

Quatrième article : Evaluation de la toxicité des extraits totaux aqueux des feuilles de *Bridelia ferruginea* Benth (Euphorbiaceae) chez le rat Wistar

Par : F. M. Adoukpe, T. M. C. Medehouenou, G. A. Hougbeme, D. T. Allode, J. V. Aholoukpe, L. U. Béhanzin et L. S. Baba-Moussa

Pages (pp.) 33-43.

Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin (BRAB) – Novembre 2022 – Volume 32 - Numéro 03

Le BRAB est en ligne (on line) sur le site web <http://www.slire.net> et peut être aussi consulté sur le site web de l'Institut National des Recherches Agricoles du Bénin (INRAB) <http://www.inrab.org>

ISSN imprimé (print ISSN) : 1025-2355 et ISSN électronique (on line ISSN) : 1840-7099  
Bibliothèque Nationale (BN) du Bénin



**Institut National des Recherches Agricoles du Bénin (INRAB)**

**Direction Scientifique (DS) - Service Animation Scientifique (SAS)**

01 BP 884 Recette Principale, Cotonou 01 - République du Bénin

Tél. : (+229) 21 30 02 64 ; E-mail : [sp.inrab@inrab.org](mailto:sp.inrab@inrab.org) / [inrabdg1@yahoo.fr](mailto:inrabdg1@yahoo.fr) / [brabpisbinrab@gmail.com](mailto:brabpisbinrab@gmail.com)

La rédaction et la publication du bulletin de la recherche agronomique du Bénin (BRAB) de l'Institut National des Recherches Agricoles du Bénin (INRAB)

01 B.P. 884 Recette Principale, Cotonou 01 - Tél. : (+229) 21 30 02 64

E-mail: [brabpisbinrab@gmail.com](mailto:brabpisbinrab@gmail.com) - République du Bénin

## Sommaire

Sommaire	i
Informations générales	ii
Indications aux auteurs	iii
Screening of virulent isolates of entomopathogenic fungi in the control of <i>Hymenia recurvalis</i> Fabricius and <i>Psara basalis</i> Walker on <i>Amaranthus cruentus</i> L. <b>J. Toffa, Y. L. E. Loko, H. Bokossa, E. Dannon, D. Kpindou and M. Tamò</b>	1
Effets des pratiques de Gestion Durable des Terres sur la sécurité alimentaire des ménages bénéficiaires dans un contexte d'adaptation aux variabilités et changements climatiques dans deux Communes du Nord-Bénin <b>F. I. Akpo, K. Issaka, F. Tassou Zakari, F. O. Agani et J. A. Yabi</b>	11
Perceptions et demande du conseil agricole au sein des exploitations cotonnières et non-cotonnières au Bénin <b>D. V. Agbotridja, C. L. Hinnou, G. Maboudou-Alidou et A. Ahéhéhinou</b>	23
Evaluation de la toxicité des extraits totaux aqueux des feuilles de <i>Bridelia ferruginea</i> Benth (Euphorbiaceae) chez le rat Wistar <b>F. M. Adoukpe, T. M. C. Medehouenou, G. A. Hougbe, D. T. Allode, J. V. Aholoukpe, L. U. Béhanzin et L. S. Baba-Moussa</b>	33
Activités antioxydante et antimicrobienne des feuilles de <i>Tectona grandis</i> Linn., utilisées pour le traitement de l'ulcère gastroduodéal au Bénin <b>O. Koukoui, F. Cachon, A. Hougbe, N. Kinnou, L. Gbenou, S. Seton et J.-B. Amagbegnon</b>	44
Impact du warrantage sur l'accès aux aliments des ménages des producteurs de maïs dans le Nord-Est du Bénin <b>R. Moustafa, S. Kpenavoun Chogou et J. F. Nazeba</b>	53
Complémentarité entre la gestion des biens matériels et économiques et la gestion du salut des âmes chez les chrétiens catholiques <b>B. M. Some</b>	73
Faire face aux dilemmes éthiques dans la gestion d'une paroisse de l'église catholique <b>D. I. Houngue</b>	80

