

Usage traditionnel et étude de la toxicité aiguë et subchronique de l'extrait aqueux des écorces de tiges de *Strychnos camptoneura* Gilg & Busse chez le rongeur

Cyr Jonas MORABANDZA¹, Hermann GOMBE-ASSOUNGOU¹, Radard ONDELE¹, Landry MIGUEL¹, Etienne MOKONDJIMBE¹, Pascal Robin ONGOKA² et Ange Antoine ABENA^{1*}

¹ Laboratoire de Biochimie et Pharmacologie, Faculté des Sciences de la Santé, Université Marien Ngouabi

² Département Sciences Exactes, Ecole Normale Supérieure, Université Marien Ngouabi, République du Congo

* Correspondance, courriel : abena_cg@yahoo.fr

Résumé

L'usage traditionnel, la toxicité aiguë et subchronique de l'extrait aqueux des écorces de *S. camptoneura* (Loganiaceae) ont été étudiés. L'enquête ethnobotanique réalisée à l'aide d'un questionnaire a révélé que 26 sur 30 personnes ayant reçu le questionnaire soit 86,66 % utilisent les écorces de *S. camptoneura* pour des soins de santé. Le test de toxicité aiguë n'a montré ni modification du comportement général, ni mortalité des souris aux doses de 300, 2000 et 5000 mg / kg ; on note cependant un gain pondéral chez les souris. La DL₅₀ de l'extrait aqueux est supérieure à la dose de 5000 mg / kg. La toxicité subchronique à la dose unique de 1200 mg / kg après 30 et 45 jours chez le rat, a montré un gain pondéral significatif, une augmentation significative de certains paramètres hématologiques (HGB, VGM, Plaquettes et leucocytes) et, une diminution non significative des paramètres biochimiques (ASAT, ALAT, Bilirubine, créatinine et acide urique). L'extrait provoque cependant, une diminution significative de la glycémie chez le rat. Ces résultats pourraient expliquer l'important usage de cette plante en médecine traditionnelle.

Mots-clés : *Strychnos camptoneura*, écorces, toxicité aiguë, toxicité subchronique.

Abstract

Traditional use, acute and sub chronic toxicity study of the aqueous extract of the stem bark of *Strychnos camptoneura* Gilg & Busse (Loganiaceae) in rodent

Traditional use, acute and sub-chronic toxicity of the aqueous extract of the stem bark of *S. camptoneura* (Loganiaceae) was studied. The ethnobotanic investigation achieved with the questionnaire revealed that 26 on 30 persons received the questionnaire either 86.66 % use the bark of *S. camptoneura* for care of health. The test of acute toxicity did not revealed any modification of general behavior, nor mortality of mice to the doses of 300, 2000 and 5000 mg / kg but, one notes an significant increase of the body weight. The LD₅₀ of aqueous extract is superior to the dose of 5000 mg / kg. The sub chronic toxicity studied at the unique dose of 1200 mg / kg after 30 and 45 days showed an significant increase of the body weight and of some hematological parameters (HGB, VGM, platelets and leukocytes) and, a non significant decrease of the biochemical parameters (ASAT, ALAT, Bilirubine, creatinine and uric acid) in rat. The extract provokes however a significantly reduction of glycaemia. These results could explain the important use of this plant in traditional medicine.

Keywords : *Strychnos camptoneura*, bark, acute toxicity, sub chronic toxicity.

