ± 0,30 ^{###}	233,50 ± 14,26 ^{###}
PZQ1	6,17 ± 0,39 ^α	9,48 ± 0,42	47,86 ± 2,34	79,40 ± 2,25	21,90 ± 1,47 ^α	30,60 ± 1,73 ^{αα}	280,00 ± 22,91 ^{ααα}
PZQ2	9,99 ± 0,86 ^{***}	13,83 ± 1,33	53,00 ± 7,25 [*]	53,67 ± 3,84 ^{**}	14,03 ± 0,53 ^{***}	28,37 ± 0,98 [*]	414,67 ± 22,67 [*]
PZQ3	8,20 ± 0,43 ^{***}	10,52 ± 0,67	50,18 ± 1,62 [*]	65,86 ± 5,97 [*]	16,01 ± 1,33 ^{***}	24,56 ± 0,90 ^{***}	526,14 ± 50,04 ^{***}
PZQ4	4,43 ± 0,30 ^{ααα}	10,58 ± 0,80	34,90 ± 2,48 ^{ααα}	80,00 ± 2,07 ^α	24,28 ± 1,12 ^{ααα}	30,23 ± 0,95 ^{ααα}	272,10 ± 31,23 ^{ααα}

VGM : Volume globulaire moyen ; TCMH : Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine ; CCMH : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine.

TS : Souris non infectées ; TI: souris infectées et non traitées ; PZQ1: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 5 jours consécutifs; PZQ2: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ3: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ4: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose unique de 500 mg/kg. #p < 0,05, ##p < 0,01, ###p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infectées (TS). *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (IC). αp < 0,05, ααp < 0,01, αααp < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs (PZQ3).

III.1.5.1- Effets du traitement préventif au praziquantel sur le leucogramme des souris infectées par *Schistosoma mansoni*

Le leucogramme des souris infestées par *S. mansoni* puis traitées à différentes posologies de praziquantel est présenté dans le **tableau XV**. Il en ressort que l'infection dans sa phase aiguë est à l'origine d'une augmentation significative ($p < 0,01$) du taux de leucocytes de $10,33 \pm 1,01$ chez les souris du groupe TI contre $4,71 \pm 0,36$ chez les souris non infestées et non traitées (TS). Cette augmentation du taux de leucocytes était associée à une réduction significative du pourcentage de lymphocytes ($p < 0,001$) et à une augmentation de celui des granulocytes ($p < 0,001$). Les mêmes tendances ont été observées chez les souris du groupe TI au cours de la phase granulomateuse.

Après administration du praziquantel, le leucogramme des souris des groupes PZQ1 et PZQ4 est resté similaire à celui du groupe TI au cours des deux phases de l'infection à *S. mansoni*. La posologie de 18 mg/kg/jour pendant 28 jours (PZQ3) a significativement prévenue les variations de la formule leucocytaire observées chez les animaux du groupe TI. Cet effet bénéfique était plus marqué au cours de la phase granulomateuse. A cette posologie de praziquantel (PZQ3) et par comparaison au groupe TI, il a été enregistré une réduction significative du taux des leucocytes de 55,63% et du pourcentage de granulocytes de 80,04% ($p < 0,001$) associée à une augmentation du pourcentage de lymphocytes de 125,38% ($p < 0,001$). Aucune variation significative n'a été observée entre le leucogramme des souris du groupe PZQ3 et celui des souris non infestées (TS). La posologie de 100 mg/kg/jour pendant 28 jours (PZQ2) a présenté des effets bénéfiques pendant la phase granulomateuse. Il a été observé une augmentation significative du pourcentage de lymphocytes ($p < 0,001$) et une diminution de celui des granulocytes ($p < 0,001$) par comparaison à ceux des souris infestées et non traitées (TI). S'agissant du pourcentage de monocytes, aucune différence significative n'a été observée entre les différents groupes expérimentaux à toutes les phases de l'infection.

Tableau XV: Effets du traitement préventif au praziquantel sur la formule leucocytaire des souris infectées par *Schistosoma mansoni*.

Groupes	Leucocytes (10 ³ /mm ³)	Lymphocytes (%)	Monocytes (%)	Granulocytes (%)
Phase aiguë				
TS	4,71 ± 0,36	72,53 ± 2,48	8,25 ± 0,24	19,21 ± 2,31
TI	10,33 ± 1,01 ^{##}	44,91 ± 4,72 ^{###}	10,60 ± 1,71	44,48 ± 4,64 ^{###}
PZQ1	10,01 ± 0,62	46,37 ± 2,99 ^{ααα}	10,44 ± 1,59	42,98 ± 1,62 ^{ααα}
PZQ2	11,78 ± 1,92 ^{αα}	44,93 ± 3,01 ^{ααα}	8,33 ± 0,94	46,34 ± 3,76 ^{ααα}
PZQ3	5,94 ± 0,37 [*]	67,82 ± 2,29 ^{***}	11,65 ± 1,77	20,51 ± 0,62 ^{***}
PZQ4	10,16 ± 0,68 ^{αα}	42,15 ± 2,26 ^{ααα}	6,20 ± 0,46 ^α	51,74 ± 1,77 ^{ααα}
Phase granulomateuse				
TS	4,45 ± 0,47	72,73 ± 0,96	10,26 ± 0,78	17,25 ± 1,52
TI	11,00 ± 0,58 ^{###}	32,42 ± 3,14 ^{###}	13,72 ± 1,30	53,85 ± 4,08 ^{###}
PZQ1	10,54 ± 0,73 ^{αα}	39,74 ± 0,62 ^{ααα}	13,90 ± 1,02	46,36 ± 0,85 ^{ααα}
PZQ2	11,50 ± 0,70 ^{αα}	68,76 ± 3,44 ^{***}	15,23 ± 1,03	16,00 ± 4,14 ^{***}
PZQ3	5,32 ± 0,82 ^{***}	73,07 ± 5,03 ^{***}	16,18 ± 3,21	10,75 ± 2,00 ^{***}
PZQ4	9,57 ± 0,77 ^{ααα}	28,65 ± 2,86 ^{ααα}	10,57 ± 1,04	60,78 ± 3,70 ^{ααα}

TS : Souris non infectées ; TI: souris infectées et non traitées ; PZQ1: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 5 jours consécutifs; PZQ2: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ3: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ4: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose unique de 500 mg/kg. ^{##}p < 0,01, ^{###}p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infectées (HC). *p < 0,05, ^{***}p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (IC). ^αp < 0,05, ^{αα}p < 0,01, ^{ααα}p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs (PZQ3).

III.1.6- Effets du traitement préventif au praziquantel sur la fonction hépatique des souris infectées par *Schistosoma mansoni*

Les effets du traitement préventif au praziquantel sur la fonction hépatique des souris infestées par *S. mansoni* au cours des phases aiguë et granulomateuse de l'infection sont consignés dans le **tableau XVI**.

Il ressort de cette étude que l'infection à *S. mansoni*, a entraîné une augmentation des activités sériques de l'ALAT (p < 0,001) et de l'ASAT (p < 0,001) ainsi que de la concentration de bilirubine totale (p < 0,05) et a induit une diminution de l'activité de la γ-GT (p < 0,01) au cours de la phase aiguë. Le traitement au praziquantel a significativement réduit l'activité de l'ALAT (p < 0,001) à toutes les posologies. La posologie de 18 mg/kg/jour pendant 28 (PZQ3) a entraîné une réduction significative (p < 0,05) de l'activité de l'ASAT et de la concentration de bilirubine totale par comparaison à l'activité des transaminases des souris du groupe TI à la phase aiguë de l'infection. Aucune différence significative de l'activité de la PAL ou de la concentration de protéines totales n'a été observée entre les différents groupes.

A la phase granulomateuse de l'infection, l'atteinte de la fonction hépatique des souris infestées et non traitées (TI) s'est traduite par une augmentation significative des activités de l'ALAT ($p < 0,001$), de l'ASAT ($p < 0,001$), de la PAL ($p < 0,01$) et de la concentration de bilirubine totale ($p < 0,001$) et à une réduction de l'activité de la γ -GT ($p < 0,01$) et du taux de protéines totales ($p < 0,001$) par comparaison à ceux des souris du groupe TS. Le traitement au praziquantel à la dose de 18mg/kg/jour pendant 28 jours (PZQ3) a prévenu ces variations, excepté l'activité de l'ASAT et le taux de protéines totales. Précisément, une réduction de l'activité de l'ALAT de 39,98% ($p < 0,001$), de l'activité de la PAL de 46,01% ($p < 0,05$) et de la concentration de la bilirubine totale de 62,15% ($p < 0,001$) et une augmentation de l'activité de la γ -GT de 131,11% ($p < 0,05$) ont été observées chez les souris du groupe PZQ3. Aucun effet bénéfique n'a été observé sur la fonction hépatique des souris infestées et traitées par les autres posologies de praziquantel (PZQ1, PZQ2 et PZQ4). Les activités des transaminases (ALAT et ASAT) des souris ayant reçu la posologie de 100 mg/kg/jour de praziquantel (PZQ2) étaient les plus élevées. Elles étaient à similaires à celles des souris du groupe TI.

Tableau XVI: Effets du traitement préventif au praziquantel sur les paramètres de la fonction hépatique des souris infectées par *Schistosoma mansoni*.

Groupes	ALAT (UI/L)	ASAT (UI/L)	PAL (UI/L)	γ-GT (UI/L)	Bilirubine totale (μmol/L)	Protéines totales (mg/mL)
Phase aiguë						
TS	549,43 ± 60,45	329,21 ± 61,39	282,49 ± 69,73	144,93 ± 16,97	241,83 ± 16,97	2,07 ± 0,23
TI	1485,36 ± 117,83###	1367,26 ± 96,26###	246,80 ± 58,45	64,39 ± 4,97##	349,55 ± 43,40#	1,22 ± 0,14
PZQ1	933,25 ± 39,42***	1057,23 ± 39,57	211,77 ± 27,00	93,93 ± 15,85	296,23 ± 39,30	0,98 ± 0,11
PZQ2	1045,89 ± 98,44**	1221,43 ± 109,09	214,88 ± 32,15	109,08 ± 15,90	366,85 ± 28,82	1,67 ± 0,24
PZQ3	739,52 ± 20,13***	977,51 ± 97,98*	161,16 ± 34,89	122,71 ± 12,27*	277,09 ± 15,14*	1,75 ± 0,23
PZQ4	887,05 ± 76,07***	1119,23 ± 71,05	224,66 ± 59,66	101,92 ± 14,86	292,69 ± 19,42	1,35 ± 0,17
Phase granulomateuse						
TS	461,89 ± 58,47	421,95 ± 32,95	278,01 ± 55,32	159,96 ± 16,84	270,56 ± 41,09	2,23 ± 0,17
TI	1429,80 ± 51,42###	1142,64 ± 76,61###	519,11 ± 60,01##	59,65 ± 11,05##	786,19 ± 84,23###	1,04 ± 0,13###
PZQ1	1430,08 ± 72,90 ^{ααα}	1415,96 ± 147,20	464,61 ± 59,34	97,56 ± 18,56	665,49 ± 68,80 ^{αα}	0,83 ± 0,89
PZQ2	1730,68 ± 114,65 ^{ααα}	1735,48 ± 361,40*, ^{αα}	512,30 ± 147,48	86,61 ± 1,76	388,11 ± 34,59**	0,93 ± 0,13
PZQ3	858,12 ± 127,86***	912,96 ± 72,59	280,28 ± 81,37*	137,86 ± 25,84*	295,67 ± 37,24***	1,31 ± 0,13
PZQ4	1471,27 ± 51,50 ^{ααα}	1183,78 ± 99,23	485,05 ± 38,81 ^α	65,75 ± 8,18 ^{αα}	620,23 ± 37,98 ^{αα}	1,16 ± 0,21

ALAT : Alanine aminotransférase ; ASAT : Aspartate aminotransférase ; PAL : Phosphatase alcaline ; γ-GT : Gamma glutamyl transférase.

TS : Souris non infectées ; TI : souris infectées et non traitées ; PZQ1: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 5 jours consécutifs; PZQ2: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ3: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ4: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose unique de 500 mg/kg. #p < 0,05, ##p < 0,01, ###p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infectées (TS). *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI). ^αp < 0,05, ^{αα}p < 0,01, ^{ααα}p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs (PZQ3).

III.1.7- Effets du traitement préventif au praziquantel sur le statut oxydant des souris infectées par *Schistosoma mansoni*

III.1.7.1- Effets du traitement préventif au praziquantel sur le stress oxydant hépatique induit par l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris

Au cours de la phase aiguë de l'infection, le taux de MDA a augmenté d'environ 5 fois ($p < 0,01$) dans le foie des souris infestées et non traitées (TI) comparativement aux souris du groupe TS (**Figure 27I**). Après traitement au praziquantel, chez les souris du groupe PZQ3, une diminution significative du taux de MDA de 57,29% ($p < 0,05$) a été observée par comparaison au groupe TI. Chez les souris des groupes PZQ1, PZQ2 et PZQ4, le taux de MDA est resté similaire à celui des souris du groupe TI (**Figure 27I.A**). De plus, à cette même phase de l'infection, aucune variation significative des activités de la SOD et de la catalase ainsi que des concentrations de nitrites et du GSH n'a été relevée entre les différents groupes expérimentaux.

A la phase granulomateuse de l'infection (**Figure 27II**), la concentration hépatique de MDA dans le groupe TI était 16 fois supérieure à celle des souris du groupe TS ($p < 0,001$). Le taux de nitrites ainsi que les activités de la SOD et de la catalase étaient significativement réduits respectivement de 78,21% ($p < 0,001$), 50,48% ($p < 0,01$) et de 49,36% ($p < 0,01$) dans le groupe TI comparativement au groupe TS. Parmi les différentes posologies de praziquantel, seule celle de 18 mg/kg/jour pendant 28 jours (PZQ3) a significativement amélioré le statut oxydant hépatique. En effet, comparativement au groupe TI, une diminution de la concentration de MDA de 71,98% associée à une augmentation du taux de nitrites ainsi que des activités de la SOD et de la catalase respectivement de 236,01%, 72,69% et de 87,80% ont été enregistrées dans le groupe PZQ3.

Concernant la concentration de glutathion réduit (GSH), aucune différence significative n'a été observée entre les différents groupes expérimentaux aussi bien à la phase aiguë qu'à la phase granulomateuse de l'infection (**Figures 27I.E et 27II.E**).

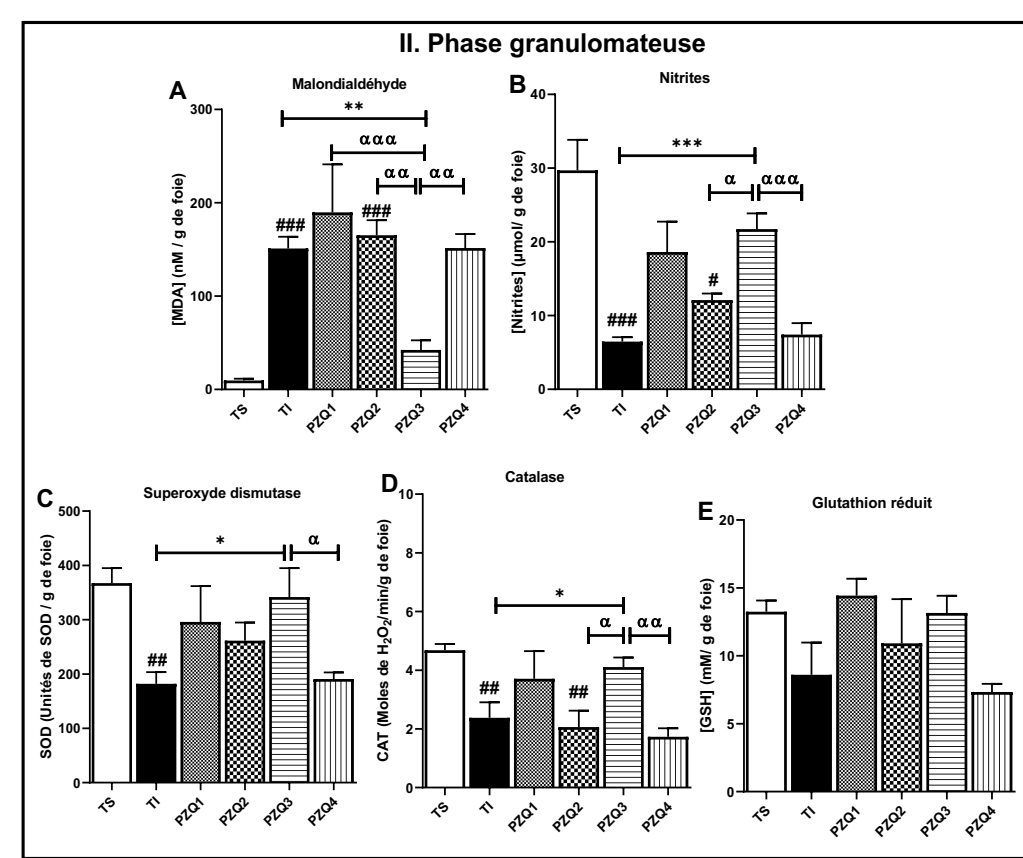
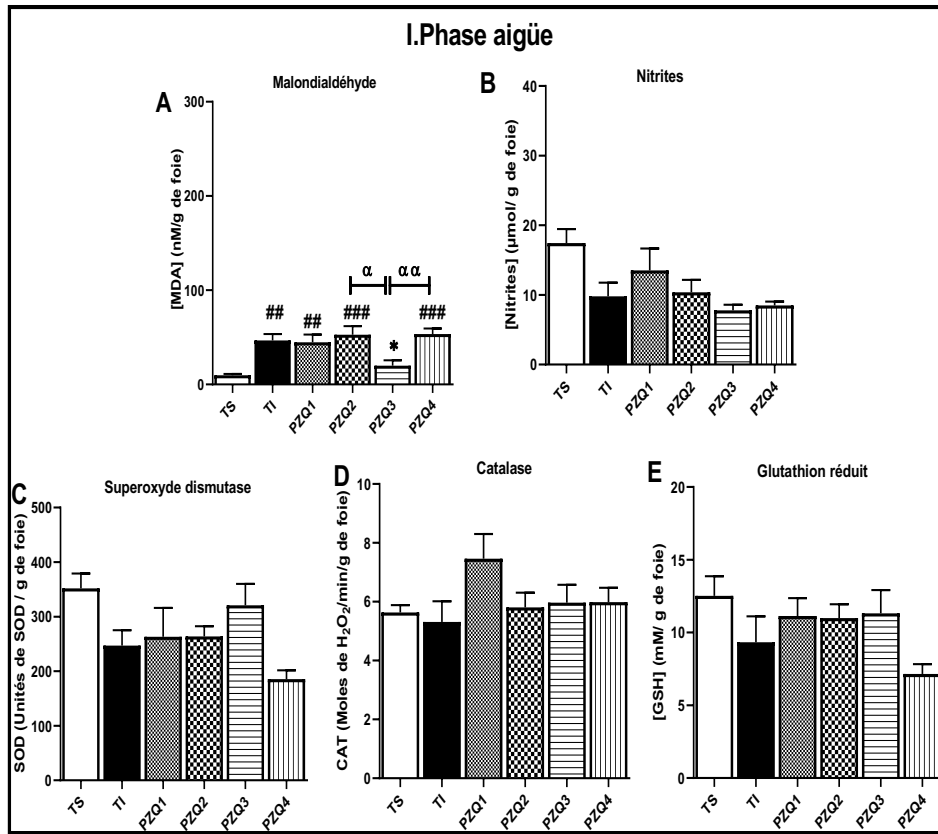


Figure 27 : Effets du traitement préventif au praziquantel sur le statut oxydant hépatique au cours des phases aiguë (I) et granulomateuse (II) de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris.

MDA : Malondialdéhyde ; SOD : superoxyde dismutase ; CAT : catalase ; GSH : glutathion réduit. (A): malondialdéhyde, (B): nitrites, (C): superoxyde dismutase, (D): catalase et (E): glutathion réduit.

TS : Souris non infectées ; TI : souris infectées et non traitées ; PZQ1: souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 5 jours consécutifs; PZQ2: souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ3: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ4: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose unique de 500 mg/kg. #p < 0,05, ###p < 0,01, ####p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infectées (TS). *p < 0,05, ***p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI). ^αp < 0,05, ^{αα}p < 0,01, ^{ααα}p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs (PZQ3).

III.1.7.2- Effets du traitement préventif au praziquantel sur le stress oxydant splénique induit par l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris

Au niveau de la rate, l'infection aiguë a induit une diminution significative ($p < 0,05$) du taux de nitrites comparativement au groupe TI (**Figure 28I**). Le traitement au praziquantel à la dose de 18 mg/kg/jr pendant 28 jours (PZQ3) a prévenu la baisse du taux de nitrites. En effet, dans ce groupe de souris, une augmentation significative ($p < 0,01$) a été enregistrée par comparaison au groupe TI.

A la phase granulomateuse (**Figure 28II**), l'infection à *S. mansoni* était associée à un taux de MDA 8 fois supérieur ($p < 0,001$) à celui des souris non-infestées (TS). La concentration de nitrites a été significativement réduite de 70,06% ($p < 0,001$). Les activités de la SOD et de la catalase ainsi que de la concentration de glutathion réduit étaient significativement réduites ($p < 0,001$) de 39,33%, 69,51% et de 77,34% respectivement dans le groupe TI par rapport au groupe TS. Le traitement des souris au praziquantel à la dose de 18 mg/kg/jr pendant 28 jours (PZQ3) a empêché la variation des paramètres du statut oxydant. Par comparaison au groupe TI, une réduction significative du taux de MDA de 47,67% ($p < 0,05$) de même qu'une augmentation de la concentration de nitrites de 127,92% ($p < 0,01$) ont été enregistrées. Cette posologie de praziquantel (PZQ3) a également prévenu la baisse des capacités antioxydantes induite par l'infection à *S. mansoni* au niveau splénique par augmentation significative des activités de la SOD ($p < 0,05$) et de la catalase ($p < 0,01$) ainsi que de la concentration de glutathion réduit ($p < 0,001$) comparativement au groupe TI (**Figures 28II.C, 28II.D et 28II.E**).

Pris dans leur ensemble, ces résultats sur les statuts oxydant hépatique et splénique démontrent que la posologie de praziquantel de 18 mg/kg/jr pendant 28 jours (PZQ3) s'est révélée meilleure parmi les différents régimes thérapeutiques (**Figures 28I et 28II**).

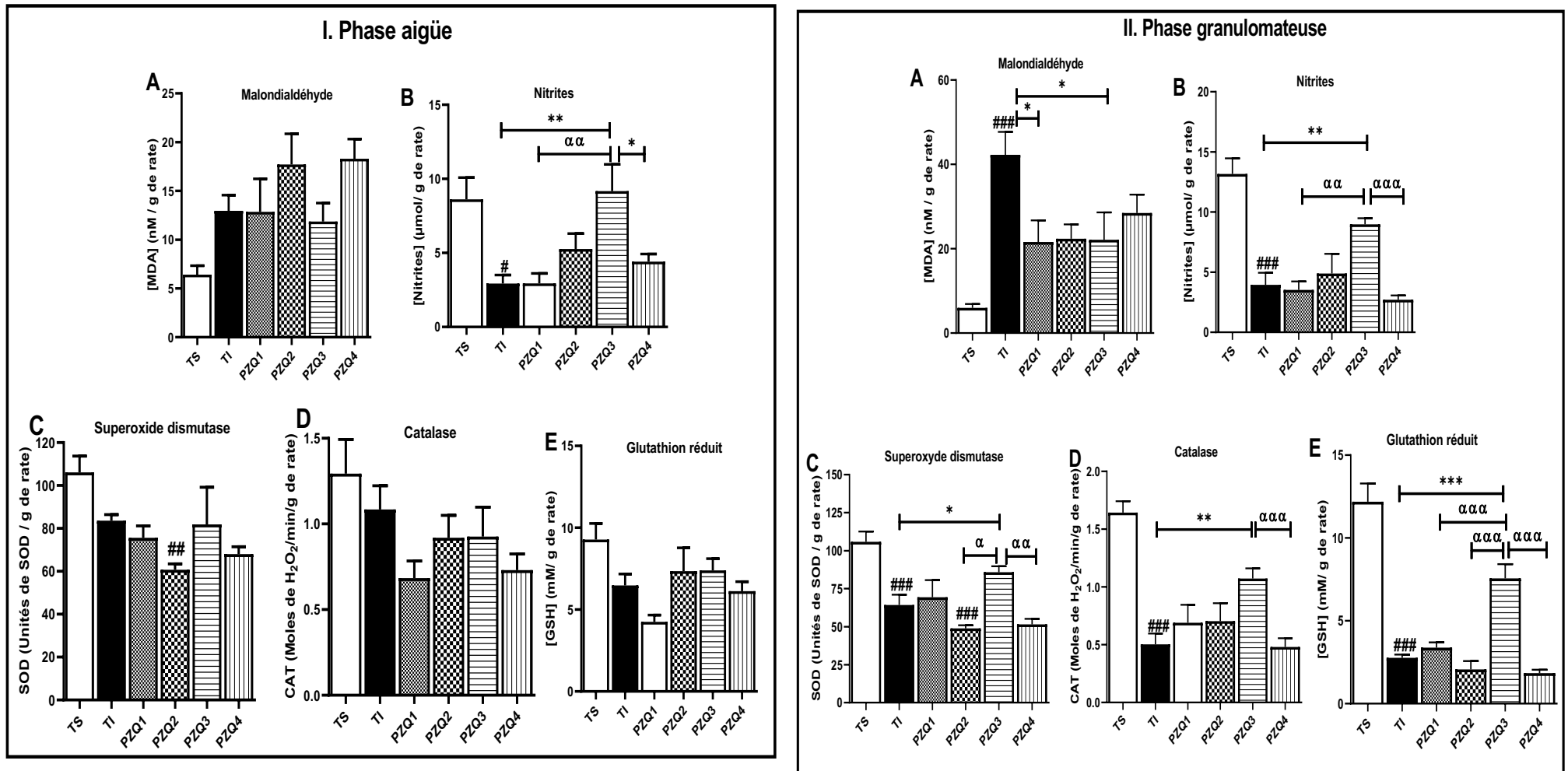


Figure 28 : Effets du traitement préventif au praziquantel sur le statut oxydant au niveau de la rate au cours des phases aiguë (I) et granulomateuse (II) de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris.

MDA : Malondialdéhyde ; SOD : superoxyde dismutase ; CAT : catalase ; GSH : glutathion réduit. (A): malondialdéhyde, (B): nitrites, (C): superoxyde dismutase, (D): catalase et (E): glutathion réduit.

TS : Souris non infectées ; TI : souris infectées et non traitées ; PZQ1 : souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 5 jours consécutifs ; PZQ2 : souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours consécutifs ; PZQ3 : Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs ; PZQ4 : Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose unique de 500 mg/kg. #p < 0,05, ##p < 0,01, ###p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infectées (TS). *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI). αp < 0,05, ααp < 0,01, αααp < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs (PZQ3).

III.1.8- Effets du traitement préventif au praziquantel sur l'histologie et l'histomorphométrie du foie et de l'intestin des souris infectées par *Schistosoma mansoni*

Les potentiels anti-inflammatoire et antifibrotique des différentes posologies de praziquantel sur les souris infectées à *S. mansoni* ont été évalués à travers les analyses qualitative et histomorphométrique du foie et de l'intestin des souris au cours de la phase granulomateuse de l'infection.

III.1.8.1- Histologie qualitative du foie

L'examen histologique des sections de foie des souris non infectées (TI) a révélé une structure normale. La coloration à l'hématoxyline et éosine (H&E) a permis de mettre en évidence un parenchyme hépatique normal. Au niveau du foie, chaque lobule est composé de travées d'hépatocytes irriguées par un réseau de capillaires sinusoides qui confluent dans la veine centro-lobulaire. Après observation des coupes de foie des souris du même groupe colorées au picrosirius, il a été mis en évidence la présence normale de collagène au niveau de l'endothélium de la veine centro-lobulaire (**Figures 20 et 30**).

Chez les animaux infectés et non traités (TI) et ceux des groupes PZQ1 et PZQ4, nous avons observé une désorganisation de l'architecture du tissu hépatique caractérisée par la présence de nombreux et volumineux granulomes inflammatoires associés à une importante infiltration leucocytaire répartie sur le parenchyme hépatique. Après coloration au picrosirius, ces granulomes étaient constitués de nombreux foyers fibrotiques caractérisés par un dépôt accru de collagène autour de l'œuf du parasite (**Figures 29 et 30**). La structure du foie des souris des groupes PZQ2 et PZQ3 était proche de celle des souris non infestées et les granulomes inflammatoires observés étaient très peu nombreux et de petite taille (**Figure 29**). La fibrose hépatique était quasiment absente sur le parenchyme hépatique des souris du groupe PZQ3 (**Figure 30**).

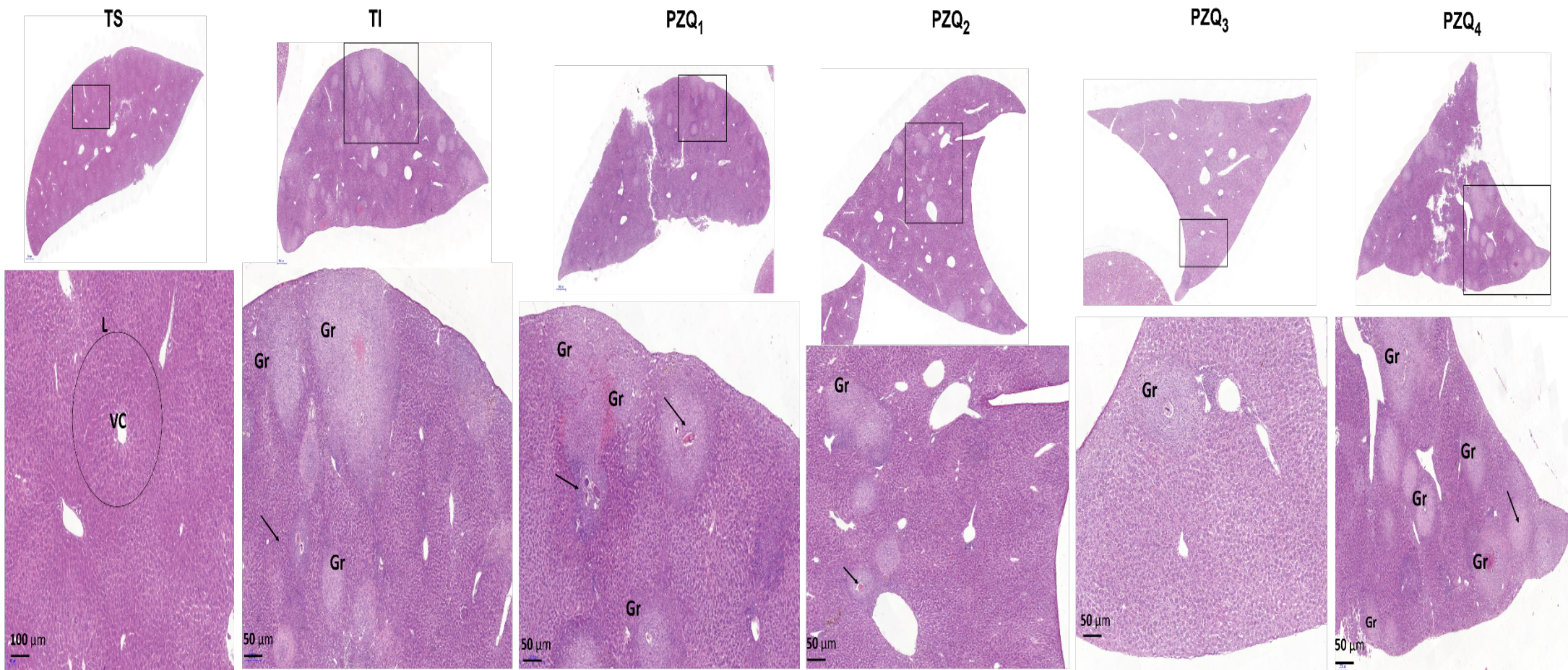


Figure 29 : Effets du traitement préventif au praziquantel sur des coupes de foie colorées à l'hématoxyline-éosine.

Gr : granulomes bilharziens ; \blacktriangleright : granulome bilharzien comportant un œuf de *S. mansoni* ; L : lobule hépatique ; VC : veine centro-lobulaire.

TS : Souris non infectées ; TI : souris infectées et non traitées ; PZQ1 : souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 5 jours consécutifs ; PZQ2 : souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours consécutifs ; PZQ3 : Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs ; PZQ4: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose unique de 500 mg/kg.

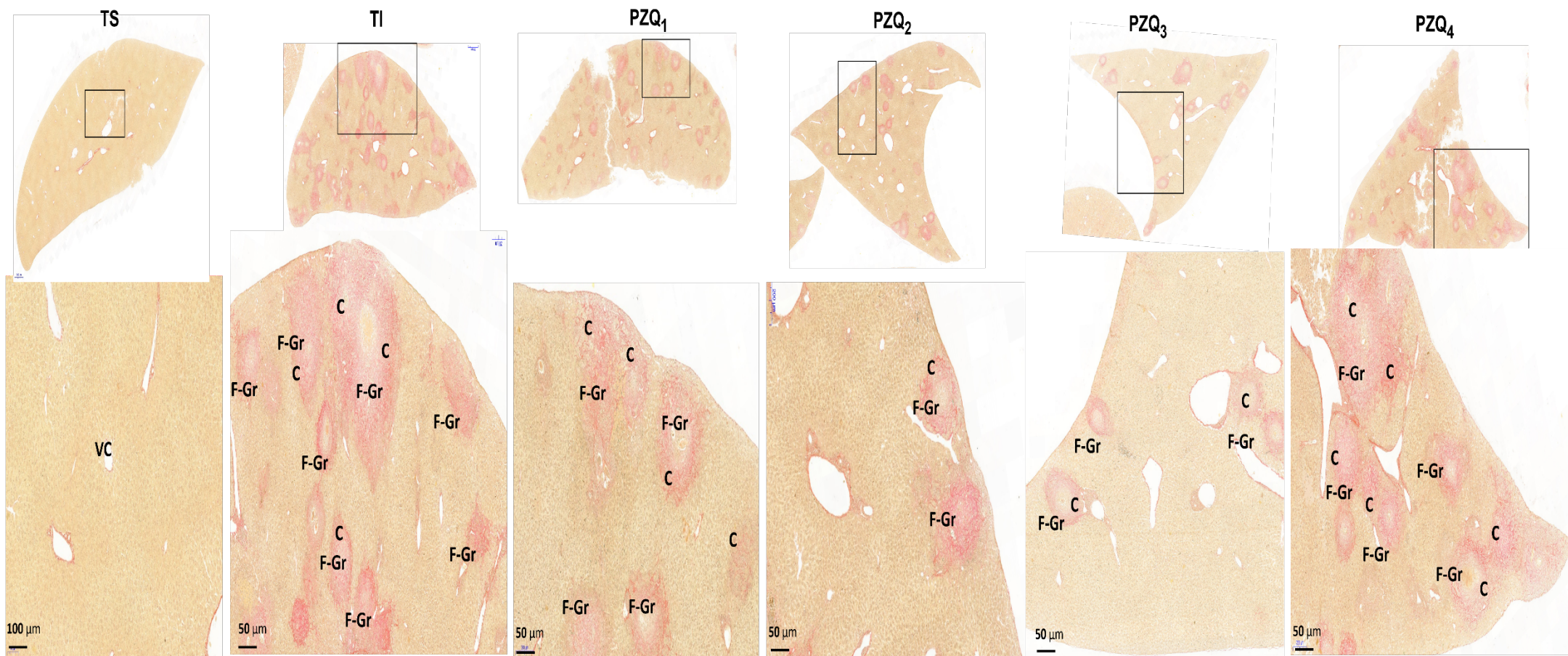


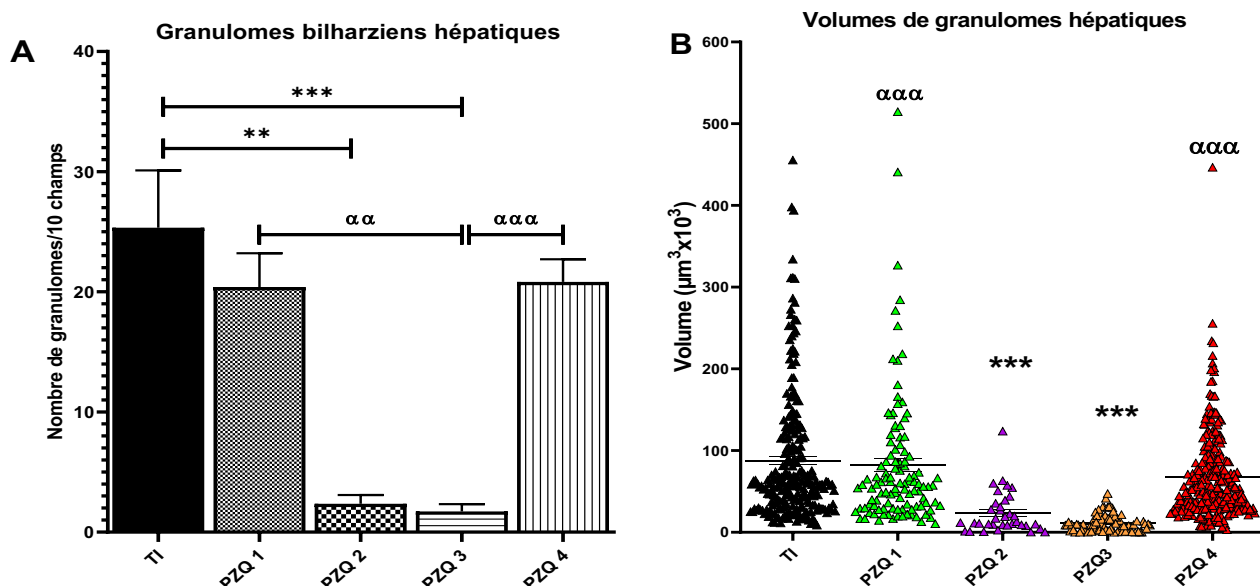
Figure 30 : Effets du traitement préventif au praziquantel sur des coupes de foie colorées au picosirius.

F-Gr : granulome fibrotique ; VC : veine centro-lobulaire ; C : collagène (coloration rouge).

TS : Souris non infectées ; TI : souris infectées et non traitées ; PZQ1 : souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 5 jours consécutifs ; PZQ2 : souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours consécutifs ; PZQ3 : Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs ; PZQ4: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose unique de 500 mg/kg.

III.1.8.2- Nombre et volumes des granulomes hépatiques

L'analyse histomorphométrique révèle que le nombre et le volume moyens de granulomes inflammatoires au niveau du foie des souris infestées et non traitées (TI) étaient de $25,34 \pm 4,77$ granulomes/10 champs microscopiques et de $87,38 \pm 5,05 \mu\text{m}^3 \times 10^3$, respectivement (**Figures 31A et 31B**). La posologie de praziquantel administrée dans le groupe PZQ3 a significativement réduit ($p < 0,001$) le nombre de granulome hépatique de 93,21% ($1,72 \pm 0,60$ vs $25,34 \pm 4,77$ granulomes/10 champs microscopiques) tandis que le pourcentage de réduction du volume de granulomes hépatiques était de 87,10% ($11,27 \pm 1,22$ vs $87,38 \pm 5,05 \mu\text{m}^3 \times 10^3$). Par comparaison au groupe TI, le régime thérapeutique du groupe PZQ2 a également réussi à réduire significativement ($p < 0,001$) le nombre et le volume de granulomes hépatiques respectivement de 90,68% et de 72,68%. Les données histomorphométriques au niveau du foie des souris des groupes PZQ2 et PZQ4 étaient similaires à celles des souris du groupe TI (**Figures 31A et 31B**).



TI : souris infectées et non traitées ; PZQ1: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 5 jours consécutifs; PZQ2: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ3: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ4: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose unique de 500 mg/kg. Les données sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM ($n = 6$ ou 8). L'analyse statistique a été effectuée à l'aide du test de l'analyse des variances (ANOVA) suivi du post-test de comparaison multiple de Tukey. $**p < 0,01$, $***p < 0,001$: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI). $\alpha\alpha p < 0,01$, $\alpha\alpha\alpha p < 0,001$: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs (PZQ3).

Figure 31 : Effets du traitement préventif au praziquantel sur le nombre (A) et le volume (B) de granulomes au niveau du foie des souris infestées par *Schistosoma mansoni*.

III.1.8.3- Histologie qualitative de l'intestin

Les coupes d'iléon des souris non infestées (TS) puis colorées par le H&E présentent un agencement normal, continu et bien délimité des différentes couches de la paroi intestinale uniformément disposées de façon concentrique autour de la lumière. L'observation des coupes d'intestin des souris du même groupe colorées au picosirius, montre la présence de collagène au niveau de la sous muqueuse de la paroi intestinale (**Figures 32 et 33**).

Après huit semaines d'infection à *S. mansoni*, il a été observé une désorganisation structurale de la paroi intestinale marquée par la présence de volumineux granulomes inflammatoires au niveau de la muqueuse et de la sous-muqueuse de l'iléon des souris du groupe TI (**Figure 32**). Ces granulomes inflammatoires étaient entourés par une couche de fibres de collagène associée à la périphérie par des cellules inflammatoires (**Figure 33**). Concernant de la paroi iléale, par comparaison à celle des souris non infestées (TS), nous avons noté un épaississement de la musculature chez toutes les souris infestées et non traitées (TI). De même, chez les souris infestées puis traitées au praziquantel, les sections d'iléon dans les groupes PZQ1 et PZQ4 étaient similaires à celles des souris du groupe TI. A l'inverse, bien que quelques œufs du parasite y aient été observés, les sections l'iléon des souris des groupes PZQ2 et PZQ3 ne présentaient pas de granulomes inflammatoires. Les cellules inflammatoires et la fibrose tissulaire étaient presque absentes (**Figures 32 et 33**).