## Informations générales

Le Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin (BRAB) édité par l'Institut National des Recherches Agricoles du Bénin (INRAB) est un organe de publication créé en mai 1991 pour offrir aux chercheurs béninois et étrangers un cadre pour la diffusion des résultats de leurs travaux de recherche. Il accepte des articles originaux de recherche et de synthèse, des contributions scientifiques, des articles de revue, des notes et fiches techniques, des études de cas, des résumés de thèse, des analyses bibliographiques, des revues de livres et des rapports de conférence relatifs à tous les domaines de l'agronomie et des sciences apparentées, ainsi qu'à toutes les disciplines du développement rural. La publication du Bulletin est assurée par un comité de rédaction et de publication appuyés par un conseil scientifique qui réceptionne les articles et décide de l'opportunité de leur parution. Ce comité de rédaction et de publication est appuyé par des comités de lecture qui sont chargés d'apprécier le contenu technique des articles et de faire des suggestions aux auteurs afin d'assurer un niveau scientifique adéquat aux articles. La composition du comité de lecture dépend du sujet abordé par l'article proposé. Rédigés en français ou en anglais, les articles doivent être assez informatifs avec un résumé présenté dans les deux langues, dans un style clair et concis. Une note d'indications aux auteurs est disponible dans chaque numéro et peut être obtenue sur demande adressée au secrétariat du BRAB. Pour recevoir la version électronique pdf du BRAB, il suffit de remplir la fiche d'abonnement et de l'envoyer au comité de rédaction avec les frais d'abonnement. La fiche d'abonnement peut être obtenue à la Direction Générale de l'INRAB, dans ses Centres de Recherches Agricoles ou à la page vii de tous les numéros. Le BRAB publie par an normalement deux (02) numéros en juin et décembre mais quelquefois quatre (04) numéros en mars, juin, septembre et décembre et aussi des numéros spéciaux mis en ligne sur le site web : <http://www.slire.net>. Un thesaurus spécifique dénommé « TropicAgrif » (Tropical Agriculture and Forestry) a été développé pour caractériser les articles parus dans le BRAB et servir d'autres revues africaines du même genre. Pour les auteurs, une contribution de cinquante mille (50.000) Francs CFA est demandée par article soumis et accepté pour publication. L'auteur principal reçoit la version électronique pdf du numéro du BRAB contenant son article.

Comité de Rédaction et de Publication du Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin - 01 BP 884 Recette  
Principale - Cotonou 01 – Tél.: (+229) 21 30 02 64 - E-mail: [brabpbinrab@gmail.com](mailto:brabpbinrab@gmail.com) – République du Bénin

**Éditeur :** Institut National des Recherches Agricoles du Bénin (INRAB)

**Comité de Rédaction et de Publication :** -i- **Directeur de rédaction et de publication :** Directeur Général de l'INRAB ; -ii- **Rédacteur en chef :** Directeur Scientifique de l'INRAB ; -iii- **Secrétaire documentaliste :** Documentaliste archiviste de l'INRAB ; -iv- **Maquettiste :** Analyste programmeur de l'INRAB ; -v- **Opérateur de mise en ligne :** Dr Ir. Sètchéme Charles Bertrand POMALEGNI, Chargé de recherche ; -vi- **Membres :** Dr Ir. Guy A. MENSAH, Directeur de Recherche, Dr Ir. Angelo C. DJIHINTO, Maître de Recherche, Dr Ir. Rachida SIKIROU, Maître de Recherche et MSc. Ir. Gbènakpon A. Y. G. AMAGNIDE.