1. Introduction

L'utilisation des plantes dans les soins de santé connaît ces dernières années un intérêt particulier en raison du moindre coût et de ses effets bénéfiques sur l'organisme. Cependant, elle devrait répondre non seulement aux besoins mais aussi aux critères de sécurité des populations. Si les plantes sont souvent considérées comme saines et naturelles par rapport aux médicaments classiques, certaines investigations scientifiques ont prouvé qu'elles pouvaient contenir des substances toxiques (mercure, plomb, cuivre, nickel, arsenic, etc.) entraînant des effets négatifs graves allant parfois jusqu'au décès [1 - 3]. Aussi certaines plantes, exercent leur effet thérapeutique à des doses voisines de celles pour lesquelles on observe des signes d'intoxications [4]. Une étude récente a montré que l'utilisation des plantes médicinales pouvait avoir des effets indésirables comme les atteintes rénales et hépatiques, les diarrhées, les constipations, les vomissements et les saignements rectaux [5]. Les plantes pourraient de ce fait être toxiques par ingestion ou par contact et, les traitements à base d'extraits végétaux s'étalent souvent sur des longues périodes. D'où, la nécessité de la maîtrise des doses à administrer afin d'éviter d'autres pathologies plus graves à long terme. *Strychnos camptoneura* est une espèce de la famille des Loganiaceae abondamment utilisée en pharmacopée traditionnelle congolaise dans le traitement du paludisme, des ulcères, des inflammations, des douleurs, du diabète, de la fièvre, des infections microbiennes, de la hernie, des parasitoses et des défaillances sexuelles [6, 7]. Le macéré aqueux des écorces est administré aux nourrissons comme laxatif [8]. Cependant malgré son important usage, aucune donnée scientifique sur son usage traditionnel, ni sur son étude toxicologique ne sont disponibles à ce jour. Ce travail a donc été initié dans l'objectif de réaliser une enquête sur l'usage traditionnel des écorces de *S. camptoneura* et, d'évaluer la toxicité aiguë et subchronique chez le rongeur.

2. Matériel et méthodes

2-1. Matériel végétal

Le matériel végétal était constitué des écorces de tiges de *Strychnos camptoneura* récoltées à M'voula (Itoumbi, Cuvette-ouest à 760 km de Brazzaville-Congo) en Juin 2013 puis séchées à l'abri du soleil à la température du laboratoire ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) pendant 14 jours. Un échantillon de cette plante a été authentifié à l'Institut National de Recherche en Sciences Exactes et Naturelles (I.R.S.E.N.) et enregistré sous le N° 2271.

2-2. Matériel animal

Les souris albinos âgées de 3 mois et de poids corporel compris entre 20 et 30 g ont été utilisées pour la toxicité aiguë alors que les rats Wistar âgés de 4 mois et de poids corporel compris entre 150 et 200 g ont été utilisés pour la toxicité subchronique. Ces animaux, élevés à l'animalerie de la Faculté des Sciences de la Santé de l'Université Marien NGOUABI, ont été nourris de façon standard avec accès libre à l'eau et un rythme d'éclairage nocturne-diurne (12 / 12).

2-3. Enquête ethnobotanique

Elle a été réalisée dans le village M'voula à 40 km d'Itoumbi, sous-préfecture situé à 765 km environs de Brazzaville auprès de 10 tradipraticiens de santé et 20 autres personnes ayant des connaissances sur les utilisations de *Strychnos camptoneura*. Les fiches d'enquêtes sous forme de questionnaire leur ont été distribuées et remplies sur le champ.

2-4. Préparation de l'extrait aqueux

Les écorces séchées ont été réduites en poudre à l'aide d'un mortier en bois. 25 g de poudre d'écorces ont été macérées dans 250 ml d'eau distillée pendant 48 heures. Le macéré obtenu a été filtré trois (3) fois au coton hydrophile et le filtrat concentré au quart (1 / 4) du volume initial à 55°C au bain-marie. Le concentré a été hermétiquement fermé et conservé à 4°C au réfrigérateur.

2-5. Etude de la toxicité aiguë

Elle a été évaluée conformément à la ligne directrice N° 423 de l'OCDE (2001) pour les essais des solutions chimiques. 4 lots de 3 souris chacun mises à jeun 24 heures avant expérimentation et traitées de la manière suivante : lot témoin traité à l'eau distillée à 0,5 mL / 100 g ; trois lots traités à l'extrait aqueux des écorces de tige de *S. camptoneura* aux doses respectives de 300, 2000 et 5000 mg / kg. Après administration unique des produits, le comportement des animaux a été observé pendant 4 heures afin d'évaluer les signes de toxicité. Ces observations ont concerné la létalité, le ptosis, l'agressivité, le vomissement, l'état des selles, la pilo-érection, la réaction des animaux au stimulus externe. L'expérience s'est poursuivie pendant 14 jours en vue d'évaluer l'évolution pondérale des souris.