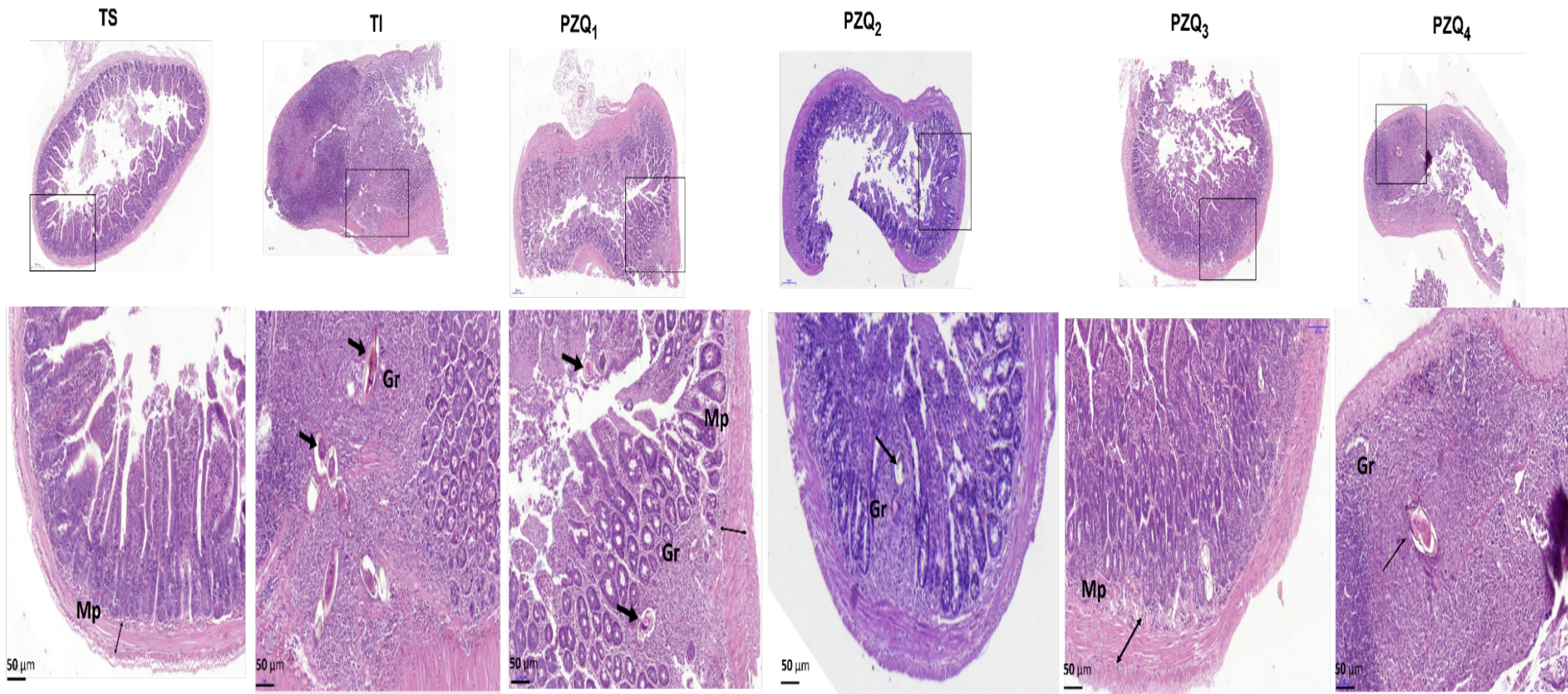


Figure 32 : Effets du traitement préventif au praziquantel sur des coupes d'iléon colorées à l'hématoxyline-éosine.

Gr : Granulomes bilharziens ; Mp : muscularis propria ; la flèche indique l'œuf de *Schistosoma mansoni*.

TS : souris non infectées ; TI: souris infectées et non traitées ; PZQ1: souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 5 jours consécutifs; PZQ2: souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ3: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ4: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose unique de 500 mg/kg.

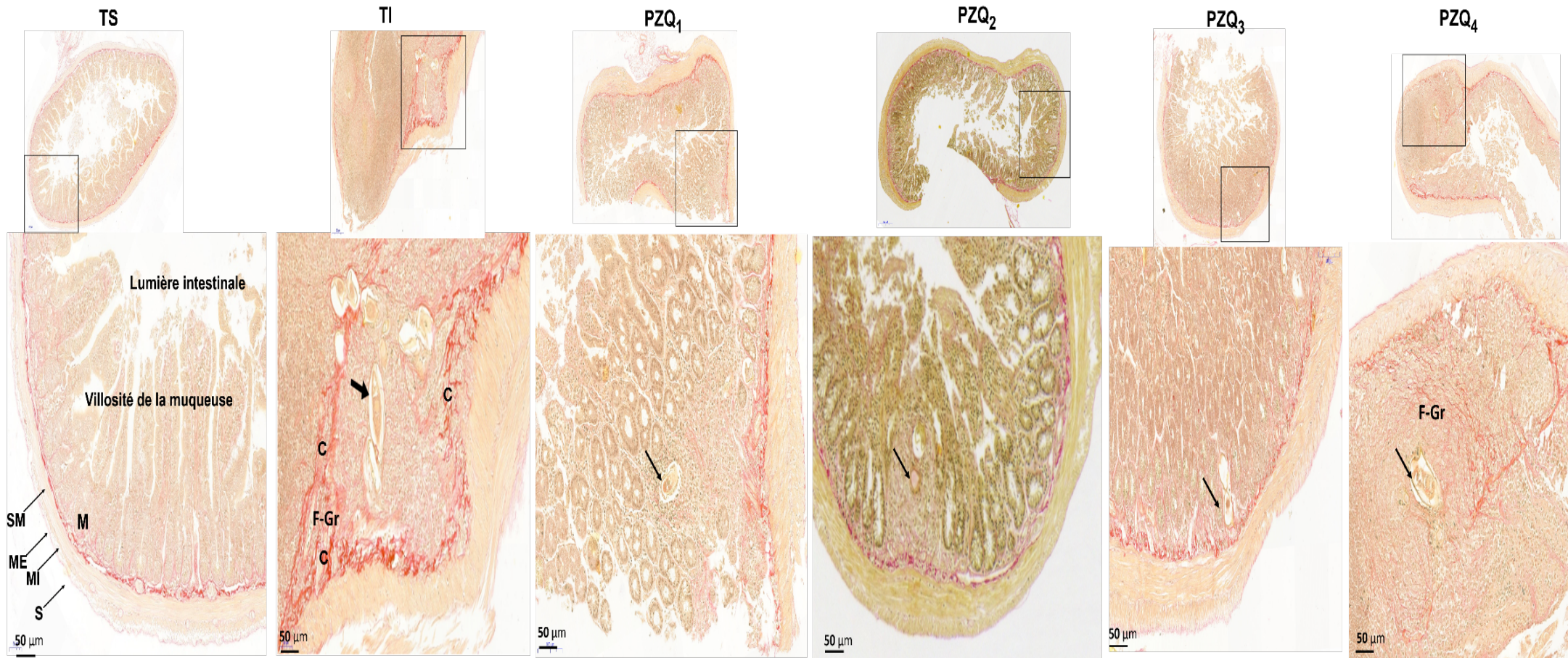


Figure 33 : Effets du traitement préventif au praziquantel sur des coupes d'iléon colorées au picosirius.

F-Gr : Granulome fibrotique ; Mp : muscularis propria ; la flèche indique l'œuf de *Schistosoma mansoni* ; M : muqueuse ; SM : Sous-muqueuse ; ME : musculature externe ; MI : musculature interne ; S : séreuse.

TS : souris non infectées ; TI: souris infectées et non traitées ; PZQ1: souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 5 jours consécutifs; PZQ2: souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ3: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ4: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose unique de 500 mg/kg.

III.1.8.4- Histomorphométrie de la paroi intestinale

Les mesures effectuées sur les sections d'intestin après huit semaines d'infection montrent que le nombre et le volume moyens de granulomes intestinaux chez les souris infestées et non traitées (TI) étaient de $21,18 \pm 3,09$ granulomes/10 champs microscopiques et $10,28 \pm 1,96 \mu\text{m}^3 \times 10^3$ respectivement (**Figures 34A et 34B**). L'administration du praziquantel aux souris du groupe PZQ3 a significativement réduit le nombre de granulomes de 54,25% ($9,69 \pm 2,09$ vs $25,34 \pm 4,77$ granulomes/10 champs microscopiques) ainsi que leur volume moyen de 89,59% ($1,07 \pm 0,16$ vs $10,28 \pm 1,96 \mu\text{m}^3 \times 10^3$). De même le régime thérapeutique administré dans le groupe PZQ2 a également été efficace, ceci s'est traduit par une réduction significative ($p < 0,001$) du nombre et du volume moyens de granulomes iléaux de 80,35% et 81,59% respectivement par comparaison à ceux des souris du groupe TI (**Figures 34A et 34B**). A l'inverse, le nombre de granulome iléaux dans les groupes PZQ1 et PZQ4 était proche de celui du groupe TI (**Figure 34A**). Par ailleurs, le régime thérapeutique administré aux souris du groupe PZQ1 a réduit le volume de granulomes iléaux de 75,59% ($p < 0,05$) tandis qu'aucune différence n'a été observée entre le groupe PZQ4 et le groupe TI (**Figure 34B**). Après mesure de l'épaisseur de la musculature, il ressort que par comparaison au souris non infestées (TS), la musculature iléale était significativement plus épaisse ($p < 0,001$) aussi bien dans le groupe de souris infestées et non traitées (TI) que chez les souris ayant reçu les différentes posologies de praziquantel. Néanmoins, les posologies de praziquantel administrées dans les groupes PZQ1, PZQ2 et PZQ3 ont significativement réduit l'épaisseur de la musculature de 13,85% ($p < 0,05$), 35,98% ($p < 0,001$) et 61,86% ($p < 0,001$) respectivement par comparaison à celui des souris du groupe TI (**Figure 34C**).

Les analyses histopathologiques et histomorphométriques du foie et de l'iléon des souris pour la phase aiguë n'ont pas été effectuées car au cours de cette phase, aucun granulome n'a été observé.

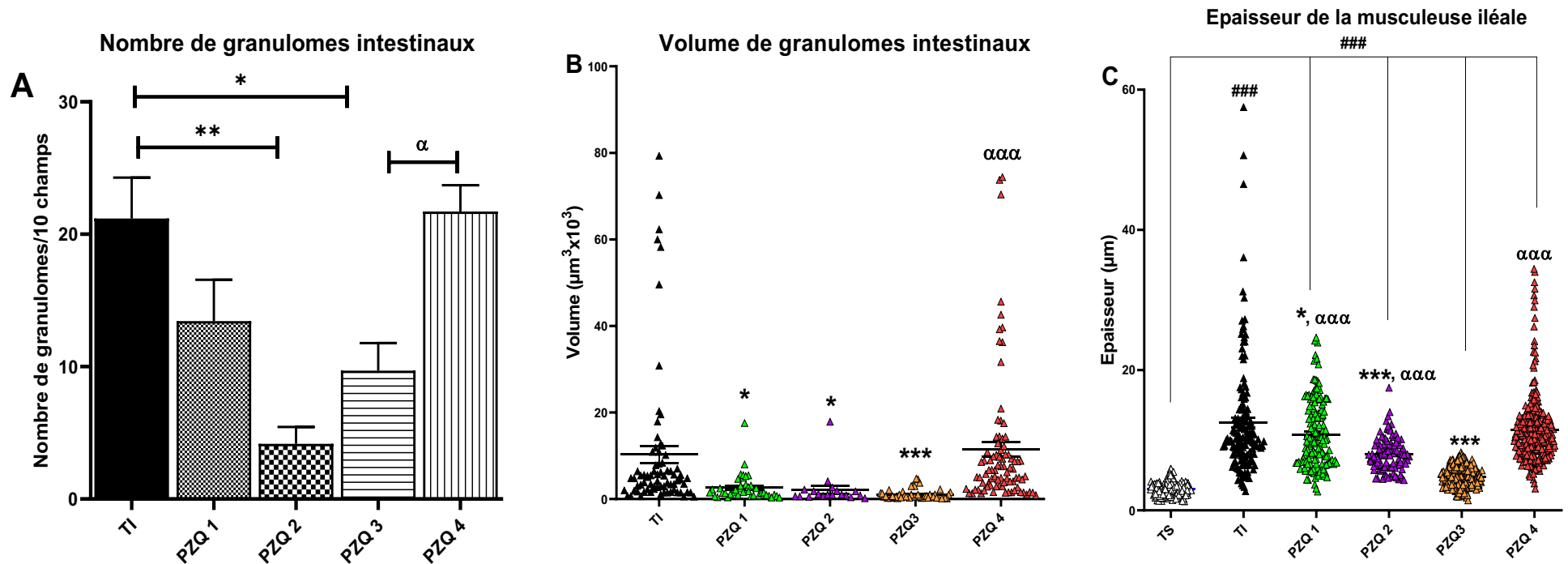


Figure 34 : Effets du traitement préventif au praziquantel sur le nombre (A) et le volume (B) des granulomes intestinaux ainsi que l'épaisseur de la musculature au niveau de l'iléon des souris infestées à *Schistosoma mansoni*.

TS : souris non infectées ; TI: souris infectées et non traitées ; PZQ1: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 5 jours consécutifs; PZQ2: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ3: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ4: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose unique de 500 mg/kg. ###p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infectées (TS). *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI). α p < 0,05, $\alpha\alpha\alpha$ p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs (PZQ3).

III.1.9- Effets du traitement préventif au praziquantel sur la réponse immunitaire au cours des phases de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris

Afin d'évaluer les effets du traitement préventif au praziquantel sur la réponse immunitaire au cours des phases aiguë et granulomateuse de l'infection à *S. mansoni* chez la souris, les taux sériques ainsi que l'expression hépatique des gènes de quelques cytokines et chimiokines de type Th-1, Th-2 et Th-17 ont été mesurés.

III.1.9.1- Effets du traitement préventif au praziquantel sur la réponse immunitaire au cours de la phase aiguë de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris

III.1.9.1.1- Concentrations sériques de quelques cytokines au cours de la phase aiguë de l'infection

À la phase aiguë de l'infection (5 semaines *p.i.*), les taux sériques d'IFN- γ ($p < 0,05$), TNF- α ($p < 0,01$), IL-5 ($p < 0,05$) et d'IL-17 ($p < 0,05$) étaient significativement élevés tandis que celui du TGF- β était réduit ($p < 0,05$) chez les souris infestées et non traitées (TI) comparativement aux souris non infestées (TS). Le taux sérique d'IL-4 a augmenté d'environ 2 fois dans le groupe TI par rapport au groupe TS, bien que cette augmentation ne soit pas statistiquement significative. À ce stade de l'infection, parmi les groupes de souris traitées au praziquantel, une réduction significative ($p < 0,05$) des taux d'IFN- γ et de TNF- α a été observée dans les groupes PZQ2 et PZQ3 par comparaison à ceux du groupe TI. Quant au taux d'IL-17, il était considérablement réduit chez les souris des groupes PZQ1 (90,15%), PZQ2 (85,95%) et PZQ3 (90,74%) par rapport à celui des souris du groupe TI, bien que cette réduction ne fût pas statistiquement significative. La mesure des taux de MCP-1 et de l'IL-2 n'a révélé aucune différence entre les différents groupes expérimentaux. L'IL-13 n'a pas été détectée dans le sérum des animaux des différents groupes à cette phase de l'infection (**Figure 35**).

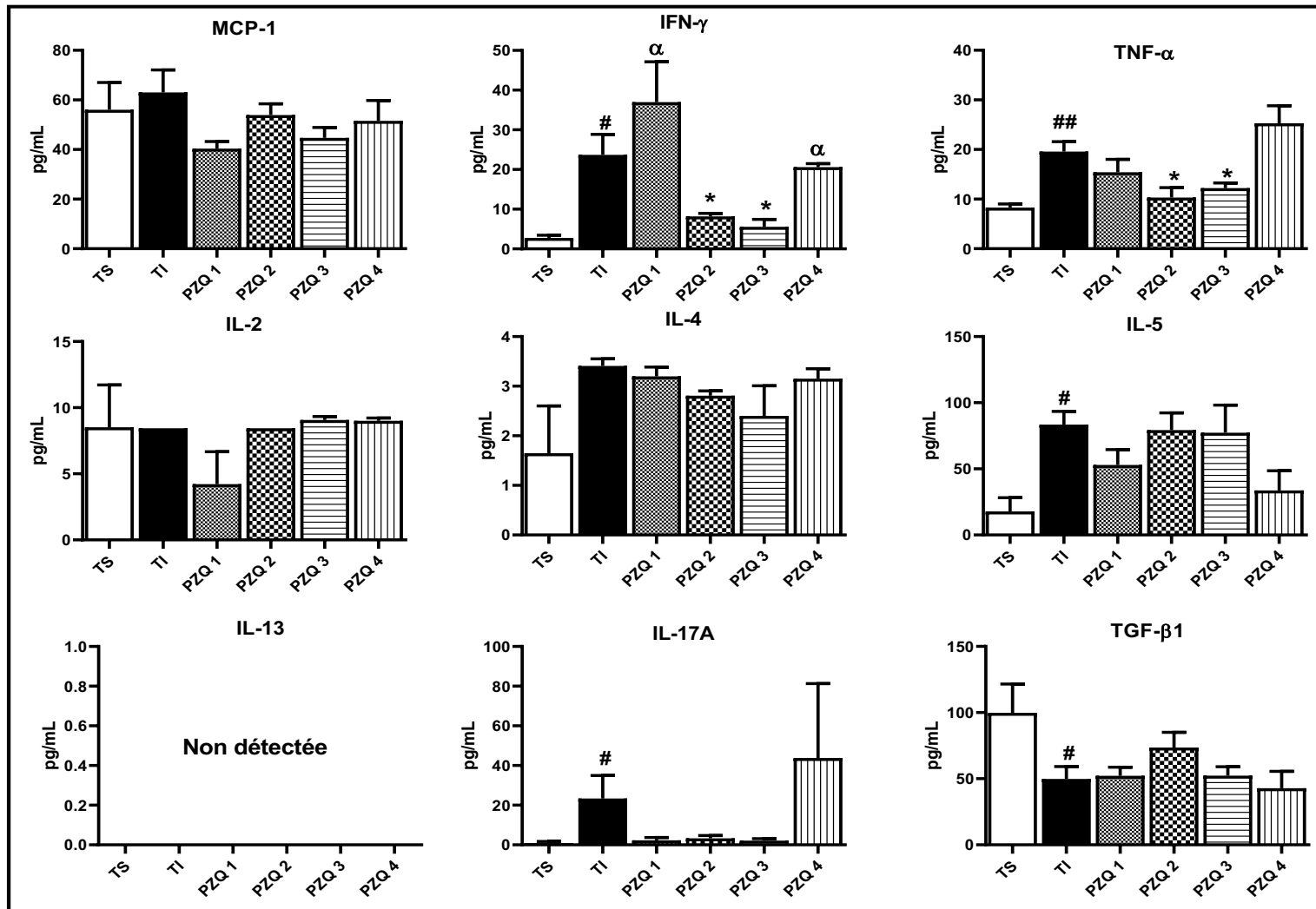


Figure 35 : Effets du traitement préventif au praziquantel sur les taux sériques des cytokines et d'une chimiokine au cours de la phase aiguë de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris.

TS : souris non infectées ; TI: souris infectées et non traitées ; PZQ1: souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 5 jours consécutifs; PZQ2: souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ3: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ4: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose unique de 500 mg/kg. #p < 0,05: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infectées (TS). *p < 0,05: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI).

III.1.9.1.2- Expression des gènes de quelques cytokines et chimiokines au niveau du foie lors de la phase aiguë de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris

Après 5 semaines d'infection à *S. mansoni*, seule l'expression du gène de MIP-1 α a révélé des différences significatives entre les groupes expérimentaux. L'infection a entraîné une augmentation significative ($p < 0,05$) de l'expression des gènes du MIP-1 α . Une valeur environ 9 fois supérieure de l'expression des gènes de l'IFN- γ a été notée dans le groupe TI comparativement au groupe TS. L'administration du praziquantel à la dose de 18 mg/kg/jr pendant 28 jours (PZQ3) a entraîné une réduction significative de 72,40% ($p < 0,05$) de l'expression des gènes du MIP-1 α comparativement au groupe TI. Les gènes de l'IFN- γ étaient sous-exprimés chez les souris du groupe PZQ3 (**Figure 36**).

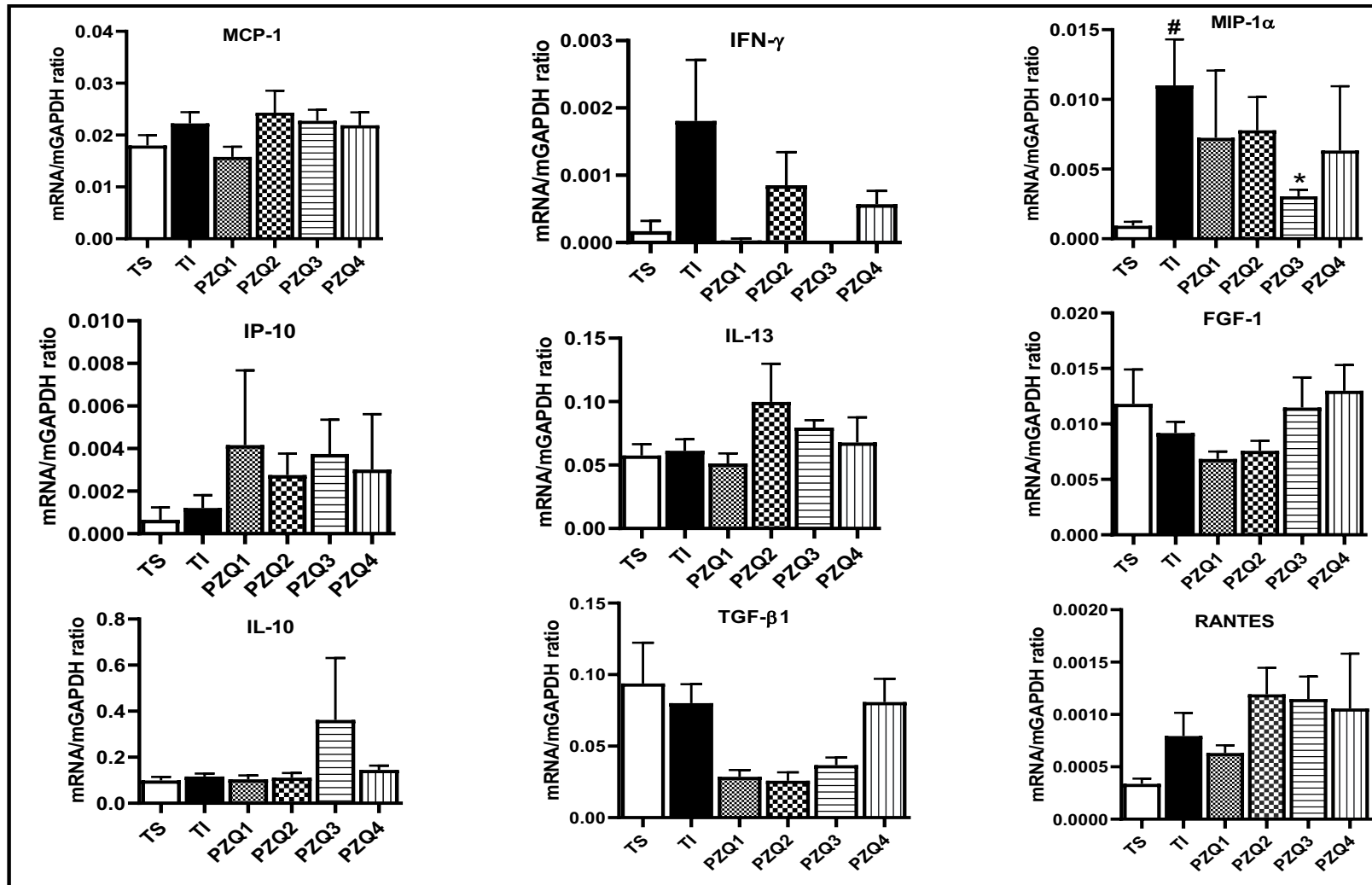


Figure 36 : Effets du traitement préventif au praziquantel sur l'expression des gènes des cytokines et chimiokines au cours de la phase aiguë de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris.

TS : souris non infectées ; TI : souris infectées et non traitées ; PZQ1: souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 5 jours consécutifs; PZQ2: souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ3: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ4: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose unique de 500 mg/kg. #p < 0,05: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infectées (TS). *p < 0,05: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI).

III.1.9.2- Effets du traitement préventif au praziquantel sur la réponse immunitaire au cours de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris

III.1.9.2.1- Concentrations sériques des cytokines et d'une chimiokine au cours de la phase granulomateuse de l'infection

La phase granulomateuse de l'infection à *S. mansoni* (8 semaines *p.i*) a été caractérisée par une augmentation significative des concentrations sériques de MCP-1, IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-5, IL-13 et d'IL-17 chez les souris infestées et non traitées (TI) par comparaison à celles des souris non infestées (TS). Chez ces souris du groupe TI, le taux sérique de TGF- β était significativement réduit ($p < 0,01$) comparé à celui des souris du groupe TS. Chez les souris ayant reçu les différentes posologies de praziquantel, celle de 18 mg/kg/jr pendant 28 jours (PZQ3) a prévenu toutes les variations des concentrations sériques des cytokines liées à l'infection. Comparativement aux souris du groupe TI, l'administration de cette posologie a entraîné une réduction significative des concentrations sériques de MCP-1 (51,16%, $p < 0,01$), IFN- γ (76,94%, $p < 0,05$), TNF- α (66,69%, $p < 0,05$), IL-4 (79,14%, $p < 0,01$), IL-5 (98,77%, $p < 0,01$), IL-13 (90,48%, $p < 0,01$) et de l'IL-17 (86,82%, $p < 0,05$). Chez les souris de ce même groupe (PZQ3), une concentration de TGF- β significativement élevée ($p < 0,01$) de 139,26% a été enregistrée dans le sérum comparativement au groupe TI. Pour les autres groupes ayant reçu le praziquantel, des améliorations des concentrations d'IL-17 et de TGF- β ont été notées dans les groupes PZQ1 et PZQ4 tandis que la concentration sérique d'IL-13 a été significativement réduite ($p < 0,05$) dans le groupe PZQ1 par comparaison à celle du groupe TI. En ce qui concerne les souris du groupe PZQ2, à l'exception du taux sérique d'IL-5, aucune différence statistiquement significative n'a été notée par comparaison aux souris du groupe TI (**Figure 37**).

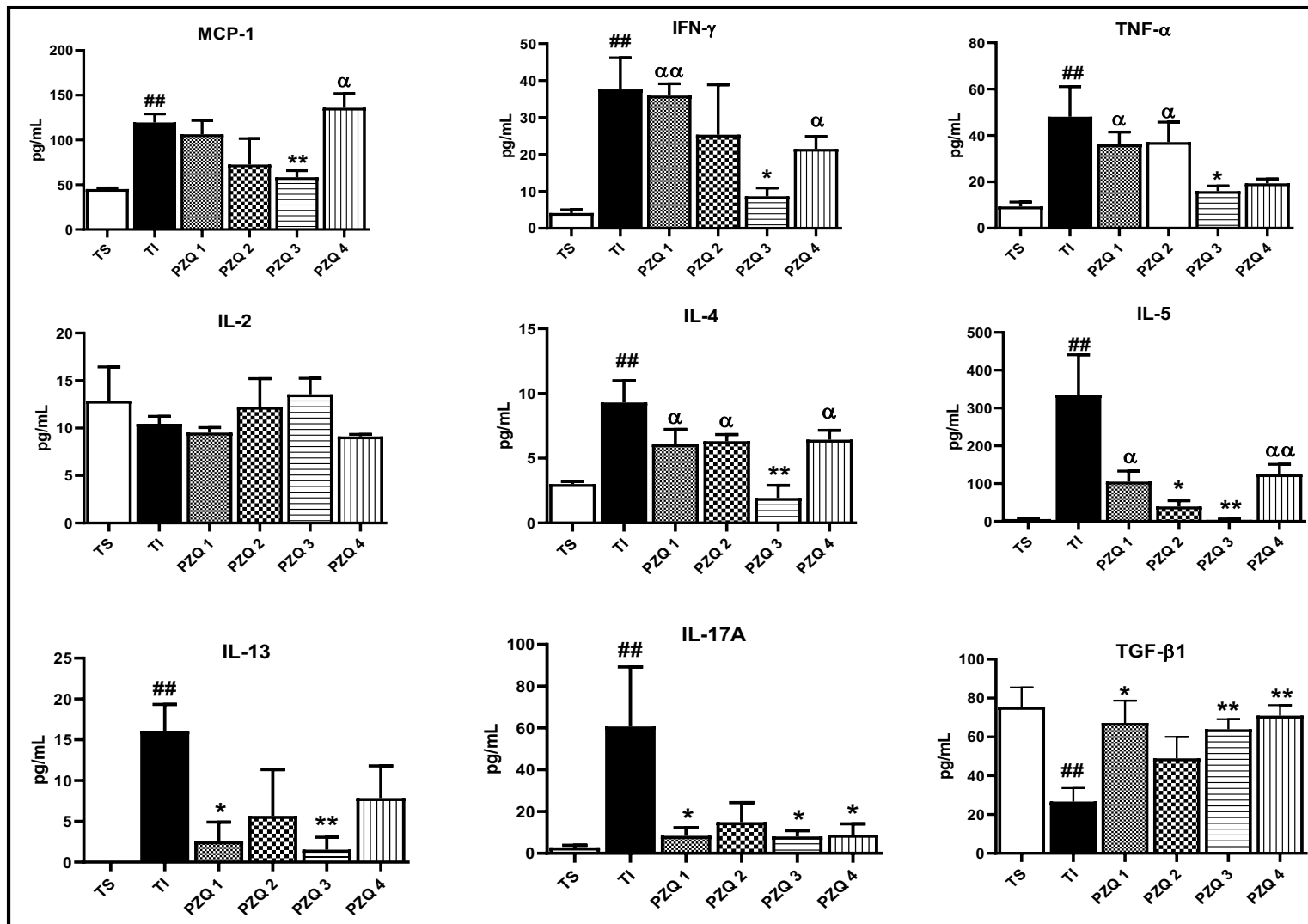


Figure 37 : Effets du traitement préventif au praziquantel sur les taux sériques des cytokines et d'une chimiokine au cours de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris.

TS : souris non infectées ; TI : souris infectées et non traitées ; PZQ1: souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 5 jours consécutifs; PZQ2: souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ3: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ4: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose unique de 500 mg/kg. ##p < 0,01: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infectées (TS). *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI). αp < 0,05, ααp < 0,01, αααp < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs (PZQ3).

III.1.9.2.2- Expression des gènes de quelques cytokines et chimiokines au niveau du foie lors de la phase granulomateuse de l'infection

Dans sa phase granulomateuse (8 semaines *p.i.*), l'infection à *S. mansoni* a induit une augmentation significative de l'expression des gènes de l'IFN- γ ($p < 0,05$), du MIP-1 α ($p < 0,01$) et du MCP-1 ($p < 0,01$) au niveau des foyers inflammatoires granulomateux du foie des souris infestées et non traitées (TI) par comparaison aux souris non infestées (TS). Une augmentation de 99,56% de l'expression des gènes de IP-10 a été notée dans le groupe TS, bien que statistiquement non significative par rapport au groupe TS. Par comparaison aux souris non infestées (TS), les gènes de l'IL-13 et du FGF-1 étaient significativement surexprimés tandis ceux de l'IL-10, du TGF- β 1 et du RANTES étaient sous-exprimés dans le foie des souris infestées et non traitées (TI). Précisément, les gènes de l'IL-13 et du FGF-1 étaient environ 10 et 7 fois significativement élevés ($p < 0,01$) respectivement dans le foie des souris infestées et non traitées (TI), comparativement à ceux des souris du groupe TI. Après administration du praziquantel, l'expression des gènes de l'INF- γ , de l'IP-10, du MIP-1 α ainsi que celle de l'IL-13 et du FGF-1 chez les souris des groupes PZQ2, PZQ3 et PZQ4, a été maintenue proche de celle des souris saines (TS). Les gènes des médiateurs immunorégulateurs étaient plus exprimés chez les souris du groupe PZQ3 comparativement à ceux des souris du groupe TI. Cela s'est traduit par des augmentations environ 22, 11 et 13 fois supérieures de l'expression respective des gènes de l'IL-10 ($p < 0,01$), du TGF- β 1 ($p < 0,001$) et du RANTES ($p < 0,05$) dans le foie des souris du groupe PZQ3 par rapport au groupe TI (**Figure 38**).

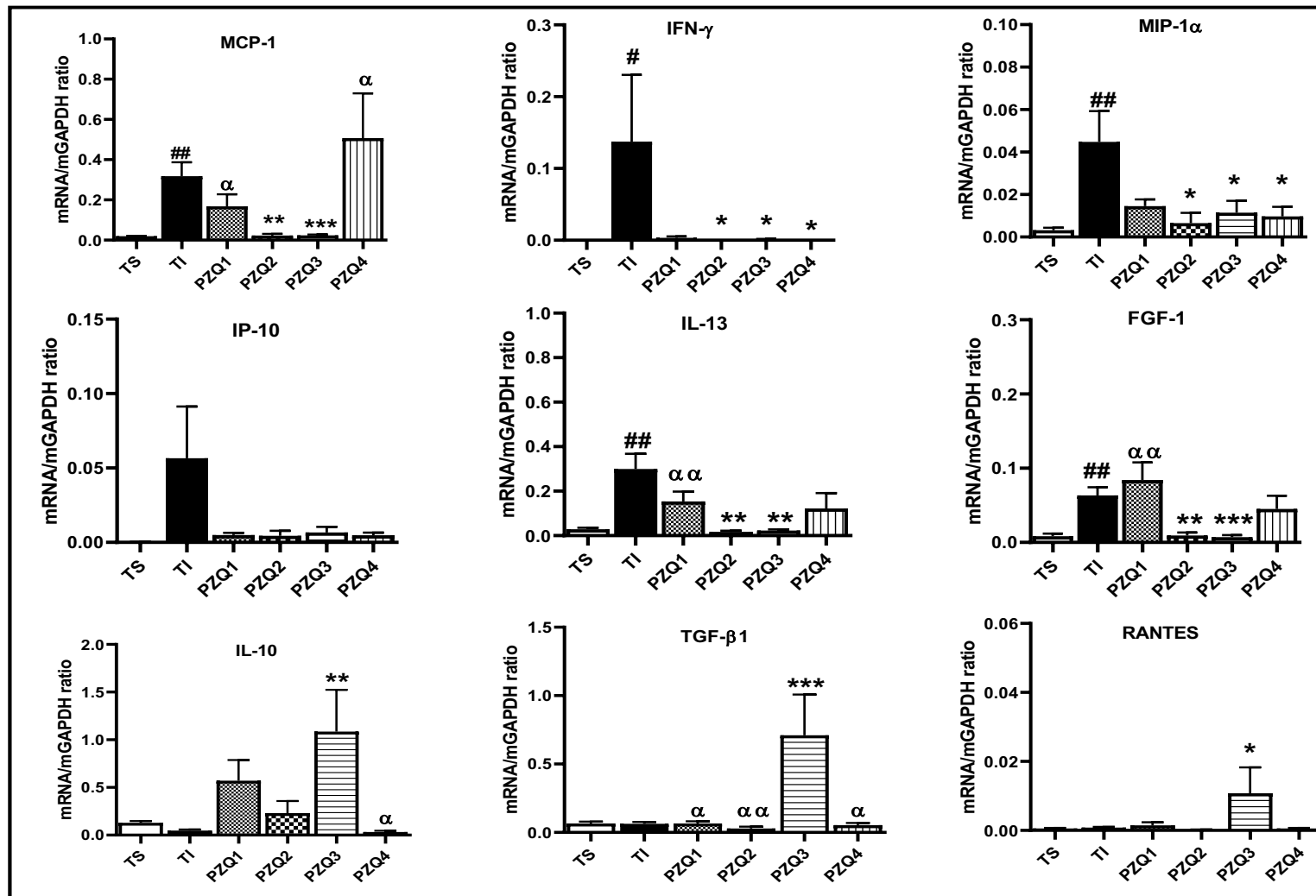


Figure 38 : Effets du traitement préventif au praziquantel sur l'expression des gènes des cytokines et chimiokines au cours de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris.

TS : souris non infectées ; TI : souris infectées et non traitées ; PZQ1: souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 5 jours consécutifs; PZQ2: souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ3: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs; PZQ4: Souris infectées et traitées au praziquantel à la dose unique de 500 mg/kg. #p < 0,05, ##p < 0,01: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infectées (TS). *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI). αp < 0,05, ααp < 0,01: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs (PZQ3).

III.1.10- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* au cours des différentes phases de l'infection à *Schistosoma mansoni*

III.1.10.1- Effets *in vitro* de l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur les cercaires de *Schistosoma mansoni*

L'activité anticercarienne *in vitro* de l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* (EASp) a été démontrée sur des cercaires de *S. mansoni* et le profil anticercarien est présenté sur la **figure 39**. Il ressort de cette expérimentation que dans les puits témoins, les cercaires présentaient une viabilité normale. La mortalité des cercaires de *S. mansoni*, incubées avec différentes concentrations de EASp, a suivi une évolution temps et concentration dépendantes (**Figure 39A**). Après seulement 30 min d'incubation des cercaires de *S. mansoni* dans les puits renfermant la concentration de 1000 µg/mL de EASp, la viabilité cercarienne était réduite de 28,51% ($p < 0,05$) par rapport au contrôle. A 60 min, la mortalité cercarienne était significativement élevée dans les puits contenant les concentrations de 250 µg/mL (27,33%), 500 µg/mL (31,28%) et 1000 µg/mL (46,51%). Des observations similaires ont été faites après 90 min et 120 min d'incubation. Après 150 min d'incubation, des taux de mortalité allant de 29,03% à 100% pour les concentrations de EASp comprises entre 62,5 µg/mL et 1000 µg/mL ont été enregistrés. A partir de 120 min d'incubation, la viabilité cercarienne de EASp à 1000 µg/mL était similaire à celle du Niclosamide-olamide 5%. Aucune différence statistiquement significative n'a été observée entre les puits contrôle et ceux contenant EASp à 31,25 µg/mL, bien que quelques cercaires non viables aient été observées dans ces derniers puits (**Figures 39A et 39B**).

Les concentrations léthales 50 (CL₅₀) de EASp ont été déterminées à chaque période d'incubation et sont présentées dans le **tableau XVII**. Ainsi, les CL₅₀ de EASp étaient respectivement de 574,99 ± 95,51 µg/mL, 436,60 ± 101,77 µg/mL et 296,11 ± 101,53 µg/mL après 90 min, 120 min et 150 min d'incubation tandis que celle du niclosamide-olamide 5% était inférieure à 1 µg/mL à chaque point de lecture.

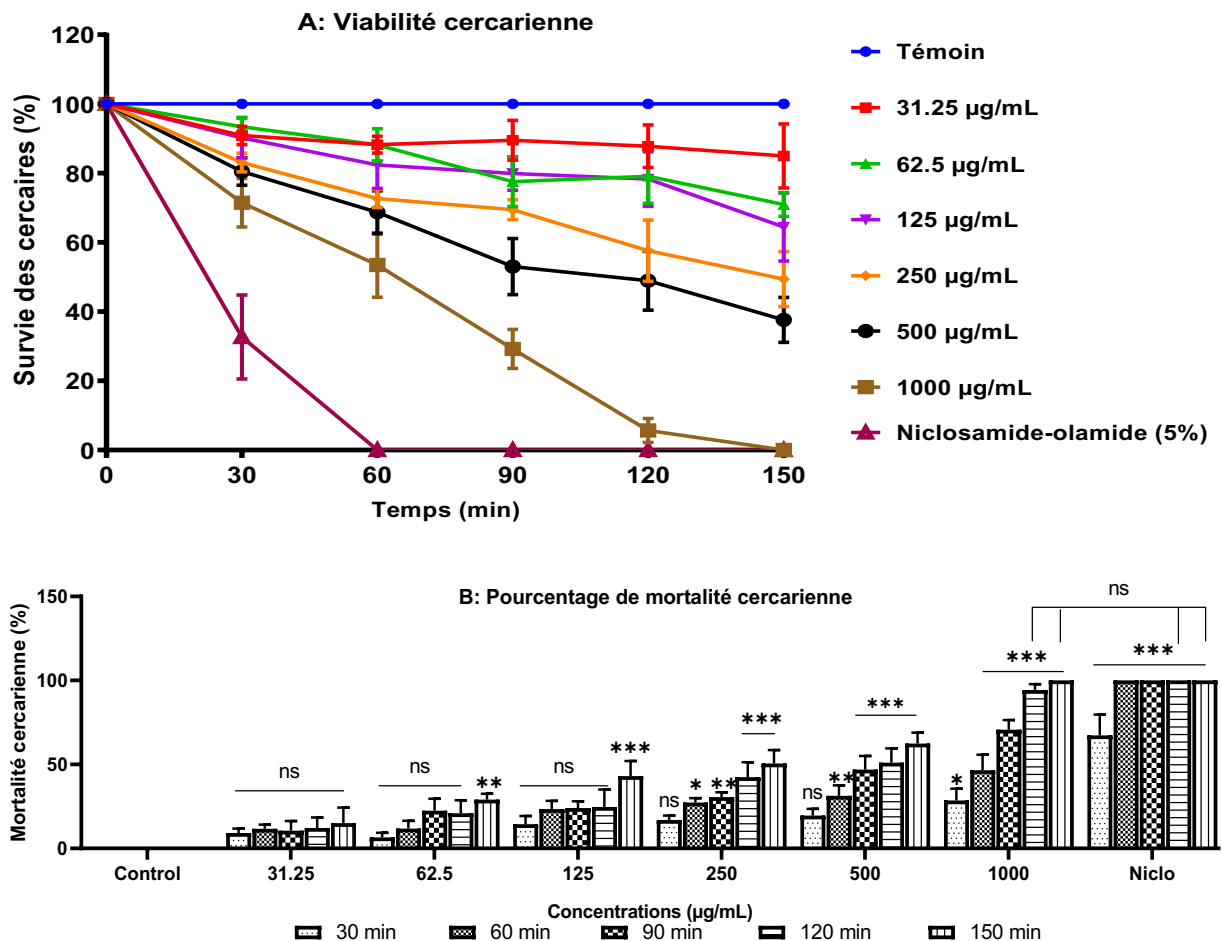


Figure 39 : Profil de viabilité cercarienne (A) et activité cercaricide (B) de l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa*.

*p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au control.

Tableau XVII : Concentration létale 50 (CL₅₀) de l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur les cercaires de *Schistosoma mansoni*.

Temps	EASp	Niclosamide-olamide 5%
30 min	---	< 1µg/mL
60 min	901,25 ± 55,65 µg/mL	< 1µg/mL
90 min	574,99 ± 95,51 µg/mL	< 1µg/mL
120 min	436,60 ± 101,77 µg/mL	< 1µg/mL
150 min	296,11 ± 101,53 µg/mL	< 1µg/mL

III.1.10.2- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur le poids corporel des souris au cours de la phase aiguë de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris

Les courbes représentant l'évolution pondérale des différents groupes de souris du jour 1 au jour 36 *p.i* sont présentées sur la **figure 40**. Il en ressort qu'entre les jours 1 et 22 *p.i*, aucune différence significative du gain de poids corporel n'a été notée entre les souris des différents groupes témoins (TS et TI) et celles traitées au praziquantel (PZQ) ou à l'extrait aqueux de *S. pilosa* (EASp₁₀₀ et EASp₂₀₀). Au 25^{ème} jour *p.i*, malgré un gain de poids

corporel, l'évolution du poids corporelle était significativement inférieure ($p < 0,05$) chez les souris du groupe TI ainsi que chez les souris infestées puis traitées au PZQ ou à l'extrait de *S. pilosa* (EASp₁₀₀ et EASp₂₀₀) par rapport aux souris saines (TS). A partir du jour 28 jusqu'au jour 36 *p.i.*, cette différence de l'évolution du poids corporel a été marquée chez les souris des groupes TI et PZQ ($p < 0,01$) par rapport aux souris du groupe TS. Au cours de cette période, par comparaison aux souris du groupe TS, aucune différence significative n'a été observée chez les souris ayant reçu l'extrait aqueux de *S. pilosa*. Tout au long de l'expérimentation, l'évolution du poids corporel des souris saines ayant reçu EASp à la dose de 200 mg/kg (TPh) était similaire à celle des souris saines (TS).