**Conseil Scientifique :** Membres du Conseil Scientifique de l'INRAB, Pr. Dr Ir. Brice A. SINSIN (Écologie, Foresterie, Faune, PFNL, Bénin), Pr. Dr Michel BOKO (Climatologie, Bénin), Pr. Dr Ir. Joseph D. HOUNHOUGAN (Sciences et biotechnologies alimentaires, Bénin), Pr. Dr Ir. Abdourahmane BALLA (Sciences et biotechnologies alimentaires, Niger), Pr. Dr Ir. Kakai Romain GLELE (Biométrie et Statistiques, Bénin), Pr. Dr Agathe FANTODJI (Biologie de la reproduction, Elevage des espèces gibier et non gibier, Côte d'Ivoire), Pr. Dr Ir. Jean T. C. CODJIA (Zootechnie, Zoologie, Faune, Bénin), Pr. Dr Ir. Euloge K. AGBOSSOU (Hydrologie, Bénin), Pr. Dr Sylvie M. HOUNZANGBE-ADOTE (Parasitologie, Physiologie, Bénin), Pr. Dr Ir. Jean C. GANGLO (Agro-Foresterie), Dr Ir. Guy A. MENSAH (Zootechnie, Faune, Elevage des espèces gibier et non gibier, Bénin), Pr. Dr Moussa BARAGÉ (Biotechnologies végétales, Niger), Pr. Dr Jeanne ZOUNDJIHEKPON (Génétique, Bénin), Pr. Dr Ir. Gauthier BIAOU (Économie, Bénin), Pr. Dr Ir. Roch MONGBO (Sociologie, Anthropologie, Bénin), Dr Ir. Gualbert GBEHOUNOU (Malherbologie, Protection des végétaux, Bénin), Dr Ir. Attanda Mouinou IGUE (Sciences du sol, Bénin), Dr DMV. Delphin O. KOUDANDE (Génétique, Sélection et Santé Animale, Bénin), Dr Ir. Aimé H. BOKONON-GANTA (Agronomie, Entomologie, Bénin), Pr. Dr Ir. Rigobert C. TOSSOU (Sociologie, Bénin), Dr Ir. Anne FLOQUET (Économie, Allemagne), Dr Ir. André KATARY (Entomologie, Bénin), Dr Ir. Hessou Anastase AZONTONDE (Sciences du sol, Bénin), Dr Ir. Claude ADANDEDJAN (Zootechnie, Pastoralisme, Agrostologie, Bénin), Dr Ir. Paul HOUSSOU (Technologies agro-alimentaires, Bénin), Dr Ir. Adolphe ADJANOHOUN (Agro-foresterie, Bénin), Dr Ir. Isidore T.GBEGO (Zootechnie, Bénin), Dr Ir. Françoise ASSOGBA-KOMLAN (Maraîchage, Sciences du sol, Bénin), Dr Ir. André B. BOYA (Pastoralisme, Agrostologie, Association Agriculture-Élevage), Dr Ousmane COULIBALY (Agro-économie, Mali), Pr. Dr Ir. Luc O.SINTONDJI (Hydrologie, Génie Rural, Bénin), Dr Ir. Vincent J. MAMA (Foresterie, SIG, Bénin)

**Comité de lecture :** Les évaluateurs (referees) sont des scientifiques choisis selon leurs domaines et spécialités.

## Indications aux auteurs

### Types de contributions et aspects généraux

Le Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin (BRAB) accepte des articles scientifiques, des articles de synthèse, des résumés de thèse de doctorat, des analyses bibliographiques, des notes et des fiches techniques, des revues de livres, des rapports de conférences, d'ateliers et de séminaires, des articles originaux de recherche et de synthèse, puis des études de cas sur des aspects agronomiques et des sciences apparentées produits par des scientifiques béninois ou étrangers. La responsabilité du contenu des articles incombe entièrement à l'auteur et aux co-auteurs. Le BRAB publie par an normalement deux (02) numéros en juin et décembre mais quelquefois quatre (04) numéros en mars, juin, septembre et décembre et aussi des numéros spéciaux mis en ligne sur le site web : <http://www.slire.net>. Pour les auteurs, une contribution de cinquante mille (50.000) Francs CFA est demandée par article soumis et accepté pour publication. L'auteur principal reçoit la version électronique pdf du numéro du BRAB contenant son article.