2-6. Etude de la toxicité subchronique

La méthode donnée par la ligne directrice N° 407 de l'OCDE (2009) pour les essais des produits chimiques, à dose répétée pendant 45 jours a été utilisée. Deux (2) lots de cinq (5) rats chacun ont été constitués. Un lot témoin traité à l'eau distillée à 0,5 mL / 100 g et un lot traité quotidiennement à l'extrait aqueux des écorces de *Strychnos camptoneura* à la dose unique de 1200 mg / kg de poids corporel. Le comportement des animaux a été observé chaque jour et leur poids prélevé chaque semaine. Des prélèvements sanguins ont été réalisés par voie retro-orbitaire après anesthésie à l'éther avant le traitement et, 30 et 45 jours après le traitement à l'aide des micropipettes à hémato-crite.

2-6-1. Evaluation des paramètres hématologiques

Les échantillons de sang prélevés dans les tubes à EDTA ont été immédiatement utilisés pour déterminer les taux d'hémoglobine (HGB), du volume globulaire moyen (VGM), de la teneur moyenne d'hémoglobine, des plaquettes et des leucocytes par les méthodes standards [10, 11].

2-6-2. Evaluation des paramètres biochimiques

Les échantillons de sang des tubes secs ont été centrifugés à 2580 tours / mn pendant 10 mn. Les sérums recueillis ont immédiatement servi au dosage des transaminases (ALAT, ASAT), de la bilirubine totale, de la créatinémie, de l'acide urique et de la glycémie par les méthodes classiques [12].

2-7. Analyse statistique

Les résultats exprimés en moyenne affectée de l'erreur standard sont soumis à une analyse de la variance à un facteur suivi d'un test de Student-Fisher. La limite de significativité est fixée à $p < 0,05$ [13]

3. Résultats

3-1. Enquête sur le terrain

Le **Tableau 1** résume les résultats de l'enquête menée à l'aide d'un questionnaire auprès des habitants de M'voula sur l'utilisation de *Strychnos camptoneura*. Après dépouillement des fiches d'enquête, il ressort que vingt et six (26) sur trente (30) personnes questionnées soit 86,66 % utilisent les organes de *Strychnos camptoneura* pour des soins contre plusieurs pathologies et symptômes.

Tableau 1 : Résultats de l'enquête sur l'utilisation en médecine traditionnelle de *Strychnos camptoneura*

Usage traditionnel	Nombre de citation
Paludisme	18
Rhumatisme	12
Constipation	7
Diabète	10
Fièvre	14
Parasitose	8
Infection microbienne	11
Défaillance sexuelle	10

3-2. Toxicité aigue

L'administration unique de l'extrait aqueux des écorces de *S. camptoneura* aux doses de 300, 2000 et 5000 mg / kg n'a provoqué ni perturbation du comportement général, ni mortalité des souris. On note cependant un gain pondéral significatif à partir du 10^e jour chez les souris traitées par rapport aux témoins (**Figure 1**).

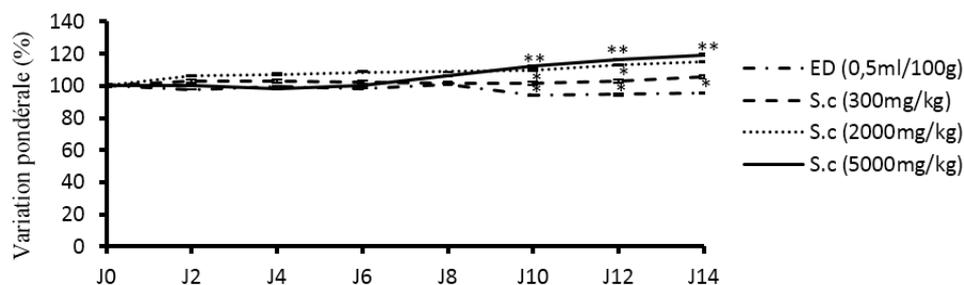


Figure 1 : Effet de l'extrait aqueux de *S. camptoneura* sur l'évolution pondérale chez la souris, ** $p < 0,01$ ($n = 3$)

3-3. Toxicité subchronique

3-3-1. Effet sur le comportement général et l'évolution pondérale

L'administration quotidienne de l'extrait aqueux de *S. camptoneura* à la dose unique de 1200 mg / kg pendant 45 jours chez le rat n'a provoqué ni perturbation du comportement général, ni mortalité. Cependant, une légère sédation et une augmentation pondérale significative est observée chez les rats traités à l'extrait aqueux par rapport au témoin dès la première semaine (**Figure 2**).