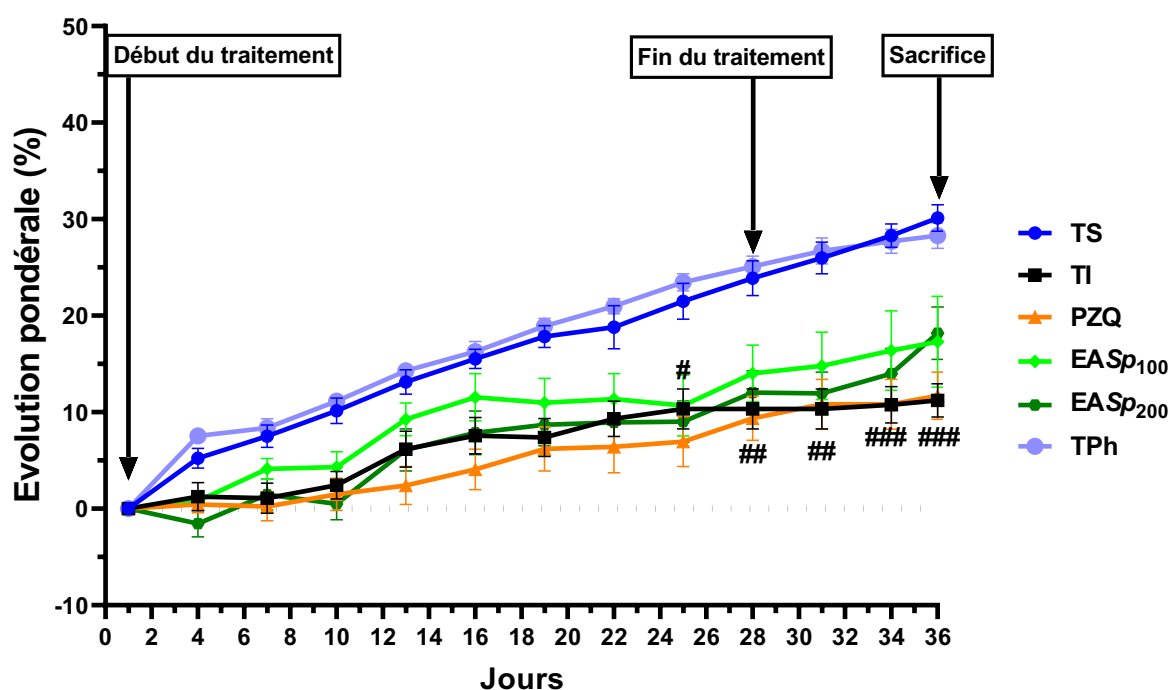


Figure 40: Évolution pondérale des souris traitées par l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* au cours de la phase aiguë de l'infection à *Schistosoma mansoni*.

TS : souris non infestées ayant reçu de l'eau distillée ; TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₁₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₂₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours ; TPh : souris non infestées recevant l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours. # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$, ### $p < 0,001$: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infestées (TS).

III.1.10.3- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur le poids relatif des organes cibles chez les souris au cours de la phase aiguë de l'infection à *Schistosoma mansoni*

L'infection aiguë à *S. mansoni* n'a entraîné aucune modification significative du poids relatif du foie, de l'intestin et du thymus, à l'exception du poids relatif de la rate qui a significativement augmenté ($p < 0,001$) par rapport à celui des souris saines (TS). Le traitement au praziquantel ou à l'extrait aqueux de *S. pilosa* a significativement réduit cette

splénomégalie de 43,56% ($p < 0,01$), 32,67% ($p < 0,05$) et 30,69% ($p < 0,05$) respectivement dans les groupes PZQ, EASp₁₀₀ et EASp₂₀₀, comparativement au groupe TI. Aucune différence n'a été observée entre le poids relatif des organes des souris du groupe TPh et ceux du groupe TS (**Tableau XVIII**).

Tableau XVIII: Poids relatifs du foie, de l'intestin de la rate et du thymus

Groupes	Foie	Intestin	Rate	Thymus
TS	7,55 ± 0,25	5,25 ± 0,29	0,53 ± 0,04	0,23 ± 0,02
TI	7,02 ± 0,33	5,99 ± 0,27	1,01 ± 0,12 ^{###}	0,24 ± 0,02
PZQ	7,41 ± 0,20	6,32 ± 0,39	0,57 ± 0,04 ^{**}	0,25 ± 0,02
EASp ₁₀₀	7,32 ± 0,36	4,76 ± 0,23 ^{*, αα}	0,68 ± 0,05 [*]	0,32 ± 0,01
EASp ₂₀₀	6,38 ± 0,31	3,80 ± 0,28 ^{***, ααα}	0,70 ± 0,06 [*]	0,30 ± 0,03
TPh	6,96 ± 0,24	4,77 ± 0,22	0,54 ± 0,07	0,25 ± 0,02

TS : souris non infestées ayant reçu de l'eau distillée ; TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg/jr pendant 28 jours ; EASp₁₀₀ : souris infestées puis traitées au à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₂₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours ; TPh : souris non infestées recevant l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours. #p < 0,05, ##p < 0,01, ###p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infectées (TS). *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI). ααp < 0,01, αααp < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs (PZQ).

III.1.10.4- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur les charges parasitaires et ovulaires des souris au cours de la phase aiguë de l'infection à *Schistosoma mansoni*

Après 5 semaines d'infection, le nombres de vers de *S. mansoni* récupérés chez les souris infestées et non traitées (TI) était de 42,14 ± 2,87. Le traitement des souris à EASp aux doses de 100 mg/kg (EASp₁₀₀) et de 200 mg/kg (EASp₂₀₀) a entrainé une réduction significative ($p < 0,001$) de la charge parasitaire de 68,86% (13,12 ± 1,88 vs 42,14 ± 2,87) et de 66,77% (14,00 ± 1,73 vs 42,14 ± 2,87), respectivement par rapport au groupe TI. Chez les souris infestées puis traitées au praziquantel (PZQ), cette réduction était de 97,29% (1,14 ± 0,63 vs 42,14 ± 2,87) par rapport au groupe TI (**Figure 41A**).

Le nombre d'œufs de *S. mansoni* piégés dans le foie de chaque groupe de souris infestées est présenté sur la **figure 41B**. Il en ressort qu'après le traitement à l'extrait aqueux de *S. pilosa*, une réduction significative ($p < 0,001$) de 91,57% et de 88,46% a été enregistrée aux doses de 100 et 200 mg/kg respectivement, par rapport au groupe de souris infestées et non traitées (TI). Une réduction de la charge ovulaire hépatique de 92,49% a été observée chez souris infestées puis traitées au praziquantel (PZQ) par rapport au groupe TI.

La charge ovulaire intestinale des souris infestées est présentée sur la **figure 41C**. L'administration du praziquantel ou de EASp a entrainé une diminution significative (p

<0,001) de la charge ovulaire intestinale de 99,88% (PZQ), 99,31% (EASp₁₀₀) et de 99,69% (EASp₂₀₀) par rapport à celle des souris du groupe TI.

Quant à l'excrétion des œufs de *S. mansoni*, le traitement des souris infestées par le praziquantel ou l'extrait aqueux de *Sida pilosa* a entraîné une réduction significative (p <0,05) de 77,81% (PZQ), 94,36% (EASp₁₀₀) et 98,10% (EASp₂₀₀) respectivement par rapport au des souris infestées et non traitées (TI) (**Figure 41D**).

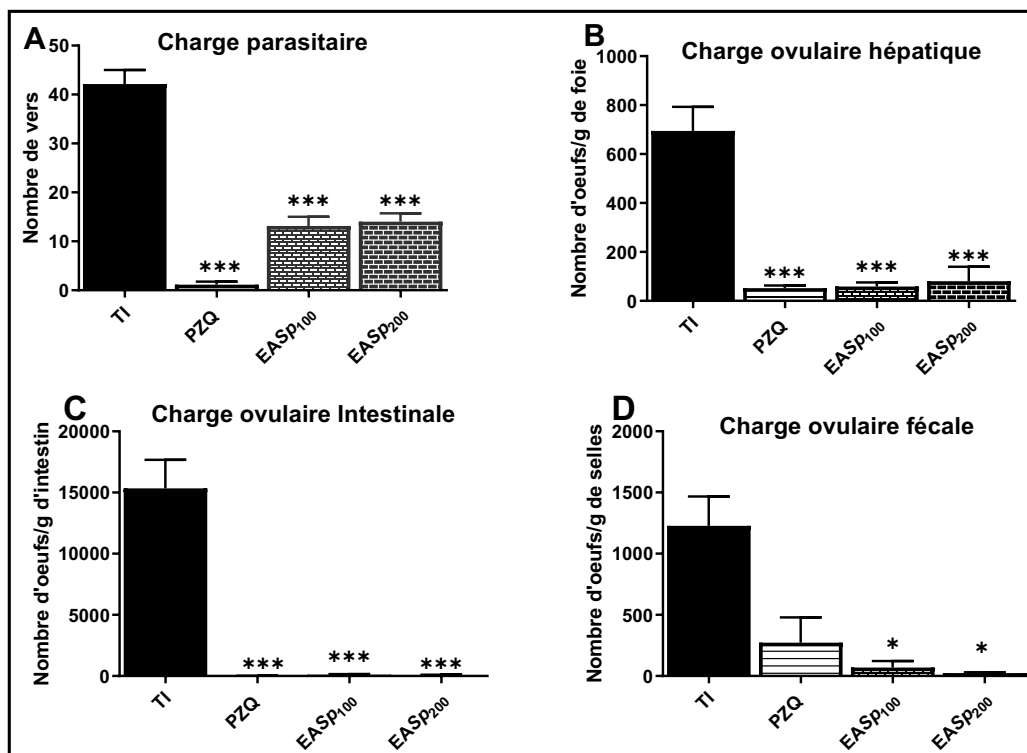


Figure 41 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur la charge parasitaire (A) et les charges ovulaires hépatique (B), intestinale (C) et fécale (D) chez les souris au cours de la phase aiguë de l'infection à *Schistosoma mansoni*.

TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₁₀₀ : souris infestées puis traitées au à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₂₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours. *p < 0,05, ***p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI).

III.1.10.5- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur les paramètres hématologiques chez la souris au cours de la phase aiguë de l'infection à *Schistosoma mansoni*

III.1.10.5.1- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur les paramètres hématimétriques et le taux de thrombocytes au cours de la phase aiguë de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris

Les données sur les paramètres hématimétriques et le taux de thrombocytes des souris infestées à *S. mansoni* puis traitées à l'extrait aqueux de *S. pilosa* sont présentées

dans le **tableau XIX**. L'infection aiguë à *Schistosoma mansoni* a induit une réduction significative des taux d'hématie ($p < 0,001$), d'hématocrite ($p < 0,001$) et d'hémoglobine ($p < 0,05$) associée à une augmentation significative ($p < 0,001$) du volume globulaire moyen (VGM) et de la teneur globulaire moyenne de l'hémoglobine (TGMH) chez les souris infestées et non traitées (TI) par comparaison aux souris non infestées (TS). À cette même phase, l'infection a également entraîné une diminution significative du taux de thrombocytes ($p < 0,001$). Le traitement des souris à l'extrait aqueux de *S. pilosa* aux doses de 100 et 200 mg/kg a entraîné une baisse significative ($p < 0,001$) du VGM et de la TGMH comparativement à ceux des souris du groupe TI. Pour la CCMH, sa valeur était significativement élevée chez les souris infestées ayant reçu EASp aux doses de 100 et 200 mg/kg par rapport à celle des souris du groupes TS ($p < 0,001$ et $p < 0,01$, respectivement), ainsi que celle des groupes TI ($p < 0,05$) et PZQ ($p < 0,01$). Par comparaison au groupe TI, seul le traitement des souris infestées par EASp à la dose de 200 mg/kg (EASp₂₀₀) a significativement augmenté ($p < 0,05$) le taux de thrombocytes bien qu'une augmentation de 47,36% ait été notée pour les souris du groupe EASp₁₀₀.

L'administration du praziquantel a significativement augmenté les taux d'hématies ($p < 0,01$) et de thrombocytes ($p < 0,001$) tandis que les valeurs de VGM et de TGMH étaient réduites ($p < 0,001$) par rapport aux souris du groupe TI.

Aucune différence statistiquement significative n'a été observée entre les souris saines ayant reçu EASp à la dose de 200 mg/kg (TPh) et celles du groupe TS pour tous les paramètres hématimétriques et le taux de thrombocytes.

Tableau XIX: Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur les paramètres hématimétriques et le taux de thrombocytes lors de la phase aiguë de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris

Groupes	Phase aiguë						
	Hématies (10 ⁶ /mm ³)	Hémoglobine (g/dL)	Hématocrite (%)	VGM (µm ³)	TGMH (pg)	CCMH (g/dL)	Thrombocytes (10 ³ /mm ³)
TS	8,62 ± 0,39	14,03 ± 0,53	49,70 ± 1,67	58,83 ± 1,74	16,67 ± 0,26	27,77 ± 0,69	525,67 ± 29,14
TI	4,56 ± 0,51 ^{###}	9,33 ± 0,76 [#]	28,38 ± 2,04 ^{###}	86,00 ± 1,23 ^{###}	26,78 ± 0,87 ^{###}	31,11 ± 0,83	264,14 ± 25,10 ^{###}
PZQ	7,19 ± 0,88 ^{**}	10,66 ± 0,65	37,61 ± 2,94	50,18 ± 1,69 ^{***}	17,75 ± 0,27 ^{***}	29,39 ± 1,11	486,28 ± 11,19 ^{***}
EASp₁₀₀	5,84 ± 0,44	11,12 ± 1,03	30,62 ± 2,49	52,26 ± 1,99 ^{***}	17,89 ± 0,58 ^{***}	34,57 ± 1,50 ^{###,*^{αα}}	350,25 ± 33,70 ^α
EASp₂₀₀	6,26 ± 0,39	10,17 ± 0,83	32,32 ± 2,07	51,82 ± 0,89 ^{***}	17,37 ± 0,47 ^{***}	33,65 ± 0,82 ^{###,*^{αα}}	389,25 ± 3.25 ^{*^α}
TPh	8,73 ± 0,44	13,87 ± 0,67	51,62 ± 3,07	58,87 ± 1,37	15,91 ± 0,36	27,00 ± 0,39	565,25 ± 47,81

TS : souris non infestées ayant reçu de l'eau distillée ; TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₁₀₀ : souris infestées puis traitées au à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₂₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours ; TPh : souris non infestées recevant l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours. Les données sont exprimées sous forme de moyenne ± SEM (n = 6 à 8). ^{##}p < 0,01, ^{###}p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infectées (TS). *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI). ^αp < 0,05, ^{αα}p < 0,01: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs (PZQ).

III.1.10.5.2- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur le leucogramme des souris au cours de la phase aiguë de l'infection à *Schistosoma mansoni*

Les valeurs de la formule leucocytaire des souris infestées puis traitées à EASp sont données dans le **tableau XIX**. Il en ressort que l'infection dans sa phase aiguë est à l'origine d'une augmentation significative ($p < 0,001$) du taux de leucocytes des souris du groupe TI par rapport aux souris non infestées du groupe TS. Par comparaison au groupe TS, une baisse significative de 42,21% ($p < 0,001$) de lymphocytes ainsi qu'une augmentation de 131,55% ($p < 0,001$) de granulocytes ont été enregistrées dans le groupe TI. Aucune différence significative n'a cependant été observée sur le pourcentage de monocytes des souris du groupe TI par rapport à celui des souris du groupe TS.

L'administration de EASp aux doses de 100 et 200 mg/kg a prévenu ces variations de la formule leucocytaire. Il a été en effet noté une réduction significative ($p < 0,001$) du taux de leucocytes et de granulocytes associée à une augmentation du pourcentage de lymphocytes ($p < 0,001$). Une diminution du taux de monocytes de 41,04% ($p < 0,05$) et de 51,79% ($p < 0,01$) a été enregistrée respectivement chez les souris des groupes EASp₁₀₀ et EASp₂₀₀ par rapport au groupe TI.

Le traitement au praziquantel a entraîné une baisse significative ($p < 0,001$) du taux de leucocytes ainsi que du pourcentage de granulocytes associée à une augmentation significative ($p < 0,001$) du pourcentage de lymphocytes par rapport à ceux du groupe TI.

Chez les souris saines ayant reçu EASp à la dose de 200 mg/kg (TPh), une augmentation significative du taux de leucocytes de 98,30% ($p < 0,001$) a été observée par rapport aux souris saines (TS). Cette augmentation du taux de leucocytes était associée à celle de la concentration des lymphocytes qui était de $6,87 \pm 0,28 \cdot 10^3/\text{mm}^3$ chez les souris du groupe Témoin pharmacologique (TPh) contre $3,42 \pm 0,29 \cdot 10^3/\text{mm}^3$ dans le groupe de souris saines (TS).

Tableau XIX: Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur le leucogramme lors de la phase aiguë de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris.

Groupes	Leucocytes (10 ³ /mm ³)	Lymphocytes		Monocytes (%)	Granulocytes (%)
		Pourcentage (%)	Concentration (10 ³ /mm ³)		
TS	4,71 ± 0,36	72,53 ± 2,48	3,42 ± 0,29	8,25 ± 0,24	19,21 ± 2,31
TI	10,33 ± 1,01###	44,91 ± 4,72###	4,57 ± 0,69	10,60 ± 1,71	44,48 ± 4,64###
PZQ	5,94 ± 0,37***	67,82 ± 2,29***	4,06 ± 0,20	11,65 ± 1,77	20,51 ± 0,62***
EASp₁₀₀	4,80 ± 0,31***	78,64 ± 2,31***,α	3,80 ± 0,30	6,25 ± 0,61*,α	15,11 ± 2,10 ***
EASp₂₀₀	4,80 ± 0,61***	84,11 ± 2,07***,αα	3,96 ± 0,56	5,11 ± 0,66**,αα	10,77 ± 1,75***
TPh	9,34 ± 0,56###	74,60 ± 2,94	6,87 ± 0,28###	8,56 ± 0,88	16,62 ± 2,45

TS : souris non infestées ayant reçu de l'eau distillée ; TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₁₀₀ : souris infestées puis traitées au à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₂₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours ; TPh : souris non infestées recevant l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours. ###p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infectées (TS). *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI). αp < 0,05, ααp < 0,01: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs (PZQ).

III.1.10.6- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur la fonction hépatique des souris au cours de la phase aiguë de l'infection à *Schistosoma mansoni*.

Les effets d'un traitement préventif par EASp sur la fonction hépatique des souris infestées par *Schistosoma mansoni* au cours de la phase aiguë de l'infection sont consignés dans le **tableau XX**. Il ressort de cette étude que l'infection à *S. mansoni* a entraîné une augmentation des activités sériques de l'ALAT ($p < 0,001$), de l'ASAT ($p < 0,001$) et de la concentration de bilirubine totale ($p < 0,05$) au cours de la phase aiguë associée à une réduction de l'activité de la γ -GT ($p < 0,01$). S'agissant du taux de protéines totales, l'infection a induit une réduction de 41,06% dans le groupe TI par rapport au groupe TS, bien qu'elle soit statistiquement non significative.

L'administration de EASp aux doses de 100 et 200 mg/kg a prévenu cette augmentation de l'activité des transaminases. C'est ainsi que l'activité de l'ALAT était réduite de 48,25% ($p < 0,001$) pour le groupe EASp₁₀₀ et de 52,25% ($p < 0,001$) pour EASp₂₀₀ par rapport à celle du groupe TI. Un résultat similaire a été obtenu pour l'activité de l'ASAT où des réductions significatives ($p < 0,01$) de 30,91% et 34,59% ont été enregistrées dans les groupes EASp₁₀₀ et EASp₂₀₀ respectivement, par rapport au groupe TI. Le traitement à EASp a également empêché l'augmentation de la concentration de bilirubine totale et la baisse de l'activité de la γ -GT après l'infection. Le taux de bilirubine totale était de 27,32% et de 22,34% plus bas dans les groupes EASp₁₀₀ et EASp₂₀₀ respectivement par rapport au groupe TI ($p < 0,05$). L'activité de la γ -GT était significativement plus élevée dans les groupes EASp₁₀₀ ($p < 0,05$) et EASp₂₀₀ ($p < 0,01$) que dans le groupe TI. Aucune différence sur l'activité de la PAL ainsi que le taux de protéines totales n'a été observée entre les différents groupes de souris.

Dans le groupe des souris traitées au praziquantel (PZQ), nous avons noté une baisse significative des activités sériques de l'ALAT ($p < 0,001$) de l'ASAT ($p < 0,01$) ainsi que de la concentration de la bilirubine totale ($p < 0,05$) par comparaison au groupe TI. Cette amélioration de la fonction hépatique était aussi associée à une augmentation ($p < 0,05$) de l'activité de la γ -GT par rapport au groupe TI.

A l'exception de la PAL dont l'activité était significativement diminuée ($p < 0,05$) dans le groupe TPh, aucune différence sur les autres marqueurs de la fonction hépatique n'a été observée entre les groupes TPh et TS au cours de la phase aiguë de l'infection.

Tableau XX: Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur quelques paramètres de la fonction hépatique au cours de la phase aiguë de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris

Groupes	Phase aiguë					
	ALAT (UI/L)	ASAT (UI/L)	PAL (UI/L)	γ-GT (UI/L)	Bilirubine totale (μmol/L)	Protéines totales (mg/mL)
TS	549,43 ± 60,45	329,21 ± 61,39	282,49 ± 69,73	144,93 ± 16,97	241,83 ± 16,97	2,07 ± 0,23
TI	1485,36 ± 117,83###	1367,26 ± 96,26###	246,80 ± 58,45	64,39 ± 4,97##	349,55 ± 43,40#	1,22 ± 0,14
PZQ	739,52 ± 20,13***	977,51 ± 97,98**	161,16 ± 34,89	122,71 ± 12,27*	277,09 ± 15,14*	1,75 ± 0,23
EASp₁₀₀	768,64 ± 62,66***	944,65 ± 117,44**	162,14 ± 32,48	127,92 ± 17,94*	254,04 ± 18,85*	1,23 ± 0,22
EASp₂₀₀	709,23 ± 26,21***	894,30 ± 40,73**	121,19 ± 23,77	143,83 ± 16,45**	271,46 ± 12,06*	1,23 ± 0,13
TPh	550,95 ± 53,51	304,54 ± 61,06	113,09 ± 27,59#	157,75 ± 13,62	247,89 ± 12,24	1,83 ± 0,22

TS : souris non infestées ayant reçu de l'eau distillée ; TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₁₀₀ : souris infestées puis traitées au à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₂₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours ; TPh : souris non infestées recevant l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours. #p < 0,05, ##p < 0,01, ###p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infectées (TS). *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI).

III.1.10.7- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur le statut oxydant au cours de la phase aiguë de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris.

III.1.10.7.1- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur quelques biomarqueurs du stress oxydant hépatique au cours de la phase aiguë de l'infection à *Schistosoma mansoni*.

L'infection aiguë à *S. mansoni* s'est traduite par une augmentation significative ($p < 0,001$) de la concentration hépatique de malondialdéhyde (MDA) ($46,62 \pm 6,87$ vs $9,76 \pm 1,35$ nM de MDA/g de foie) chez les souris du groupe TI comparativement aux souris non-infestées et non traitées (TS). Les taux de nitrites et de glutathion réduit (GSH) ainsi que les activités de la superoxyde dismutase (SOD) et de la catalase n'ont pas varié significativement par chez les souris du groupe TI par rapport au groupe TS (**Figure 42**).

Chez les souris infestées puis traitées à EASp, la concentration de MDA était significativement diminuée de 51,52% ($p < 0,01$) et de 61,95% ($p < 0,001$) respectivement pour les groupes EASp₁₀₀ et EASp₂₀₀, par rapport au groupe TI. Pour la concentration de nitrites une augmentation significative ($p < 0,05$) de 28,55% a été observée chez les souris ayant reçu l'extrait de *S. pilosa* à la dose de 200 mg/kg (EASp₂₀₀). Concernant les activités de la SOD et de la catalase ainsi que la concentration de GSH, aucune différence n'a été observée chez les souris traitées à EASp par rapport à celles du groupe TI.

Le traitement au praziquantel a entraîné une réduction du taux de MDA de 57,29% ($p < 0,01$) par rapport au groupe TI.

A cette phase de l'infection, aucune différence n'a été observée entre les souris du groupe TPh et celles du groupe TS (**Figure 42**).

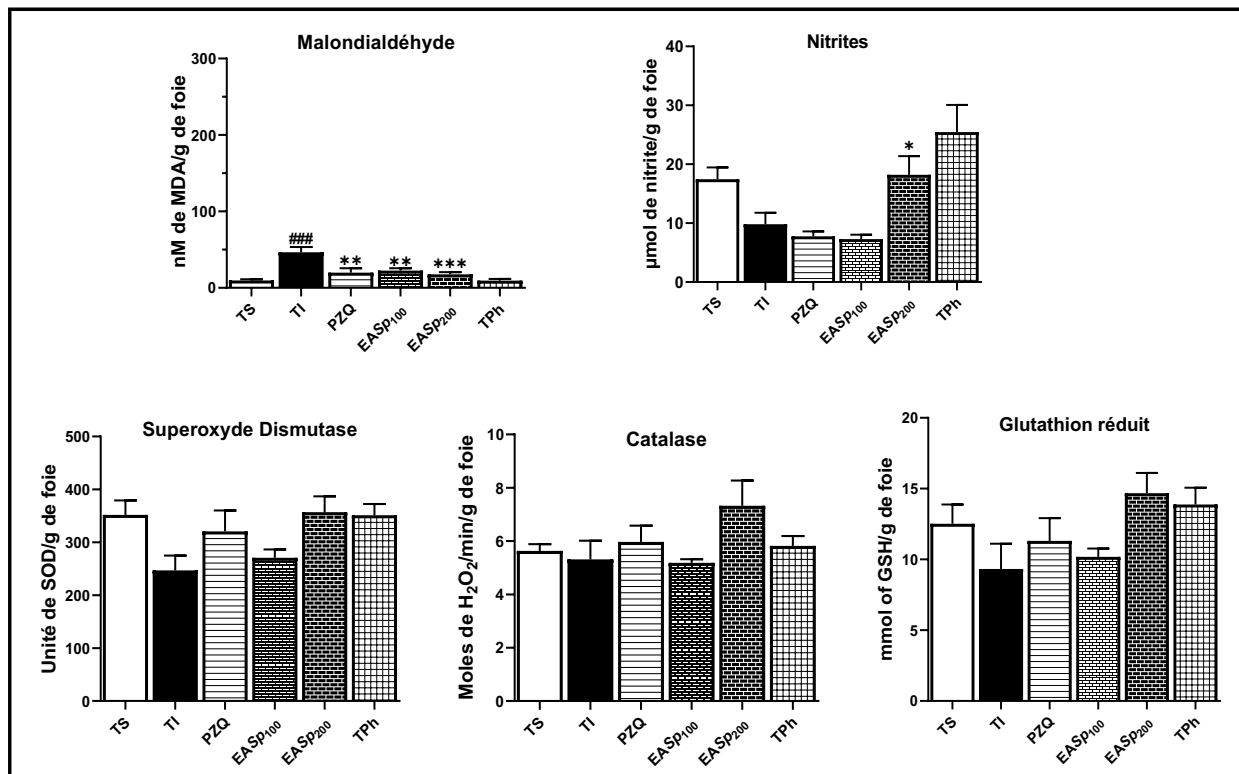


Figure 42 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur quelques biomarqueurs du stress oxydant hépatique chez la souris au cours de la phase aiguë de l'infection à *Schistosoma mansoni*.

TS : souris non infestées ayant reçu de l'eau distillée ; TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₁₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₂₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours ; TPh : souris non infestées recevant l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours. Les données sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM (n = 6 à 8). ###p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infestées (TS). *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI).

III.1.10.7.2- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur quelques biomarqueurs du stress oxydant splénique lors de la phase aiguë de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris.

Au niveau de la rate, l'infection aiguë à *S. mansoni* s'est traduite par une augmentation d'environ 2 fois (p < 0,05) du taux de MDA associée à une baisse d'environ 3 fois (p < 0,05) de la concentration de nitrites chez les souris du groupe TI par rapport à celles du groupe TS. Concernant les activités de la SOD et de la catalase ainsi que le taux de GSH, aucune différence n'a été notée entre les souris du groupe TI et celles du groupe TS (**Figure 43**).

Chez les souris infestées et traitées par EASp, seules celles ayant reçu la dose de 200 mg/kg ont eu des taux de MDA et de nitrites proches de ceux des souris saines du groupe TS. En effet, une réduction d'environ 2 fois (p < 0,05) du taux de MDA et une augmentation d'environ 2,5 fois (p < 0,05) du taux de nitrites ont été enregistrées chez les souris du groupe EASp₂₀₀ comparativement au groupe TI. Par contre, l'administration du praziquantel aux souris

infestées n'a entraîné aucune amélioration sur les taux de MDA et de nitrites. S'agissant des activités de la SOD et de la catalase ainsi que de la concentration de GSH, aucune différence significative n'a été observée entre les souris infestées et traitées à EASp et les souris infestées et non traitées (TI).

Le statut oxydant splénique des souris non infestées ayant reçu l'extrait aqueux à la dose de 200 mg/kg (TPh) était similaire à celui des souris du groupe TS (**Figure 45**).

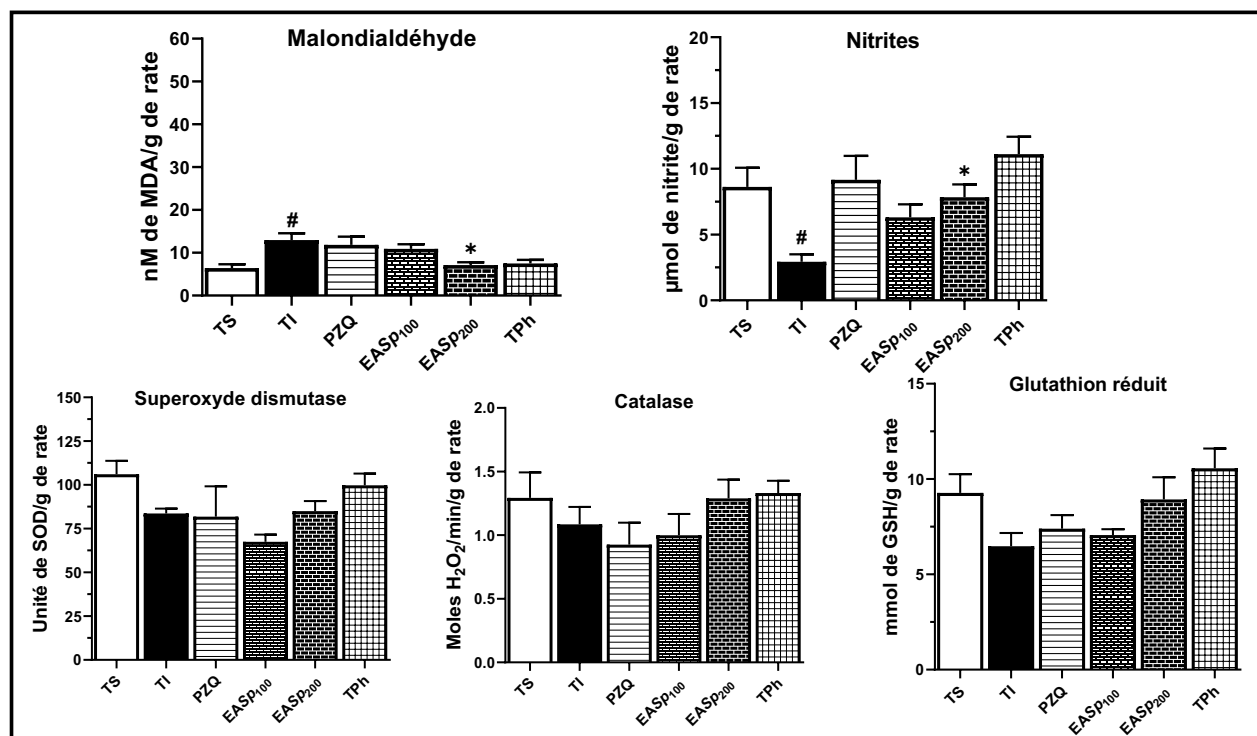


Figure 43 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur quelques biomarqueurs du stress oxydant splénique chez la souris au cours de la phase aiguë de l'infection à *Schistosoma mansoni*.

TS : souris non infestées ayant reçu de l'eau distillée ; TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₁₀₀ : souris infestées puis traitées au à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₂₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours ; TPh : souris non infestées recevant l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours. [#]p < 0,05: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infectées (TS). ^{*}p < 0,05: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI).

III.1.10.8- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur la réponse immunitaire au cours de la phase aiguë de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris

III.1.10.8.1- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur les concentrations sériques des cytokines et d'une chimiokine

Les taux des médiateurs de la réponse immunitaire mesurés dans le sérum des souris sont présentés sur la **figure 44**. Il revient que la concentration des cytokines Th-1 telles que l'IFN- γ et le TNF- α était de l'ordre de $2,79 \pm 0,66$ pg/mL et $8,28 \pm 0,74$ pg/mL respectivement

chez les souris non-infestées et non traitées (TS). Pour les cytokines Th-2 (IL-5) et Th-17 (IL-17), leurs concentrations étaient de $17,77 \pm 10,44$ pg/mL et $0,85 \pm 0,35$ pg/mL respectivement. Chez les souris infestées par *S. mansoni* et non traitées (TI), les concentrations d'IFN- γ et de TNF- α étaient 8 fois ($p < 0,01$) et 2 fois ($p < 0,001$) supérieures à celles des souris du groupe TS ($23,70 \pm 5,15$ vs de $2,79 \pm 0,66$ pg/mL et $19,57 \pm 2,01$ vs $8,28 \pm 0,74$ pg/mL) respectivement. De plus, dans ce groupe TI, les concentrations d'IL-5 et d'IL17 étaient 4 fois ($p < 0,05$) et 27 fois ($p < 0,05$) supérieures à celles obtenues dans le groupe TS ($83,45 \pm 10,02$ vs $17,77 \pm 10,44$ pg/mL et $23,35 \pm 11,64$ vs $0,85 \pm 0,35$ pg/mL) respectivement. Pour les taux sériques de MCP-1, d'IL-2, d'IL-4 et de TGF- β aucune différence statistiquement significative n'a été notée entre les groupes TI et TS. L'IL-13 n'a pas été détectée chez aucune souris quel que soit le groupe expérimental à cette phase de l'infection.

L'administration de l'extrait aqueux de *S. pilosa* aux souris infestées s'est traduite par des réductions significatives ($p < 0,05$) de la concentration de d'IFN- γ de 68,27% et 62,49% aux doses de 100 et 200 mg/kg respectivement par rapport aux souris infestées et non traitées (TI). Une amélioration similaire a été obtenue pour la concentration de TNF- α . En effet, des réductions significatives de 63,21% et de 38,63% ont été enregistrées chez les souris infestées puis traitées à EASp aux doses de 100 et 200 mg/kg respectivement par rapport aux souris du groupe TI. Le traitement à EASp a également entraîné des réductions significatives ($p < 0,05$) de 91,82% et de 89,38% de la concentration de l'IL-17 dans les groupes EASp₁₀₀ et EASp₂₀₀ respectivement par rapport au groupe TI. De la même façon, chez les souris infestées puis traitées aux deux doses de EASp, des réductions significatives ($p < 0,05$) de la concentration d'IL-5 de 73,82% et de 68,16% comparativement au groupe TI ont été relevées. Cette amélioration de la concentration d'IL-5 était meilleure pour les souris traitées à EASp à la dose de 100 mg/kg (EASp₁₀₀) par rapport à celles traitées au PZQ car une réduction significative de 79,74% ($p < 0,05$) a été enregistrée. De plus, en dehors de la dose de 100 mg/kg de EASp où une différence significative ($p < 0,05$) de 45,66% a été notée par rapport au groupe TI, la concentration de MCP-1 des souris du groupe EASp₂₀₀ était similaire à celle des souris du groupe TI. Les concentrations sériques d'IL-2, d'IL-4 et de TGF- β n'ont pas été modifiées par le traitement aussi bien à EASp qu'au PZQ.

Chez les souris infestées puis traitées au praziquantel (PZQ), s'agissant des concentrations sériques d'IFN- γ , de TNF- α et d'IL-17, des réductions significatives ($p < 0,05$) respectives de 76,58%, 37,66% et 90,35% ont été enregistrées par rapport à celles des souris infestées et non traitées (TI).

Les concentrations de ces médiateurs immunitaires dans le groupe témoin pharmacologique (TPh) étaient identiques à celles du groupe TS.

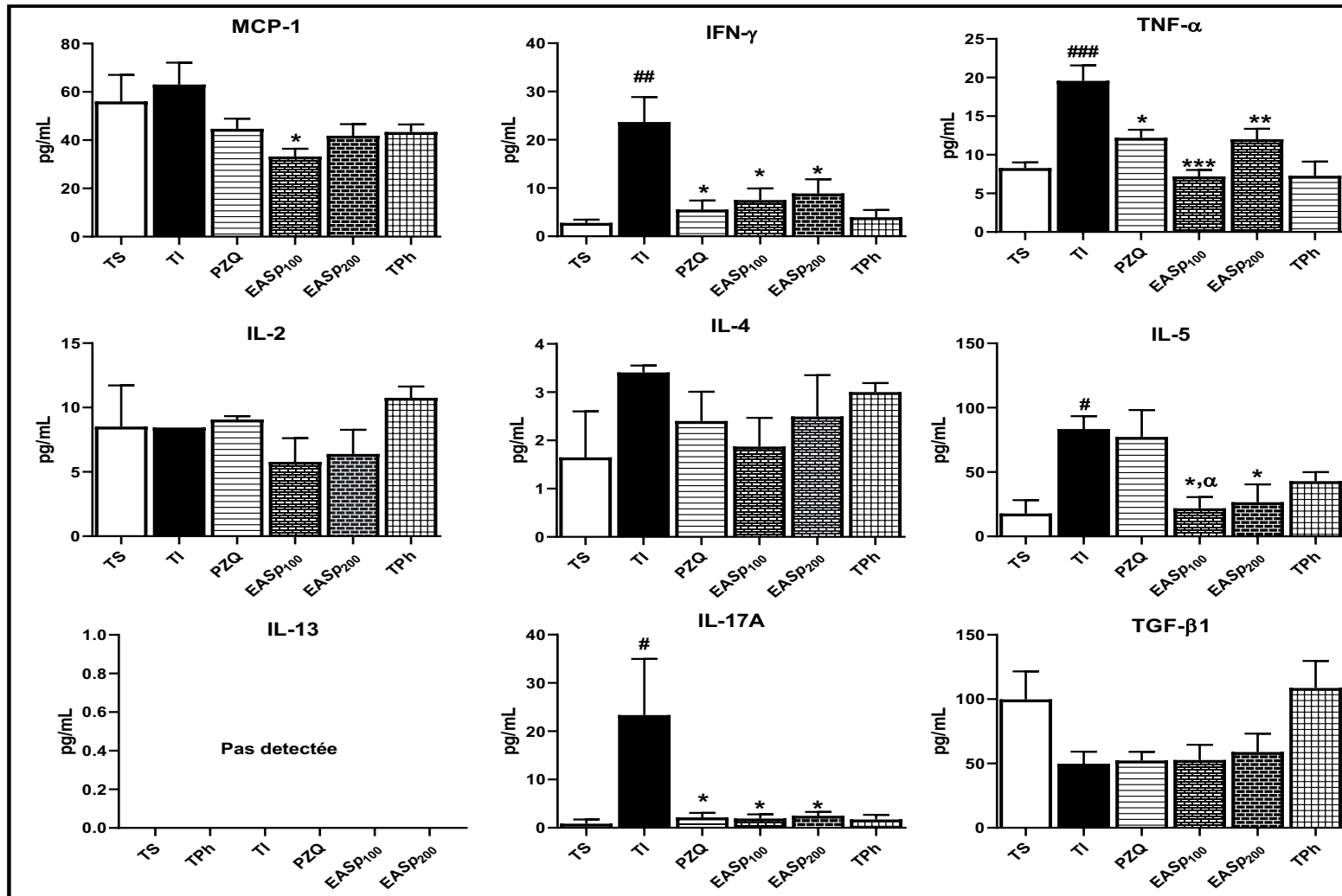


Figure 44 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur les taux sériques des cytokines et d'une chimiokine au cours de la phase aiguë de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris.

TS : souris non infestées ayant reçu de l'eau distillée ; TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₁₀₀ : souris infestées puis traitées au à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₂₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours ; TPh : souris non infestées recevant l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours. #p < 0,05, ##p < 0,01, ###p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infestées (TS). *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI). αp < 0,05: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs (PZQ).

III.1.10.8.2- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur l'expression des gènes des cytokines et chimiokines

Au cours de la phase aiguë de l'infection, l'expression hépatique des gènes de quelques médiateurs pro-inflammatoires, profibrotiques et immunorégulateurs sont présentés sur la **figure 45**. À l'exception de l'expression des gènes du MIP-1 α et de l'IFN- γ , aucune différence statistiquement significative de l'expression des gènes des autres médiateurs immunitaires n'a été obtenue entre les différents groupes expérimentaux. L'expression des gènes du MIP-1 α et de l'IFN- γ était de l'ordre de $9,29.10^{-4} \pm 2,91.10^{-4}/\text{GAPDH}$ et de $1,69.10^{-4} \pm 1,53.10^{-5}/\text{GAPDH}$ respectivement chez les souris saines du groupe TS. Chez les souris infectées et non traitées (TI), l'expression des gènes du MIP-1 α étaient 12 fois supérieure ($p < 0,01$) par rapport à celle des souris saines du groupe TS ($1,10.10^{-2} \pm 3,29.10^{-3}$ vs $9,29.10^{-4} \pm 2,91.10^{-4}/\text{GAPDH}$). S'agissant de l'expression des gènes de l'IFN- γ , elle est 9 fois supérieure chez les souris du groupe TI par rapport à celle des souris du groupe TS ($1,81.10^{-3} \pm 9,07.10^{-4}$ vs $1,69.10^{-4} \pm 1,53.10^{-5}/\text{GAPDH}$), bien que statistiquement non significatif.

Des baisses significatives de l'expression hépatique des gènes du MIP-1 α de 83,63% ($1,84.10^{-3} \pm 4,37.10^{-4}$ vs $1,10.10^{-2} \pm 3,29.10^{-3} / \text{GAPDH}$) et de 64,54% ($3,88.10^{-3} \pm 6,77.10^{-4}$ vs $1,10.10^{-2} \pm 3,29.10^{-4}/\text{GAPDH}$) respectivement ont été relevées chez les souris infestées et traitées à l'extrait aqueux de *S. pilosa* aux doses de 100 et 200 mg/kg par rapport aux souris infestées et non traitées (TI). Malgré le fait que la réduction ne soit pas statistiquement significative, l'expression des gènes de l'IFN- γ a subi une diminution de 86,11% pour les souris du groupe EAS p_{100} et de 60,55% pour les souris du groupe EAS p_{200} par rapport aux souris du groupe TI. Une amélioration se traduisant par une augmentation d'environ 2,5 fois de l'expression hépatique des gènes de l'IP-10 chez les souris infestées et ayant reçu l'extrait aqueux de *S. pilosa* à la dose de 200 mg/kg (EAS p_{200}) par rapport au groupe TI ont été enregistrées.