### Soumission de manuscrits

Les articles doivent être envoyés par voie électronique par une lettre de soumission (*covering letter*) au comité de rédaction et de publication du BRAB aux adresses électroniques suivantes : E-mail : [brabpbinrab@gmail.com](mailto:brabpbinrab@gmail.com). Dans la lettre de soumission les auteurs doivent proposer l'auteur de correspondance ainsi que les noms et adresses (y compris les e-mails) de trois (03) experts de leur discipline ou domaine scientifique pour l'évaluation du manuscrit. Certes, le choix des évaluateurs (*referees*) revient au comité éditorial du Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin. Les manuscrits doivent être écrits en français ou en anglais, tapé/saisi sous Winword ou Word ou Word docx avec la police Arial taille 10 en interligne simple sur du papier A4 (21,0 cm x 29,7 cm). L'auteur doit fournir des fichiers électroniques des illustrations (tableaux, figures et photos) en dehors du texte. Les figures doivent être réalisées avec un logiciel pour les graphiques. Les données ayant servi à élaborer les figures seront également fournies. Les photos doivent être suffisamment contrastées. Les articles sont soumis par le comité de rédaction à des évaluateurs, spécialistes du domaine.

### Sanction du plagiat et de l'autoplaiat dans tout article soumis au BRAB pour publication

De nombreuses définitions sont données au plagiat selon les diverses sources de documentations telles que « -i- Acte de faire passer pour siens les textes ou les idées d'autrui. -ii- Consiste à copier les autres en reprenant les idées ou les résultats d'un autre chercheur sans le citer et à les publier en son nom propre. -iii- Copie frauduleuse d'une œuvre existante en partie ou dans sa totalité afin de se l'approprier sans accord préalable de l'auteur. -iv- Vol de la création originale. -v- Violation de la propriété intellectuelle d'autrui. » (<https://integrite.umontreal.ca/reglements/definitions-generales/>). Le Plagiat et l'Autoplaiat sont à bannir dans les écrits scientifiques. Par conséquent, tout article soumis pour sa publication dans le BRAB doit être préalablement soumis à une analyse de plagiat, en s'appuyant sur quelques plateformes de détection de plagiat. Le **plagiat constaté dans tout article** sera sanctionné par un retour de l'article accompagné du **rapport de vérification du plagiat par un logiciel antiplagiat** à l'auteur de correspondance pour sa correction avec **un taux de tolérance de plagiat ou de similitude inférieur ou égal à sept pour cent (07%)**.

### Respecter de certaines normes d'édition et règles de présentation et d'écriture

Pour qu'un article soit accepté par le comité de rédaction, il doit respecter certaines normes d'édition et règles de présentation et d'écriture. Ne pas oublier que les trois (3) **qualités fondamentales d'un article scientifique** sont la **précision** (supprimer les adjectifs et adverbes creux), la **clarté** (phrases courtes, mots simples, répétition des mots à éviter, phrases actives, ordre logique) et la **brièveté** (supprimer les expressions creuses). **Le temps des verbes doit être respecté**. En effet, tout ce qui est expérimental et non vérifié est rédigé au passé (passé composé et imparfait) de l'indicatif, notamment les parties *Méthodologie (Matériels et méthodes)* et *Résultats*. Tandis que tout ce qui est admis donc vérifié est rédigé au présent de l'indicatif, notamment les parties *Introduction*, avec la citation de résultats vérifiés, *Discussion* et *Conclusion*. Toutefois, en cas de doute, rédigez au passé. Pour en savoir plus sur la méthodologie de rédaction d'un article, prière consulter le document suivant : **Assogbadjo A. E., Aïhou K., Youssou A. K. I., Fovet-Rabot C., Mensah G. A., 2011. L'écriture scientifique au Bénin. Guide contextualisé de formation. Cotonou, INRAB, 60 p. ISBN : 978-99919-857-9-4 – INRAB 2011. Dépôt légal n° 5372 du 26 septembre 2011, 3<sup>ème</sup> trimestre 2011. Bibliothèque Nationale (BN) du Bénin.**