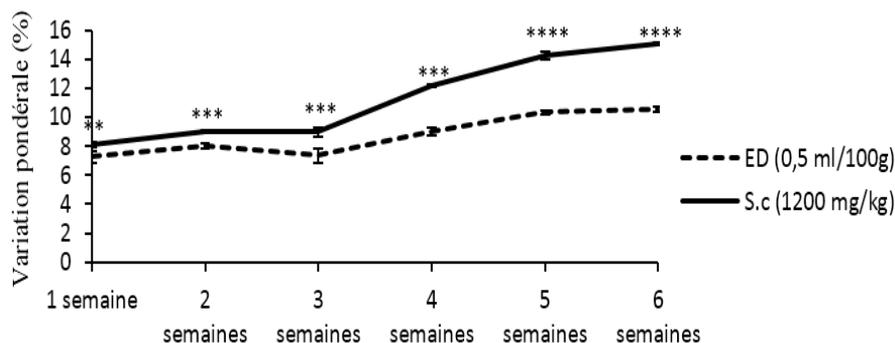


Figure 2 : Effet de l'extrait aqueux de *S. camptoneura* sur la variation pondérale chez le rat,

p* < 0,01; *p* < 0,001 (*n* = 5)

S. c : *Strychnos camptoneura* ; *ED* : Eau distillée

3-3-2. Effet sur les paramètres hématologiques

Les résultats présentés dans le **Tableau 2** montrent qu'à la dose unique de 1200 mg / kg, l'extrait aqueux de *S. camptoneura* provoque une augmentation significative (**p* < 0,05 ; ***p* < 0,01) des paramètres hématologiques étudiés. L'extrait n'a cependant pas modifié significativement le taux de TMH.

Tableau 2 : Effet de l'extrait aqueux de *S. camptoneura* a sur les paramètres hématologiques chez le rat après 30 et 45 jours de traitement

Paramètres	Témoins (E.D mL / 100 g)		<i>S. camptoneura</i> (1200 mg / kg p.o)	
	30 jours	45 jours	30 jours	45 jours
HGB (dl / L)	12,66 ± 1,24	13,23 ± 0,77	16,92 ± 0,54*	16,00 ± 0,84*
VGM (µm ³)	56,72 ± 2,59	55,38 ± 2,75	60,96 ± 2,41*	62,14 ± 1,93**
TMH (Pg)	19,68 ± 1,00	19,28 ± 1,36	18,60 ± 0,86	19,37 ± 0,83
Plaquettes (10 ³ / µL)	447,4 ± 65,28	440,80 ± 35,46	449,00 ± 29,66*	458,00 ± 32,69**
Leucocytes (C / µL)	4,96 ± 0,39	5,16 ± 0,86	6,62 ± 0,85*	7,22 ± 0,56*

Les valeurs sont des moyennes ± ESM, **p* < 0,05; ***p* < 0,01 (*n* = 5)

HGB : Hémoglobine ; VGM : Volume globulaire moyen; TMH : Teneur moyenne en hémoglobine

3-3-3. Effet sur les paramètres biochimiques

Le **Tableau 3** présente les résultats d'analyse des paramètres biochimiques. L'extrait aqueux de *S. camptoneura* à 1200 mg / kg, ne modifie pas significativement le taux de transaminases, de bilirubine, de créatinémie et d'acide urique par rapport au témoin. Cependant, on observe une diminution significative (***p* < 0,01 ; ****p* < 0,001) de la glycémie après 30 et 45 jours de traitement des rats.