Lorsque les souris infestées étaient traitées au praziquantel, l'expression des gènes du MIP-1 α et de l'IFN- γ a subi des diminutions significatives de 72,72% ($p < 0,01$) et de 97,95% ($p < 0,05$) respectivement par rapport aux souris infestées et non traitées (TI).

S'agissant des deux groupes de souris non infestées (TS et TPh), l'expression hépatique des différents gènes évalués est quasiment identique entre ces deux groupes.

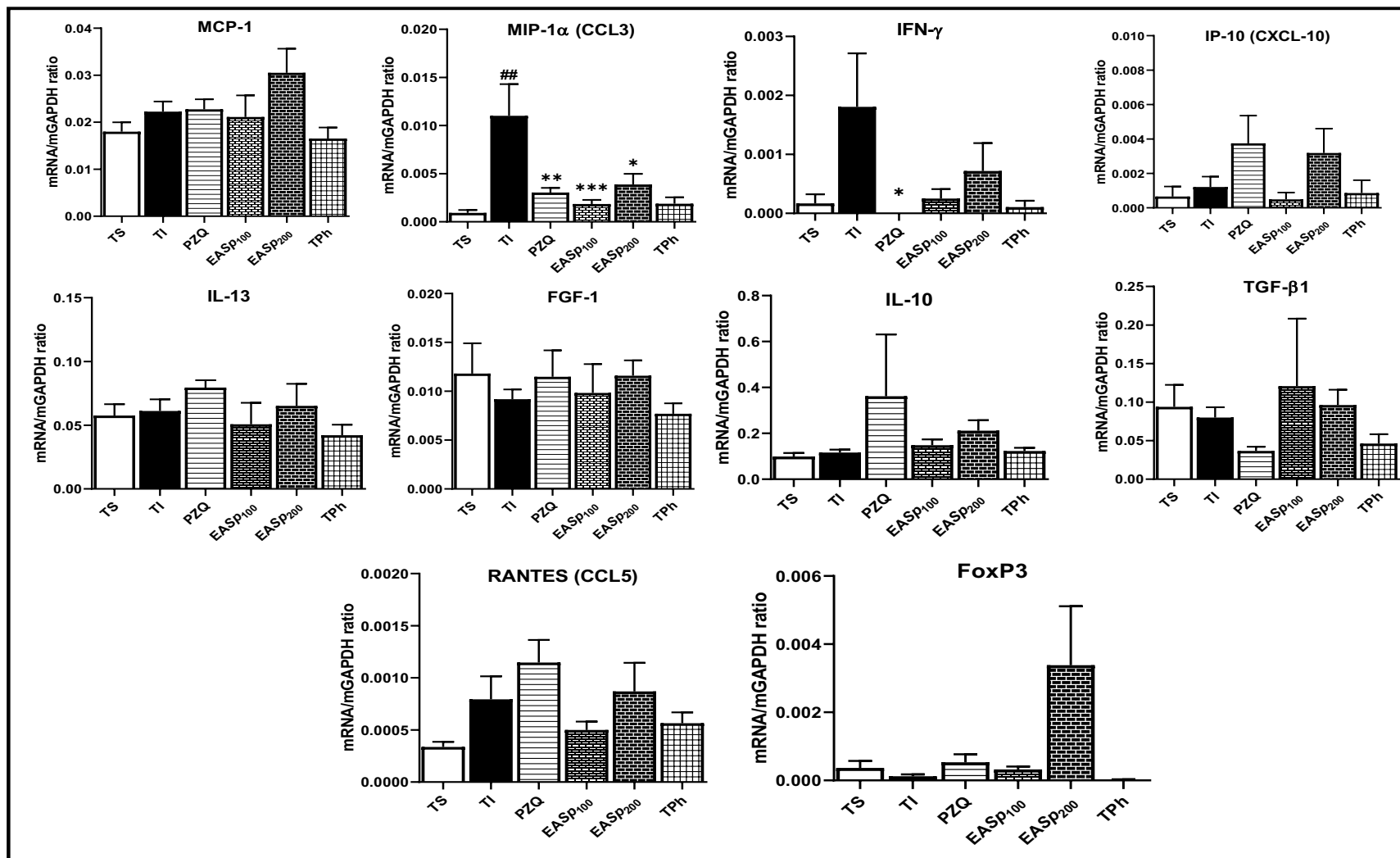


Figure 45 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur l'expression des gènes de quelques cytokines et chimiokines au cours de la phase aiguë de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris.

TS : souris non infestées ayant reçu de l'eau distillée ; TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₁₀₀ : souris infestées puis traitées au à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₂₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours ; TPh : souris non infestées recevant l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours. ##p < 0,01 : pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infestées (TS). *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI).

III.1.11- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur la pathologie induite par de *Schistosoma mansoni* chez la souris au cours de la phase granulomateuse de l'infection

III.1.11.1- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur le poids corporel des souris infectées par *Schistosoma mansoni* au cours de la phase granulomateuse de l'infection

L'évolution pondérale des souris au cours de la phase granulomateuse de l'infection (du jour 36 au jour 56 *p.i*) exprimée en pourcentage est présentée sur la **figure 46**. Il revient qu'entre les jours 42 et 56 *p.i*, on note une perte significative ($p < 0,001$) du poids corporel, avec une diminution allant de 8,75% à 53,04% respectivement du jour 48 au jour 56 *p.i* chez les souris infestées et non traitées (TI) comparativement aux souris du groupe TS.

Le traitement à l'extrait aqueux de *S. pilosa* a prévenu cette perte de poids. Par comparaison aux souris du groupe TI, le gain pondéral était significativement élevé ($p < 0,001$) dans les groupes de souris infestées puis traitées à EASp aux doses de 100 et 200 mg/kg entre les jours 42 et 56 *p.i*. Le gain pondéral dans les groupes EASp₁₀₀ et EASp₂₀₀ a augmenté de 12,77% et de 14,90% respectivement au jour 56 *p.i*.

Chez les souris infestées puis traitées au praziquantel (PZQ), le gain pondéral était significativement élevé ($p < 0,001$) entre les jours 42 et 56 *p.i* par rapport au groupe TI. Malgré cette amélioration observée chez les souris traitées au praziquantel ou aux deux doses de l'extrait aqueux de *S. pilosa* entre les jours 36 et 56 *p.i*, le gain pondéral dans ces groupes est resté significativement inférieur ($p < 0,001$) à celui du groupe TS.

Aucune différence significative n'a été observée entre l'évolution pondérale des souris saines du groupe TS et celle des souris du groupe Tph

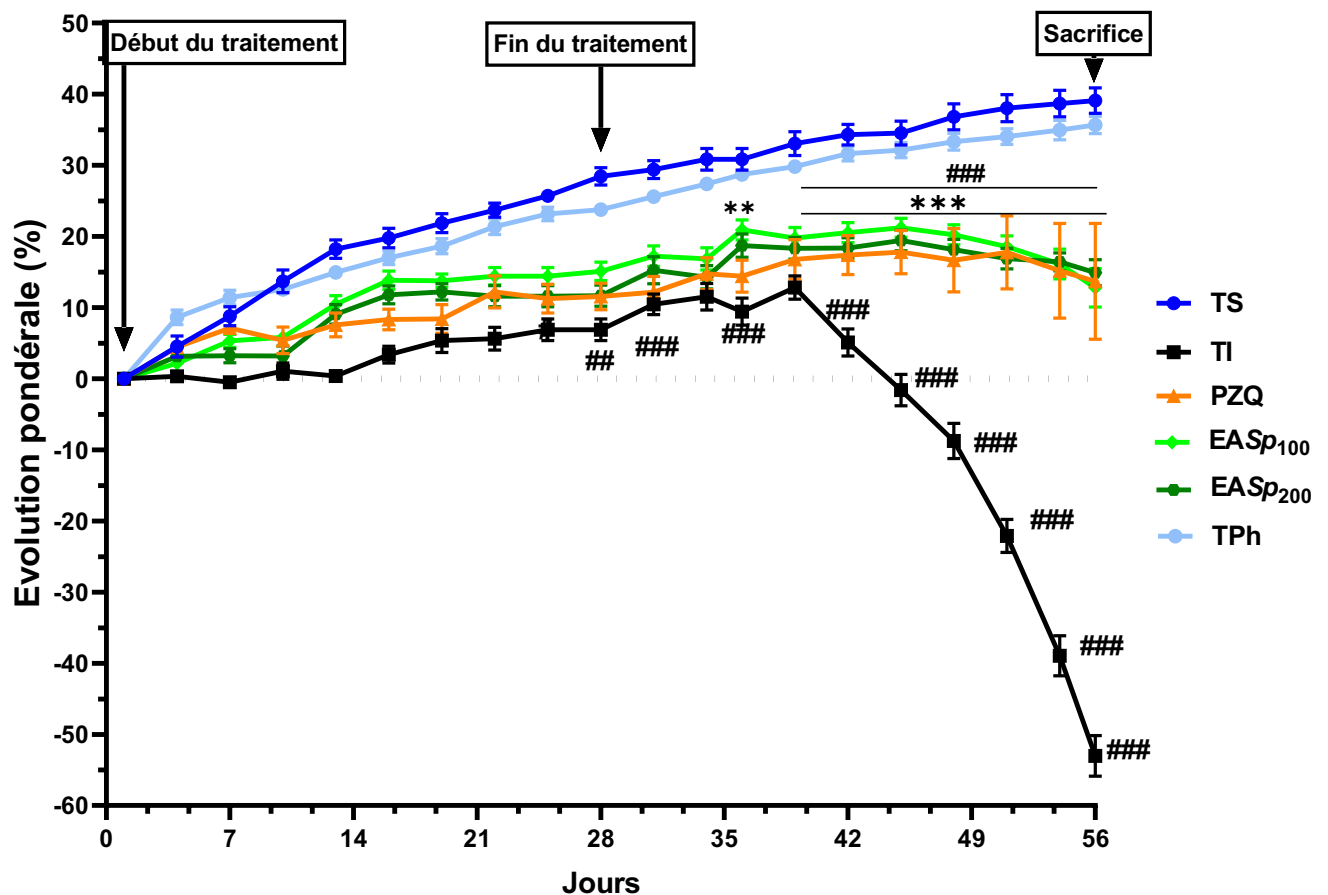


Figure 46 : Evolution pondérale des souris ayant reçu un traitement préventif de l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* au cours de l'infection à *Schistosoma mansoni*.

TS : souris non infestées ayant reçu de l'eau distillée ; TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₁₀₀ : souris infestées puis traitées au à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₂₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours ; TPh : souris non infestées recevant l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours. ####p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infestées (TS). **p < 0,01, ***p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI).

III.1.11.2- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur le poids relatif des organes cibles chez les souris infectées par *Schistosoma mansoni* au cours de la phase granulomateuse de l'infection

Le poids relatif du foie, de l'intestin, de la rate et du thymus est résumé dans le **tableau XXI**. Il en ressort que l'infection est associée à une augmentation significative (p < 0,001) du poids relatif du foie (131,51%), de l'intestin (197,57%), de la rate (179,66%) et du thymus (218,18%) des souris du groupe TI par rapport aux souris saines du groupe TS.

L'administration de EASp aux doses de 100 et 200 mg/kg a entraîné une réduction significative (p < 0,001) du poids relatif du foie de 32,24% et 41,24% respectivement par rapport à celui du groupe TI. Des observations similaires ont été faites pour le poids relatif

de l'intestin où des réductions significatives ($p < 0,001$) de 49,48% et 55,45% ont été enregistrées respectivement chez les souris des groupes $EASp_{100}$ et $EASp_{200}$ comparativement à celui du groupe TI. Au niveau de la rate et du thymus, par comparaison au groupe de souris infestées et non traitées (TI), des réductions significatives ($p < 0,001$) de 40,00% et de 51,43% dans le groupe $EASp_{100}$ et de 48,48% et 51,43% dans le groupe $EASp_{200}$ ont été respectivement enregistrées.

Chez les souris infestées puis traitées au praziquantel, des réductions respectives ($p < 0,001$) de 36,67%, 67,33%, 55,15% et 51,43% du poids relatif du foie, de l'intestin, de la rate et du thymus ont été enregistrées par rapport au groupe TI.

Par rapport aux souris saines du groupe TS, l'administration de $EASp$ à la dose de 200 mg/kg à des souris non infestées (TPh) n'a entraîné aucune variation statistiquement significative du poids relatifs de ces organes.

Tableau XXI : Poids relatifs du foie, de l'intestin, de la rate et du thymus au cours de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni*

Groupes	Poids relatifs (g/100 g de poids corporel)			
	Foie	Intestin	Rate	Thymus
TS	5,30 ± 0,33	4,56 ± 0,29	0,59 ± 0,05	0,11 ± 0,01
TI	12,27 ± 0,70 ^{###}	13,56 ± 0,61 ^{###}	1,65 ± 0,13 ^{###}	0,35 ± 0,03 ^{###}
PZQ	7,77 ± 0,60 ^{***}	4,43 ± 0,40 ^{***}	0,74 ± 0,06 ^{***}	0,17 ± 0,01 ^{***}
$EASp_{100}$	8,24 ± 0,30 ^{***}	6,85 ± 0,21 ^{***}	0,99 ± 0,11 ^{***}	0,17 ± 0,01 ^{***}
$EASp_{200}$	7,21 ± 0,43 ^{***}	6,04 ± 0,45 ^{***}	0,85 ± 0,11 ^{***}	0,17 ± 0,01 ^{***}
TPh	5,47 ± 0,16	4,59 ± 0,29	0,57 ± 0,04	0,12 ± 0,01

TS : souris non infestées ayant reçu de l'eau distillée ; TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; $EASp_{100}$: souris infestées puis traitées au à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; $EASp_{200}$: souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours ; TPh : souris non infestées recevant l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours. ^{###} $p < 0,001$: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infectées (TS). * $p < 0,05$, ^{***} $p < 0,001$: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI).

III.1.11.3- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur les charges parasitaires et ovulaires des souris au cours de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni*

Après 8 semaines d'infestation, le nombre de vers de *S. mansoni* récupérés chez les souris infestées et non traitées (TI) était de $45,62 \pm 3,56$. Le traitement des souris à l'extrait aqueux de *S. pilosa* aux doses de 100 et de 200 mg/kg a permis de récupérer seulement $13,87 \pm 1,99$ et $11,00 \pm 2,18$ contre $45,62 \pm 3,56$ dans le groupe TI. Ceci correspondait à une réduction ($p < 0,001$) de la charge parasitaire de 69,60% pour $EASp_{100}$ et de 75,89% pour $EASp_{200}$. Le nombre de vers de *S. mansoni* récupérés après traitement au PZQ était de $7,29 \pm 1,27$, soit une diminution de 84,02% par rapport au groupe TI (**Figure 47A**).

Le nombre d'œufs de *S. mansoni* piégés dans le foie de chaque groupe de souris infestées a été évalué et les résultats sont présentés sur la **figure 47B**. Il en ressort qu'après le traitement à l'extrait aqueux de *S. pilosa*, des réductions significatives ($p < 0,001$) de 86,41% et de 92,37% ont été enregistrées aux doses de 100 et 200 mg/kg respectivement par rapport au groupe de souris infestées et non traitées (TI). Cette réduction de la charge ovulaire hépatique était proche de celle du groupe des souris infestées puis traitées au praziquantel (PZQ) dans lequel une réduction de 99,76% a été enregistrée par rapport au groupe TI.

Les charges ovulaires intestinales des groupes de souris infestées ont été évaluées et présentées sur la **figure 47C**. L'administration du praziquantel ou de EASp aux doses de 100 et 200 mg/kg a entraîné une diminution significative de la charge ovulaire intestinale de 99,84% ($p < 0,001$), 48,94% ($p < 0,01$) et de 76,62% ($p < 0,001$) respectivement par rapport à celle des souris du groupe TI.

S'agissant de l'excrétion fécale des œufs de *S. mansoni*, le traitement des souris infestées par le praziquantel ou l'extrait aqueux de *S. pilosa* à la dose de 200 mg/kg a entraîné des réductions significatives ($p < 0,01$) de 77,87% (PZQ) et de 98,10% (EASp₂₀₀) respectivement par rapport aux souris infestées et non traitées (TI). Cette réduction était plus importante chez les souris du groupe EASp₂₀₀ (65,64%) comparativement au groupe PZQ (**Figure 47D**).

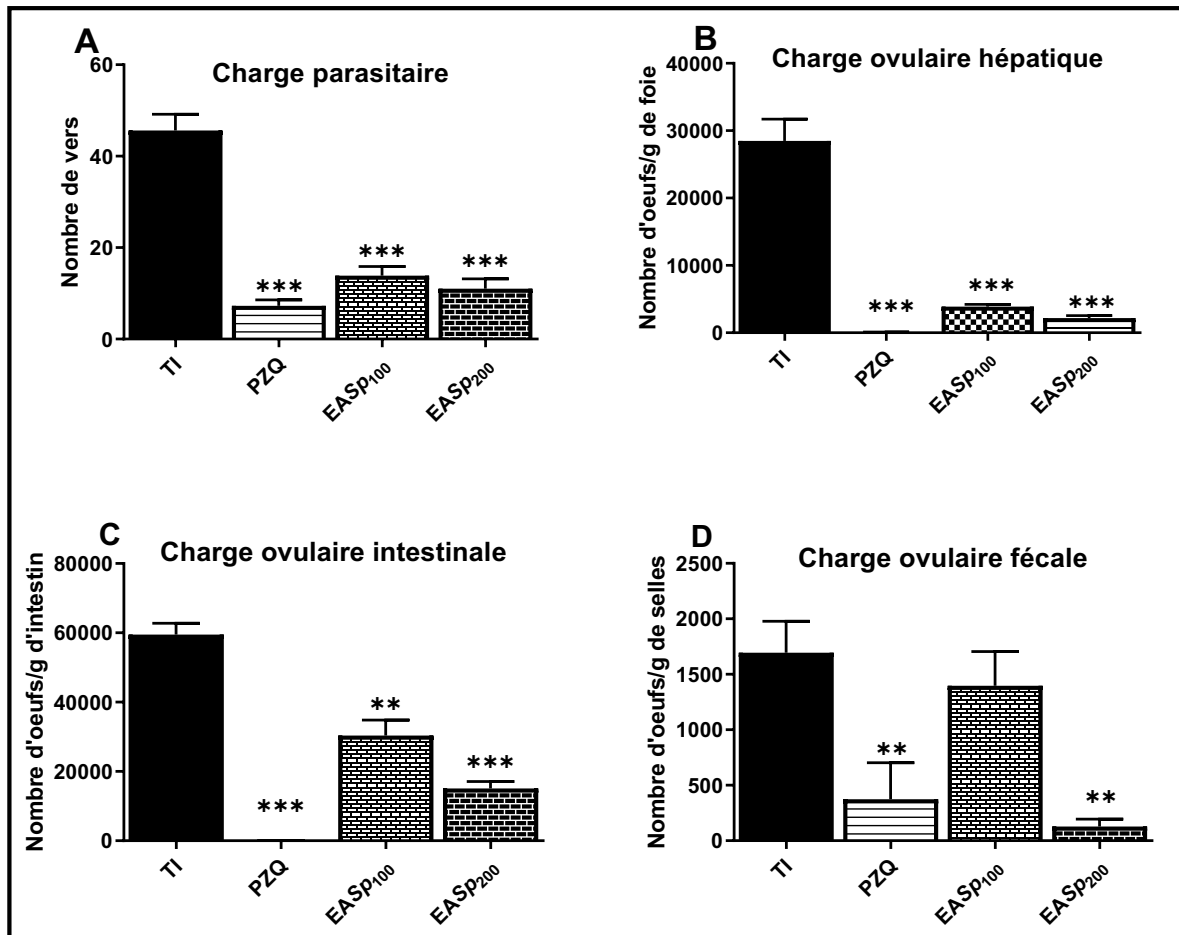


Figure 47 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur la charge parasitaire (A) et les charges ovulaires hépatique (B), intestinale (C) et fécale (D) des souris au cours de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni*.

TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; SpAE₁₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; SpAE₂₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours. **p < 0,01, ***p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI).

III.1.11.4- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur les paramètres hématologiques des au cours de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni*

III.1.11.4.1- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur les paramètres hématimétriques et le taux des thrombocytes des souris au cours de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni*

A la phase granulomateuse de l'infection à *S. mansoni* (56 jours *p.i.*), les données des paramètres hématimétriques et le taux de thrombocytes des souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux de *S. pilosa* sont présentées dans le **Tableau XXII**. A cette phase, l'infection s'est traduite par une réduction significative ($p < 0,001$) des taux d'hématies (33,98%), d'hématocrite (28,32%) associée à une augmentation significative ($p < 0,001$) du volume

globulaire moyen (33,99%), de la teneur globulaire moyenne de l'hémoglobine (71,30%) et de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (32,39%) des souris infestées et non traitées (TI) par comparaison aux souris non infestées (TS). Aucune différence n'a été enregistrée en ce qui concerne le taux d'hémoglobine. A cette phase, l'infection a également entraîné une diminution significative du taux de thrombocytes de 55,22% ($p < 0,001$).

Chez les souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux de *S. pilosa*, la dose de 200 mg/kg (EASp₂₀₀) a empêché ces variations induites par l'infection. Nous avons ainsi enregistré une augmentation significative du taux d'hématies de 78,17% ($p < 0,001$), de l'hématocrite de 24,20% ($p < 0,05$) et une réduction significative de 34,45% et de 13,99% pour la TGMH ($p < 0,001$) et la CCMH ($p < 0,01$) respectivement dans le groupe EASp₂₀₀ comparativement au groupe TI. Les valeurs de ces paramètres dans le groupe EASp₂₀₀ étaient très proches de celles du groupe TS. Le taux de thrombocytes était significativement élevé de 78,05 % ($p < 0,01$) et de 116,83% ($p < 0,001$) chez les souris infestées et ayant reçu EASp aux doses de 100 et 200 mg/kg respectivement par rapport à celui des souris du groupe TI.

L'administration du PZQ en traitement préventif aux souris a prévenu toutes les modifications des paramètres hématimétriques et du taux de thrombocytes. Par comparaison au groupe TI, une augmentation significative du taux d'hématies ($p < 0,001$), de l'hématocrite ($p < 0,05$) et des thrombocytes ($p < 0,001$), tout comme une réduction significative du VGM ($p < 0,05$), de la TGMH ($p < 0,001$) et de la CCMH ($p < 0,001$) ont été enregistrées.

L'administration de EASp à la dose de 200 mg/kg à des souris non infestées (TPh) n'a entraîné aucune variation des paramètres hématimétriques et du taux de thrombocytes par rapport à ceux des souris non infestées du groupe TS.

Tableau XXII : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur les paramètres hématimétriques et le taux de thrombocytes lors de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris.

Groupes	Phase granulomateuse						
	Hématies (10 ⁶ /mm ³)	Hémoglobine (g/dL)	Hématocrite (%)	VGM (µm ³)	TGMH (pg)	CCMH (g/dL)	Thrombocytes (10 ³ /mm ³)
TS	7,77 ± 0,56	12,73 ± 0,93	55,51 ± 0,78	60,08 ± 0,76	14,95 ± 0,26	24,02 ± 0,80	521,50 ± 16,78
TI	5,13 ± 0,33 ^{###}	10,03 ± 0,37	39,78 ± 2,12 ^{###}	80,50 ± 2,58 ^{###}	25,61 ± 1,06 ^{###}	31,80 ± 0,30 ^{###}	233,50 ± 14,26 ^{###}
PZQ	8,20 ± 0,43 ^{***}	10,53 ± 0,67	50,18 ± 1,62 [*]	65,86 ± 5,97 [*]	16,01 ± 1,33 ^{***}	24,55 ± 1,90 ^{***}	526,14 ± 50,05 ^{***}
EASp ₁₀₀	4,77 ± 0,28	12,32 ± 0,88	40,10 ± 2,58	83,87 ± 0,97 ^{αα}	25,76 ± 0,74	30,69 ± 0,71	415,75 ± 29,01 ^{**}
EASp ₂₀₀	9,14 ± 0,38 ^{***}	10,96 ± 0,71	49,41 ± 1,86 [*]	84,57 ± 2,54 ^{αα}	16,77 ± 0,65 ^{***}	27,35 ± 1,14 ^{**}	506,29 ± 48,36 ^{***}
TPh	9,16 ± 0,41	12,11 ± 0,14	54,23 ± 0,57	59,27 ± 1,18	15,37 ± 0,47	25,87 ± 0,70	573,00 ± 42,01

TS : souris non infestées ayant reçu de l'eau distillée ; TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₁₀₀ : souris infestées puis traitées au à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₂₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours ; TPh : souris non infestées recevant l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours. ^{###}p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infectées (TS). ^{*}p < 0,05, ^{**}p < 0,01, ^{***}p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI). ^{αα}p < 0,01: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs (PZQ).

III.1.11.4.2- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur le leucogramme des souris lors de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni*

A la phase granulomateuse de l'infection à *S. mansoni* (8 semaines *p.i*), la formule leucocytaire des souris infestées puis traitées à EASp est donnée dans le **tableau XXIII**. Il en ressort que l'infection est à l'origine des augmentations significatives ($p < 0,001$) de 147,19% et 212,17% du taux de leucocytes et du pourcentage de granulocytes respectivement chez les souris du groupe TI par rapport aux souris du groupe TS. La pathologie a également entraîné une baisse significative ($p < 0,001$) de 55,42% du pourcentage de lymphocytes dans le groupe TI comparativement au groupe TS. Aucune différence significative n'a été observée sur le pourcentage de monocytes des souris du groupe TI par rapport à celui des souris du groupe TS.

L'administration de EASp aux doses de 100 et 200 mg/kg a prévenu les variations induites par l'infection. Par comparaison au groupe TI, les souris des groupes *EASp*₁₀₀ et *EASp*₂₀₀ ayant reçu l'extrait aux doses 100 et 200 mg/kg ont montré une réduction significative ($p < 0,001$) du taux de leucocytes de 43,82% et 69,36% respectivement. Cet effet préventif était plus marqué à la dose de 200 mg/kg de EASp (*EASp*₂₀₀) avec également une augmentation ($p < 0,01$) du pourcentage de lymphocytes de 68,20% associée à une réduction ($p < 0,001$) de 40,69% de celui des granulocytes.

Le traitement au praziquantel a entraîné une normalisation de la formule leucocytaire. Cet effet était matérialisé par une baisse significative ($p < 0,001$) du taux de leucocytes (51,54%) et du pourcentage de granulocytes (80,01%) associée à une augmentation significative ($p < 0,001$) du pourcentage de lymphocytes (125,38%) par comparaison au groupe TI.

Entre le groupe souris saines ayant reçu EASp à la dose de 200 mg/kg (TPh) et celui constitué de souris non infestées et non traitées du groupe TS, des différences ont été observées au niveau des populations de lymphocytes et de granulocytes. Les concentrations des leucocytes et des lymphocytes étaient au moins 2 fois supérieures ($p < 0,001$) dans le groupe TPh par rapport au groupe TS. Cette augmentation des lymphocytes était associée à une baisse du pourcentage de granulocytes de 74,84% ($p < 0,01$) dans le groupe TPh.

Tableau XXIII: Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur le leucogramme lors de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris.

Groupes	Phase granulomateuse				
	Leucocytes (10 ³ /mm ³)	Lymphocytes		Monocytes (%)	Granulocytes (%)
		Pourcentage (%)	Concentration (10 ³ /mm ³)		
TS	4,45 ± 0,41	72,73 ± 0,96	3,23 ± 0,28	10,26 ± 0,71	17,25 ± 1,52
TI	11,00 ± 0,59 ^{###}	32,42 ± 3,14 ^{###}	3,54 ± 0,36	13,72 ± 1,30	53,85 ± 4,08 ^{###}
PZQ	5,33 ± 0,82 ^{***}	73,07 ± 5,04 ^{***}	3,97 ± 0,77	16,18 ± 3,21	10,76 ± 2,00 ^{***}
EASp₁₀₀	6,18 ± 0,59 ^{***}	36,94 ± 2,09 ^{ααα}	2,24 ± 0,19	11,42 ± 0,66	52,01 ± 2,48
EASp₂₀₀	3,37 ± 0,56 ^{***}	54,53 ± 6,16 ^{**α}	1,80 ± 0,29	13,53 ± 1,29	31,94 ± 5,20 ^{***}
TPh	8,77 ± 0,65 ^{###}	85,90 ± 1,29 [#]	7,47 ± 0,61 ^{###}	9,18 ± 0,68	4,34 ± 0,48 ^{##}

TS : souris non infestées ayant reçu de l'eau distillée ; TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₁₀₀ : souris infestées puis traitées au à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₂₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours ; TPh : souris non infestées recevant l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours. ^{##}p < 0,01, ^{###}p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infectées (TS). *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI). ^αp < 0,05, ^{ααα}p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs (PZQ).

III.1.11.5- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur la fonction hépatique des souris au cours de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni*

Les effets préventifs du traitement à EASp sur les atteintes de fonction hépatique des souris infestées par *S. mansoni* au cours de la phase granulomateuse de l'infection sont consignés dans le **tableau XXIV**. Il ressort de cette étude que l'infection à *S. mansoni* a entraîné une perturbation de la fonction hépatique caractérisée par une augmentation des activités enzymatiques sériques de l'ALAT ($p < 0,001$), de l'ASAT ($p < 0,001$) et de la PAL ($p < 0,01$) ainsi que de la concentration de bilirubine totale ($p < 0,001$). De plus, l'infection était associée à une baisse de l'activité enzymatique de la γ -GT ($p < 0,01$) et de la concentration de protéines totales ($p < 0,001$).

L'administration de l'extrait aqueux de *S. pilosa* aux doses de 100 et 200 mg/kg a empêché les effets délétères de l'infection sur les biomarqueurs de la fonction hépatique. A l'exception de la concentration de protéines totales qui est restée inchangée entre les groupes de souris traitées à EASp et le groupe TI, les activités enzymatiques des transaminases et de la PAL et la concentration de la bilirubine totale ont subi des réductions significatives, pendant que l'activité de la γ -GT a augmenté significativement. Par comparaison au groupe TI, une diminution ($p < 0,001$) de l'activité de l'ALAT de 39,13% pour le groupe EASp₁₀₀ et de 31,57% pour EASp₂₀₀, tout comme pour l'ASAT ($p < 0,05$) de 30,18 et 29,66% aux doses de 100 et 200 mg/kg de l'extrait aqueux de *S. pilosa* respectivement, a été enregistrée. Des réductions significatives ($p < 0,05$) du taux de bilirubine totale de 47,37% et de 60,44% ainsi que de l'activité de la PAL de 49,30% et de 61,75% ont été notées dans les groupes EASp₁₀₀ et EASp₂₀₀ respectivement par rapport au groupe TI. Le traitement à EASp a entraîné une augmentation significative ($p < 0,05$) de l'activité de la γ -GT de 90,01% et de 126,04% respectivement dans les groupes EASp₁₀₀ et EASp₂₀₀ par rapport au groupe TI.

A l'exception de l'activité de l'ASAT, qui est restée proche de celle des souris infestées et non traitées (TI), le traitement des souris infestées par le praziquantel (PZQ) a également abouti à une protection de la fonction hépatique se traduisant par une baisse significative des activités sériques de l'ALAT ($p < 0,001$) de la PAL ($p < 0,05$) ainsi que de la concentration de la bilirubine totale ($p < 0,05$) par comparaison au groupe TI.

Chez les souris non infestées ayant reçu EASp à la dose de 200 mg/kg (TPh), les paramètres de la fonction hépatique étaient similaires à ceux des souris du groupe TS.

Tableau XXIV : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur des biomarqueurs de la fonction hépatique des souris infectées par *Schistosoma mansoni* lors de la phase granulomateuse de l'infection.

Groupes	Phase granulomateuse					
	ALAT (UI/L)	ASAT (UI/L)	PAL (UI/L)	γ-GT (UI/L)	Bilirubine totale (μmol/L)	Protéines totales (mg/mL)
TS	561,89 ± 58,47	421,95 ± 32,95	198,02 ± 55,32	159,96 ± 16,85	270,56 ± 41,10	2,24 ± 0,17
TI	1429,81 ± 51,43 ^{###}	1142,65 ± 76,61 ^{###}	519,11 ± 60,01 ^{##}	59,65 ± 11,06 ^{##}	786,19 ± 84,24 ^{####}	1,05 ± 0,14 ^{###}
PZQ	858,13 ± 127,86 ^{***}	912,96 ± 72,59	280,29 ± 81,37 [*]	137,86 ± 25,85 [*]	295,68 ± 37,25 ^{***}	1,31 ± 0,13
EASp₁₀₀	870,29 ± 88,61 ^{***}	797,75 ± 98,60 [*]	263,16 ± 37,83 [*]	113,34 ± 15,59 [*]	323,14 ± 37,64 ^{***}	1,59 ± 0,17
EASp₂₀₀	893,17 ± 71,76 ^{***}	803,75 ± 79,38 [*]	198,54 ± 34,81 [*]	131,05 ± 8,16 [*]	311,05 ± 17,75 ^{***}	1,60 ± 0,08
TPh	452,42 ± 52,21	514,38 ± 136,88	183,48 ± 28,10	135,21 ± 13,40	240,02 ± 23,52	2,04 ± 0,18

TS : souris non infestées ayant reçu de l'eau distillée ; TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₁₀₀ : souris infestées puis traitées au à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₂₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours ; TPh : souris non infestées recevant l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours. ^{##}p < 0,01, ^{###}p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infectées (TS). ^{*}p < 0,05, ^{***}p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI).

III.1.11.6- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur le statut oxydant au cours de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris

III.1.11.6.1- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur des biomarqueurs du stress oxydant hépatique au cours de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris

Après 56 jours, l'infection à *S. mansoni* s'est traduite par une augmentation significative ($p < 0,001$) de la concentration hépatique de malondialdéhyde (MDA) chez les souris du groupe TI 15 fois supérieure à celle des souris non-infestées et non traitées (TS) ($151,12 \pm 12,48$ vs $9,59 \pm 1,88$ nM de MDA/g de foie). L'infection était également à l'origine d'une réduction significative du taux de nitrites de 78,22% ($p < 0,001$) et des activités enzymatiques de la superoxyde dismutase de 50,48% ($p < 0,001$) et de la catalase de 49,14% ($p < 0,01$). Une réduction de 35,04% du taux de glutathion réduit a été relevée chez les souris du groupe TI par rapport à celles du groupe TS (**Figure 48**).

L'administration de l'extrait aqueux de *S. pilosa* aux souris infestées a prévenu l'augmentation du taux de MDA ainsi que les réductions des taux de nitrites et de l'activité de la catalase découlant de l'infection. Comparativement aux valeurs enregistrées chez les souris infestées et non traitées (TI), les concentrations de MDA étaient significativement réduites ($p < 0,001$) de 77,48% et 83,87% chez les souris des groupes EASp₁₀₀ et EASp₂₀₀ respectivement. Cette inhibition de la peroxydation lipidique était associée à une amélioration du pouvoir antioxydant. En effet, des augmentations de l'activité de la catalase de 76,16% ($p < 0,05$) et de 93,31% ($p < 0,01$) ont été enregistrées chez les souris des groupes EASp₁₀₀ et EASp₂₀₀ par comparaison aux souris du groupe TI. La concentration de glutathion réduit était augmentée de 72,79% et 59,68% respectivement dans les groupes EASp₁₀₀ et EASp₂₀₀ par rapport au groupe TI. Le traitement des souris par l'extrait aqueux de *S. pilosa* aux doses de 100 et 200 mg/kg était également associée une augmentation significative ($p < 0,001$) de la concentration hépatique de nitrites de 193,58% et de 160,54% respectivement par rapport à celle du groupe TI.

Le traitement des souris infestées par le praziquantel a également été à l'origine d'une normalisation du statut oxydant caractérisée par une baisse significative de la concentration de MDA de 71,98% ($p < 0,001$) et une augmentation de la concentration de nitrites ($p < 0,001$), des activités de la SOD ($p < 0,01$) et de la catalase ($p < 0,05$) par rapport au groupe TI.

Il est important de remarquer que le statut oxydant hépatique des souris non infestées et ayant reçu l'extrait aqueux de *S. pilosa* à la dose de 200 mg/kg (TPh) était similaire à celui des souris non infestées du groupe TS (**Figure 50**).

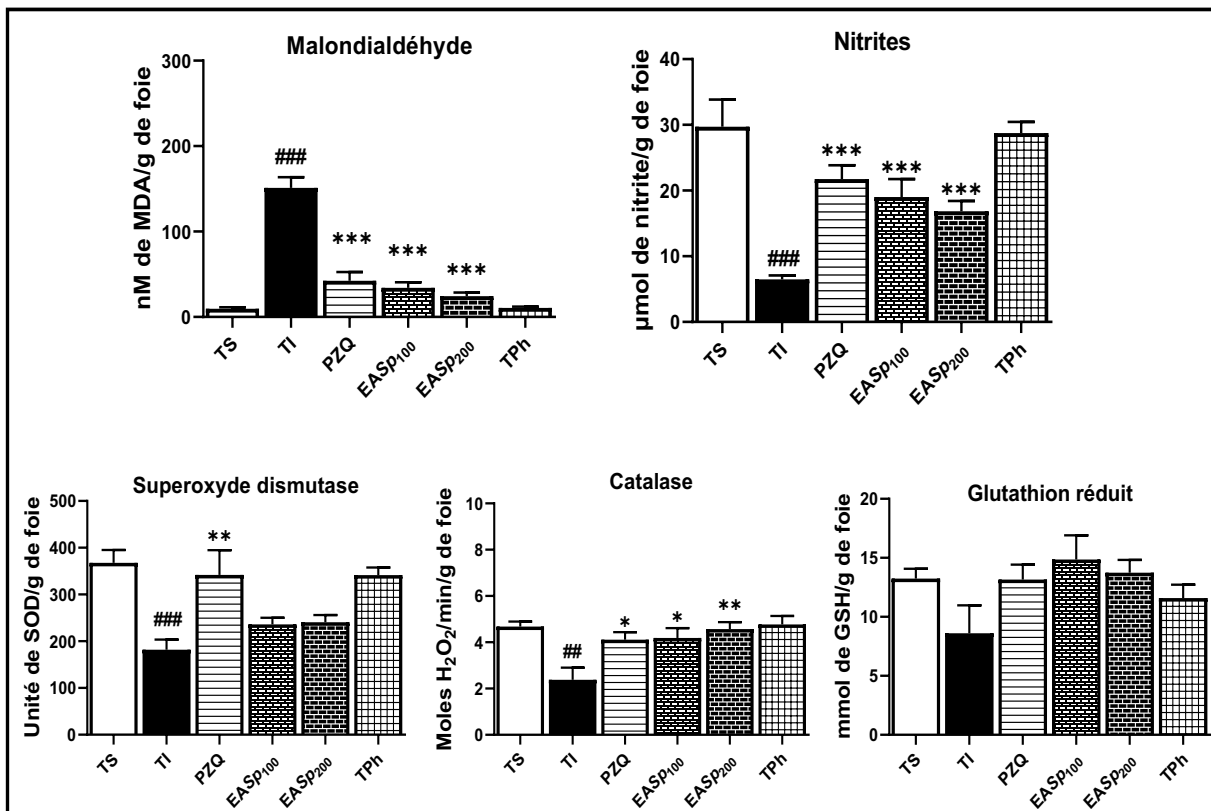


Figure 48 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur le stress oxydant hépatique au cours de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni*.

TS : souris non infestées ayant reçu de l'eau distillée ; TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₁₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₂₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours ; TPh : souris non infestées recevant l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours. ###p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infestées (TS). *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI).

III.1.11.6.2- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur des biomarqueurs du stress oxydant splénique lors de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris

Au niveau de la rate, l'infection dans sa phase granulomateuse s'est traduite par une augmentation d'environ 7 fois (p < 0,001) du taux de MDA (85,88%) associée à une réduction significative (p < 0,001) des concentrations de nitrites (66,01%) et de GSH (77,25%) ainsi que des activités de la SOD (39,35%) et de la catalase (69,51%) chez les souris du groupe TI par rapport à celles du groupe TS (Figure 49).

Le traitement des souris infestées à *S. mansoni* par l'extrait aqueux de *S. pilosa* a empêché les variations induites par l'infection. Ainsi, chez les souris infestées et traitées par EASp aux doses de 100 et 200 mg/kg, la concentration de MDA était proche de la valeur normale. En effet des réductions significatives (p < 0,001) de 77,05% et 83,18% ont été

enregistrées dans les groupes $EASp_{100}$ et $EASp_{200}$ respectivement par rapport au groupe TI. Le traitement par $EASp$ était également à l'origine d'une augmentation significative de l'activité de la catalase de 92,43% ($p < 0,05$) dans le groupe $EASp_{100}$ et de 142,23% ($p < 0,001$) dans le groupe $EASp_{200}$ comparativement au groupe TI. Des augmentations ($p < 0,05$) de la concentration de GSH de 153,51% et de 148,17% ont été enregistrées dans les groupes $EASp_{100}$ et $EASp_{200}$ respectivement. S'agissant des nitrites, leur concentration a été augmenté de 121,33% ($p < 0,05$) chez les souris infestées puis traitées à la dose de 200 mg/kg de $EASp$ par rapport à celle des souris du groupe TI. Par contre, l'activité de la SOD splénique chez souris infestées puis traitées aux deux doses de $EASp$ est restée similaires à celle des souris du groupe TI.

Le statut oxydant splénique des souris infestées puis traitées au praziquantel a été également amélioré. Cela s'est traduit par une réduction de taux de MDA de 47,67% ($p < 0,01$) et une augmentation des activités de la SOD ($p < 0,05$) et de la catalase ($p < 0,01$), ainsi que des concentrations GSH ($p < 0,01$) et de nitrites ($p < 0,05$) par rapport à celles des souris du groupe TI.

Après huit semaines d'infection, le statut oxydant splénique des souris non infestées du groupe TPh est resté similaire à celui des souris du groupe TS (**Figure 49**).