## Titre

Dans le titre se retrouve l'information principale de l'article et l'objet principal de la recherche. Le titre doit contenir 6 à 10 mots (22 mots au maximum) en position forte, décrivant le contenu de l'article, assez informatifs, descriptifs, précis et concis. Un bon titre doit donner le meilleur aperçu possible de l'article en un minimum de mots. Il comporte les mots de l'index *Medicus*. Le titre est un message-réponse aux 5 W [what (quoi ?), who (qui ?), why (pourquoi ?), when (quand ?), where (où ?)] & 1 H [how (comment ?)]. Il est recommandé d'utiliser des sous-titres courts et expressifs pour subdiviser les sections longues du texte mais écrits en minuscules, sauf la première lettre et non soulignés. Toutefois, il faut éviter de multiplier les sous-titres. Le titre doit être traduit dans la seconde langue donc écrit dans les deux langues français et anglais.

## Auteur et Co-auteurs

Les initiales des prénoms en majuscules séparées par des points et le nom avec 1<sup>ère</sup> lettre écrite en majuscule de tous les auteurs (auteur & co-auteurs), sont écrits sous le titre de l'article. Immédiatement, suivent les titres académiques (Pr., Dr, MSc., MPhil. et/ou Ir.), les prénoms écrits en minuscules et le nom écrit en majuscule, puis les adresses complètes (structure, BP, e-mail, Tél. et pays) de tous les auteurs. Il ne faut retenir que les noms des membres de l'équipe ayant effectivement participé au programme de recherche et à la rédaction de l'article.

## Résumé

Un bref résumé dans la langue de l'article est précédé d'un résumé détaillé dans la seconde langue (français ou anglais selon le cas) et le titre sera traduit dans cette seconde langue. Le résumé est une compression en volume plus réduit de l'ensemble des idées développées dans un document, etc. Il contient l'essentiel en un seul paragraphe de 200 à 350 mots. Le résumé contient une **Introduction** (contexte, Objectif, etc.) rédigée avec 20% des mots, la **Méthodologie** (type d'étude, échantillonnage, variables et outils statistiques) rédigée avec 20% des mots, les **Résultats obtenus et leur courte discussion** (résultats importants et nouveaux pour la science), rédigée avec 50% des mots et une **Conclusion** (implications de l'étude en termes de généralisation et de perspectives de recherches) rédigée avec 10% des mots.

## Mots-clés

Les 3 à 5 mots et/ou groupes de mots clés les plus descriptifs de l'article suivent chaque résumé et comportent le pays (la région), la problématique ou l'espèce étudiée, la discipline ou le domaine spécifique, la méthodologie, les résultats et les perspectives de recherche. Il est conseillé de choisir d'autres mots/groupes de mots autres que ceux contenus dans le titre.

## Texte

Le texte doit être rédigé dans un langage simple et compréhensible. L'article est structuré selon la discipline scientifique et la thématique en utilisant l'un des plans suivants avec les Remerciements (si nécessaire) et Références bibliographiques : *IMReD* (Introduction, Matériel et Méthodes, Résultats, Discussion/Résultats et Conclusion) ; *ILPIA* (Introduction, Littérature, Problème, Implication, Avenir) ; *OPERA* (Observation, Problème, Expérimentation, Résultats, Action) ; *SOSRA* (Situation, Observation, Sentiments, opinion, Réflexion, Action) ; *ESPRIT/SPRIT* [Entrée en matière (introduction), Situation du problème, Problème précis, Résolution, Information appliquée ou détaillée, Terminaison (conclusion)] ; *APPROACH* (Annonce, Problématique (perutable avec Présentation), Présentation, Réactions, Opinions, Actions, Conclusions, Horizons) ; etc.

## Introduction

L'introduction c'est pour persuader le lecteur de l'importance du thème et de la justification des objectifs de recherche. Elle motive et justifie la recherche en apportant le background nécessaire, en expliquant la rationalité de l'étude et en exposant clairement l'objectif et les approches. Elle fait le point des recherches antérieures sur le sujet avec des citations et références pertinentes. Elle pose clairement la problématique avec des citations scientifiques les plus récentes et les plus pertinentes, l'hypothèse de travail, l'approche générale suivie, le principe méthodologique choisi. L'introduction annonce le(s) objectif(s) du travail ou les principaux résultats. Elle doit avoir la forme d'un entonnoir (du général au spécifique).