Tableau 3 : Effet de l'extrait aqueux de *S. camptoneura* sur les paramètres biochimiques chez le rat après 30 et 45 jours de traitement

Paramètres	Témoins (0,5 mL / 100 g)		<i>S. camptoneura</i> (1200 mg / kg p.o)	
	30 jours	45 jours	30 jours	45 jours
ASAT (UI/L)	187,34 ± 2,50	188,86 ± 11,04	184,58 ± 15,45	186,1 ± 14,37
ALAT (UI/L)	36,21 ± 6,78	36,78 ± 7,19	34,82 ± 7,02	34,38 ± 5,11
Bilirubine (mg/L)	1,21 ± 0,23	1,27 ± 0,11	1,18 ± 0,13	1,20 ± 0,08
Créatinine (mg/L)	7,45 ± 0,65	7,95 ± 0,57	7,11 ± 0,46	7,43 ± 0,26
Acide urique	21,45 ± 1,02	21,76 ± 1,43	20,96 ± 1,60	21,62 ± 1,31
Glycémie	1,09 ± 0,45	1,16 ± 0,10	0,87 ± 0,14**	0,76 ± 0,11**

Les valeurs sont des moyennes ± ESM, ** $p < 0,01$ ($n = 5$)

ASAT : Aspartate amino transferase; ALAT : Alanine amino transferase

4. Discussion

Le présent travail avait pour objectif d'enquêter sur l'usage traditionnel et d'étudier la toxicité aiguë et subchronique des écorces de *S. camptoneura*, plusieurs études ayant rapporté des effets toxiques potentiels d'extraits végétaux [14, 15]. En raison de l'important usage de cette plante en médecine traditionnelle congolaise, il était nécessaire de caractériser les effets toxicologiques de cette plante sur les systèmes biologiques. De l'enquête sur l'usage de *S. camptoneura*, il ressort que 26 sur 30 personnes ayant reçu le questionnaire soit 86,66 % connaissent et utilisent les écorces de cette plante pour les soins de santé. Paludisme, fièvres et rhumatismes sont les usages traditionnels les plus cités. L'administration unique de l'extrait aqueux des doses de 300, 2000 et 5000 mg / kg n'a provoqué ni modification du comportement général, ni mortalité des souris. La dose létale (DL₅₀) de l'extrait aqueux de *S. camptoneura* pourrait être supérieure à 5000 mg / kg. Ce résultat rejoint celui d'une étude sur une autre espèce de la famille de Loganiaceae qui a montré une DL₅₀ au-dessus de 2000 mg / kg [16]. En se basant sur les recommandations N° 423 du Bulletin de l'OCDE (2001), cet extrait peut être considéré comme ayant une basse toxicité, et être classé en catégorisé 5, laquelle inclut les substances avec une DL₅₀ supérieure à 5000 mg / kg [17]. Ce résultat laisse penser que l'extrait aqueux de *S. camptoneura* pourrait avoir une marge substantielle de sécurité dans son usage en médecine traditionnelle.

Après une période d'observation de 14 jours ayant suivie l'administration unique, pour s'assurer d'une éventuelle toxicité après métabolisme des constituants de l'extrait, on a observé un gain pondéral des souris aux doses indiquées par rapport aux témoins. Cette augmentation du poids corporel pourrait être liée à une grande consommation alimentaire et hydrique laissant penser à un effet stimulateur de l'appétit chez les souris par l'extrait. A l'issue du test d'innocuité, la dose de 300 mg / kg a été choisie et quadruplée à 1200 mg / kg afin d'étudier la toxicité subchronique de l'extrait chez le rat. Après 45 jours de traitement, l'extrait aqueux de *S. camptoneura* n'a provoqué aucun changement significatif du comportement général et de mortalité des rats. Cependant, une légère sédation et un gain pondéral significatif ont été observés chez les rats traités à l'extrait par rapport aux témoins. L'augmentation du poids corporel est utilisée comme indicateur d'effets adverses de substances toxiques [18, 19]. Nos résultats vérifient cette hypothèse et se rapproche alors de ceux obtenu avec l'extrait aqueux de *Senna alata* chez des rats traités pendant 26 jours [20]. Ils sont aussi en accord avec les informations des tradipraticiens de santé, qui pensent que la prise de certains extraits de plantes médicinales stimulerait l'appétit chez l'homme et donc entraînerait une