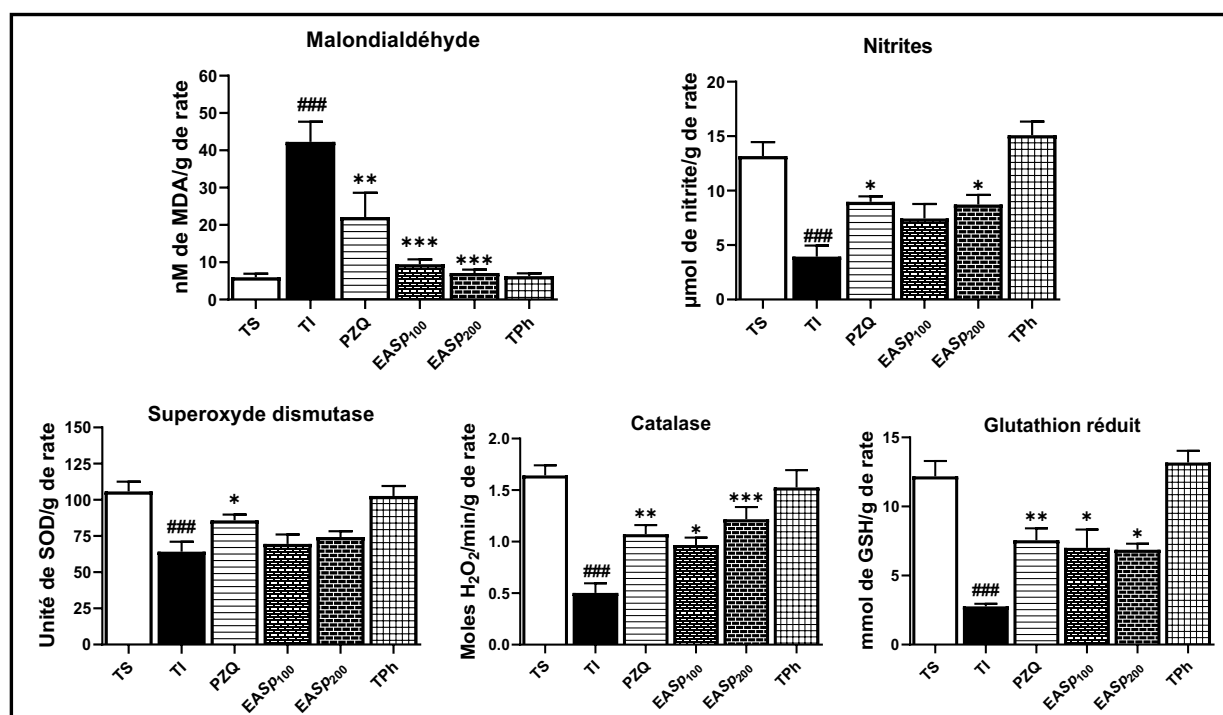


Figure 49 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur le statut oxydant splénique lors de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni*.

TS : souris non infestées ayant reçu de l'eau distillée ; TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₁₀₀ : souris infestées puis traitées au à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₂₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours ; TPh : souris non infestées recevant l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours. ###p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infectées (TS). *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI).

III.1.11.6.3- Activité antioxydante *in vitro* de l'extrait aqueux des parties aériennes *Sida pilosa*

L'activité antioxydante de l'extrait aqueux de *S. pilosa* a été évaluée par la mesure sa capacité réductrice comparée à celle de l'acide ascorbique et les résultats sont donnés sur la **figure 50**. De façon générale, Il en ressort que le pouvoir réducteur suit une évolution croissante de façon concentration-dépendante avant d'atteindre une phase de plateau.

Pour la réduction du radical DPPH, l'extrait aqueux de *S. pilosa* a montré une activité antioxydante croissante allant de 23,07 ± 0,63% (1,9531 µg/mL) à 75,68 ± 2,35% (31,25 µg/mL). La phase de plateau a été atteinte à partir de la concentration de 62,5 µg/mL de EASp avec une activité antioxydante maximale de 77,45 ± 1,45%. La CE₅₀ de EASp était de 12,83 ± 1,05 µg/mL tandis que celle de l'acide ascorbique était inférieure à 1,9531 µg/mL.

La capacité antiradicalaire de l'extrait aqueux de *S. pilosa* sur le radical ABTS a également suivi une évolution concentration-dépendante allant de 6,25 ± 0.29% (1,9531 µg/mL) à 87,56 ± 1,45% (31,25 µg/mL). Entre les concentrations de 31,25 et de 62,5 µg/mL de EASp, l'activité antioxydante atteint son plateau avec une valeur maximale de 88,38 ± 1,43% qui est quasiment identique à celle de l'acide ascorbique (90,59 ± 0,72%) à la concentration de 62,5 µg/mL. La CE₅₀ de l'extrait aqueux de *S. pilosa* est restée supérieure à celle de l'acide ascorbique (4,95 ± 0,30 vs 1,9531 µg/mL) (**Tableau XXV**).

S'agissant du pouvoir réducteur ferrique (FRAP), l'extrait aqueux de *S. pilosa* a montré une activité réductrice concentration-dépendante allant de 47,61 ± 0,09% (1,9531 µg/mL) à 96,46 ± 0,14% (15,625 µg/mL) avant d'atteindre un plateau à partir de la concentration de 31,25 µg/mL avec une valeur maximale de 98,96 ± 0,98%. De plus, le pouvoir réducteur de EASp était supérieur à celui de l'acide ascorbique à toutes les concentrations. La CE₅₀ de l'extrait aqueux de *S. pilosa* était significativement inférieure (p < 0,01) à celle de l'acide ascorbique (2,90 ± 0,35 vs 7,36 ± 0,66 µg/mL) (**Tableau XXV**).

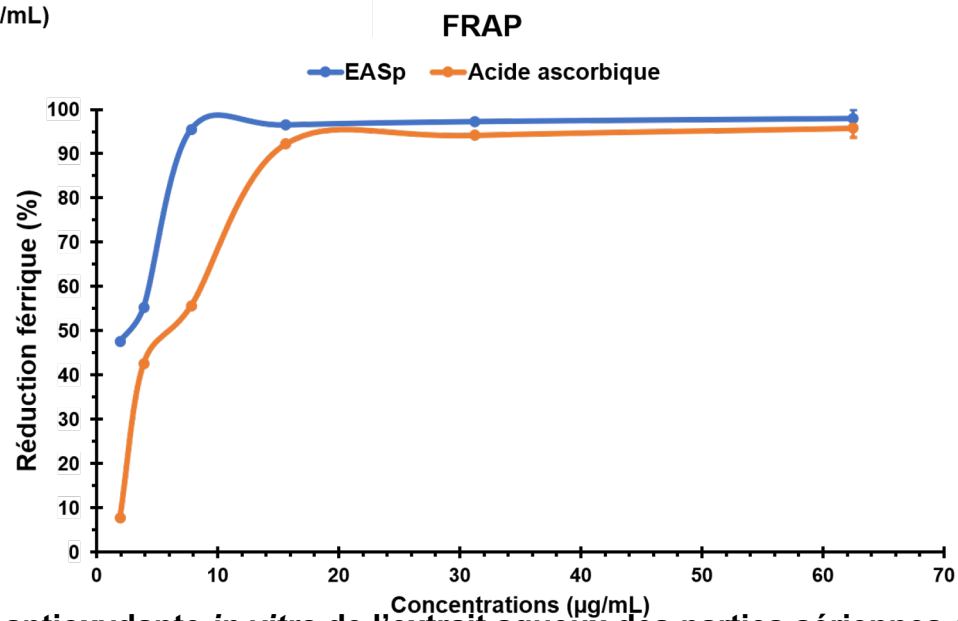
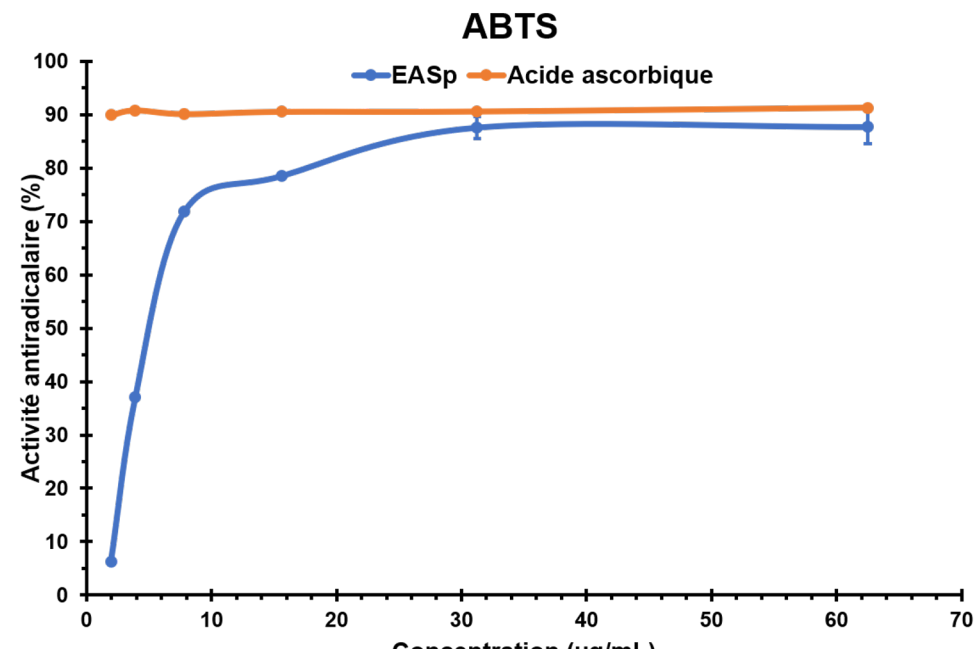
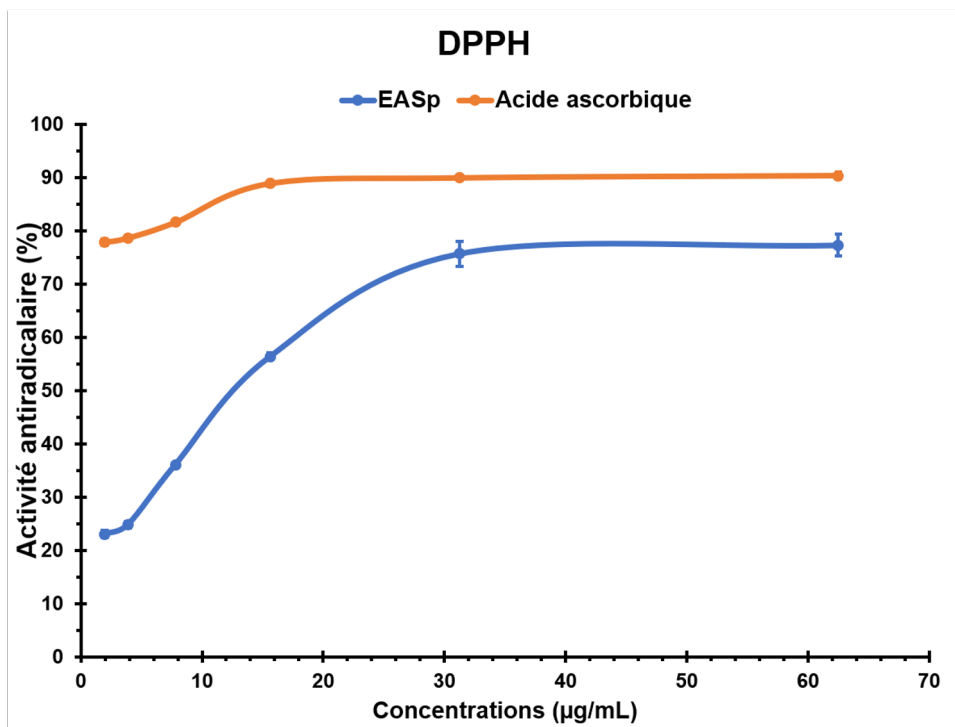


Figure 50 : Activité antioxydante *in vitro* de l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa*

Tableau XXV: Concentration efficace 50 (CE50) de l'extrait aqueux de *Sida pilosa*

Paramètres	CE ₅₀ (µg/mL)	
	EASp	Acide ascorbique
DPPH	12,83 ± 1,05	< 1,9531
ABTS	4,95 ± 0,30	< 1,9531
FRAP	2,90 ± 0,35**	7,36 ± 0,66

DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl ; ABTS : acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline- 6-sulfonique) ; FRAP : « Ferric Reducing Antioxidant Power ».

Les résultats représentent la moyenne ± SEM (n = 3). L'analyse statistique a été effectuée à l'aide du test de Student. **p<0,01: différence significative par rapport à la vitamine C (contrôle positif).

III.1.11.7- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur l'histologie et l'histomorphométrie du foie, de l'intestin et de la rate lors de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni*

III.1.11.7.1- Histologie qualitative du foie

L'examen histologique des sections de foie des souris non infestées du groupe TS et de celles des souris non infestées ayant reçu l'extrait aqueux de *S. pilosa* à la dose de 200 mg/kg (TPh) ont révélé une structure normale. En effet, La coloration à l'hématoxyline et éosine (H&E) a permis de mettre en évidence chez les animaux de ces groupes, un lobule composé de travées d'hépatocytes irriguées par un réseau de capillaires sinusoïdes qui confluent dans la veine centro-lobulaire. De plus, la coloration au picrosirius a permis de mettre en évidence la présence normale de collagène au niveau de l'endothélium de la veine centro-lobulaire (**Figures 51 et 52**). Chez les souris infestées et non traitées (TI), nous avons observé une désorganisation de l'architecture du tissu hépatique caractérisée par la présence de nombreux et volumineux granulomes inflammatoires associés à une importante infiltration leucocytaire répartie sur le parenchyme hépatique. La coloration au picrosirius a mis en exergue sur ces granulomes de nombreux foyers fibrotiques caractérisés par un dépôt accru de fibres de collagène autour de l'œuf du parasite (**Figures 51 et 52**). Par contre, la structure du foie des souris infestées puis traitées au praziquantel (PZQ) ou à l'extrait aqueux de *S. pilosa* aux doses de 100 et 200 mg/kg (EASp₁₀₀ et EASp₂₀₀) présentait très peu de granulomes inflammatoires, pour la plupart cicatriciels et de petites tailles (**Figure 51**). De plus, la fibrose hépatique était considérablement réduite chez les souris de ces groupes par rapport aux observations faites sur le foie des souris du groupe TI (**Figure 52**).

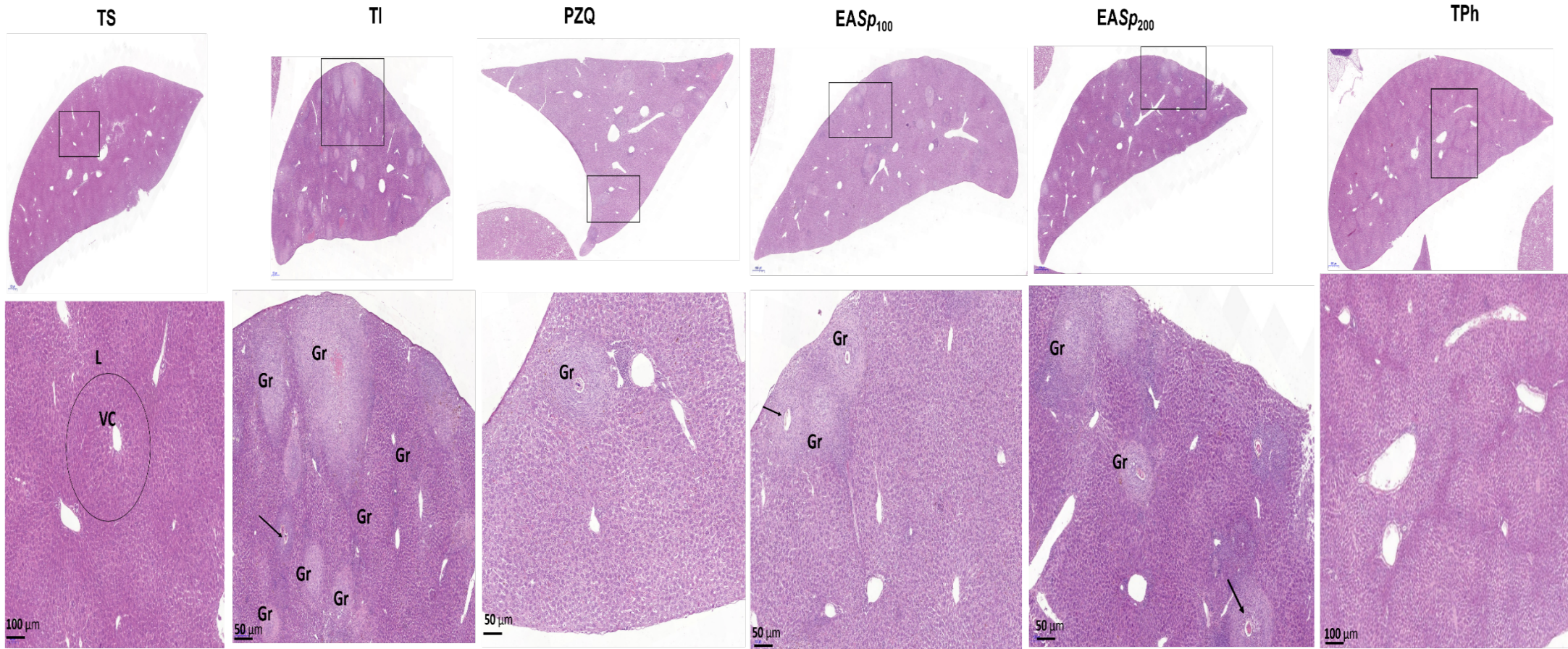


Figure 51 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur des coupes de foie de souris colorées à l'hématoxyline-éosine lors de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni*.

Gr : Granulomes bilharziens ; L : lobule hépatique ; VC : veine centrolobulaire.

TS : souris non infestées ayant reçu de l'eau distillée ; TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EAS_{p100} : souris infestées puis traitées au à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EAS_{p200} : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours ; TPh : souris non infestées recevant l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours.

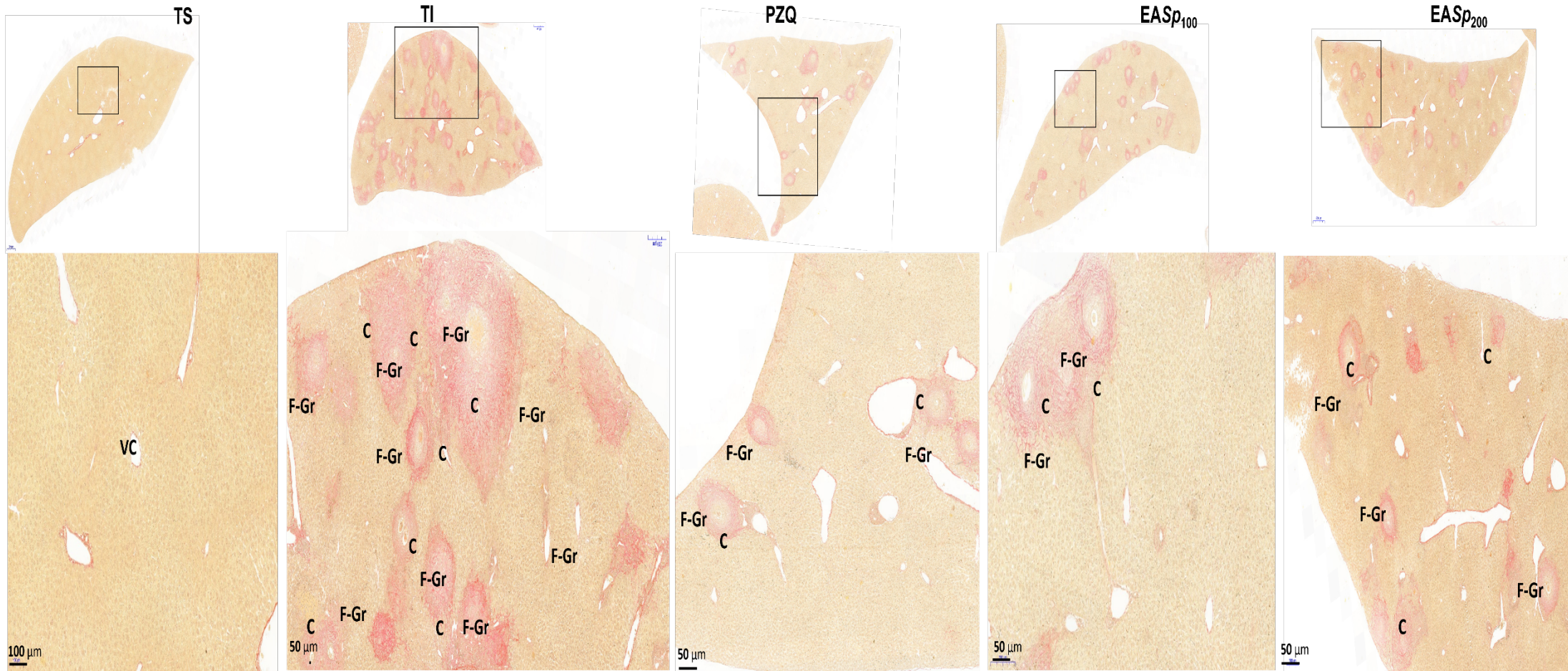


Figure 52 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur des coupes de foie de souris colorées au picrosirius lors de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni*.

F-Gr : Granulome fibrotique ; VC : veine centrolobulaire ; C : collagène (coloration rouge).

TS : souris non infestées ayant reçu de l'eau distillée ; TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₁₀₀ : souris infestées puis traitées au l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₂₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours ; TPh : souris non infestées recevant l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours.

III.1.11.7.2- Nombre et volumes des granulomes hépatiques

L'analyse histomorphométrique a révélé que le nombre et le volume moyens de granulomes inflammatoires au niveau du foie des souris infestées et non traitées (TI) étaient $25,34 \pm 4,77$ granulomes/10 champs microscopiques et $87,38 \pm 5,05 \mu\text{m}^3 \times 10^3$ respectivement (**Figures 53A et 53B**).

Chez les souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux de *S. pilosa* aux doses de 100 et 200 mg/kg, le nombre de granulomes hépatiques était significativement réduit ($p < 0,001$) de 67,16% et de 75,93 % dans les groupes EASp_{100} et EASp_{200} respectivement par rapport à celui du groupe TI. Le volume des granulomes était également réduit ($p < 0,001$) de 82,07% et de 85,32% chez les souris des groupes EASp_{100} et EASp_{200} respectivement par rapport au groupe TI. L'administration du praziquantel a significativement réduit ($p < 0,001$) le nombre de granulomes hépatiques de 93,21% et le volume des granulomes hépatiques de 87,10% (**Figures 53A et 53B**).

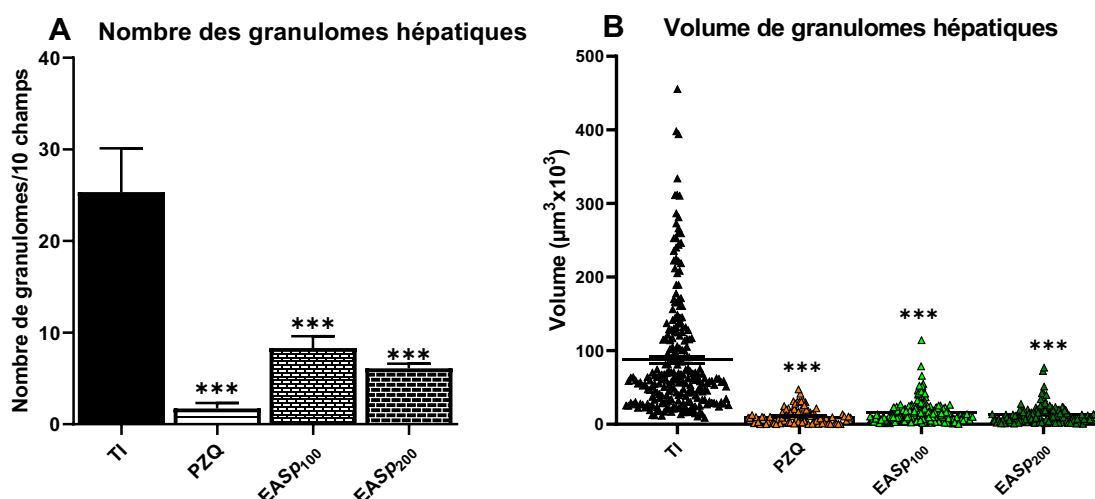


Figure 53 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux *Sida pilosa* sur le nombre (A) et le volume (B) de granulomes bilharziens hépatiques des souris infestées par *Schistosoma mansoni*.

TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EASp_{100} : souris infestées puis traitées au à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EASp_{200} : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours. Les données sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM (n = 6 ou à 8). L'analyse statistique a été effectuée à l'aide du test de l'analyse des variances (ANOVA) suivi du post-test de comparaison multiple de Tukey. *** $p < 0,001$: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI).

III.1.11.7.3- Histologie qualitative de l'intestin

Les coupes d'iléon colorées au H&E des souris non infestées et non traitées (TS) et celles des souris non infestées ayant reçu l'extrait aqueux de *S. pilosa* à la dose 200 mg/kg (TPh) présentent une paroi intestinale avec un agencement normal, continu et bien délimité de la muqueuse, la sous-muqueuse, la musculuse et la séreuse, uniformément disposées

de façon concentrique autour de la lumière. De plus, la coloration au picrosirius a permis de mettre en évidence la présence normale des fibres de collagène au niveau de la sous-muqueuse de la paroi intestinale (**Figure 54 et 55**). Au contraire, à 56 jours *p.i.*, nous avons observé une désorganisation structurale de la paroi intestinale marquée par la présence de volumineux granulomes inflammatoires au niveau de la muqueuse et de la sous-muqueuse de l'iléon des souris du groupe TI. Ces granulomes inflammatoires étaient entourés par une couche de fibres de collagène associée à la périphérie à des cellules inflammatoires. A l'inverse, bien que quelques œufs du parasite y aient été observés, les sections de l'iléon des souris traitées au praziquantel ou à l'extrait aqueux de *S. pilosa* aux doses de 100 et 200 mg/kg ne présentaient pas de granulomes inflammatoires, très peu d'infiltrations leucocytaires et la fibrose tissulaire était presque absente (**Figures 54 et 55**).

S'agissant de la taille de la paroi iléale, par comparaison à celle des souris non infestées (TS), nous avons noté un épaississement de la musculature dans tous les groupes de souris infestées et traitées ou non, bien que cet épaississement soit plus marqué dans le groupe TI (**Figures 54 et 55**).

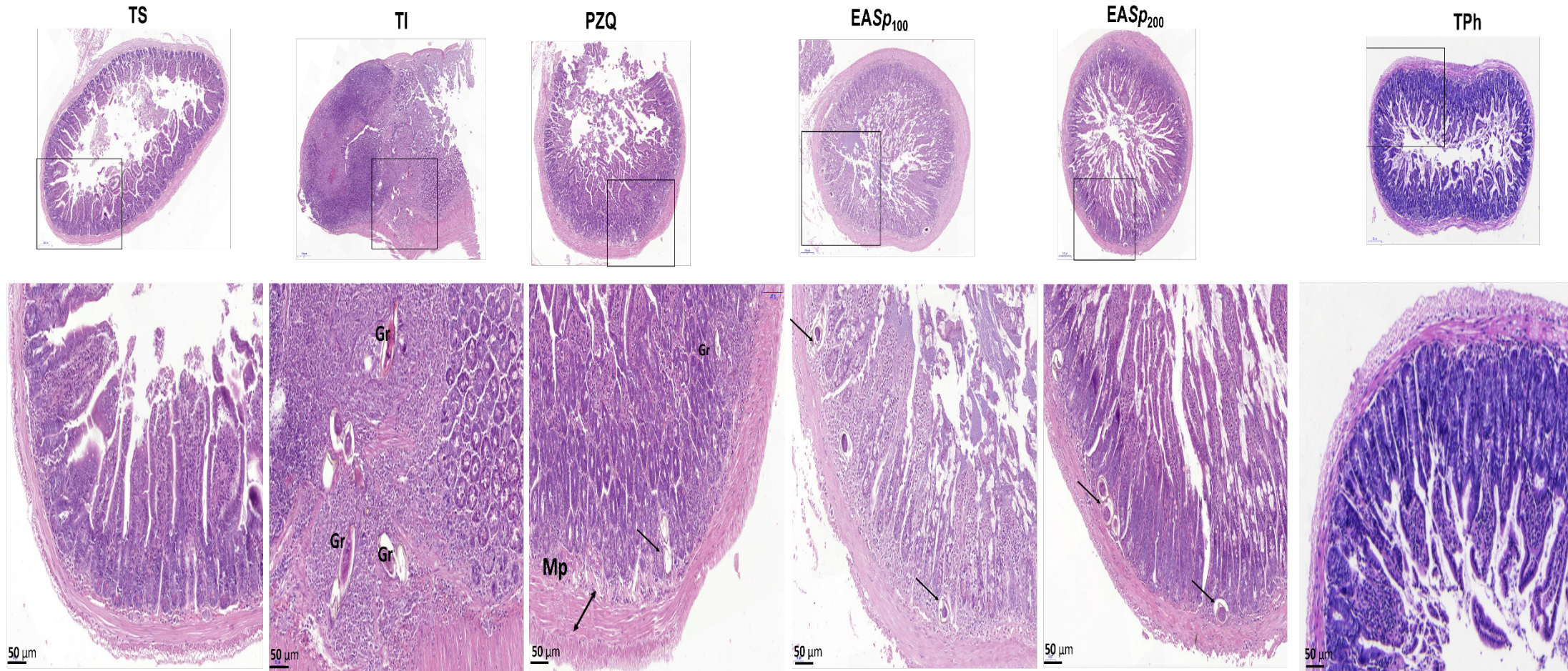


Figure 54 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur des coupes d'iléon colorées à l'hématoxyline-éosine.

Gr : Granulomes bilharziens ; Mp : muscularis propria ; la flèche indique l'œuf de *Schistosoma*.

TS : souris non infestées ayant reçu de l'eau distillée ; TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₁₀₀ : souris infestées puis traitées au à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₂₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours ; TPh : souris non infestées recevant l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours.

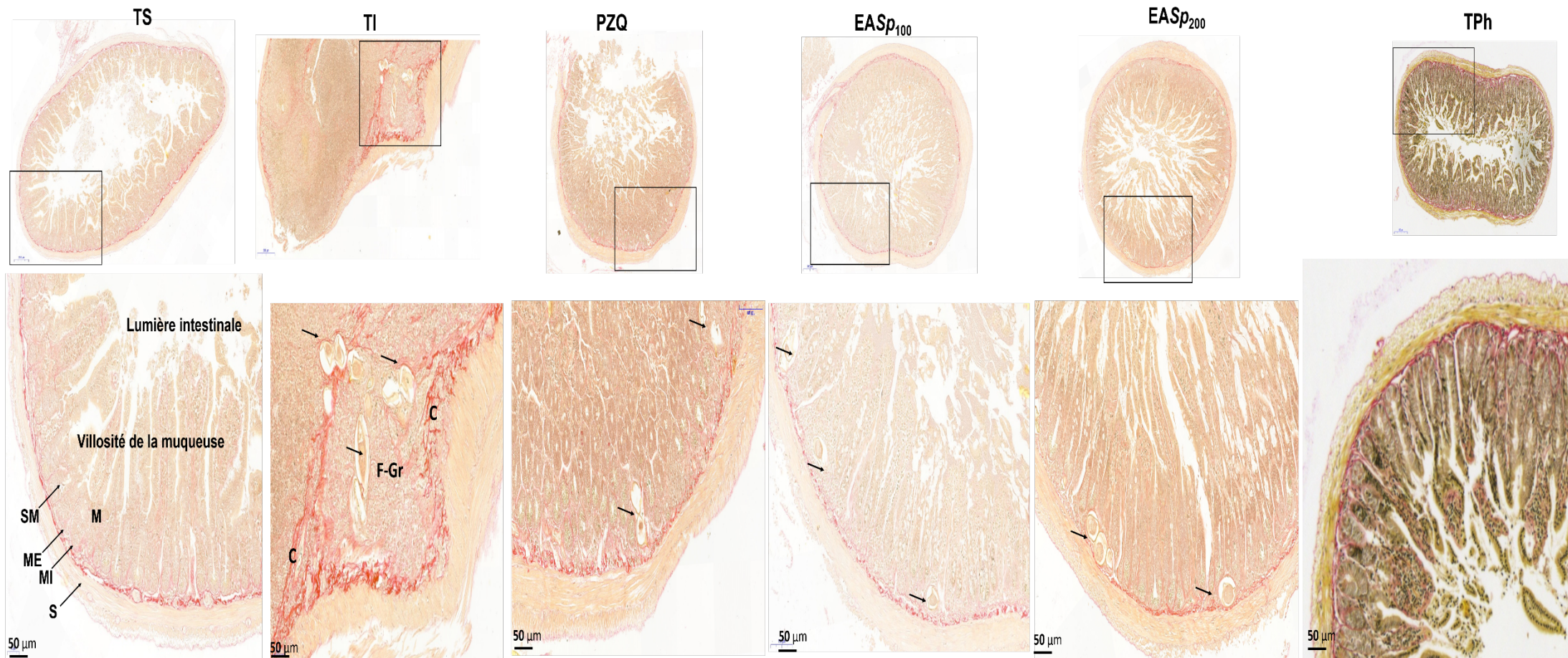


Figure 55 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur des coupes d'iléon colorées au picosirius.

F-Gr : Granulome fibrotique ; la flèche indique l'œuf de *Schistosoma mansoni* ; M : muqueuse ; SM : Sous-muqueuse ; ME : musculature externe ; MI : musculature interne ; S : séreuse.

TS : souris non infestées ayant reçu de l'eau distillée ; TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₁₀₀ : souris infestées puis traitées au à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₂₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours ; TPh : souris non infestées recevant l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours.

III.1.11.7.4- Analyse histomorphométrique de l'intestin

Les mesures effectuées sur les sections d'intestin après huit semaines d'infection ont révélé que le nombre et le volume moyens de granulomes intestinaux chez les souris infestées et non traitées (TI) étaient de $21,18 \pm 3,09$ granulomes/10 champs microscopiques et $10,28 \pm 1,96 \mu\text{m}^3 \times 10^3$ respectivement (**Figures 56A et 56B**).

Le traitement des souris infestées par l'extrait de *S. pilosa* aux doses de 100 et 200 mg/kg a entraîné une réduction significative du nombre de granulomes intestinaux de 58,47% dans le groupe EASp₁₀₀ et de 71,02% dans le groupe EASp₂₀₀ comparativement au groupe TI (**Figure 56A**). Le volume de granulomes intestinaux était également réduit ($p < 0,001$) de 84,53% et de 89,88% chez les souris des groupes EASp₁₀₀ et EASp₂₀₀ respectivement, par rapport au groupe TI (**Figure 56B**).

L'administration du praziquantel aux souris infestées a significativement réduit le nombre de granulomes de 54,25% et leur volume moyen de 89,59% comparativement à ceux des souris du groupe TI (**Figures 56A et 56B**).

Après mesure de l'épaisseur de la musculature iléale, il ressort que par comparaison aux souris non infestées (TS), la musculature iléale était significativement plus épaisse ($p < 0,001$) aussi bien chez les souris infestées et non traitées (TI) que chez celles ayant reçu le praziquantel ou l'extrait aqueux de *S. pilosa* aux doses de 100 et 200 mg/kg. Cependant, par comparaison au groupe TI, l'épaisseur de la musculature était significativement basse ($p < 0,001$) chez les souris du groupe PZQ (61,86%) ainsi que chez celles des groupes EASp₁₀₀ (37,21%) et EASp₂₀₀ (61,46%) (**Figure 56C**).

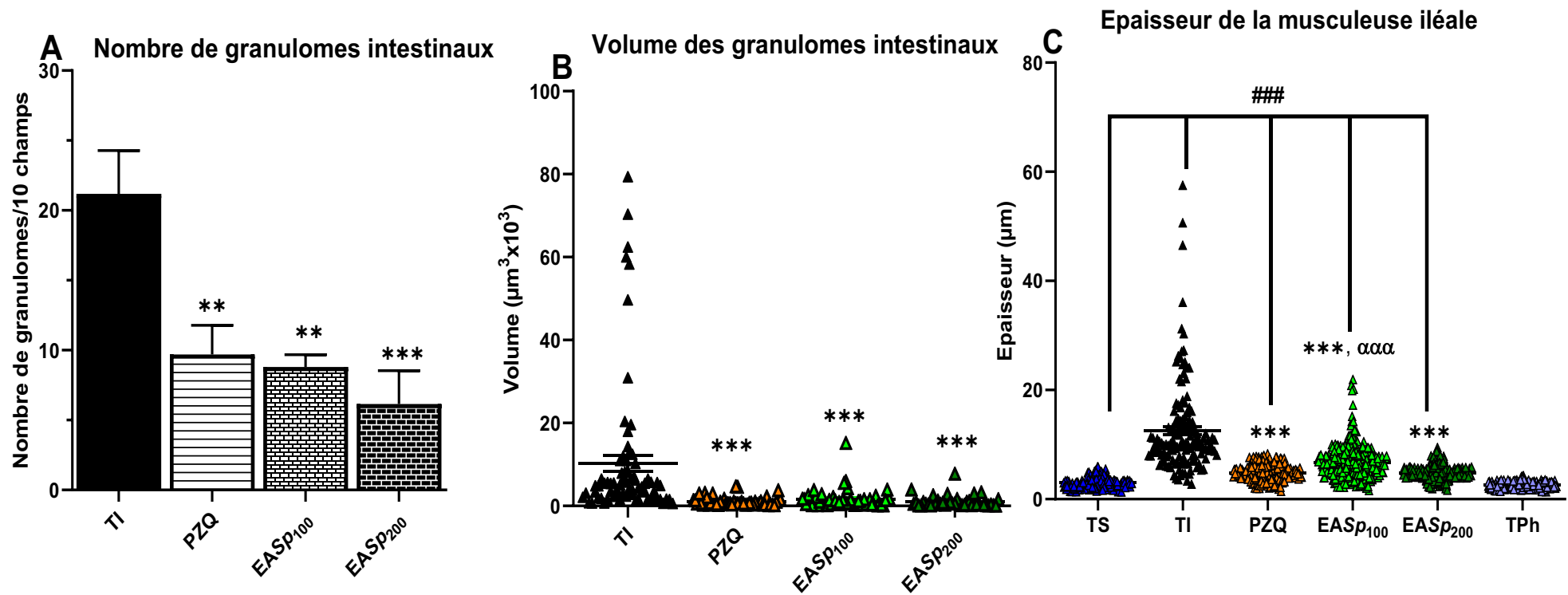


Figure 56 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur le nombre (A) et le volume (B) de granulomes bilharziens intestinaux ainsi que l'épaisseur de la musculature (C) au niveau de l'iléon des souris infestées à *Schistosoma mansoni*.

TS : souris non infestées ayant reçu de l'eau distillée ; TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₁₀₀ : souris infestées puis traitées au à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₂₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours ; TPh : souris non infestées recevant l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours. Les données sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM (n = 6 ou à 8). L'analyse statistique a été effectuée à l'aide du test de l'analyse des variances (ANOVA) suivi du post-test de comparaison multiple de Tukey. ###p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infectées (TS). **p < 0,01, ***p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI). ap < 0,05, $\alpha\alpha\alpha$ p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours consécutifs (PZQ).

III.1.11.7.5- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur la viabilité des œufs de *Schistosoma mansoni* au niveau du foie et de l'intestin des souris

La coloration au « Periodic Acid Schiff (PAS) », a permis de mettre en évidence de nombreux granulomes bilharziens constitués chacun d'un œuf de *Schistosoma mansoni* renfermant la larve (le miracidium) au niveau du parenchyme hépatique et de la paroi intestinale des souris infestées et non traitées (TI). Par contre, chez les souris infestées puis traitées au praziquantel ou à l'extrait de *S. pilosa* aux doses de 100 et 200 mg/kg, nous avons observé une réduction du nombre d'œufs de *S. mansoni* renfermant une larve au niveau des granulomes bilharziens hépatiques. Au niveau de la paroi intestinale, le traitement n'a eu aucun impact sur la viabilité des œufs du parasites (**Figures 57 et 58**).

III.1.11.7.6- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur la dégradation des hématies au niveau de la rate des souris infestées par *Schistosoma mansoni*

Par la coloration de Perls, l'hémosidérose, matérialisée le dépôt de l'hémosidérine issue de la dégradation des hématies a été recherchée. Ainsi nous avons mis en évidence l'hémosidérine répartie de façon diffuse sur le parenchyme splénique des souris infestées par *S. mansoni*. D'après les observations effectuées, la densité d'hémosidérine était plus importante sur le parenchyme splénique des souris infestées et non traitées (TI) et celui des souris infestées puis traitées au praziquantel (PZQ). La densité ces pigments étaient considérablement réduite chez les souris infestées et traitées à l'extrait aqueux de *S. pilosa* à la dose de 100 mg/kg (EASp₁₀₀). Plus encore, ces pigments étaient quasiment absents du parenchyme splénique des souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux de *S. pilosa* à la dose de 200 mg/kg (EASp₁₀₀) (**Figure 59**).

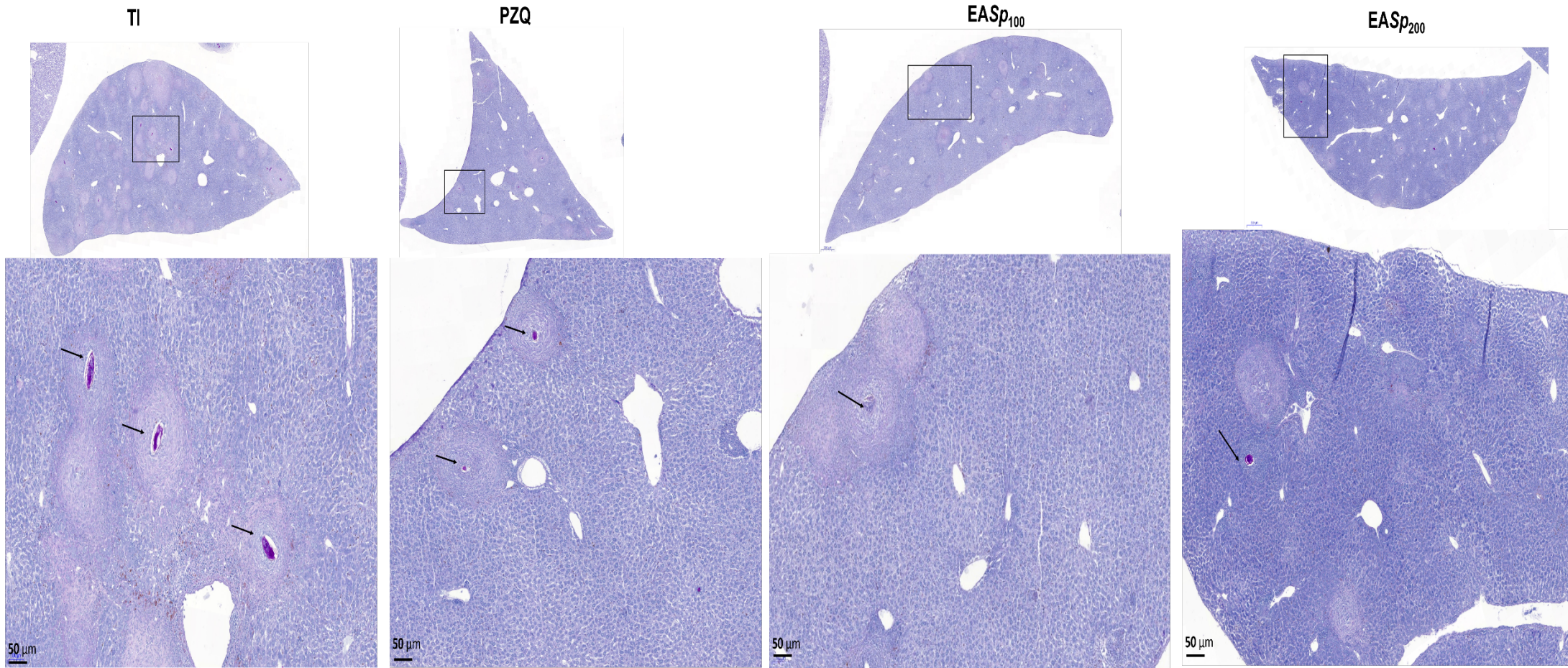


Figure 57 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur la viabilité des œufs dans les granulomes hépatiques des souris infestées à *Schistosoma mansoni*.