## Matériels et méthodes

Il faut présenter si possible selon la discipline le **milieu d'étude** ou **cadre de l'étude** et indiquer le lien entre le milieu physique et le thème. **La méthodologie d'étude** permet de baliser la discussion sur les résultats en renseignant sur la validité des réponses apportées par l'étude aux questions formulées en introduction. Il faut énoncer les méthodes sans grands détails et faire un extrait des principales utilisées. L'importance est de décrire les protocoles expérimentaux et le matériel utilisé, et de préciser la taille de l'échantillon, le dispositif expérimental, les logiciels utilisés et les analyses statistiques effectuées. Il faut donner toutes les informations permettant d'évaluer, voire de répéter l'essai, les calculs et les observations. Pour le matériel, seront indiquées toutes les caractéristiques scientifiques comme le genre, l'espèce, la variété, la classe des sols, etc., ainsi que la provenance, les quantités, le mode de préparation, etc. Pour les méthodes, on indiquera le nom des dispositifs expérimentaux et des analyses statistiques si elles sont bien connues. Les techniques peu répandues ou nouvelles doivent être décrites ou bien on en précisera les références bibliographiques. Toute modification par rapport aux protocoles courants sera naturellement indiquée.

## Résultats

Le texte, les tableaux et les figures doivent être complémentaires et non répétitifs. Les tableaux présenteront un ensemble de valeurs numériques, les figures illustrent une tendance et le texte met en évidence les données les plus significatives, les valeurs optimales, moyennes ou négatives, les corrélations, etc. On fera mention, si nécessaire, des sources d'erreur. La règle fondamentale ou règle cardinale du témoignage scientifique suivie dans la présentation des résultats est de donner tous les faits se rapportant à la question de recherche concordant ou non avec le point de vue du scientifique et d'indiquer les relations imprévues pouvant faire de l'article un sujet plus original que l'hypothèse initiale. Il ne faut jamais entremêler des descriptions méthodologiques ou des interprétations avec les résultats. Il faut indiquer toujours le niveau de signification statistique de tout résultat. Tous les aspects de l'interprétation doivent être présents. Pour l'interprétation des résultats il faut tirer les conclusions propres après l'analyse des résultats. Les résultats négatifs sont aussi intéressants en recherche que les résultats positifs. Il faut confirmer ou infirmer ici les hypothèses de recherches.

## Discussion

C'est l'établissement d'un pont entre l'interprétation des résultats et les travaux antérieurs. C'est la recherche de biais. C'est l'intégration des nouvelles connaissances tant théoriques que pratiques dans le domaine étudié et la différence de celles déjà existantes. Il faut éviter le piège de mettre trop en évidence les travaux antérieurs par rapport aux résultats propres. Les résultats obtenus doivent être interprétés en fonction des éléments indiqués en introduction (hypothèses posées, résultats des recherches antérieures, objectifs). Il faut discuter ses propres résultats et les comparer à des résultats de la littérature scientifique. En d'autres termes c'est de faire les relations avec les travaux antérieurs. Il est nécessaire de dégager les implications théoriques et pratiques, puis d'identifier les besoins futurs de recherche. Au besoin, résultats et discussion peuvent aller de pair.

## Résultats et Discussion

En optant pour **résultats et discussions** alors les deux vont de pair au fur et à mesure. Ainsi, il faut la discussion après la présentation et l'interprétation de chaque résultat. Tous les aspects de l'interprétation, du commentaire et de la discussion des résultats doivent être présents. Avec l'expérience, on y parvient assez aisément.

## Conclusion

Il faut une bonne et concise conclusion étendant les implications de l'étude et/ou les suggestions. Une conclusion fait ressortir de manière précise et succincte les faits saillants et les principaux résultats de l'article sans citation bibliographique. La conclusion fait la synthèse de l'interprétation scientifique et de l'apport original dans le champ scientifique concerné. Elle fait l'état des limites et des faiblesses de l'étude (et non celles de l'instrumentation mentionnées dans la section de méthodologie). Elle suggère d'autres avenues et études permettant d'étendre les résultats ou d'avoir des applications intéressantes ou d'obtenir de meilleurs résultats.