augmentation du poids corporel [6]. Les paramètres hématologiques donnent des informations sur les fonctions hématopoïétiques (évaluation de cellules de la lignée myéloïde), la détermination de l'avènement de toutes allergies et l'étude de la carte leucocytaire [21]. L'administration de l'extrait à la dose unique de 1200 mg / kg après 45 jours a montré une augmentation significative (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$) des paramètres hématologiques (HGB, VGM, PLT et GB) par rapport au témoin. Ce qui suggère un éventuel effet stimulateur des fonctions hématopoïétiques. Une analyse critique sur ce résultats suggère que *S. camptoneura* pourrait avoir un effet antipaludique comme l'indique les enquêtes au sein de la population. En effet, une étude antérieure a montré que les plantes antipaludiques avaient un effet stimulateur sur le système hématopoïétique et immunitaire [22]. Nos analyses ont révélées une augmentation significative du taux de leucocytes (GB) et d'autres paramètres sanguins, rejoignant ainsi les investigations d'autres auteurs [23]. Les paramètres biochimiques renseignent sur les fonctions hépatiques, rénales et pancréatiques. Les analyses n'ont révélées, aucun changement significatif de la plupart des paramètres étudiés après 30 et 45 jours de traitement à l'extrait aqueux de *S. camptoneura*. Les transaminases (ALT, ASAT) sont en effet d'importants indicateurs de l'hépatotoxicité [24]. Ils sont impliqués dans le métabolisme d'acides aminés et d'hydrates de carbone.

Leurs taux s'élèvent rapidement lorsque le foie est endommagé pour diverses raisons incluant les nécroses cellulaires hépatiques, l'hépatite, les cirrhoses ainsi que l'hépatotoxicité de certaines drogues [25]. Toute augmentation dans le sérum est un signe d'un premier dégât cellulaire qui induit l'afflux de ces enzymes. Le **Tableau 3** ne montre aucun changement significatif de ces enzymes, l'extrait aqueux n'a pas provoqué des dégâts considérables du foie. Le taux de bilirubine reflète la fonction hépatique et rénale. Le foie convertit bilirubine non-conjugué en bilirubine conjugué. Alors, le rein excrète bilirubine conjugué. Le changement du taux bilirubine montre un dysfonctionnement hépatique ou rénal [25]. Le **Tableau 3** ne montre aucun changement significatif chez les animaux traités avec l'extrait aqueux de *S. camptoneura* comparé au groupe témoin. Cet extrait n'affecte pas considérablement les fonctions hépatiques et rénales confirmant les résultats précédents. La créatinine est un composant de protéines du muscle qui sont éliminées seulement par le rein ; il renseigne sur le fonctionnement rénal [26]. Ces valeurs du sérum peuvent varier par suite de facteurs supplémentaires (prise de la protéine excessive dans l'alimentation, l'importance de catabolisme du muscle a été en rapport avec masse du corps, âge). L'augmentation dans le sérum du niveau de créatinine reflète un défaut de fonctionnement et donc une néphrite [26].

Le niveau créatinine n'a pas connu une diminution considérable chez les rats traités avec l'extrait, cela suggère que l'extrait n'influence pas fonction rénale. L'acide urique de même renseigne sur la fonction rénale, organe vital dans l'élimination de l'urée, produit du catabolisme de protéines. Son niveau dans le sang reflète la fonction du rein. Cependant, il peut être changé par des facteurs rénaux (fièvre, prise de la nourriture protéine-riche). Dans notre expérimentation, aucun changement significatif n'a été observé chez le rat après traitement à l'extrait par rapport au témoin. Par conséquent, l'extrait aqueux n'affecte pas considérablement la fonction rénale. Si tous les autres paramètres évalués n'ont connus aucun changement significatif qui dénoterait d'une toxicité à long terme dans l'usage de l'extrait aqueux de *S. camptoneura*, nos résultats révèlent une diminution significative de la glycémie par rapport au témoin. Ce qui laisse penser à un éventuel effet hypoglycémiant, effet qui pourrait le support de l'usage de cette plante dans le diabète. Ces résultats se rapprochent de ceux obtenus par d'autres investigations avec les extraits aqueux des feuilles de *Eleocharis drupifera* et de *Artemisia afra* chez les rats [27, 28].