La flèche indique un œuf viable de *Schistosoma mansoni* (contenant un miracidium).

TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EAS_{p100} : souris infestées puis traitées au à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EAS_{p200} : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours.

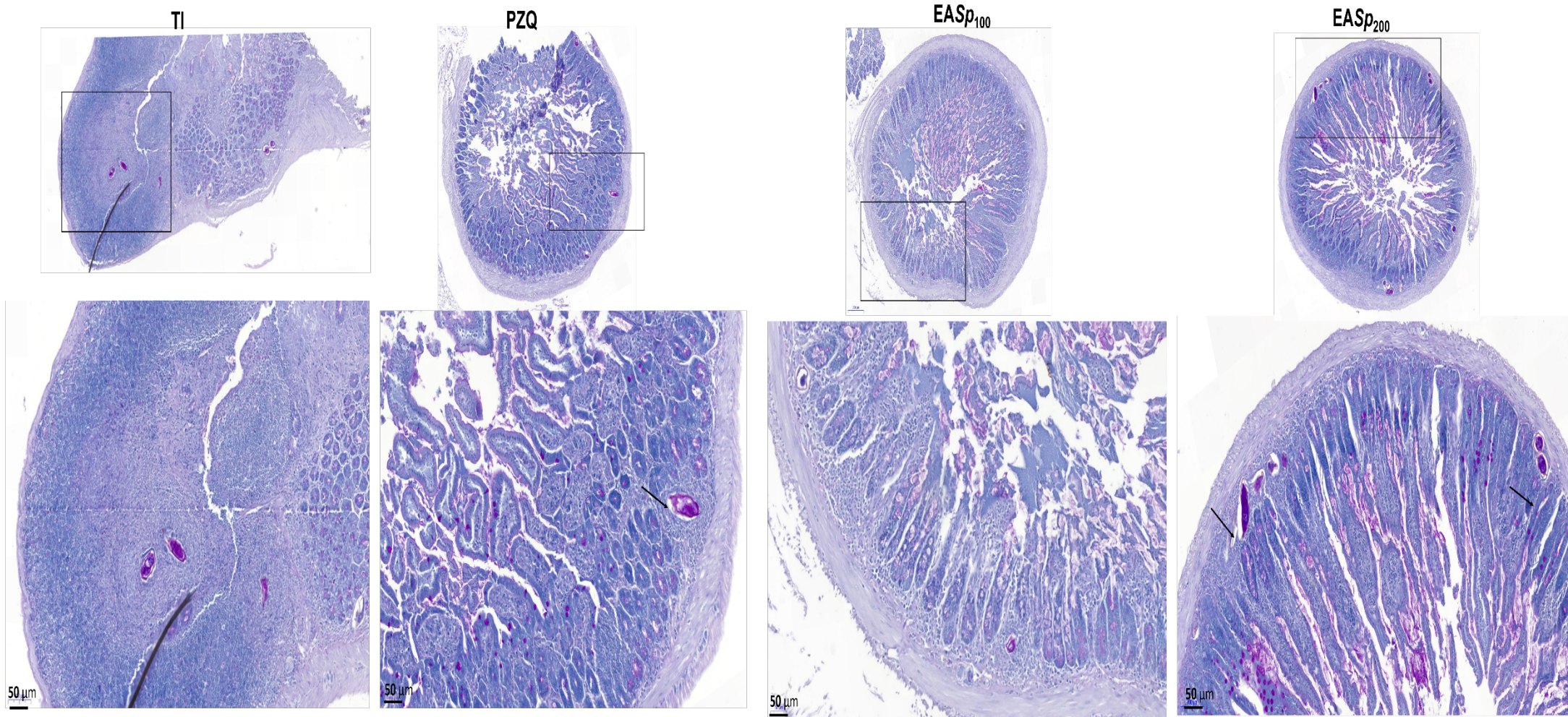


Figure 58 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur la viabilité des œufs dans les granulomes iléaux des souris infestées à *Schistosoma mansoni*.

La flèche indique un œuf viable de *Schistosoma mansoni* (contenant un miracidium).

TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₁₀₀ : souris infestées puis traitées au à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₂₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours.

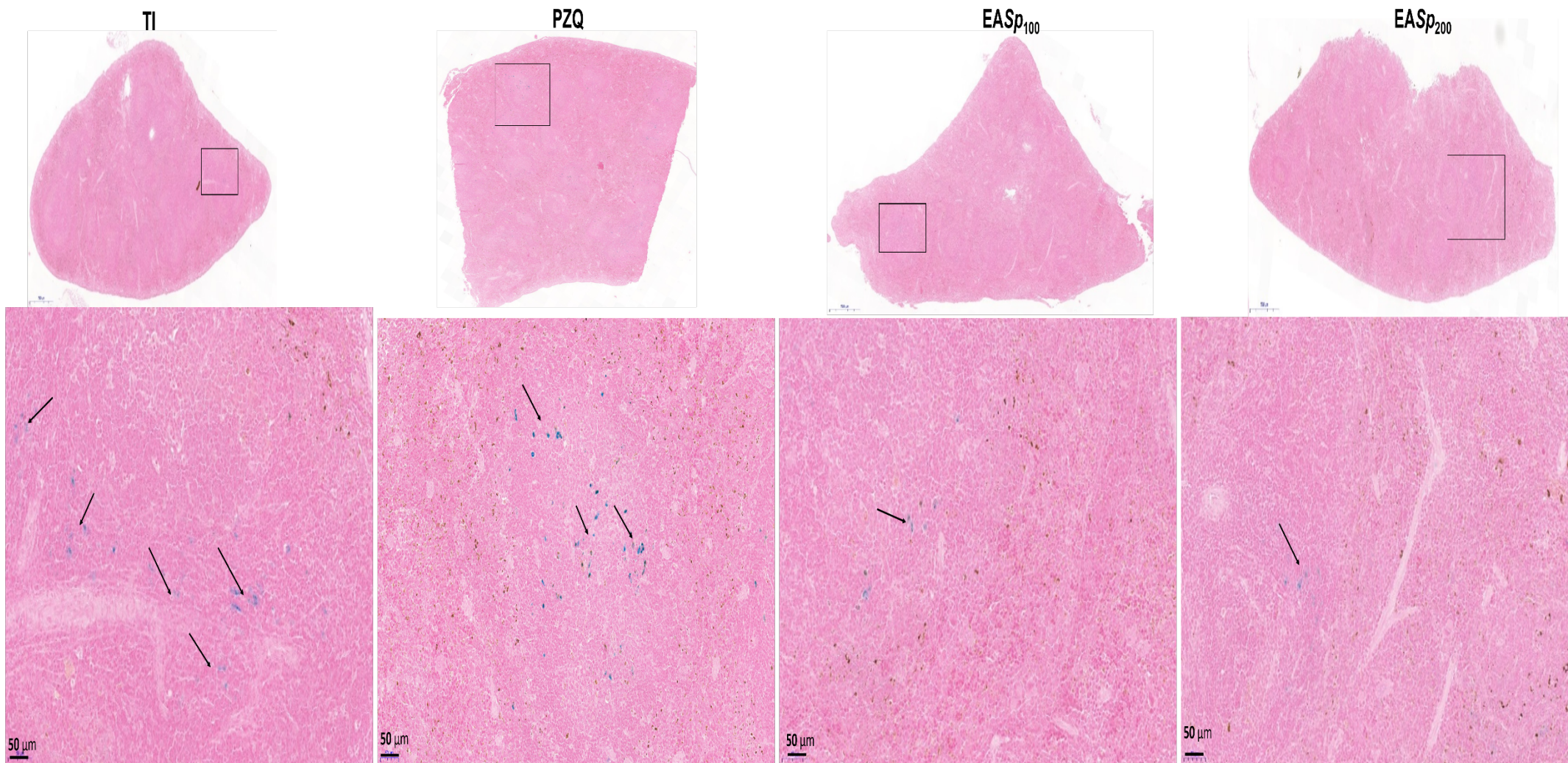


Figure 59 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur la dégradation des hématies au niveau de la rate des souris infestées par *Schistosoma mansoni* au cours de la phase granulomateuse de l'infection.

La flèche indique les pigments bleu d'hémosidérine.

TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₁₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₂₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours.

III.1.11.8- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur la réponse immunitaire au cours de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris

III.1.11.8.1- Effets du traitement préventif à l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur les concentrations sériques des cytokines et d'une chimiokine au cours de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris

Après 56 jours d'infection, les concentrations sériques de quelques médiateurs impliqués dans la réponse immunitaire antischistosomale sont présentés sur la **figure 60**. Il revient que les concentrations de la plupart des cytokines étaient inférieure à 10 pg/mL chez les souris non infestées du groupe TS. En effet, les concentrations des cytokines Th-1 telles que l'IFN- γ et le TNF- α étaient de $4,13 \pm 0,89$ pg/mL et de $9,33 \pm 1,98$ pg/mL respectivement, celles des cytokines Th-2 à savoir l'IL-4 et l'IL-5 étaient de $3,00 \pm 0,19$ pg/mL et de $6,04 \pm 3,02$ pg/mL respectivement et celle de l'IL-17 (cytokine Th-17) était de $2,86 \pm 0,99$ pg/mL. Les concentrations de l'IL-13 et de l'IL-10 n'ont pas été détectées dans le sérum des souris saines du groupe TS.

Chez les souris infestées et non traitées (TI), les concentrations d'IFN- γ et de TNF- α ont subi des augmentations 9 fois ($p < 0,001$) et 5 fois ($p < 0,01$) supérieures à celles des souris du groupe TS ($37,60 \pm 8,57$ vs $4,13 \pm 0,89$ pg/mL et $48,13 \pm 12,97$ vs $9,33 \pm 1,98$ pg/mL) respectivement. Au cours cette phase de l'infection à *S. mansoni*, les concentrations d'IL-4, d'IL-5 et d'IL-13 étaient élevées chez les souris du groupe TI. En effet, pour l'IL-4 et l'IL-5, des augmentations significatives ($p < 0,01$) 3 fois ($9,30 \pm 1,70$ vs $3,00 \pm 0,19$ pg/mL) et 55 fois ($334,94 \pm 106,28$ vs $6,04 \pm 3,02$ pg/mL) supérieures à celles du groupe TS ont été enregistrées respectivement. La concentration d'IL-13, initialement nulle dans le groupe TS, a été significativement élevée ($p < 0,01$) dans le sérum des souris du groupe TI ($16,08 \pm 3,27$ vs $0,00 \pm 0,00$ pg/mL). La concentration de la cytokine Th-17 IL-17 a subi une augmentation significative ($p < 0,001$) 21 fois supérieure ($60,71 \pm 28,51$ vs $2,86 \pm 0,99$ pg/mL) à celle des souris du groupe TS. Quant à la concentration sérique de la chimiokine MCP-1, elle était également significativement élevée ($p < 0,01$) dans le groupe TI par rapport au groupe TS ($119,55 \pm 9,61$ vs $45,17 \pm 1,47$ pg/mL). La concentration sérique de TGF- β était significativement réduite ($p < 0,05$) chez les souris du groupe TI par rapport à celle des souris du groupe TS ($26,74 \pm 6,87$ vs $75,44 \pm 9,98$). Les concentrations sériques d'IL-2 et d'IL-10 n'ont montré aucune différence significative entre les souris du groupe TI et celles du groupe TS (**Figure 60**).

L'administration de l'extrait aqueux de *S. pilosa* aux doses de 100 et 200 mg/kg aux souris infestées a prévenu considérablement les augmentations des concentrations des cytokines Th-1, Th-2 et Th-17 et de la chimiokine MCP-1 induites par l'infection à *S.*

mansoni. Par comparaison au groupe TI, les concentrations des cytokines Th-1 étaient diminuées de 57,39% ($p < 0,01$) et de 76,22% ($p < 0,001$) pour l'IFN- γ et de 62,64% ($p < 0,01$) et de 71,47% ($p < 0,001$) pour le TNF- α dans les groupes EASp₁₀₀ et EASp₂₀₀ respectivement. Pour la chimiokine MCP-1, les diminutions étaient de l'ordre de 41,74% ($p < 0,05$) et de 47,69% respectivement. S'agissant de l'IL-4 et de l'IL-5, l'administration de l'extrait aqueux de *S. pilosa* aux doses de 100 et 200 mg/kg a également conduit à des réductions significatives de leurs concentrations de 45,16% ($p < 0,05$) et 67,45% ($p < 0,01$) pour le groupe EASp₁₀₀ et 41,93% ($p < 0,05$) et 66,63% ($p < 0,01$) pour le groupe EASp₂₀₀ respectivement. Des réductions significatives de la concentration de l'IL-17 de 91,32 et 89,42% ($p < 0,001$) et de l'IL-13 ($p < 0,05$) de 67,22 et de 60,76% ont été enregistrées dans les groupes EASp₁₀₀ et EASp₂₀₀ respectivement, par rapport au groupe TI.

Le traitement à EASp était également associé à des augmentations de 127,78% et 119,67% de la concentration de TGF- β chez les souris des groupes EASp₁₀₀ et EASp₂₀₀ respectivement, par rapport au groupe TI. Chez les souris infestées et traitées au praziquantel (PZQ), des réductions significatives des concentrations de l'INF- γ (76,94%), du TNF- α (66,69%), de l'IL-4 (79,14%), de l'IL-5 (98,77%), de l'IL-13 (90,48%), de l'IL-17 (86,82%) et du MCP-1 (51,17%) comparativement au groupe TI avaient en effet été enregistrées.

Chez les souris non infestées ayant reçu EASp à la dose de 200 mg/kg (TPh), les concentrations de ces différents médiateurs immunologiques étaient similaires à celles obtenues chez les souris non infestées du groupe TS.

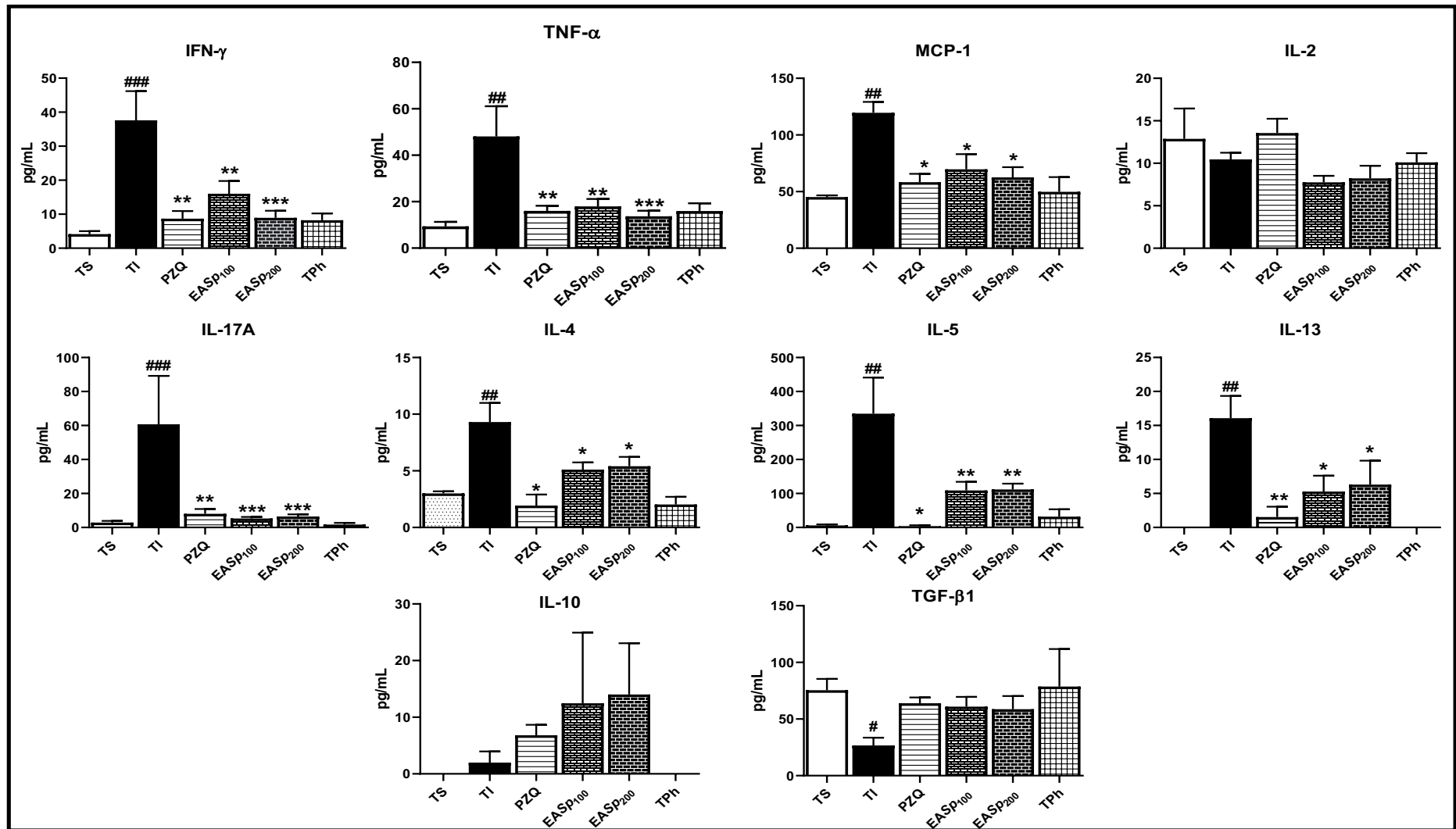


Figure 60 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur les taux sériques des cytokines et d'une chimiokine au cours de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris.

TS : souris non infestées ayant reçu de l'eau distillée ; TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₁₀₀ : souris infestées puis traitées au à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₂₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours ; TPh : souris non infestées recevant l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours. #p < 0,05, ##p < 0,01, ###p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infestées (TS). *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001: pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI).

III.1.11.8.2- Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur l'expression hépatique des gènes des cytokines et chimiokines au cours de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris

Au cours de la phase granulomateuse de l'infection, l'expression des gènes des médiateurs est présentée sur la **figure 61**.

Chez les souris non infestées du groupe TS, l'expression des gènes de tous les médiateurs immunitaires était très faible. L'expression des gènes du MCP-1, de l'IFN- γ , du MIP-1 α et de l'IP-10 était de l'ordre de $1,98.10^{-2} \pm 1,25.10^{-3}/\text{GAPDH}$, de $2,09.10^{-5} \pm 9,80.10^{-6}/\text{GAPDH}$, de $3,25.10^{-3} \pm 1,11.10^{-3}/\text{GAPDH}$ et de $2,50.10^{-4} \pm 1,44.10^{-5}/\text{GAPDH}$ respectivement. Quant à l'expression des gènes de l'IL-13 et du FGF-1, elle était de l'ordre de $5,17.10^{-2} \pm 9,88.10^{-3}/\text{GAPDH}$ et de $8,26.10^{-3} \pm 9,70.10^{-4}/\text{GAPDH}$ respectivement.

A 56 *p.i.*, les gènes de l'IFN- γ et de l'IP-10 étaient 7000 fois et 250 fois surexprimés de même que celle des gènes du MCP-1 et du MIP-1 α qui l'étaient de 16 fois ($p < 0,001$) et de 15 fois ($p < 0,01$) dans le groupe TI respectivement par rapport au groupe TS. Dans le groupe de souris infestées et non traitées (TI), l'expression des gènes de l'IL-13 et du FGF-1 était 6 fois ($p < 0,05$) et 7 fois ($p < 0,001$) supérieures à celle du groupe TS respectivement. L'expression des gènes des médiateurs immunomodulateurs (IL-10, TGF- β , RANTES et FoxP3) est restée très faible au niveau des foyers inflammatoires granulomateux hépatiques des souris non infestées et non traitées (TI).

Le traitement préventif des souris infestées *S. mansoni* par l'extrait aqueux de *S. pilosa* était associée à une réduction significative ($p < 0,05$) de l'expression des gènes de l'IFN- γ de 99,93% et de 99,72% respectivement chez les souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux aux doses de 100 et 200 mg/kg comparativement à celles du groupe TI. Des réductions de l'expression des gènes de 94,04% et 91,25% pour le MCP-1 ($p < 0,001$) et de 95,55% et 91,11% pour le MIP-1 α ($p < 0,001$) ont également été relevées chez les souris des groupes EASp₁₀₀ et EASp₂₀₀ respectivement, par comparaison à celle des souris du groupe TI. S'agissant des gènes de l'IP-10, des réductions de leur expression de 99,04% et de 97,36% ont été enregistrées dans les groupes EASp₁₀₀ et EASp₂₀₀ respectivement, par rapport au groupe TI. Le traitement à l'extrait aqueux de *S. pilosa* était également à l'origine d'une réduction significative ($p < 0,001$) de l'expression du FGF-1 de 93,65% et de 90,47% dans les groupes EASp₁₀₀ et EASp₂₀₀ respectivement, par rapport au groupe TI. Pour l'IL-13, seule la dose de 100 mg/kg de EASp a significativement réduit de 87,50% ($p < 0,01$) l'expression de ses gènes, bien qu'une réduction non significative de 56,67% par rapport au groupe TI ait été enregistrée pour le groupe EASp₂₀₀.

L'expression des gènes du TGF- β était élevée ($p < 0,05$) d'environ 14 fois chez les souris du groupe EASp₂₀₀ (93,25%) par rapport à celle du groupe TI. De plus, l'expression des gènes de l'IL-10 a subi des augmentations d'environ 11 et 16 fois chez les souris des groupes EASp₁₀₀ et EASp₂₀₀ respectivement, par rapport au groupe TI. Quant aux gènes de la chimiokine RANTES, leur expression était élevée d'environ 6 fois dans le groupe EASp₁₀₀ et de 42 fois dans le groupe EASp₂₀₀ par rapport au groupe TI. S'agissant de l'expression des gènes du FoxP3, par comparaison au groupe TI, des augmentations respectives de 126,01% et de 148,27% ont été enregistrées dans les groupes EASp₁₀₀ et EASp₂₀₀.

Chez les souris infestées puis traitées au praziquantel (PZQ), des observations similaires à celles des souris traitées à l'extrait aqueux de *S. pilosa* ont été faites, à l'exception de l'expression des gènes du FoxP3 qui est restée très faible.

Aucune différence n'a été observée entre l'expression des gènes des souris non infestées ayant reçu l'extrait aqueux de *S. pilosa* à la dose de 200 mg/kg (TPh) et celle des souris du groupe TS. Néanmoins, de l'expression des gènes du FoxP3 était 3,5 fois supérieure chez les souris du groupe TPh par rapport à celle des souris du groupe TS (**Figure 61**).

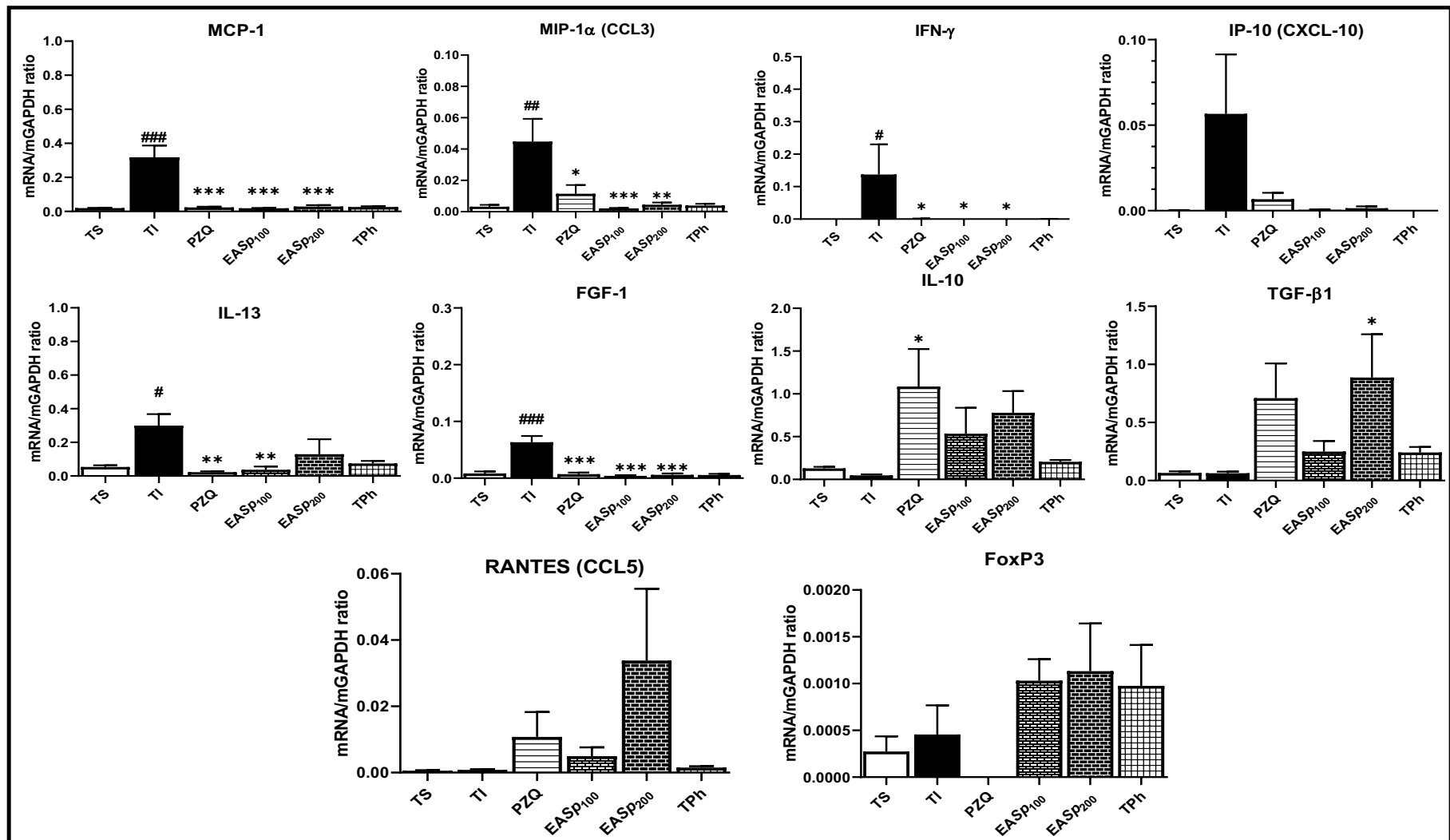


Figure 61 : Effets du traitement préventif par l'extrait aqueux de *Sida pilosa* sur l'expression des gènes des cytokines et chimiokines au cours de la phase granulomateuse de l'infection à *Schistosoma mansoni* chez la souris.

TS : souris non infestées ayant reçu de l'eau distillée ; TI : souris infestées ayant reçues de l'eau distillée ; PZQ : souris infestées puis traitées au praziquantel à la dose de 18 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₁₀₀ : souris infestées puis traitées au à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 100 mg/kg pendant 28 jours ; EASp₂₀₀ : souris infestées puis traitées à l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours ; TPh : souris non infestées recevant l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours. Les données sont exprimées sous forme de moyenne ± SEM (n = 6 à 8). L'analyse statistique a été effectuée à l'aide du test de l'analyse des variances (ANOVA) suivi du post-test de comparaison multiple de Tukey. #p < 0,05, ##p < 0,01, ###p < 0,001 : pour les différences significatives par rapport au groupe de souris non-infestées (TS). *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001 : pour les différences significatives par rapport au groupe de souris infectées et non traitées (TI).

CHAPITRE IV

DISCUSSION

III.2- Discussion

L'infection à *Schistosoma mansoni* est relativement insidieuse jusqu'à ce que les œufs libérés par les femelles et destinés à être excrétés via l'intestin soient en partie piégés dans les tissus du foie et du tractus gastro-intestinal. Les œufs induisent une réponse inflammatoire dans ces organes, entraînant une inflammation granulomateuse sévère et une fibrose. La pathologie est associée à une anémie, des douleurs abdominales, des diarrhées et des troubles cognitifs et de croissance (Elbaz et Esmat, 2013; Tallima *et al.*, 2017). Le Praziquantel (PZQ). Dans cette étude, nous avons démontré l'efficacité du PZQ ou de l'extrait aqueux des parties aériennes de *S. pilosa* (EASp) pendant la phase initiale de l'infection à *S. mansoni*, correspondant à la phase migratoire du parasite. Les résultats de cette étude montrent que les posologies de PZQ de 18 mg/kg/jour et de 100 mg/kg/jour ou les doses de 100 et 200 mg/kg/jour de EASp, administrées dès le stade initial de l'infection pendant 28 jours consécutifs à des souris infestées par *S. mansoni*, ont une activité schistosomicide sur les formes larvaires et immatures du vers, à l'origine de la diminution des charges parasitaires. Compte tenu de la similitude structurale entre le tégument de la cercaire et celui du schistosomule, ce dernier correspondant à une cercaire dépourvue de sa queue, cette activité schistosomicide serait liée d'une part à l'activité cercaricide du PZQ prouvée par Xiao *et al.* (2010) et d'autre part, au potentiel cercaricide de l'extrait aqueux de *S. pilosa* tel que démontré dans cette étude. En effet, Xiao *et al.* (2010) ont démontré que l'exposition des cercaires de *S. japonicum* au praziquantel entraîne une séparation de la queue du corps de la cercaire, une perturbation de leur activité motrice et la lyse des tissus cercariens aboutissant à une libération intensive du contenu des glandes cercariennes. Cette action est suivie de dommages importants sur le tégument des cercaires, à savoir une baisse du glycocalyx membranaire, une vacuolisation du tégument et une dégénérescence des mitochondries des cellules musculaires et tégumentaires entraînant une lyse des cellules tégumentaires et musculaires. Dans cette étude l'incubation des cercaires de *S. mansoni* avec l'extrait aqueux de *S. pilosa* a également entraîné la perte de leur queue et leur mort, ce qui pourrait traduire une similitude d'action entre l'extrait aqueux de *S. pilosa* et le praziquantel. De plus, Femoe *et al.* (2022) ont démontré que les extraits hydro-éthanoliques de *Sida acuta* et *Sida rhombifolia*, deux plantes appartenant au même genre et possédant quelques composés chimiques similaires à ceux isolés de *S. pilosa*, possède une forte activité cercaricide sur les cercaires de *S. mansoni*. La baisse des charges parasitaires chez les souris traitées à l'extrait aqueux de *S. pilosa* serait également liée à son activité schistosomicide sur les vers adultes de *S. mansoni*. En effet, Jatsa *et al.* (2015a) ont démontré que cet extrait est doté d'une activité schistosomicide sur les vers

adultes de *S. mansoni* en culture. La baisse de la charge parasitaire chez les souris traitées au praziquantel ou à l'extrait aqueux de *S. pilosa* dans cette étude était associée à la réduction des charges ovulaires hépatique, intestinale et fécale. Cette observation attesterait que le praziquantel et l'extrait aqueux de *S. pilosa*, en plus de tuer les vers immatures, pourraient diminuer la fécondité des vers adultes ayant survécus. Des résultats similaires ont été rapportés par Hoekstra *et al.* (2020) chez des enfants infectés par *S. mansoni* après traitement par quatre doses répétées de 40 mg/kg de PZQ à deux semaines d'intervalle pendant six semaines. Ainsi, Il revient que le praziquantel ou l'extrait aqueux de *S. pilosa* administré dès le stade initial de l'infection à *S. mansoni*, inhiberait la maturation des schistosomules et perturberait la fécondité des vers adultes ayant survivant chez la souris.

Plusieurs travaux ont rapporté une perte du poids corporel associée à une hépatosplénomégalie et à une augmentation du poids relatif de l'intestin au cours de l'infection à *S. mansoni* chez la souris (Jatsa *et al.*, 2015b, 2018a, 2019a). Les résultats de cette étude ont révélé que les souris infectées par *S. mansoni* présentaient une perte significative de poids, une hépatosplénomégalie et une augmentation du poids relatif de l'intestin et du thymus après 56 jours d'infection. La diminution du poids corporel serait liée à la dégradation du glucose par le parasite. En effet, il a été démontré que 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 (Skelly *et al.*, 1998; Krautz-Peterson *et al.*, 2010; You *et al.*, 2014). Cette hypoglycémie pourrait également résulter d'une faible biodisponibilité en nutriments (glucose, acides aminés et acides gras) consécutive à leur malabsorption suite aux dégâts causés par les œufs de *S. mansoni* au niveau de l'intestin d'une part, ou au désordre métabolique résultant des lésions hépatiques causées par les œufs de *S. mansoni* d'autre part. En outre, l'hypertrophie du foie et de l'intestin observée chez les souris infestées et non traitées pourrait être la conséquence du dépôt d'œufs de *S. mansoni* dans ces tissus à l'origine de la formation des granulomes bilharziens par stimulation des réactions inflammatoires autour des œufs de *S. mansoni* coincés dans le foie ou l'intestin. La présence des œufs de *S. mansoni*, en induisant une réaction inflammatoire granulomateuse chronique pourrait entraîner de sévères modifications fibrotiques ou une vacuolisation des hépatocytes, à l'origine de l'augmentation du poids de ces tissus et organes (Dkhil, 2014; Jatsa *et al.*, 2018a). L'hypertrophie observée au niveau de la rate et du thymus pourrait résulter d'une forte activité de ces organes lors de la réponse immunitaire contre le parasite. La splénomégalie pourrait quant à elle résulter d'une congestion passive ou d'une hyperplasie

du système réticulo-endothélial de la rate (Jatsa *et al.*, 2009b) ou encore d'une vacuolisation des cellules spléniques (Al-Quraishy *et al.*, 2013). Le traitement des souris infestées à *S. mansoni* par le PZQ ou l'extrait aqueux de *S. pilosa* a prévenu la perte de poids, l'hépatosplénomégalie et l'augmentation des poids relatifs du thymus et de l'intestin. Ces effets sur le poids corporel ainsi que le poids relatif du foie, de la rate, de l'intestin et du thymus pourraient être la conséquence de la réduction du nombre d'œufs piégés dans les organes consécutivement à l'activité schistosomicide du PZQ et de EASp.

L'infection à *S. mansoni* est classiquement responsable d'une inflammation granulomateuse multicellulaire entourant les œufs piégés dans divers tissus. Au niveau de ces tissus, la larve (le miracidium) contenue dans les œufs du parasite libère des antigènes solubles à activité cytolytique. Ces antigènes solubles déclenchent une réponse immunitaire de type Th2 marquée par le recrutement des cellules inflammatoires au niveau des foyers granulomateux (Hams *et al.*, 2013). Bien que la formation de ces granulomes soit bénéfique pour l'hôte, car ils le protègent contre la propagation des antigènes toxiques et cytolytiques, ce processus est à l'origine de l'augmentation d'une fibrose tissulaire sévère et irréversible. Cette fibrose est un processus complexe consécutif à une synthèse et un dépôt accru de composants de la matrice extracellulaire dont le principal est le collagène (Hams *et al.*, 2013; Sheir *et al.*, 2015; Jatsa *et al.*, 2018a; Kamdem *et al.*, 2018). Dans le foie, les granulomes fibrotiques se forment principalement autour des œufs logés dans les veinules capillaires pré-sinusoïdales du foie. La forme intestinale de la maladie se caractérise par une réponse granulomateuse muqueuse qui entraîne une pseudo polypose, une micro-ulcération et des saignements superficiels (Hams *et al.*, 2013; Kamdem *et al.*, 2018). Dans le présent travail, un traitement précoce des souris infestées à *S. mansoni* par le PZQ à 18 mg/kg/jour ou 100 mg/kg/jour ou par l'extrait aqueux de *S. pilosa* aux doses de 100 et 200 mg/kg/jour pendant 28 jours a prévenu l'installation des inflammations hépatiques et intestinales. Cela s'est traduit par la réduction du nombre et de la taille des granulomes fibreux dans le foie et l'intestin et la réduction de l'épaisseur musculaire iléale. Ces réductions ont été corrélées à la diminution des charges ovulaires hépatiques et intestinales consécutives à la réduction de la charge parasitaire chez les souris traitées au PZQ ou à l'extrait aqueux de *S. pilosa* (Jatsa *et al.*, 2018a). De plus, l'extrait ou le PZQ a entraîné la destruction des œufs du parasite se traduisant par une baisse du nombre d'œufs de *S. mansoni* viables au niveau du parenchyme hépatique. Cet effet aboutirait à la succession des événements suivants : la mort des miracidiums, l'inhibition de la libération et de la propagation des antigènes cytolytiques et la réduction de la lyse des cellules environnantes. Cette action aurait alors pour conséquence la limitation de la destruction tissulaire, l'inhibition de la synthèse du

collagène et d'autres protéines de la matrice extracellulaire et donc, la baisse de la fibrose tissulaire. Ce résultat confirme l'activité antifibrotique de l'extrait aqueux de *S. pilosa* au niveau du foie et de l'intestin des souris infestées à *S. mansoni* telle que précédemment démontrée par les travaux Jatsa *et al.* (2016) où une diminution du taux d'hydroxyproline, précurseur de la synthèse du collagène dans les processus fibrotiques, avait été enregistrée chez les souris infestées à *S. mansoni* puis traitées par l'extrait aqueux de *S. pilosa*. A la lumière de ce qui précède, nous remarquons que le praziquantel et l'extrait aqueux de *S. pilosa* administrés lors du stade initial de l'infection à *S. mansoni* chez la souris, protégerait contre l'hépatosplénomégalie, la lyse des tissus hépatique et intestinal et la fibrose.

Les œufs de schistosomes induisent une fibrose hépatique, un processus pathologique typique pouvant entraîner une cirrhose irréversible et l'incapacité du foie à remplir sa fonction biochimique (Abdel-Hafeez *et al.*, 2012; El-Lakkany *et al.*, 2012). Des études antérieures ont permis de montrer que la pathologie hépatique au cours de l'infection aiguë induite par la schistosomiase chez la souris (5 à 6 semaines *p.i*) était associée à une altération de la fonction hépatique et à un déséquilibre de la balance oxydante. Ces altérations ont été exacerbées avec la progression de l'infection (8 à 12 semaines *p.i*) (Rizk *et al.*, 2012; Amina *et al.*, 2019). Il a été démontré que chez les souris infectées par *S. mansoni*, la cytolyse hépatique causée par l'action toxique des antigènes libérés par les œufs du parasite piégés au niveau du parenchyme hépatique conduit au relargage des transaminases vers la circulation sanguine se traduisant par une augmentation de concentrations sanguines de transaminases et de la phosphatase alcaline (Aly *et al.*, 2013; Fahmy *et al.*, 2014; Jatsa *et al.*, 2018b, 2019a, 2019b). De plus, l'augmentation du taux de bilirubine totale suite à l'infection à *S. mansoni* serait liée à la dégradation de l'hémoglobine des globules rouges par les vers du parasite, à un défaut de conjugaison de la bilirubine par le foie dû à la lyse des hépatocytes, ou à une oblitération des canalicules biliaires suite à la fibrose hépatique qui empêcherait donc son élimination (Thapa et Walia, 2007). En effet, pour sa nutrition, *S. mansoni* dégrade l'hémoglobine des globules rouges et l'hème qui en résulte se transforme en bilirubine sous l'action de l'hème oxygénase-1. De plus, les œufs coincés au niveau du foie entraînent la mort par nécrose des hépatocytes, ce qui limite la capacité du foie à conjuguer la bilirubine. La fibrose hépatique qui résulte de l'action des œufs de *S. mansoni* est également à l'origine d'une cholestase empêchant le passage de la bilirubine conjuguée vers la vésicule biliaire (Thapa and Walia, 2007; Krier and Ahmed, 2009). Tous ces facteurs seraient en faveur d'une augmentation du taux sérique de bilirubine. L'infestation à *S. mansoni* s'est également traduite par une baisse du taux de protéines totales. Cette hypoprotéïnémie serait liée d'une part à une surproduction de

radicaux libres et d'espèces oxygénées activées capables d'oxyder les protéines, les rendant ainsi vulnérables à l'action des protéases (Favier, 2003) et d'autre part, aux dommages hépatiques induits par l'infection. En effet, en cas de nécrose hépatocytaire et de fibrose hépatique induits par *S. mansoni*, on assiste à une baisse de l'anabolisme protéique et à une augmentation du catabolisme protéique. De plus, une malabsorption intestinale induite par les œufs de *S. mansoni* serait un facteur contribuant à la baisse de la synthèse des protéines par défaut d'absorption des acides aminés (Rizk *et al.*, 2012). Ce déséquilibre du métabolisme des protéines serait donc à l'origine de la baisse du taux de protéines totales sériques observée. La réduction des activités de l'ALAT, de l'ASAT et de la PAL ainsi que le taux bilirubine totale et l'augmentation de la concentration des protéines totales dans le sérum des souris infestées par *S. mansoni* après traitement au PZQ à la dose de 18 mg/kg/jour ou à EASp aux doses de 100 et 200 mg/kg comparativement aux souris infestées et non traitées pendant la phase de maturation du parasite caractérisent une stabilisation de la fonction hépatique. Cet effet serait lié à la capacité du PZQ et de l'extrait aqueux de *S. pilosa* à empêcher ou le développement des vers immatures, limitant ainsi le dépôt important des œufs au niveau du tissu hépatique. Cette action protégerait ainsi le parenchyme hépatique de l'effet cytotoxique des antigènes libérés par le miracidium et des dommages tissulaires causées la réponse inflammatoire granulomateuse et la fibrose hépatique.

L'infection à *S. mansoni* est accompagnée d'une surproduction d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote associée un affaiblissement des défenses antioxydantes induisant un déséquilibre de la balance oxydante à l'origine de l'installation d'un stress oxydant au niveau du foie (Dkhil, 2014; Jatsa *et al.*, 2015b, 2018a, 2019b) et de la rate (Al-Quraishy *et al.*, 2013). Dans le présent travail, l'infection à *S. mansoni* a altéré la défense antioxydante endogène. De plus, le MDA, un produit de peroxydation des lipides, était surproduit. En effet, la peroxydation lipidique a été reconnue comme une conséquence importante des dommages oxydants dans la schistosomiase (Amina *et al.*, 2019). L'épuisement marqué du taux de GSH, des activités de la SOD et de la catalase, antioxydants clés endogènes, chez les souris infectées et non traitées reflète les dommages cellulaires hépatiques et spléniques. Cet épuisement pourrait être lié à l'augmentation du stress oxydant et à l'activité cytotoxique de H₂O₂ produite en raison de l'inhibition de l'activité de la glutathion réductase (Rizk *et al.*, 2012). L'administration du PZQ à 18 mg/kg/jour ou de l'extrait aqueux de *S. pilosa* aux doses de 100 et 200 mg/kg pendant 28 jours a entraîné une réduction du taux de MDA et une augmentation des activités de la SOD et de la catalase ainsi que du taux de GSH. Il apparaît que ces traitements préviennent l'installation du stress oxydant et

préservent la capacité antioxydante des cellules du foie et de la rate. Cet effet pourrait être corrélé à la capacité du PZQ ou de l'extrait aqueux de *S. pilosa* à tuer les vers immatures et à éviter le dépôt d'œufs dans les organes. Par ailleurs, le stress oxydant splénique induit par l'infection à *S. mansoni* serait la conséquence de l'hémosidérose observée sur le parenchyme splénique des souris infestées et non traitées après la coloration de Perls. Cette hémosidérose est caractérisée par un dépôt important de l'hémosidérine, pigment bleu réparti de façon diffuse sur le parenchyme splénique, et résultant de la dégradation des hématies ectopiques par les macrophages (« sidérophages ») au niveau de la pulpe rouge de la rate. Ces hématies ectopiques résultent de l'extravasation du sang suite à l'hémorragie consécutive aux perforations causées par l'éperon de l'œuf de *S. mansoni* sur la paroi des vaisseaux sanguins de l'hôte. L'intensité du dépôt de l'hémosidérine est proportionnelle à l'intensité des hémorragies. Ce dépôt d'hémosidérine accru est associé à une surcharge ferrique qui rentre dans la réaction de Fenton à l'origine de l'installation du stress oxydant au niveau de la rate (Van Bolhuis *et al.*, 2004). Le traitement des souris infestées par EASp, associé à une baisse de la charge parasitaire et de l'oviposition, aurait prévenu ces hémorragies et limité le dépôt de l'hémosidérine et la surcharge ferrique empêchant l'oxydation du fer et favorisant l'amélioration du statut oxydant splénique.