5. Conclusion

La présente étude a montré que les écorces de *S. camptoneura* sont très utilisées en médecine traditionnelle. Il ne provoque ni modification de l'état général, ni mortalité des animaux aux doses utilisées. L'extrait aqueux de *S. camptoneura* n'est pas toxique et a, une DL₅₀ supérieure à 5000 mg / kg. L'étude de la toxicité subchronique a montré que l'extrait aqueux d'écorces de *S. camptoneura* n'est pas hépatotoxique, une augmentation significative du taux de globules blancs et une hypoglycémie sont observées. Ces résultats expliqueraient les différents usages des écorces de cette plante et, ouvrent en perspectives des études d'effets antipaludiques, hépato-protecteurs, immunostimulants et anti-hyper-glycémiant.

Références

- [1] - R.W. BYARD, A review of potential forensic significance of traditional herbal medicines. *J For Science*, 55 (2010) 1.
- [2] - G. MUZI, M. DELL'OMO, G. MADEO et al, Arsenic poisoning caused by Indian ethnic remedies. *J Pediatr*, 139 (2001) 169.
- [3] - F. STICKEL, E. PATSENKER, D. SCHUPPAN, Herbal hepatotoxicity. *J Hepatol*, 43 (2005) 901 - 10.
- [4] - M. PARIS, M. HURABIELLE, Abrégé de matière médicale (pharmacognosie, généralités monographie 1ère partie, plantes à glucides (holosides, hétérosides), à lipides, à huiles essentielles, à protides et à alcaloïdes. Masson, Paris, 1(1981) 339 p.
- [5] - A. CHEBAT, S. SKALLI, H. ERRITHANI, L. BOULAAMANE, M. MOKRIM, T. MAHFOUD, R. SOULAYMANI, A. KAHOUADJI, Etude de prévalence des effets indésirables liés à l'utilisation des plantes médicinales par les patients de l'Institut National d'Oncologie, Rabat. *Phytothérapie*, 1 (12) (2014) 25 - 32.
- [6] - A. BOUQUET, Féticheur et médecines traditionnelles du Congo. Mémoire O.R.S.T.O.M, N° 36 Brazzaville-Congo, (1969) 282 p.
- [7] - A. J. M. LEEUWENBERG, The *Loganiaceae* of Africa 8. *Strychnos* 3. Revision of the African species with notes on the extra-African. Mededelingen Landbouwhoghe school Wageningen 69-1. Wageningen, Netherlands, (1969) 316 p.
- [8] - A. BOUQUET, « Plantes médicinales traditionnelles du Congo-Brazzaville ». Travaux et documents O.R.S.T.O.M. Paris-France, 13 (1972) 112 p.
- [9] - OCDE/OECD, Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques : Toxicité orale aiguë- Méthode par classe de toxicité aiguë, N° 423, (2001).
- [10] - OCDE, Etude de la toxicité chronique. Ligne directrice de l'OCDE pour les essais des produits chimiques, 1 (4) (2009) 16 p.
- [11] - F. J. BAKER, R. E. SILVRTON, D. KILSHAW, R. SHANNON, D.L. GUTHRIE, S. EGGLESTONE, J.C. MACKENZIA, Introduction to haematology. In introduction to Medical Laboratory Technology (6thedn). Butterworths : London and Boston, (1985) 147 - 334.
- [12] - A. C. MOURA, E. L. SILVA, M. C. FRAGA, A. G. WANDERLEY, P. AFATPOUR, M. B. MAIA, Anti-inflammatory and chronique toxicity study of leaves of *Ageratum conyzoides* Linn. In rats. *Phytomedicine*, 12 (1,2) (2005) 138 - 142.
- [13] - D. E. SCHWARTZ, Méthode statistique à l'usage des médecins et des biologistes. Ed. Flammarion, (1963) 157 - 158.
- [14] - D. LARREY, S. Faure, Herbal medicine hepatotoxicity : A new step with development of specific biomarkers. *Journal of Hepatology*, 54 (2011) 599 - 601.