Au cours de l'infection à *S. mansoni*, une diminution du taux de nitrites est également enregistrées (Jatsa *et al.*, 2018a, 2019a). Ceci a été le cas dans la présente étude. Cette diminution du taux de nitrites serait causée par un défaut de l'action de l'hème, ce dernier étant important pour le maintien de l'intégrité structurale des iNOS. En effet, la dégradation de l'hème par le ver adulte du schistosome entraîne un trouble de l'intégrité structurale des dimères des iNOS, ce qui va entraîner à son tour une inhibition de leur activité (Hirata *et al.*, 2001). Par leur action schistosomicide, le PZQ et l'extrait aqueux de *S. pilosa* aurait empêcher l'inhibition des iNOS et la production de nitrites dont l'action inhibitrice sur la croissance, la maturation et la fécondité des vers de schistosomes a été démontré. En effet, les travaux de Shen *et al.* (2017, 2022) avaient rapporté que les l'activité des iNOS corrélée à un taux élevé de nitrites chez les souris infestées par *S. japonicum* inhibent la croissance et le développement des organes reproducteurs des vers immatures ainsi que le développement des œufs du parasite chez les vers femelles adultes aboutissant à la production d'œufs non viables et limitant ainsi leur action cytolytique au niveau des tissus cibles. Ainsi, par leur action schistosomicide, le praziquantel et l'extrait aqueux de *S. pilosa* a prévenu l'installation d'un stress oxydant au niveau hépatique et splénique.

Plusieurs auteurs ont rapporté une anémie au cours des phases aiguë et chronique de l'infection induite par la schistosomiase. Elle est caractérisée par une diminution des taux

d'hématies et d'hémoglobine, ainsi que du pourcentage de l'hématocrite (Sorgho *et al.*, 2017; Al-kazzaz *et al.*, 2018). Dans cette étude, l'anémie macrocytaire normochrome observée après 56 jours d'infection à *S. mansoni* pourrait être d'une part, la conséquence des hémorragies provoquées par les perforations induites par l'éperon des œufs du parasite au niveau des vaisseaux sanguins hépatiques et de la paroi intestinale (Rizk *et al.*, 2012). D'autre part, cette anémie résulterait de la dégradation des hématies par les vers de schistosomes. En effet, pour leur nutrition, les vers adultes de schistosomes détruisent les hématies, et l'hémoglobine est ensuite libérée dans le caecum des schistosomes, où elle est dégradée en acides aminés nécessaires à la synthèse des protéines parasitaires (Al-Kazzaz *et al.*, 2018; Thétiot-Laurent *et al.*, 2013). Le traitement des souris infestées par le PZQ ou par l'extrait aqueux de *S. pilosa* a prévenu l'anémie en améliorant le taux des hématies ainsi que l'hématocrite. En effet, par réduction de la charge parasitaire et de l'oviposition, le traitement à 18 mg/kg/jour ou 100 mg/kg/jour de PZQ ou à l'extrait de *S. pilosa* aux doses de 100 et 200 mg/kg pendant 28 jours pendant la phase initiale de l'infection aurait limité les saignements hépatiques et intestinaux et l'alimentation des schistosomes à partir des hématies de l'hôte. L'infection à *S. mansoni* était également accompagnée d'une leucocytose et d'une granulocytose à 5 et à 8 semaines *p.i.* Les granulocytes sont essentiels dans les mécanismes de défense de l'hôte contre les agents pathogènes envahisseurs car ils sont rapidement recrutés sur le site de l'infection (Sorci *et al.*, 2013). De plus, ces types cellulaires jouent un rôle dans l'initiation et le maintien de l'inflammation chronique et pourraient être impliqués dans l'installation de la pathologie sévère induite par la réponse immunitaire contre *S. mansoni* (Soliman *et al.*, 2003; Mohammed *et al.*, 2006; Pérez del Villar *et al.*, 2013; Mahmoud et Elbessoumy, 2014). Après l'administration du PZQ à la dose 18 mg/kg/jour ou de l'extrait aqueux de *Sida pilosa* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours, le nombre total de leucocytes et de granulocytes a atteint des niveaux proches de la normale chez les souris infectées. Cette stabilisation pourrait être attribuée à la capacité du PZQ ou de EASp à tuer les parasites et à limiter l'immunogénicité des antigènes produits par les vers et les miracidium de schistosomes survivants (El Shenawy *et al.*, 2008).

Dans cette étude, la thrombocytopénie enregistrée chez des souris infectées et non traitées est similaire à l'observation faite par plusieurs auteurs qui ont démontré qu'un faible taux de plaquettes sanguines est associé à l'infection induite par la schistosomiase chez la souris (Ngaiza and Doenhoff, 1987; Stanley *et al.*, 2003a, 2003b) ou chez l'humain (Drummond *et al.*, 2014; Eyayu *et al.*, 2020b). Précisément, Stanley *et al.*(2003b) ont rapporté que la thrombocytopénie apparaît chez la souris seulement quelques jours après

la pénétration des larves du parasite dans la circulation sanguine. De plus, Petroianu *et al.* (2005) ont démontré que la thrombocytopénie est également associée à la splénomégalie et à la fibrose hépatique au stade hépatosplénique de la schistosomiase et que cette thrombocytopénie pourrait avoir deux origines. Premièrement, les vers interfèrent avec l'hémostase primaire en inhibant l'activation et l'agrégation des thrombocytes médiées par l'ADP. En effet, le tégument du schistosome contient plusieurs enzymes pouvant conduire à la dégradation de l'ATP ou de l'ADP extracellulaire. De cette manière, les enzymes exprimées à la surface tégumentaire aident à limiter la formation de caillots sanguins autour des vers en agissant comme des anticoagulants, permettant ainsi aux parasites de se déplacer librement dans le système vasculaire (Mebius *et al.*, 2013; Stanley *et al.*, 2003a, 2003b). Deuxièmement, les plaquettes sont séquestrées dans la rate des souris infectées, entraînant la splénomégalie observée dans la schistosomiase hépatosplénique (Petroianu *et al.*, 2005; Leite *et al.*, 2013). Dans la présente étude, le traitement de souris infectées avec du PZQ à 18 mg/kg/jour et à l'extrait aqueux de *S. pilosa* aux doses de 100 et 200 mg/kg pendant 28 jours consécutifs a empêché la thrombocytopénie. Ce résultat serait d'une part, la conséquence de la faible charge parasitaire qui limiterait la séquestration des plaquettes dans la rate, comme le confirme la baisse de la splénomégalie observée chez les souris traitées au PZQ et à EASp. D'autre part, par leur activité schistosomicide, le PZQ ou EASp inhiberait les enzymes anticoagulantes retrouvées au niveau du tégument du schistosomule ou du ver adulte du schistosome. Ceci faciliterait l'activation et l'agrégation des thrombocytes et donc, la séquestration du parasite dans la circulation sanguine. Ainsi, par leur action schistosomicide, le praziquantel et l'extrait aqueux de *S. pilosa* administrés aux souris infestées par *S. mansoni* au cours de la phase initiale de l'infection les ont protégés de l'anémie, de la thrombocytopénie, de la leucocytose et de la granulocytose observées chez les souris infestées et non traitées

Des modèles expérimentaux de schistosomiase hépatosplénique sont utilisés pour apprécier l'implication d'une réponse des lymphocytes T auxiliaires (Th) CD4+ dans la progression de la maladie. A la lumière de ces études, il a été établi qu'au cours de l'infection induite par les schistosomes, une réponse de type Th1 dirigée contre les schistosomules migrants et les vers immatures, est initiée à la phase aiguë de l'infection (Pearce et MacDonald, 2002; Wilson *et al.*, 2007; Chuah *et al.*, 2014). Cette réponse est caractérisée par une production accrue des cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-12, TNF- α et IFN- γ) (Pearce et MacDonald, 2002; Burke *et al.*, 2009; Schwartz et Fallon, 2018; Masamba et Kappo, 2021). La réponse immunitaire passe à une réponse de type Th2 une fois que les œufs sont pondus par les vers adultes et piégés dans les tissus à partir de la 6^{ème} semaine

p.i. Cette réponse de type Th2 est caractérisée par une production élevée de cytokines Th2 telles que IL-4, IL-5, IL-10 et IL-13 (Pearce and MacDonald, 2002; Burke *et al.*, 2009; Masamba et Kappo, 2021). Au fur et à mesure que l'infection progresse vers le stade chronique (à partir de la 12^{ème} semaine *p.i.*), une modulation par l'action des lymphocytes est mise en place pour limiter la sévérité de la pathologie (Burke *et al.*, 2009; Chuah *et al.*, 2014; Allam *et al.*, 2016). Cette régulation de la réponse immunitaire antischistosomale est médiée par les lymphocytes T régulateurs (Tregs) et des lymphocytes B et caractérisée par la production de l'IL-10, du TGF- β et du RANTES qui modulent l'équilibre de la réponse Th1/Th2 (Pearce et MacDonald, 2002; Burke *et al.*, 2009). Dans cette étude, au cours de la phase aiguë de l'infection une prédominance de la réponse immunitaire de type Th1 se traduisant par un taux sérique élevé d'IFN- γ , de TNF- α ainsi qu'une surexpression des gènes de l'IFN- γ , du MIP-1 α et de l'IP-10 dans le foie de souris infectées non traitées ont été notées. Chez ces souris, des réponses immunitaires de type Th2 et Th17 hyperpolarisées ont été observées au cours de la phase granulomateuse. A cette phase, les concentrations sériques d'IL-4, d'IL-5 et d'IL-13 et l'expression hépatique des gènes de l'IL-13, du FGF-1, du MCP-1 et du MIP-1 α étaient élevées. Dans le même temps, la concentration sérique de l'IL-17 élevée a indiqué un processus inflammatoire chronique associé à une pathologie hépatique sévère (Bourke *et al.*, 2013; Chuah *et al.*, 2014). De plus, une diminution des taux sériques d'immunomodulateurs (IL-10 et TGF- β) et de l'expression hépatique de leurs gènes associée à une faible expression du gène du RANTES a été enregistrée chez des souris infectées et non traitées. D'après Burke *et al.* (2009), au cours des 4 à 6 premières semaines d'infection chez la souris, une réponse Th1 modérée est générée contre les schistosomules migrants et les vers adultes immatures. Par ailleurs il a été démontré que la réponse Th17 était associée à une inflammation hépatique sévère dans la schistosomiase (Bourke *et al.*, 2013; Chuah *et al.*, 2014). A cet effet, plusieurs auteurs ont démontré que l'exacerbation des lésions granulomateuses chez les souris infectées par *S. mansoni* était dirigée par une réponse de type Th17 (Burke *et al.*, 2009, 2010; Chen *et al.*, 2017; Kamdem *et al.*, 2018). Il a également été démontré que la neutralisation de l'IL-17 était corrélée à une réduction de l'inflammation granulomateuse et de l'expression de cytokines et de chimiokines pro-inflammatoires chez des souris infectées par *S. mansoni* (Chuah *et al.*, 2014; Zhu *et al.*, 2018). De même, l'expression élevée des gènes du MIP1- α enregistrée dans cette étude peut être corrélée à une pathologie sévère induite par la schistosomiase. En effet, les travaux de Souza *et al.* (2008) ont révélé des concentrations élevées de MIP-1 α dans le plasma de patients atteints de schistosomiase chronique d'une part et d'autre part une diminution de la taille du granulome hépatique, de

l'activité hépatique de la peroxydase des éosinophiles et de la teneur en collagène chez des souris déficientes en MIP-1 α infectées par *S. mansoni*. De même, Falcao *et al.* (2002) ont rapporté que la neutralisation des gènes du MIP-1 α chez des souris infestées par *S. mansoni* était associée à une diminution de la taille des granulomes inflammatoires.

Le traitement au PZQ à la posologie de 18 mg/kg/jour ou à l'extrait aqueux de *S. pilosa* principalement à la dose de 200 mg/kg/jour pendant 28 jours consécutifs était à l'origine de la modulation des réponses immunologiques de type Th1, Th2 et Th17 à la phase granulomateuse de l'infection à *S. mansoni*. En effet, les souris soumises à ces traitements présentaient des faibles concentrations sériques ou de l'expression hépatique des gènes de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires, (IFN- γ , TNF- α et MCP-1), pro-granulomateuses (IL-4, IL-5, IL-17, MIP-1 α) et profibrotiques (IL-13 et FGF-1). La baisse de ces médiateurs pro-inflammatoires, pro-granulomateux et profibrotiques était associée à une augmentation des taux sériques ainsi que de l'expression hépatique des gènes de l'IL-10, le TGF- β et le RANTES, indiquant une mobilisation des lymphocytes T régulateurs et des lymphocytes B impliqués dans la modulation de la réponse immunitaire antischistosomale. L'immunorégulation observée après l'administration du PZQ à 18mg/kg/jour ou de l'extrait aqueux de *S. pilosa* aux doses de 100 et 200 mg/kg pendant 28 jours consécutifs résulte de la faible réponse granulomateuse suite à la baisse du dépôt tissulaire des œufs de *S. mansoni* consécutive à la baisse de la charge parasitaire. Cette immunorégulation au niveau des tissus tels que le foie, essentielle à la survie de l'hôte au cours de l'infection induite par la schistosomiase, pourrait être expliquée par plusieurs mécanismes impliquant les lymphocytes Tregs CD4+CD25+ et les lymphocytes B. Précisément, les Tregs CD4+CD25+ inductibles (iTregs) et les lymphocytes B sont des sources importantes d'IL-10. Au cours de l'infection à *S. mansoni*, la stimulation antigénique des lymphocytes B au niveau de la rate leur confère la capacité de bloquer la production des cytokines pro-inflammatoires à travers la production de l'IL-10 d'une part et de stimuler le développement des iTregs. Ces Tregs vont amplifier la production d'IL-10 qui régule l'expression des chimiokines CXCL9 et CXCL16 impliquées dans les processus inflammatoires dans cet organe (Wilson *et al.*, 2007; Masamba et Kappo, 2021). La production d'IL-10 par les iTregs est à l'origine de la suppression de la réponse inflammatoire Th1 par inhibition de la sécrétion d'IFN- γ par régulation de l'expression du couple IL-12/IL12R (Pearce and MacDonald, 2002; Burke *et al.*, 2009). De plus, l'IL-10 produite par les iTregs bloquerait l'activation des cellules de Ito et empêcherait de ce fait la production des composantes de la matrice extracellulaire (MEC), l'inhibition de l'activité des inhibiteurs de métalloprotéinases tissulaires (TIMPs) et l'activation des métalloprotéinases

à l'origine de la dégradation par protéolyse du collagène au niveau du tissu fibreux (Burke *et al.*, 2009; Kamdem *et al.*, 2018). Des études sur un modèle de souris déficientes en IL-10 indiquent que les iTregs, producteurs d'IL-10, régulent la pathologie en contrôlant à la fois la production de cytokines Th1 et Th2 lors d'une infection à *S. mansoni* (Burke *et al.*, 2010; Chuah *et al.*, 2014). De plus, les iTregs activés produisent le TGF- β qui à son tour inhibe la production des cytokines Th2 (IL-4, IL-5 IL-13) et de ce fait régule la réaction inflammatoire granulomateuse et la fibrose au niveau hépatique (Fallon and Mangan, 2007; Molehin, 2020). S'agissant de l'activité modulatrice de RANTES, plusieurs travaux ont rapporté que cette chimiokine régule négativement la réponse granulomateuse et contrôle la sévérité de la pathologie chez les souris infectées par *S. mansoni* (Souza *et al.*, 2008; Burke *et al.*, 2010; Chuah *et al.*, 2014). En effet, Il a également été démontré qu'en cas de déficience de RANTES, les souris infestées par *S. mansoni* développent une pathologie sévère (Souza *et al.*, 2006, 2008). L'IL-10 produite par les iTregs, va stimuler la production de RANTES par les macrophages classiques. Cette chimiokine va contrôler l'activation et la migration des cellules inflammatoires au niveau des foyers granulomateux au cours de l'infection à *S. mansoni* (Booth *et al.*, 2004; Kamdem *et al.*, 2018). De même, cette chimiokine une fois produite, contrôle les processus fibrotiques sévères au niveau du foie en inhibant la production des composantes de la matrice extracellulaires et des TIMPs par les cellules de Ito (Kamdem *et al.*, 2018). Ainsi, le PZQ ou l'extrait aqueux de *S. pilosa* en traitement préventif, en augmentant les concentrations sériques et/ou l'expression hépatique des gènes de l'IL-10, du TGF- β et du RANTES, aurait participé à la régulation de la réponse immunitaire au cours de l'infection à *S. mansoni* par au moins un des mécanismes ci-dessus.

Pour le cas spécifique du traitement des souris à l'extrait aqueux de *S. pilosa*, en plus de l'IL-10, du TGF- β et du RANTES qui étaient élevés, une augmentation de l'expression des gènes du FoxP3 a été enregistrée dans le foie des souris. Il a été démontré que la sécrétion du FoxP3 par les Tregs naturels (nTregs) entraîne l'activation des récepteurs $\alpha 2$ de l'IL-13 (IL13R $\alpha 2$). Ces récepteurs jouent un rôle « decoy » et rentrent en compétition avec les IL13R $\alpha 1$ (récepteur fonctionnel de l'IL-13) pour la fixation de l'IL-13, limitant considérablement la cascade de réactions de fibrogénèse initiée par cette cytokine (Burke *et al.*, 2009; Kamdem *et al.*, 2018). Cette action inhibitrice de la fibrogénèse supplémentaire augmenterait l'activité immunomodulatrice de l'extrait aqueux de *S. pilosa* par rapport au praziquantel.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Parvenu au terme de ce travail dont l'objectif principal était d'évaluer les activités préventive et immunomodulatrice du praziquantel et de l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* Retz sur un modèle murin de la schistosomiase à *Schistosoma mansoni*, il en ressort que les posologies de praziquantel de 18 mg/kg/jour ainsi que l'extrait aqueux de *Sida pilosa* de 100 et 200 mg/kg/jour pendant 28 jours ont inhibé la croissance et la maturation, limitant ainsi l'oviposition et par conséquent, les charges parasitaire et ovulaires hépatique et intestinale. Cette activité schistosomicide du praziquantel et de l'extrait aqueux des parties aériennes de *S. pilosa* est à l'origine de la faible réaction granulomateuse tissulaire caractérisée par une baisse du nombre et du volume de granulomes fibrotiques au niveau du foie et de l'intestin des souris infestées par *S. mansoni*. Parmi ces deux posologies de praziquantel efficaces, celle de 100 mg/kg/jour pendant 28 jours a été écartée en raison du taux de mortalité élevé observé dans le groupe de souris infestées ayant reçu le praziquantel cette posologie. Par leur action schistosomicide, le traitement au praziquantel à la dose de 18 mg/kg/jour pendant 28 jours ou aux deux doses de l'extrait aqueux de *S. pilosa* a limité les dommages tissulaires se traduisant par une amélioration du statut oxydant hépatique et splénique caractérisée par une baisse de la peroxydation lipidique et une augmentation des défenses antioxydantes au niveau de ces tissus. Cette action schistosomicide du praziquantel et de l'extrait aqueux de *S. pilosa* a préservé la fonction hépatique en limitant la cytolysse hépatique et le relargage de leur contenu enzymatique dans la circulation. Le traitement au praziquantel a également protégé l'organisme de l'hôte contre l'immunopathologie induit par l'infection à *S. mansoni*. Cela s'est traduit par une régulation de la réponse immunitaire de type Th1 caractérisée par la réduction de la production des cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IFN- γ , MCP-1) d'une part, et à la modulation de la réponse granulomateuse de type Th2 et Th17 caractérisée par la baisse de la production de cytokines pro-granulomateuses (IL-4, IL-5, IL-17) et profibrotiques (IL-13, FGF-1) ainsi que l'inhibition du recrutement des éosinophiles, des neutrophiles et des macrophages au niveau des foyers inflammatoires granulomateux d'autre part. Cette action immunomodulatrice a été meilleure après le traitement à l'extrait aqueux de *Sida pilosa* par rapport au praziquantel car les taux de lymphocytes, les concentrations sériques ainsi que l'expression des médiateurs immunomodulateurs tels que le TGF- β , le RANTES et le FoxP3 étaient supérieurs chez les souris infestées traitées à l'extrait aqueux de *S. pilosa*.

D'une manière générale, la posologie de praziquantel de 18 mg/kg/jour pendant 28 jours administré dès le stade initial de l'infection, empêche l'installation de la pathologie à *Schistosoma mansoni* dans ce modèle murin. Cette posologie serait donc optimale et

pourrait être recommandée pour des études futures ayant pour but d'évaluer le potentiel antischistosomal des composés ou substances naturelles lors de la phase initiale de l'infection dans un modèle murin de la schistosomiase. Elle constituerait également un point de départ significatif pour des études cliniques afin de mettre sur pied un traitement préventif adéquat à base de praziquantel qui protégerait contre l'installation de la pathologie sévère induite par la schistosomiase chez les personnes vivant en zone endémique. L'extrait aqueux des parties aériennes de *S. pilosa* aux doses de 100 et 200 mg/kg/jour administré dès la phase initiale de l'infection a eu une action préventive comparable à celle du praziquantel. En plus de cette action préventive, cet extrait modulelerait efficacement la réponse immunitaire au cours des phases de l'infection à *S. mansoni* empêchant l'installation de la pathologie chronique à l'origine de la conséquences fatales.

Dans l'optique de mieux cerner les différentes activités du praziquantel et de *Sida pilosa* et de valoriser cette plante médicinale, il sera question pour des études ultérieures de :

- mener une étude *ex vivo* afin d'étudier l'impact de la posologie de 18 mg/kg/jr pendant 28 jours et de l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa* sur les différents stades de développement du parasite chez la souris;
- évaluer l'effet curatif de la posologie de 18 mg/kg/jr pendant 28 jours de praziquantel sur la pathologie à *Schistosoma mansoni* dans un modèle murin;
- évaluer l'activité de l'extrait aqueux de *Sida pilosa* et du praziquantel sur les lymphocytes T régulatrices (CD4+CD25+) et les lymphocytes B afin d'élucider son mécanisme d'action immunomodulateur ;
- préparer un médicament traditionnel amélioré (MTA) à base de l'extrait aqueux des parties aériennes de *Sida pilosa*.

REFERENCES

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H. and Pillai, S.** (2016). *Basic Immunology: Functions and of the Immune System*, 5th Edition ed. Elsevier Elsevier, St Louis, Missouri, USA.
- Abdallahi, O. M. S., Hanna, S., De Reggi, M. and Gharib, B.** (1999). Visualization of oxygen radical production in mouse liver in response to infection with *Schistosoma mansoni*. *Liver* **19**, 495–500.
- Abdel-Hafeez, E. H., Ahmad, A. K., Abdulla, A. M., Aabdel-Wahab, S. and Mosalem, F. A.** (2012). Therapeutic effect of alpha lipoic acid combined with praziquantel on liver fibrosis induced by *Schistosoma mansoni* challenged mice. *Parasitology Research* **111**, 577–586.
- Abdel, L., Hegazy, M., Hussein, M., Motiam, A. L. and Abd, N. F.** (2018). Evaluation of artesunate and praziquantel combination therapy in murine schistosomiasis mansoni. **13**, 193–203.
- Acheampong, D. O., Owusu-Adzorah, N., Armah, F. A., Aninagyei, E., Asiamah, E. A., Thomford, A. K. and Anyan, W. K.** (2020). Ethnopharmacological evaluation of schistosomicidal and cercaricidal activities of some selected medicinal plants from Ghana. *Tropical Medicine and Health* **48**, 1-10.
- Adjanohoun, J., Aboubakar, N., Dramane, K., Ebot, M., Ekpere, J., Enoworock, E., Foncho, D., Gbile, Z., Kamanyi, A., Kamoukom, J., Keeta, A., Mbenkum, T., Mbi, C., Mbielle, A., Mbome, I., Mubiru, N., Naney, W., Nkongmeneck, B., Satabie, B., Sofowa, A., Tanze, V. and Wirmum, C.** (1996). *Traditional medicine and pharmacopeia-contribution to ethnobotanical and floristic studies in Cameroon*. Scientific, Technical, and Research Commission of the Organization of African Unity.
- Al-Kazzaaz, M. A.** (2017). Effect of Commiphora molmol extract (Mirazid) on the tegument of *Schistosoma mansoni* and serum acetylcholinesterase activity in infected mice. *Saudi Journal for Health Sciences* **6**, 57–61.
- AlKazzaz, M. A., Adel Aziz, A. R., Elmahalawy, E. K. and Hassan, A. A.** (2018). Hematological profile in *Schistosoma mansoni* infected mice treated with *Commiphora molmol* extract compared with praziquantel. *PSM. Biological Research* **3**, 77–84.
- Al-Kazzaz, M., El-Sayad, M. and Abu-Helw, S.** (2016). Antischistosomal activity of Mirazid in experimental schistosomiasis mansoni: exploring the controversy. *Parasitologists United Journal* **9**, 31–36.
- Al-Quraishy, S., Al-Khalifa, M. S. and Dkhil, M. A.** (2013). Role of berberine on schistosomiasis-induced oxidative stress and damage in spleen of mice. *Life Science Journal* **10**, 1–11.
- Allam, G.** (2009). Immunomodulatory effects of curcumin treatment on murine schistosomiasis

mansonii. *Immunobiology* **214**, 712–727.

- Allam, G., Abuelsaad, A. S. A., Alblihed, M. A. and Alsulaimani, A. A.** (2016). Ellagic acid reduces murine schistosomiasis mansonii immunopathology via up-regulation of IL-10 and down-modulation of pro-inflammatory cytokines production. *Immunopharmacology and Immunotoxicology* **38**, 286–297.
- Alonso, D., Muñoz, J., Gascón, J., Valls, M. E. and Corachan, M.** (2006). Short report: Failure of standard treatment with praziquantel in two returned travelers with *Schistosoma haematobium* infection. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **74**, 342–344.
- Allothman, M., Bhat, R. and Karim, A. A.** (2009). Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry* **115**, 785–788.
- Aly, H. F., Mantawy, M. M., Fahamy, Z. H. and Rizk, M. Z.** (2013). Effect of *Zingiber officinal* (ginger) and *Glycyrrhiza uralensis* (licorice) on experimental *S. mansonii* life cycle and investigating the composition (metabolites) changes in different tissues. *Journal of Medicinal Plants Research* **7**, 1481–1493.
- Amina, I., Abdel-Tawab, H. and Taghreed, H.** (2019). Pentoxifylline and/or praziquantel reduce murine schistosomiasis mansonii histopathology via amelioration of liver functions. *Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries* **23**, 121–133.
- Andrade, Z. A.** (2004). Schistosomal hepatopathy. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **99**, 51–57.
- Angelucci, F., Basso, A., Bellelli, A., Brunori, M., Pica Mattoccia, L. and Valle, C.** (2007). The anti-schistosomal drug praziquantel is an adenosine antagonist. *Parasitology* **134**, 1215–1221.
- Araujo, N., De Souza, C. P., Jannotti Passos, L. K., Simpson, A. J. G., Neto, E. D., Pereira, T. R., Cerutti Junior, C., De Alencar, F. E. C., Dietze, R. and Katz, N.** (1996). Susceptibility to the chemotherapeutical compounds of *Schistosoma mansonii* from patients treated with oxamniquine and praziquantel and not cured ones. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* **29**, 467–476.
- Aubry, P. and Gaüzère, B.-A.** (2021). Schistosomoses ou bilharzioses : actualités 2021. *Medecine Tropicale* 1–7.
- Barbosa, C. S., Favre, T. C. and Pieri, R. S. A. e O. S.** (2008). Epidemiologia e controle da esquistossomose mansonii. In *Schistosoma mansonii & Esquistossomose - uma visao multidisciplinar* (ed. Carvalho, O. dos S., Coelho, P. M. Z., and Lenzi, H. L.), pp. 965–1008. Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

- Berker, K. I., Güçlü, K., Tor, I. and Apak, R.** (2007). Comparative evaluation of Fe(III) reducing power-based antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline, batho-phenanthroline, tripyridyltriazine (FRAP), and ferricyanide reagents. *Talanta* **72**, 1157–1165.
- Boissier, J., Coslédan, F., Robert, A. and Meunier, B.** (2009). In vitro activities of trioxaquinones against *Schistosoma mansoni*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **53**, 4903–4906.
- Booth, M., Mwatha, J. K., Joseph, S., Jones, F. M., Kadzo, H., Ileri, E., Kazibwe, F., Kemijumbi, J., Kariuki, C., Kimani, G., Ouma, J. H., Kabatereine, N. B., Vennervald, B. J. and Dunne, D. W.** (2004). Periportal fibrosis in human *Schistosoma mansoni* infection is associated with low IL-10, low IFN- γ , high TNF- α , or low RANTES, depending on age and gender. *The Journal of Immunology* **172**, 1295–1303.
- Botros, S., William, S., Ebeid, F., Cioli, D., Katz, N., Day, T. A. and Bennett, J. L.** (2004). Lack of evidence for an antischistosomal activity of myrrh in experimental animals. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **71**, 206–210.
- Botros, S., Pica-Mattoccia, L., William, S., El-Lakkani, N. and Cioli, D.** (2005). Effect of praziquantel on the immature stages of *Schistosoma haematobium*. *International Journal for Parasitology* **35**, 1453–1457.
- Bourke, C. D., Nausch, N., Rujeni, N., Appleby, L. J., Mitchell, K. M., Midzi, N., Mduluza, T. and Mutapi, F.** (2013). Integrated analysis of innate, Th1, Th2, Th17, and regulatory cytokines identifies changes in immune polarisation following treatment of human schistosomiasis. *Journal of Infectious Diseases* **208**, 159–169.
- Brakch, N. and Kessler, D.** (2011). Fiche technique MCV, MCH et MCHC. *Centre suisse de contrôle qualité* 1.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C.** (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology* **28**, 25–30.
- Brandão, J. L., Baracho, G. S., de Sales, M. F. and Filho, M. P. V.** (2017). Synopsis of *Sida* (Malvaceae, malvoideae, malveae) in the state of Pernambuco, Brazil. *Phytotaxa* **307**, 205–227.
- Burke, M. L., Jones, M. K., Gobert, G. N., Li, Y. S., Ellis, M. K. and McManus, D. P.** (2009). Immunopathogenesis of human schistosomiasis. *Parasite Immunology* **31**, 163–176.
- Burke, M. L., McManus, D. P., Ramm, G. A., Duke, M., Li, Y., Jones, M. K. and Gobert, G. N.** (2010). Temporal expression of chemokines dictates the hepatic inflammatory infiltrate in a murine model of schistosomiasis. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **4**, 598–610.

- Chai, J. Y.** (2013). Praziquantel treatment in trematode and cestode infections: An update. *Infection and Chemotherapy* **45**, 32–43.
- 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.
- Cheever, A. W., Lenzi, J. A., Lenzi, H. L. and Andrade, Z. A.** (2002). Experimental models of *Schistosoma mansoni* infection. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **97**, 917–940.
- Chen, S., Gao, Y., Liang, Y., Hu, L., Liu, J., Peng, L., Feng, A. and Xiao, J.** (2017). Imbalance of Th1/Th2 and Th17/Treg promoting schistosome egg granuloma formation. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine* **10**, 14290–14300.
- Chuah, C., Jones, M. K., Burke, M. L., McManus, D. P. and Gobert, G. N.** (2014). Cellular and chemokine-mediated regulation in schistosome-induced hepatic pathology. *Trends in Parasitology* **30**, 141–150.
- Cioli, D., Botros, S. S., Wheatcroft-Francklow, K., Mbaye, A., Southgate, V., Tchuenté, L. A. T., Pica-Mattoccia, L., Troiani, A. R., Seif El-Din, S. H., Sabra, A. N. A., Albin, J., Engels, D. and Doenhoff, M. J.** (2004). Determination of ED50 values for praziquantel in praziquantel-resistant and -susceptible *Schistosoma mansoni* isolates. *International Journal for Parasitology* **34**, 979–987.
- Colley, D. G., Bustinduy, A. L., Secor, W. E. and King, C. H.** (2014). Human schistosomiasis. *The Lancet* **383**, 2253–2264.
- Da Silva, I. M., Thiengo, R., Conceição, M. J., Rey, L., Lenzi, H. L., Filho, E. P. and Ribeiro, P. C.** (2005). Therapeutic failure of praziquantel in the treatment of *Schistosoma haematobium* infection in Brazilians returning from Africa. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **100**, 445–449.
- De Oliveira, R. B., Senger, M. R., Vasques, L. M., Gasparotto, J., Dos Santos, J. P. A., De Bittencourt Pasquali, M. A., Moreira, J. C. F., Silva, F. P. and Gelain, D. P.** (2013). *Schistosoma mansoni* infection causes oxidative stress and alters receptor for advanced glycation endproduct (RAGE) and tau levels in multiple organs in mice. *International journal for parasitology* **43**, 371–379.
- Dkhil, M. A.** (2014). Role of berberine in ameliorating *Schistosoma mansoni*-induced hepatic injury in mice. *Biological Research* **47**, 1–7.
- Dkhil, M. A., Al-Quraishy, S. and Al-Khalifa, M. S.** (2014). The effect of *Babesia divergens* infection on the spleen of Mongolian gerbils. *BioMed Research International* **2014**, 1–7.

- Doenhoff, M. J., Cioli, D. and Utzinger, J.** (2008). Praziquantel: Mechanisms of action, resistance and new derivatives for schistosomiasis. *Current Opinion in Infectious Diseases* **21**, 659–667.
- Drummond, S. C., Pereira, P. N., Otoni, A., Chaves, B. A., Antunes, C. M. and Lambertucci, J. R.** (2014). Thrombocytopenia as a surrogate marker of hepatosplenic schistosomiasis in endemic areas for *Schistosomiasis mansoni*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* **47**, 218–222.
- Duvall, R. H. and DeWitt, W. B.** (1967). An improved perfusion technique for recovering adult schistosomes from laboratory animals. *The American journal of tropical medicine and hygiene* **16**, 483–486.
- Eissa, M. M., El Bardicy, S. and Tadros, M.** (2011). Bioactivity of miltefosine against aquatic stages of *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma haematobium* and their snail hosts, supported by scanning electron microscopy. *Parasites and Vectors* **4**, 1–11.
- EI-Emam, M. A. W., Mahmoud, S. S. and Bayaomy, F. E. Z. A.** (2015). Potential role of mefloquine (antimalarial drug) and methanol extract of *Chenopodium ambrosioides* and *Sesbania sesban* in mice infected with *Schistosoma mansoni*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* **5**, 608–613.
- EI-Lakkany, N. M., Hammam, O. A., EI-Maadawy, W. H., Badawy, A. A., Ain-Shoka, A. A. and Ebeid, F. A.** (2012). Anti-inflammatory/anti-fibrotic effects of the hepatoprotective silymarin and the schistosomicide praziquantel against *Schistosoma mansoni*-induced liver fibrosis. *Parasites and Vectors* **5**, 1-14.
- EI Shenawy, N. S., Soliman, M. F. M. and 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 Sao Paulo* **50**, 29–36.
- Elbaz, T. and Esmat, G.** (2013). Hepatic and intestinal schistosomiasis: review. *Journal of Advanced Research* **4**, 445–452.
- Elsammak, M. Y., Al-Sharkaweey, R. M., Ragab, M. S., Amin, G. A. and Kandil, M. H.** (2008). IL-4 and reactive oxygen species are elevated in Egyptian patients affected with schistosomal liver disease. *Parasite immunology* **30**, 603–609.
- Eyayu, T., Zeleke, A. J. and Worku, L.** (2020a). Current status and future prospects of protein vaccine candidates against *Schistosoma mansoni* infection. *Parasite Epidemiology and Control* **11**, e00176.
- Eyayu, T., Zeleke, A. J., Seyoum, M. and Worku, L.** (2020b). Basic coagulation profiles and platelet count among *Schistosoma mansoni*-infected adults attending Sanja primary

hospital, northwest Ethiopia. *Research and Reports in Tropical Medicine* **11**, 27–36.

Fahmy, S. R., Rabia, I. and Mansour, E. M. (2014). The potential role of mefloquine against *Schistosoma mansoni* infection by prohibition of hepatic oxidative stress in mice. *The Journal of Basic & Applied Zoology* **67**, 40–47.

Falcão, P. L., Correa-Oliveira, R., Fraga, L. A. O., Talvani, A., Proudfoot, A. E. I., Wells, T. N. C., Williams, T. J., Jose, P. J. and Teixeira, M. M. (2002). Plasma concentrations and role of macrophage inflammatory protein-1 α during chronic *Schistosoma mansoni* infection in humans. *Journal of Infectious Diseases* **186**, 1696–1700.

Fallon, P. G. and Mangan, N. E. (2007). Suppression of TH2-type allergic reactions by helminth infection. *Nature Reviews Immunology* **7**, 220–230.

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

Femoe, U. M., Fassi, J. B. K., Jatsa, H. B., Tchoffo, Y. L., Nna, D. C. A., Kamdoun, B. C., Wouamba, S. C. N., Toussie Tchegnitegni, B., Tchaleu Ngadjui, B., Sewald, N., Ndjakou Lenta, B., Tchuem Tchuente, L. A. and Dimo, T. (2022). *In vitro* assessment of the cercaricidal activity of *Sida acuta* Burm. F. and *Sida rhombifolia* Linn. (Malvaceae) hydroethanolic extracts, cytotoxicity, and phytochemical studies. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* **2022**, 1-17.

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, P. D. D. and Tchuente, L.-A. T. (2020). *In vitro* activity of *Ozoroa pulcherrima* Schweinf. extracts and fractions on *Schistosoma mansoni* cercariae and adult Worms. *European Journal of Medicinal Plants* **31**, 17–30.

Focho, D. A., Nkeng, E. A. P., Lucha, C. F., Ndam, W. T. and Afegenui, A. (2009). Ethnobotanical survey of plants used to treat diseases of the reproductive system and preliminary phytochemical screening of some species of malvaceae in Ndop Central Sub-division, Cameroon. *Journal of Medicinal Plants Research* **3**, 301–314.

Forman, H. J. and Zhang, H. (2021). Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. *Nature Reviews Drug Discovery* **20**:9 **20**, 689–709.

Ganesh, M. and Mohankumar, M. (2017). Extraction and identification of bioactive components in *Sida cordata* (Burm.f.) using gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of food science and technology* **54**, 3082–3091.

García-Caparrós, P., De Filippis, L., Gul, A., Hasanuzzaman, M., Ozturk, M., Altay, V. and Lao, M. T. (2021). Oxidative stress and antioxidant metabolism under adverse

environmental conditions: a review. *Botanical Review* **87**, 421–466.

- Gashaw, F., Erko, B., Teklehaymanot, T. and Habtesellasi, R.** (2008). Assessment of the potential of competitor snails and African catfish (*Clarias gariepinus*) as biocontrol agents against snail hosts transmitting schistosomiasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **102**, 774–779.
- Gnanasekaran, D., Umamaheswara, R. C., Jaiprakash, B., Narayanan, N., Hannah, E. and Ravi, K. Y.** (2012). *In vitro* hepatoprotective activity of a selected Siddha medical plant *Sida cordata* using Chang liver cells. *American Journal of PharmTech Research* **2**, 466 – 473.
- Gornall, G., Bardawill, C. J. and David, M. M.** (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *The Journal of biological chemistry* **177**, 751–766.
- Grandière-Pérez, L., Ansart, S., Paris, L., Faussart, A., Jaureguiberry, S., Grivois, J. P., Klement, E., Bricaire, F., Danis, M. and Caumes, E.** (2006). Efficacy of praziquantel during the incubation and invasive phase of *Schistosoma haematobium* schistosomiasis in 18 travelers. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **74**, 814–818.
- Gryseels, B., Polman, K., Clerinx, J. and Kestens, L.** (2006). Human schistosomiasis. *Lancet* **368**, 1106–1118.
- Haas, W., Grabe, K., Geis, C., Päch, T., Stoll, K., Fuchs, M., Haberl, B. and Loy, C.** (2002). Recognition and invasion of human skin by *Schistosoma mansoni* cercariae: the key-role of L-arginine. *Parasitology* **124**, 153–167.
- Hams, E., Aviello, G. and Fallon, P. G.** (2013). The *Schistosoma granuloma*: friend or foe? *Frontiers in Immunology* **4**, 1–8.
- Herbert, D. R., Douglas, B. and Zullo, K.** (2019). Group 2 innate lymphoid cells (ILC2): Type 2 immunity and helminth immunity. *International Journal of Molecular Sciences* **20**, 1-13.
- Hibbs, J. B., Taintor, R. R., Vavrin, Z. and Rachlin, E. M.** (1988). Nitric oxide: A cytotoxic activated macrophage effector molecule. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **157**, 87–94.
- Hirata, M., Hirata, K., Kage, M., Zhang, M., Hara, T. and Fukuma, T.** (2001). Effect of nitric oxide synthase inhibition on *Schistosoma japonicum* egg-induced granuloma formation in the mouse liver. *Parasite Immunology* **23**, 281–289.
- Hoekstra, P. T., Casacuberta-Partal, M., van Lieshout, L., Corstjens, P. L. A. M., Tsonaka, R., Assaré, R. K., Silué, K. D., Meité, A., N'goran, E. K., N'gbesso, Y. K., Amoah, A. S., Roestenberg, M., Knopp, S., Utzinger, J., Coulibaly, J. T. and van Dam, G. J.**

(2020). Efficacy of single versus four repeated doses of praziquantel against *Schistosoma mansoni* infection in school-aged children from côte d'ivoire based on kato-katz and POC-CCA: An open-label, randomised controlled trial (REPST). *PLoS Neglected Tropical Diseases* **14**, e0008189.

Holtfreter, M. C., Loebermann, M., Klammt, S., Sombetzki, M., Bodammer, P., Riebold, D., Kinzelbach, R. and Reisinger, E. C. (2011). *Schistosoma mansoni*: Schistosomicidal effect of mefloquine and primaquine *in vitro*. *Experimental Parasitology* **127**, 270–276.

Hutchinson, J. and Dalziel, J. M. (1958). *Flora of west tropical Africa* **2**, Whitefriar. London, UK.