- [15] - F. B. MACGREGOR, V. E. ABERNETHY, S. DAHABRA, I. COBDEN, P. C HAYES, Hepatotoxicity of herbal remedies. *Br Med. J.*, 299 (1989) 1156 - 7.
- [16] - N. C. JAIN, SCHALM'S VETERINARY HAEMATLOGY, Lea and Febiger : Philadelphia 1986.
- [17] - C. MEZUI, F. LONGO, C. NKENFOU, Z. SANDO, E. NDEME, P. VERNYUY TAN, Evaluation of acute and sub acute toxicity of stem bark aqueous extract of *Anthocleista schweinfurthi* (Loganiaceae). *World J. of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4 (3) (2015) 197 - 208.
- [18] - B. A. AYINDE, O. J. OWOLABI, Effects of the aqueous extract of *Ficus capensis* Thunb (Moraceae) leaf on gastrointestinal motility. *Journal of pharmacognosy and phytotherapy*, 1 (3) (2009) 31 - 35.
- [19] - M. RAZA, O. AL-SHABANAH, A. EL-HADIYAH, Effect of prolonged vigabatri; treatment on hematological and biochemical parameters in plasma, liver and kidney of Swiss albino mice. *Sci. Pharmas*, 70 (2002) 135 - 145.
- [20] - A. TAHRAOUI, Z. H. ISRAILI, B. LYOUSSI, Acute and sub-chronic toxicity of a lyophilized aqueous extract of *Centaurium erythraea* in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 132 (2010) 48 - 55.
- [21] - SHERWOOD, *Physiologie humaines : 2ème édition*. De Boeck, Paris, (2006) 452 - 462.
- [22] - K. KOUDOUVO, A. KAVENGUE, A. AGBONON, M. KODJO, K. AKLIKOKOU, K. KOKOU, K. ESSIEN, M. GBEASSOR, Enquête ethnobotanique sur les plantes à activité antplasmodiale, antioxidant et immunostimulant dans la région maritime du Togo. *Revue Togolaise des Sciences*, (2006) 145 - 155.
- [23] - C. A. PIEME, V. N. PENLAP, B. NKEGOM, C. L. TAZIEBOU, E. M. TEKWU, F. X. ETOA, J. NGONGANG, Evaluation of acute and subacute toxicities of aqueous ethanolic extract of leaves of *Senna alata* (L.) Roxb (Cesalpiniaceae). *Afr J Biotechnol*, 5 (2006) 3, 283 - 289.
- [24] - D. R. DUFOUR, J. A. LOTT, F. S. NOLTE, D. R. GRETCH, R. S. KOFF, L. B. SEEFF, Diagnosis and monitoring of hepatic injury II. Recommendations for use of laboratory tests in screening, diagnosis and monitoring. *Clin. Chem*, 46 (2000) 2050 - 2068.
- [25] - A. P. HALL, C. R. ELCOMBE, J. R. FOSTER, T. HARADA, W. KAUFMANN, A. KNIPPEL, K. KUTTLER, D. E. MALARKEY, R. R. MARONPOT, A. NISHIKAWA, T. NOLTA, A. SCHULTE, V. STRAUSS, M. J. YORK, Liver Hypertrophy : A Review of Adaptive (Adverse and Non-adverse) Changes- Conclusions from the 3rd International ESTP Expert Workshop. *Toxicologic Pathology*, 40 (2012) 971 - 994.
- [26] - N. LAMEIRE, W. VANBIESEN, R. VANHOLDER, Acute renal failure. *The Lancet*, 365 (2005) 417 - 430.
- [27] - M. I. AKPANABIATU, A. O. IGIRI, E. U. EYONG, M. U. ETENG, Biochemical and histological effects of *Eleophorbia drupifera* leaf extract in Wistar albino rats. *Pharmaceut. Biol*, 41 (2) (2003) 96 - 99.
- [28] - J. T. MUKINDA, J. A. SYCE, Acute and chronic toxicity of the aqueous extract of *Artemisia afra* in rodents. *J. Ehtnopharmacol*, 112 (1) (2007) 138 - 144.