Ismail, M., Botros, S., Metwally, A., William, S., Farghally, A., Tao, L. F., Day, T. A. and Bennett, J. L. (1999). Resistance to praziquantel: Direct evidence from *Schistosoma mansoni* isolated from egyptian villagers. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **60**, 932–935.

Jatsa, H. B., Sock, E. T. N., Tchuente, L. A. T. and Kamtchouing, P. (2009a). 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., Endougou, A. M. E., Kemeta, D. R. A., Kenfack, C. M., Tchuem Tchuente, L. and Kamtchouing, P. (2009b). *In vivo* antischistosomal and toxicological evaluation of *Sida pilosa* Retz on mice balb/c. *Pharmacologyonline* **3**, 531–538.

Jatsa, H. B., Kenfack, C. M., Simo, D. N., Feussom, N. G., Nkondo, E. T., Tchuem Tchuente, L. A., Tsague, C. D., Dongo, E. and Kamtchouing, P. (2015a). Schistosomicidal, hepatoprotective and antioxidant activities of the methanolic fraction from *Clerodendrum umbellatum* Poir leaves aqueous extract in *Schistosoma mansoni* infection in mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine* **15**, 1–9.

Jatsa, H. B., de Jesus Pereira, C. A., Dias Pereira, A. B., Negrão-Corrêa, D. A., Castro Braga, F., Meireles Maciel, G., Oliviera Castilho, R., Kamtchouing, P. and Martins Teixeira, M. (2015b). *In vitro* evaluation of *Sida pilosa* Retz (Malvaceae) aqueous extract and derived fractions on *Schistosoma mansoni*. *Pharmacology & Pharmacy* **6**, 380–390.

Jatsa, H. B., Russo, R. C., Pereira, C. A. D. J., Aguilar, E. C., Garcia, C. C., Araújo, E. S., Oliveira, J. L. R., Rodrigues, V. F., De Oliveira, V. G., Alvarez-Leite, J. I., Braga, F. C., Louis-Albert Tchuem Tchuente, Kamtchouing, P., Negrão-Corrêa, D. A. and 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 Tombe, D. S., Mbolang, L. N., Nkondo, E. T., Tchunte, L. A. T., Dimo, T. and Kamtchouing, P.** (2018a). 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**, 1–15.
- Jatsa, H. B., Catherine, C., Femoe, M. U., Feussom, G. N., Dzeufiet, D. D. P. and Tchuem, T. L.** (2018b). Analyses histologiques du foie des souris infectées par *Schistosoma mansoni* après traitement par *Ozoroa pulcherrima* Schweinf. *Revue Française d'Histotechnologie* **30**, 31–50.
- Jatsa, H. B., Feussom, N. G., Femoe, U. M., Kenfack, M. C., Nkondo, E. T., Kadji Fassi, J. B., Simo, N. D., Moaboulou, C., Dongmo, C. N., Tsague, C. D., Dongo, E., Kamtchouing, P. and Tchuem Tchunte, L. A.** (2019a). 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.
- Jatsa, H. B., Feussom, N. G., Nkondo, E. T., Kenfack, M. C., Simo, N. D., Fassi, J. B. K., Femoe, U. M., Moaboulou, C., Tsague, C. D., Dongo, E., Kamtchouing, P. and Tchuem Tchunte, L. A.** (2019b). Efficacy of *Ozoroa pulcherrima* Schweinf methanolic extract against *Schistosoma mansoni*-induced liver injury in mice. *Journal of Traditional and Complementary Medicine* **9**, 304–311.
- Junqueira, L. C. U., Bignolas, G. and Brentani, R. R.** (1979). Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *The Histochemical Journal* **11**, 447–455.
- Kamdem, S. D., Moyou-Somo, R., Brombacher, F. and Nono, J. K.** (2018). Host regulators of liver fibrosis during human schistosomiasis. *Frontiers in Immunology* **9**, 2781.
- Katz, N., Chaves, A. and 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.
- Keitel, W. A., Potter, G. E., Diemert, D., Bethony, J., El Sahly, H. M., Kennedy, J. K., Patel, S. M., Plieskatt, J. L., Jones, W., Deye, G., Bottazzi, M. E., Hotez, P. J. and Atmar, R. L.** (2019). A phase 1 study of the safety, reactogenicity, and immunogenicity of a *Schistosoma mansoni* vaccine with or without glucopyranosyl lipid A aqueous formulation

(GLA-AF) in healthy adults from a non-endemic area. *Vaccine* **37**, 6500–6509.

- Kenfack, M. C., Jatsa, H. B., Feussom, N. G., Nkondo, E. T., Femoe, U. M., Tsague, C. D., Dongo, E., Dzeufiet, P. D. D., Kamtchouing, P. and Tchuenta, L.-A. T.** (2020). *In vitro* antischistosomal activity of *Clerodendrum umbellatum* Poir (Labiatae) leaves aqueous extract and derived fractions against *Schistosoma mansoni* adult worms. *Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences* **22**, 40–49.
- Krautz-Peterson, G., Simoes, M., Faghiri, Z., Ndegwa, D., Oliveira, G., Shoemaker, C. B. and Skelly, P. J.** (2010). Suppressing glucose transporter gene expression in schistosomes impairs parasite feeding and decreases survival in the mammalian host. *PLoS Pathogens* **6**, e1000932.
- Krier, M. and Ahmed, A.** (2009). The Asymptomatic Outpatient with Abnormal Liver Function Tests. *Clinics in Liver Disease* **13**, 167–177.
- Leite, L. A. C., Domingues, A. L. C., Lopes, E. P., Ferreira, R. de C. dos S., Pimenta Filho, A. de A., da Fonseca, C. S. M., dos Santos, B. S. and Lima, V. L. de M.** (2013). Relationship between splenomegaly and hematologic findings in patients with hepatosplenic schistosomiasis. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia* **35**, 332–336.
- Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D. and Abete, P.** (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical Interventions in Aging* **13**, 757–772.
- Liu, R., Dong, H. F., Guo, Y., Zhao, Q. P. and Jiang, M. Sen** (2011). Efficacy of praziquantel and artemisinin derivatives for the treatment and prevention of human schistosomiasis: A systematic review and meta-analysis. *Parasites and Vectors* **4**, 1-17.
- Mahmoud, E. A. and Elbessoumy, A. A.** (2014). Hematological and biochemical effects of Curcumin in *Schistosoma mansoni* infested mice. *Assiut Veterinary Medical Journal* **60**, 184–195.
- Mantawy, M. M., Aly, H. F., Zayed, N. and Fahmy, Z. H.** (2012). Antioxidant and schistosomicidal effect of *Allium sativum* and *Allium cepa* against *Schistosoma mansoni* different stages. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* **16**, 69–80.
- Marieb, E. N. and Hoehn, K.** (2019). *Anatomie et physiologie humaines*, 11th Edition ed. PEDAGOGIQUE, R. Québec.
- Marker, E. J. and Debbert, S. L.** (2022). Recent advances in anti-schistosomiasis drug discovery. In *Parasitic Helminths and Zoonoses - From Basic to Applied Research*, pp. 1–26. IntechOpen, Croatia.

- Marques, S., de Oliveira, C. N. F., de Oliveira, R. N., Ferraz, T. and Garcia Rehder, V. L.** (2012). The Use of Brazilian Medicinal Plants to Combat *Schistosoma mansoni*. In *Schistosomiasis*, pp. 27 - 67 IntechOpen, Croatia.
- Masamba, P. and Kappo, A. P.** (2021). Immunological and biochemical interplay between cytokines, oxidative stress and schistosomiasis. *International Journal of Molecular Sciences* **22**, 1–22.
- Mayer, P.** (1986). Über schleimfärbung. *Mitteilungen aus der Zoologischen Station zu Neapel* **12**, 303.
- Mayer, J. U., Demiri, M., Agace, W. W., MacDonald, A. S., Svensson-Frej, M. and Milling, S. W.** (2017). Different populations of CD11b+ dendritic cells drive Th2 responses in the small intestine and colon. *Nature communications* **8**, 15820.
- McManus, J. F. A.** (1946). Histological demonstration of mucin after periodic acid. *Nature* **158**, 202.
- McManus, D. P., Dunne, D. W., Sacko, M., Utzinger, J., Vennervald, B. J. and Zhou, X. N.** (2018). Schistosomiasis. *Nature Reviews Disease Primers* **4**, 1-19.
- McManus, D. P., Bergquist, R., Cai, P., Ranasinghe, H., Tebeje, B. M. and You, H.** (2020). Schistosomiasis — from immunopathology to vaccines. *Seminar in immunopathology* **42**, 355–371.
- Mebius, M. M., van Genderen, P. J. J., Urbanus, R. T., Tielens, A. G. M., de Groot, P. G. and van Hellemond, J. J.** (2013). Interference with the host haemostatic system by schistosomes. *PLoS Pathogens* **9**, 1–8.
- Melman, S. D., Steinauer, M. L., Cunningham, C., Kubatko, L. S., Mwangi, I. N., Wynn, N. B., Mutuku, M. W., Karanja, D. M. S., Colley, D. G., Black, C. L., Secor, W. E., Mkoji, G. M. and Loker, E. S.** (2009). Reduced susceptibility to praziquantel among naturally occurring Kenyan isolates of *Schistosoma mansoni*. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **3**, e504.
- Mensor, L. L., Menezes, F. S., Leita~o, G. G., Reis, A. S. and Dos, T. C. S.** (2001). Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy Research* **130**, 127–130.
- Metwalley, K. M.** (2015). Assessment of the antischistosomal activity of some plant extracts against *Schistosoma mansoni* infection. *World Journal of Medical Sciences* **12**, 162–169.
- Misra, H. P. and Fridovich, I.** (1972). The purification and properties of superoxide dismutase from *Neurospora crassa*. *Journal of Biological Chemistry* **247**, 3410–3414.

- Mistry, S., Dutt, K. R. and Jena, J.** (2013). Protective effect of *Sida cordata* leaf extract against CCl₄ induced acute liver toxicity in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* **6**, 280–284.
- Mohammed, E. H. A., Eltayeb, M. and Ibrahim, H.** (2006). Haematological and biochemical morbidity of *Schistosoma haematobium* in school children in Sudan. *Sultan Qaboos University Medical Journal* **6**, 59–64.
- Molehin, A. J.** (2020). Current understanding of immunity against schistosomiasis: Impact on vaccine and drug development. *Research and Reports in Tropical Medicine* **Volume 11**, 119–128.
- Molehin, A. J., McManus, D. P. and You, H.** (2022). Vaccines for human schistosomiasis: Recent progress, new developments and future prospects. *International Journal of Molecular Sciences* **23**, 1–13.
- Mona, M. M., Ali, H. F. and Rizk, M. Z.** (2011). Efeitos terapêuticos do *Allium Sativum* e *Allium cepa* na infecção experimental pelo *Schistosoma mansoni*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* **53**, 155–163.
- Mostafa, O. M. S., Eid, R. A. and Adly, M. A.** (2011). Antischistosomal activity of ginger (*Zingiber officinale*) against *Schistosoma mansoni* harbored in C57 mice. *Parasitology Research* **109**, 395–403.
- Mostafa, O. M. S., Shati, A. A., Adly, M. A., Bin Dajem, S. M., Ibrahim, E. H. and Ahmed, O. M.** (2012). Assessment of the antischistosomal activity of ginger (*Zingiber Officinale*) against *Schistosoma mansoni* harbored in C57BL/6 mice. *Journal of Drug Research of Egypt* **33**, 25-33.
- Muema, J., Obonyo, M., Njeru, S. and Mwatha, J.** (2015). Antischistosomal effects of selected methanolic plant extracts in Swiss albino mice infected with *Schistosoma mansoni*. *European Journal of Medicinal Plants* **9**, 1–11.
- Munyangi, J., Cornet-Vernet, L., Idumbo, M., Lu, C., Lutgen, P., Perronne, C., Ngombe, N., Bianga, J., Mupenda, B., Lalukala, P., Mergeai, G., Mumba, D., Towler, M. and Weathers, P.** (2018). Effect of *Artemisia annua* and *Artemisia afra* tea infusions on schistosomiasis in a large clinical trial. *Phytomedicine* **51**, 233–240.
- Ndjonka, D., Rapado, L. N., Silber, A. M., Liebau, E. and Wrenger, C.** (2013). Natural products as a source for treating neglected parasitic diseases. *International journal of molecular sciences* **14**, 3395–3439.
- Ngaiza, J. R. and Doenhoff, M. J.** (1987). *Schistosoma mansoni*-induced thrombocytopenia in mice. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **81**, 655–656.

- NPCSHI** (2020). *National Programme for the Control of Schistosomiasis and Intestinal Helminthiasis 2003 - 2019 Progress report Cameroon*.
- Olson, P. D., Cribb, T. H., Tkach, V. V., Bray, R. A. and Littlewood, D. T. J.** (2003). Phylogeny and classification of the Digenea (Platyhelminthes: Trematoda). *International journal for parasitology* **33**, 733–755.
- Pearce, E. J. and MacDonald, A. S.** (2002). The immunobiology of schistosomiasis. *Nature Reviews Immunology* **2**, 499–511.
- Pérez del Villar, L., Vicente, B., Galindo-Villardón, P., Castellanos, A., Pérez-Losada, J. and Muro, A.** (2013). *Schistosoma mansoni* experimental infection in *Mus spretus* (SPRET/EiJ strain) mice. *Parasite* **20**, 27-32.
- Perls, M.** (1867). Nachweis von eisenoxyd in gewissen pigmenten. *Archiv für Pathologische Anatomie und Physiologie und für Klinische Medicin* **39**, 42–48.
- Petroianu, A., De Oliveira, A. E. and Alberti, L. R.** (2005). Hypersplenism in schistosomal portal hypertension. *Archives of Medical Research* **36**, 496–501.
- Pica-Mattocchia, L. and Cioli, D.** (2004). Sex- and stage-related sensitivity of *Schistosoma mansoni* to *in vivo* and *in vitro* praziquantel treatment. *International Journal for Parasitology* **34**, 527–533.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D. and Bitto, A.** (2017). Oxidative stress: Harms and benefits for human health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* **2017**, 1-13.
- Pointier, J. P. and David, P.** (2004). Biological control of *Biomphalaria glabrata*, the intermediate host of schistosomes, by *Marisa cornuarietis* in ponds of Guadeloupe: long-term impact on the local snail fauna and aquatic flora. *Biological Control* **29**, 81–89.
- Pointier, J. P., Samadi, S., Jarne, P. and Delay, B.** (1998). Introduction and spread of *Thiara granifera* (Lamarck, 1822) in Martinique, French West Indies. *Biodiversity & Conservation* **7**, 1277–1290.
- Portela, J., Boissier, J., Gourbal, B., Pradines, V., Collière, V., Coslédan, F., Meunier, B. and Robert, A.** (2012). Antischistosomal activity of trioxaquines: *In vivo* efficacy and mechanism of action on *Schistosoma mansoni*. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **6**, e1474.
- Praticò, L., Mariani, B., Brunetti, E., Maserati, R., Bruno, A., Novati, S. and Chichino, G.** (2014). Failure of repeated treatment with praziquantel and arthemeter in four patients with acute schistosomiasis. *Journal of Travel Medicine* **21**, 133–136.

- Puchtler, H., Waldrop, F. S. and Valentine, L. S.** (1973). Polarization microscopic studies of connective tissue stained with picro Sirius red F3BA. *Beitrag zur Pathologie* **150**, 174–187.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C.** (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* **26**, 1231–1237.
- Reitman, S. and Fankel, S.** (1957). A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *American journal of clinical pathology* **28**, 56–63.
- Ribeiro, F., De Mello, R. T., Tavares, C. A. P., Kusel, J. R. and Coelho, P. M. Z.** (2004). Synergistic action of praziquantel and host specific immune response against *Schistosoma mansoni* at different phases of infection. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* **46**, 231–233.
- Rizk, M., Ibrahim, N. and 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**, 971–978.
- Rodrigues, F. C. and de Oliveira, A. F. M.** (2020). The genus *Sida* L. (Malvaceae): An update of its ethnomedicinal use, pharmacology and phytochemistry. *South African Journal of Botany* **132**, 432–462. doi: 10.1016/j.sajb.2020.04.030.
- Ross, A. G. P., Bartley, P. B., Sleight, A. C., Olds, R. G., Li, Y., Williams, G. M. and McManus, D. P.** (2002). Schistosomiasis. *The New England journal of medicine* **346**, 1212–1220.
- Sabah, A. A., Fletcher, C., Webbe, G. and Doenhoff, M. J.** (1986). *Schistosoma mansoni*: chemotherapy of infections of different ages. *Experimental Parasitology* **61**, 294–303.
- Salem, M. L.** (2005). Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *International Immunopharmacology* **5**, 1749–1770.
- Santini-Oliveira, M., Coler, R. N., Parra, J., Veloso, V., Jayashankar, L., Pinto, P. M., Ciol, M. A., Bergquist, R., Reed, S. G. and Tendler, M.** (2016). Schistosomiasis vaccine candidate Sm14/GLA-SE: Phase 1 safety and immunogenicity clinical trial in healthy, male adults. *Vaccine* **34**, 586–594.
- Schwartz, C. and Fallon, P. G.** (2018). *Schistosoma* “eggs-iting” the host: Granuloma formation and egg excretion. *Frontiers in immunology* **9**, 1-16.
- Shah, N. A., Khan, M. R., Ahmad, B., Noureen, F., Rashid, U. and Khan, R. A.** (2013).

Investigation on flavonoid composition and anti free radical potential of *Sida cordata*. *BMC complementary and alternative medicine* **13**, 1 - 12.

Sheir, S. K., Omayma, Maghraby, A. M., Mohamed, A. H., Osman, G. and Al-Qormuti, S. A. (2015). Immunomodulatory and ameliorative role of *Nigella sativa* oil *Schistosoma mansoni* infected mice. *Canadian Journal of Pure and Applied Sciences* **9**, 3345–3355.

Shen, J., Lai, D. H., Wilson, R. A., Chen, Y. F., Wang, L. F., Yu, Z. L., Li, M. Y., He, P., Hide, G., Sun, X., Yang, T. B., Wu, Z. D., Ayala, F. J. and Lun, Z. R. (2017). Nitric oxide blocks the development of the human parasite *Schistosoma japonicum*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **114**, 10214–10219.

Shen, J., Yu, S., Peng, M., Lai, D.-H. I., Hide, G. I., Wu, Z.-D., Lun, Z.-R. I. and S-f, Y. (2022). iNOS is essential to maintain a protective Th1/Th2 response and the production of cytokines/chemokines against *Schistosoma japonicum* infection in rats. *PLOS Neglected Tropical Diseases* **16**, e0010403.

Shuhua, X., Chollet, J., Weiss, N. A., Bergquist, R. N. and Tanner, M. (2000). Preventive effect of artemether in experimental animals infected with *Schistosoma mansoni*. *Parasitology International* **49**, 19–24.

Sies, H. and Cadenas, E. (1985). Oxidative stress: damage to intact cells and organs. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* **311**, 617–631.

Sies, H., Berndt, C. and Jones, D. P. (2017). Oxidative stress. *Annual Review of Biochemistry* **86**, 715–748.

Silva, L. M., Menezes, R. M. C., De Oliveira, S. A. and Andrade, Z. A. (2003). Chemotherapeutic effects on larval stages of *Schistosoma mansoni* during infection and re-infection of mice. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* **36**, 335–341.

Skelly, P. J., Tielens, A. G. M. and Shoemaker, C. B. (1998). Glucose Transport and Metabolism in Mammalian-stage Schistosomes. *Parasitology today (Personal ed.)* **14**, 402–406.

Smithers, S. R. and Terry, R. J. (1965). The infection of laboratory hosts with cercariae of *Schistosoma mansoni* and the recovery of the adult worms. *Parasitology* **55**, 695–700.

Soliman, E., Maha, F., Nahla, S. and El-Shenawy (2003). Evaluation of the protective effect of two antioxidative agents in mice experimentally infected with *Schistosoma mansoni*: haematological and histopathological aspects. *Pakistan Journal of Biological Sciences* **6**, 887–897.

- Sorci, G., Cornet, S. and Faivre, B.** (2013). Immune evasion, immunopathology and the regulation of the immune system. *Pathogens* **2**, 71–91.
- Sorgho, H., Da, O., Rouamba, T., Savadogo, B., Tinto, H. and Ouedraogo, J.-B.** (2017). *Schistosoma mansoni* infection and hematological profile in an endemic foci in Western Burkina Faso. *African Journal of Parasitology Research* **4**, 264–270.
- Souza, A. L. S., Sousa-Pereira, S. R., Teixeira, M. M., Lambertucci, J. R. and Teixeira, A. L.** (2006). The role of chemokines in *Schistosoma mansoni* infection: insights from human disease and murine models. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **101**, 333–8.
- Souza, P. R. S., Souza, A. L. S., Negrão-Correa, D., Teixeira, A. L. and Teixeira, M. M.** (2008). The role of chemokines in controlling granulomatous inflammation in *Schistosoma mansoni* infection. *Acta Tropica* **108**, 135–138.
- Souza, A. L. S., Souza, P. R. S., Pereira, C. A., Fernandes, A., Guabiraba, R., Russo, R. C., Vieira, L. Q., Correia, A., Teixeira, M. M. and 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. *Infection and Immunity* **79**, 1741–1749.
- Stanley, R. G., Ngaiza, J. R., Atieno, E., Jell, G., Francklow, K., Jackson, C. L., Parry, H. and Doenhoff, M. J.** (2003a). Immune-dependent thrombocytopaenia in mice infected with *Schistosoma mansoni*. *Parasitology* **126**, 225–229.
- Stanley, R. G., Ngaiza, J. R., Wambayi, E., Lewis, J. and Doenhoff, M. J.** (2003b). Platelets as an innate defence mechanism against *Schistosoma mansoni* infections in mice. *Parasite Immunology* **25**, 467–473.
- Tallima, H., Dvořák, J., Kareem, S., Abou El Dahab, M., Abdel Aziz, N., Dalton, J. P. and El Ridi, R.** (2017). Protective immune responses against *Schistosoma mansoni* infection by immunization with functionally active gut-derived cysteine peptidases alone and in combination with glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **11**, e0005443.
- Tchuem Tchuenté, L. A., Kueté Fouodo, C. J., Kamwa Ngassam, R. I., Sumo, L., Dongmo Noumedem, C., Kenfack, C. M., Gipwe, N. F., Nana, E. D., Stothard, J. R. and Rollinson, D.** (2012). Evaluation of circulating cathodic antigen (CCA) urine-tests for diagnosis of *Schistosoma mansoni* infection in Cameroon. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **6**, e1758.
- Teixeira-Carvalho, A., Martins-Filho, O. A., Peruhype-Magalhães, V., Silveira-Lemos, D., Malaquias, L. C. C., Oliveira, L. F. A., Silveira, A. M. S., Gazzinelli, A., Gazzinelli, G.**

- and Corrêa-Oliveira, R. (2008). Cytokines, chemokine receptors, CD4+CD25HIGH+ T-cells and clinical forms of human schistosomiasis. *Acta Tropica* **108**, 139–149.
- Tekwu, E. M., Bosompem, K. M., Anyan, W. K., Appiah-Opong, R., Owusu, K. B. A., Tettey, M. D., Kissi, F. A., Appiah, A. A., Penlap Beng, V. and Nyarko, A. K. (2017). *In vitro* assessment of anthelmintic activities of *Rauwolfia vomitoria* (Apocynaceae) stem bark and roots against parasitic stages of *Schistosoma mansoni* and cytotoxic Study. *Journal of Parasitology Research* **2017**, 1-11.
- Tendler, M., Pinto, R. M., Lima, A. O., Gebara, G. and Katz, N. (1986). *Schistosoma mansoni*: Vaccination with adult worm antigens. *International Journal for Parasitology* **16**, 347–352.
- Tendler, M., Brito, C. A., Vilar, M. M., Serra-Freire, N., Diogo, C. M., Almeida, M. S., Delbem, A. C. B., Da Silva, J. F., Savino, W., Garratt, R. C., Katz, N. and Simpson, A. J. G. (1996). A *Schistosoma mansoni* fatty acid-binding protein, Sm14, is the potential basis of a dual-purpose anti-helminth vaccine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **93**, 269–273.
- Thapa, B. R. and Walia, A. (2007). Liver function tests and their interpretation. In *Indian Journal of Pediatrics* **7**, 663–671.
- Thétiot-Laurent, S. A. L., Boissier, J., Robert, A. and Meunier, B. (2013). Schistosomiasis chemotherapy. *Angewandte Chemie - International Edition* **52**, 7936–7956.
- Tran, M. H., Pearson, M. S., Bethony, J. M., Smyth, D. J., Jones, M. K., Duke, M., Don, T. A., McManus, D. P., Correa-Oliveira, R. and Loukas, A. (2006). Tetraspanins on the surface of *Schistosoma mansoni* are protective antigens against schistosomiasis. *Nature medicine* **12**, 835–840.
- Tucker, M. S., Karunaratne, L. B., Lewis, F. A., Freitas, T. C. and Liang, Y. san (2013). Schistosomiasis. *Current Protocols in Immunology* **103**, 1 - 58.
- Utzinger, J., Keiser, J., Shuhua, X., Tanner, M. and Singer, B. H. (2003). Combination chemotherapy of schistosomiasis in laboratory studies and clinical trials. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **47**, 1487–1495.
- Utzinger, J., N’Goran, E. K., Caffrey, C. R. and Keiser, J. (2011). From innovation to application: Social-ecological context, diagnostics, drugs and integrated control of schistosomiasis. *Acta Tropica* **120**, 121–137.
- Van Bolhuis, G. H., Rijks, J. M., Dorrestein, G. M., Rudolfova, J., Van Dijk, M. and Kuiken, T. (2004). Obliterative endophlebitis in mute swans (*Cygnus olor*) caused by *Trichobilharzia* sp. (Digenea: Schistosomatidae) infection. *Veterinary Pathology* **41**, 658–

- Viarouge, N., Pascal, M. and Merlier, H.** (1995). Détermination pratique des mauvaises herbes du genre *Sida* L. *Agriculture et développement* **5**, 46–50.
- Vimieiro, A. C. S., Araújo, N., Katz, N., Kusel, J. R. and Coelho, P. M. Z.** (2013). Schistogram changes after administration of antischistosomal drugs in mice at the early phase of *Schistosoma mansoni* infection. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **108**, 881–886.
- Waltenbaugh, C. and Melvold, R.** (2012). Adaptive immunity. In *Schaechter's Mechanisms of Microbial Disease: Fifth Edition* (ed. Willey Blackwell), pp. 91–116. John Wiley & Sons, Ltd, Oxford.
- Walters, M. I. and Gerarde, H. W.** (1970). An ultramicromethod for the determination of conjugated and total bilirubin in serum or plasma. *Microchemical Journal* **15**, 231–243.
- Wan, K., Wang, P. and Zhang, L.** (2017). *In vivo* and *in vitro* activity of oil extract of garlic (*Allium sativum* linnaeus) against *Schistosoma japonicum* cercariae. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* **50**, 126–129.
- Whitfield, P. J., Bartlett, A., Brown, M. B. and Marriott, C.** (2003). Invasion by schistosome cercariae: studies with human skin explants. *Trends in parasitology* **19**, 339–340.
- WHO** (2013). Schistosomiase: Rapport de situation 2001–2011 et plan stratégique 2012–2020.
- WHO** (2020). World Health Organization Electronic Essential Medicines List. <https://list.essentialmeds.org/>
- WHO** (2021). Schistosomiasis. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/schistosomiasis>
- WHO** (2022). Schistosomiasis. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/schistosomiasis>
- Wilbur, K. M., Bernheim, F. and Shapiro, O. W.** (1949). The thiobarbituric acid reagent as a test for the oxidation of unsaturated fatty acids by various agents. *Archives of biochemistry* **24**, 305–13.
- Wilson, M. S., Mentink-Kane, M. M., Pesce, J. T., Ramalingam, T. R., Thompson, R. and Wynn, T. A.** (2007). Immunopathology of schistosomiasis. *Immunology and Cell Biology* **85**, 148–154.
- Wu, A. H. B.** (2006). *Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests*, 4th Edition ed. Elsevier, S. Saunders Elsevier, St Louis, Missouri, USA.
- Xiao, S. H., Catto, B. A. and Webster, L. T.** (1985). Effects of praziquantel on different developmental stages of *Schistosoma mansoni* *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Infectious*

Diseases **151**, 1130–1137.

- Xiao, S. H., Keiser, J., Chollet, J., Utzinger, J., Dong, Y., Endriss, Y., Vennerstrom, J. L. and Tanner, M.** (2007). *In vitro* and *in vivo* activities of synthetic trioxolanes against major human schistosome species. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **51**, 1440–1445.
- Xiao, S. H., Keiser, J., Chen, M. G., Tanner, M. and Utzinger, J.** (2010). Research and development of antischistosomal drugs in the People's Republic of China. A 60-year review. *Advances in Parasitology* **73**, 231–295.
- Xiao, S. H., Sun, J. and Chen, M. G.** (2018). Pharmacological and immunological effects of praziquantel against *Schistosoma japonicum*: a scoping review of experimental studies. *Infectious Diseases of Poverty* **7**, 1–15.
- You, H., Stephenson, R. J., Gobert, G. N. and McManus, D. P.** (2014). Revisiting glucose uptake and metabolism in schistosomes: New molecular insights for improved schistosomiasis therapies. *Frontiers in Genetics* **5**, 1–8.
- Zhang, W., Molehin, A. J., Rojo, J. U., Sudduth, J., Ganapathy, P. K., Kim, E., Siddiqui, A. J., Freeborn, J., Sennoune, S. R., May, J., Lazarus, S., Nguyen, C., Redman, W. K., Ahmad, G., Torben, W., Karmakar, S., Le, L., Kottapalli, K. R., Kottapalli, P., Wolf, R. F., Papin, J. F., Carey, D., Gray, S. A., Bergthold, J. D., Damian, R. T., Mayer, B. T., Marks, F., Reed, S. G., Carter, D. and Siddiqui, A. A.** (2018). Sm-p80-based schistosomiasis vaccine: double-blind preclinical trial in baboons demonstrates comprehensive prophylactic and parasite transmission-blocking efficacy. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1425**, 38–51.
- Zhu, J., Zhang, W., Zhang, L., Xu, L., Chen, X., Zhou, S., Xu, Z., Xiao, M., Bai, H., Liu, F. and Su, C.** (2018). IL-7 suppresses macrophage autophagy and promotes liver pathology in *Schistosoma japonicum*-infected mice. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* **22**, 3353–3363.

ANNEXES

❖ Préparation des solutions à administrer

La préparation quotidienne des solutions de praziquantel à administrer a été effectuée comme suit : en fixant un volume de solution de 0,2 mL pour une souris de 20g, les concentrations des solutions correspondantes à chaque dose ont été calculées à partir de la formule suivante :

$$V = (P * D)/C \longrightarrow C = (P * D)/V$$

Où **V** est le volume de solution à administrer à chaque souris en mL

P : le poids de la souris en kg

D : la dose d'extrait ou de praziquantel administrée en mg/kg

C : la concentration de la solution en mg/mL.

- Pour les doses de 500 mg/kg et de 100 mg/kg en utilisant ce procédé et sachant qu'un comprimé de praziquantel renferme 600 mg de principe actif, un comprimé entier a été dissout dans 60 mL d'eau distillée ;

- Pour la dose de 18 mg/kg, afin de respecter le principe de 0,2 mL de solution pour une souris de 20g, un volume de 1,8 mL de la solution de praziquantel préparée tel que décrit ci-dessus a été prélevée puis diluée par ajout de 8,2 mL d'eau distillée.

La préparation quotidienne des solutions de l'extrait aqueux des parties aériennes de *S. pilosa* à administrer a été effectuée comme suit : en fixant un volume de solution de 0,2 mL pour une souris de 20g, les concentrations des solutions correspondantes à chaque dose ont été calculées à partir de la formule suivante :

$$V = (P * D)/C \longrightarrow C = (P * D)/V$$

Où **V** est le volume de solution à administrer à chaque souris en mL

P : le poids de la souris en kg

D : la dose d'extrait ou de praziquantel administrée en mg/kg

C : la concentration de la solution en mg/mL.

- Pour la dose de 100 mg/kg en utilisant ce procédé, une masse de 3,5 mg de EASp a été dissoute dans 3,5 mL d'eau distillée ;

- Pour la dose de 200 mg/kg, une masse de 7,5 mg de SpAE a été dissoute dans 3,5 mL d'eau distillée.

❖ Réactifs fournis par les kits de dosages des transaminases

Pour ces dosages, quatre réactifs ont été utilisés. Leur nature ainsi que leur composition sont les suivantes :

- le substrat ALAT ou ASAT composé de tampon phosphate pH 7.5 (85 mM), du 2-oxoglutarate (2 mM), de la L-alanine (200 mM) spécifique à l'ALAT ou de la L-aspartate (200 mM) spécifique à L'ASAT et du conservateur ;

- le colorant composé de 2,4-dinitrophenyl-hydrazine (1 mM) et de HCl (1 mM);

- le standard constitué d'un mélange de pyruvate de sodium (2 mmol/L), de tampon phosphate pH 7.5 (100 mmol/L), de merthiolate de sodium (0,1%) et du conservateur.

❖ Réactifs fournis par le kit de dosage de la bilirubine totale

Le dosage de la bilirubine totale a été effectué à l'aide des réactifs suivants fournis par le kit de dosage. Leur nature et leur composition sont les suivantes :

- le réactif 1 est constitué du mélange d'acide sulfanilique (30 mM), de DMSO (7 M) et d'acide chlorhydrique (130 mM) ;
- le réactif 2 est composé de nitrite de sodium (0,74 mM).

❖ Réactifs fournis par le kit de dosage de la phosphatase alcaline

Le dosage de la bilirubine totale a été effectué à l'aide des réactifs suivants fournis par le kit de dosage. Leur nature et leur composition sont les suivantes :

- le réactif 1 est composé du tampon diéthanolamine pH 10 à 25°C (1 M), du chlorure de Magnésium (0,5 mM) et du conservateur ;
- le réactif 2 est constitué de p-nitrophénylphosphate (10 mM).

❖ Réactifs fournis par le kit de dosage de la gamma-glutamyl transférase

La nature et la composition des réactifs ayant servi à l'évaluation de l'activité de la γ -GT dans les échantillons de sérum sont les suivantes :

- le réactif 1 est composé de glycylglycine (100 mM), du tampon TRIS pH 8,25 (95 mM) et du conservateur ;
- le réactif 2 est constitué de L- γ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide (80 mM).

❖ Réactifs utilisés pour le dosage du malondialdéhyde

Pour la réalisation de ce dosage, la solution d'acide trichloracétique (TCA) à 20 % a été préparée en faisant dissoudre 2g de TCA dans 10 mL d'eau distillée et la solution d'acide thiobarbiturique (TBA) à 0,67 % a été obtenue en faisant dissoudre 0,335 g de TBA dans 50 mL d'eau distillée.

❖ Réactifs utilisés pour le dosage des nitrites

- **Solution d'acide phosphorique 2,5 %** : un volume de 2,125 mL d'acide phosphorique 85 % a été introduit dans un bécher de 100 mL, puis le volume a été complété jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée ;

- **Réactif de Griess**: Le réactif de Griess a été préparé à partir du mélange à proportions égales d'une solution A de NED 0,1 % obtenue par dissolution de 0,1 g de NED dans 100 mL d'eau distillée et d'une solution B de sulfanilamide 1 % obtenue par dissolution de 1 g de sulfanilamide dans 100 mL d'acide phosphorique à 2,5%.

- **Solution standard de nitrite de sodium (1 mM)**: une masse de 0,69 g de nitrite de sodium (NaNO_2) a été dissoute dans 10 mL d'eau distillée.

❖ **Réactifs utilisés pour la détermination de l'activité de la superoxyde dismutase** : les réactifs étaient constitués d'une solution d'adrénaline concentrée à 0,3 mM préparée en dissolvant 6 mg d'adrénaline dans 100 mL d'eau distillée, et d'une solution de tampon carbonate 0,05 M, pH 10,2.

❖ **Réactifs utilisés pour la détermination de l'activité de la catalase**

- **La solution de peroxyde d'hydrogène 50 mM** a été obtenue en diluant 243 μ L de peroxyde d'hydrogène 35 % dans 50 mL d'eau distillée ;

- **La solution de dichromate de potassium 5 % - acide acétique glacial** a été obtenue en mélangeant 50 mL de solution de dichromate de potassium 5 % et 150 mL d'acide acétique glacial.

❖ **Réactifs utilisés pour le dosage du glutathion réduit**

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

❖ **Réactifs utilisés pour la réalisation des test antioxydants *in vitro***

- **La solution mère de EASp concentrée à 2 mg/mL** a été préparée par dissolution de 2 mg de EASp dans 1 mL d'eau distillée ;

- **La solution de DPPH concentrée à 0,02%** a été préparée par dissolution de 2 mg de DPPH dans 100 mL de méthanol pur. Cette solution a été conservée à l'abri de la lumière et de la chaleur jusqu'à son utilisation.

- **La solution de ABTS•+** a été préparée en mélangeant des proportions égales de K₂S₂O₈ (4.9 mM) avec une solution de ABTS concentrée à 7 mM. Après homogénéisation, le mélange a été incubé à température ambiante pendant 15 heures et à l'abri de la lumière. A l'issue de la période d'incubation, la solution a été diluée à l'aide du tampon phosphate (PBS 4 mM, pH 7,4) jusqu'à obtention d'une absorbance de $0,70 \pm 0,02$ à 734 nm.

- **La solution de Fe³⁺ (1,2 mg/mL)** a été préparée par dissolution de 1,2 mg de Chlorure de fer III (FeCl₃) dans 1 mL d'eau distillée.

- **La solution d'ortho-phénantroline à 0.2%** : une masse 200 mg d'ortho-phénantroline a été dissoute dans 100 mL de méthanol.

❖ **Préparation des tampons**

- **Le tampon Tris-HCl (50 mM, KCl 150 mM pH 7,4)** : des masses 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.

- **Solution de tampon carbonate (0,05 M, pH 10,2)**: dans un bécher de 1000 mL, 4,5 g de carbonate de sodium (Na₂CO₃, 10H₂O) et 4,2 g de NaHCO₃ ont été dissous dans 900

mL d'eau distillée. Le pH de la solution obtenue a été ajusté à 10,2 par ajout d'une solution de soude, puis le volume a été complété à 1000 mL avec de l'eau distillée ;

- **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).

- **Tampon phosphate (0,1 M ; pH 6,5)**: une masse de 8,9 g de phosphate disodique hydraté ($\text{Na}_2\text{HPO}_4, \text{H}_2\text{O}$) a été dissoute dans 500 mL d'eau distillée et 6,5 g de phosphate monosodique hydraté ($\text{NaH}_2\text{PO}_4, \text{H}_2\text{O}$) 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).

❖ **Composition du kit mouse ProtocartaPlex 10-plex immunoassay**

- Mélange d'antigènes purifiés pour la préparation de la gamme d'étalonnage
- Solution d'anticorps de détection
- Solution de microbilles magnétiques
- Solution de streptavidine – phycoérythrine
- Tampon de lavage concentré (10X)
- Tampon « Universal assay »
- Tampon de lecture
- Deux rangées de tubes de PCR
- Petite plaque de métal de calibration (réglable à la hauteur de la sonde)
- Microplaque noire de 96 puits munie d'un couvercle.
- Une barre aimantée adaptée aux dimensions de la microplaque.

La solution finale de tampon de lavage (1X) a été préparée en mélangeant 25 mL de tampon de lavage concentré (10X) et de l'eau distillée (QSP) de façon à obtenir un volume final de 250 mL. Le mélange a été homogénéisé puis conservé à 4°C jusqu'à son utilisation.

❖ **Préparation du gel d'agarose** : Le gel d'agarose à 2 % a été préparé dans un erlenmeyer par un mélange de 2 g d'agarose à 100 mL de tampon Tris borate EDTA (TBE) 1X (préparé par dilution de 100 mL de TBE 10X dans 900 mL d'eau distillée). Le mélange a été porté sur une plaque chauffante sous agitation jusqu'à ce qu'il devienne limpide. Après refroidissement du mélange, 2 µL de BET ont été ajoutés puis l'ensemble a été homogénéisé et ensuite versé dans les moules conçus à cet effet. Les bulles ont été éliminées et la préparation a été laissée

pour polymérisation à température ambiante pendant 40 minutes. A l'issue de la polymérisation, les moules ont été retirés et les gels obtenus conservés à 4°C dans du papier film.

❖ **Préparation des colorants et autres solutions pour la réalisation des analyses histopathologiques**

- **L'hématoxyline de Weigert** a été préparée à partir d'un mélange volume/volume (v/v) d'hématoxyline alcoolique (préparée par dissolution de 1 g d'hématoxyline (CI 75290, Sigma Aldrich, Germany) dans 100 mL d'éthanol à 95%) et d'une solution de chlorure ferrique acide (mélange de 11,6 g de chlorure de fer anhydre (Sigma Aldrich, Germany) 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 (Sigma Aldrich, Germany) 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, CI 35782, Sigma Aldrich, Germany) dans 100 mL d'une solution d'acide picrique saturée (Sigma Aldrich, Germany).

- **Le réactif de Schiff** a été préparé en faisant dissoudre 1 g de Fuchsine acide (CI 42520, Sigma Aldrich, Germany) dans 200 mL d'eau distillée puis le mélange a été porté à ébullition pendant 5 minutes. Après refroidissement jusqu'à 50°C, la solution a été filtrée et 20 mL de solution d'acide chlorhydrique préparée à 1N (8 mL d'acide chlorhydrique (HCl, Sigma Aldrich, Germany) a été ajouté à 92 mL d'eau distillée) a été ajoutée. Après avoir refroidi le mélange jusqu'à 25°C, 1g de disulfite de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, Sigma Aldrich, Germany) a été ajouté et la solution a été laissée au repos à l'obscurité pendant 24 heures.

- **L'acide périodique à 0,5%** a été préparé en faisant dissoudre 0,5g d'acide périodique (H_5IO_6 , Sigma-Aldrich) dans 99,5 mL d'eau distillée.

- **L'eau sulfureuse** a été obtenue en mélangeant 60 mL de disulfite de sodium à 10 % (préparée par dissolution de 10g de disulfite de sodium dans 100 mL d'eau distillée), 50 mL d'acide chlorhydrique 1N et 890 mL d'eau distillée.

- **Pour la coloration de Perls**, La solution d'incubation a été obtenue en faisant un mélange (v/v) de la solution de ferrocyanide de potassium à 2% (préparée par dissolution de 2g ferrocyanide de potassium ($\text{K}_4\text{FeC}_6\text{N}_6, 3\text{H}_2\text{O}$, Sigma Aldrich, Germany) dans 100 mL d'eau distillée) et de la solution d'acide chlorhydrique à 2 % (préparée par mélange de 2 mL d'acide chlorhydrique concentré avec 98 mL d'eau distillée).

- **La solution de rouge nucléaire solide à 0,1%** a été préparée par dissolution sous agitation de 25g de sulfate d'aluminium dans 500 mL d'eau distillée. Par la suite, après ajout de 0,5g de rouge nucléaire solide (CI 60760, Sigma Aldrich, Germany), la solution a été portée à ébullition pendant 5 minutes puis filtrée après refroidissement.

**PUBLICATIONS ISSUES DE
LA THESE**