## Références bibliographiques

La norme Harvard et la norme Vancouver sont les deux normes internationales qui existent et régulièrement mises à jour. Il ne faut pas mélanger les normes de présentation des références bibliographiques. En ce qui concerne le Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin (BRAB), c'est la norme Harvard qui a été choisie. Les auteurs sont responsables de l'orthographe des noms cités

dans les références bibliographiques. Dans le texte, les publications doivent être citées de la manière suivante : Sinsin (2020) ou Sinsin et Assogbadjo (2020) ou Sinsin *et al.* (2007). Sachez que « *et al.* » est mis pour *et alteri* qui signifie et autres. Il faut s'assurer que les références mentionnées dans le texte sont toutes reportées par ordre alphabétique dans la liste des références bibliographiques. Somme toute dans le BRAB, selon les ouvrages ou publications, les références sont présentées dans la liste des références bibliographiques de la manière suivante :

#### Pour les revues scientifiques :

- ✓ **Pour un seul auteur** : Yakubu, A., 2013: Characterisation of the local Muscovy duck in Nigeria and its potential for egg and meat production. *World's Poultry Science Journal*, 69(4): 931-938. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0043933913000937>
- ✓ **Pour deux auteurs** : Tomasz, K., Juliusz, M. K., 2004: Comparison of physical and qualitative traits of meat of two Polish conservative flocks of ducks. *Arch. Tierz., Dummerstorf*, 47(4): 367-375.
- ✓ **A partir de trois auteurs** : Vissoh, P. V., R. C. Tossou, H. Dedehouanou, H. Guibert, O. C. Codjia, S. D. Vodouhe, E. K. Agbossou, 2012 : Perceptions et stratégies d'adaptation aux changements climatiques : le cas des communes d'Adjohoun et de Dangbo au Sud-Est Bénin. *Les Cahiers d'Outre-Mer N° 260*, 479-492.

#### Pour les organismes et institutions :

- ✓ FAO, 2017. L'État de la sécurité alimentaire et de la nutrition dans le monde 2017 : Renforcer la résilience pour favoriser la paix et la sécurité alimentaire. Rome, FAO. 144 p.
- ✓ INSAE (Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique), 2015 : Quatrième Recensement Général de la Population et de l'Habitation (RGPH-4): Résultats définitifs. Direction des Etudes Démographiques, Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique, Cotonou, Bénin, 33 p.

#### Pour les contributions dans les livres :

- ✓ Whithon, B.A., Potts, M., 1982: Marine littoral: 515-542. *In*: Carr, N.G., Whithon, B.A., (eds), *The biology of cyanobacteria*. Oxford, Blackwell.
- ✓ Annerose, D., Cornaire, B., 1994 : Approche physiologique de l'adaptation à la sécheresse des espèces cultivées pour l'amélioration de la production en zones sèches: 137-150. *In* : Reyniers, F.N., Netoyo L. (eds.). *Bilan hydrique agricole et sécheresse en Afrique tropicale*. Ed. John Libbey Eurotext. Paris.

#### Pour les livres :

- ✓ Zryd, J.P., 1988: Cultures des cellules, tissus et organes végétaux. Fondements théoriques et utilisations pratiques. Presses Polytechniques Romandes, Lausanne, Suisse.
- ✓ Stuart, S.N., R.J. Adams, M.D. Jenkins, 1990: Biodiversity in sub-Saharan Africa and its islands. IUCN–The World Conservation Union, Gland, Switzerland.

#### Pour les communications :

- ✓ Vierada Silva, J.B., A.W. Naylor, P.J. Kramer, 1974: Some ultrastructural and enzymatic effects of water stress in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) leaves. *Proceedings of Nat. Acad. Sc. USA*, 3243-3247.
- ✓ Lamachere, J.M., 1991 : Aptitude du ruissellement et de l'infiltration d'un sol sableux fin après sarclage. Actes de l'Atelier sur Soil water balance in the Sudano-Sahelian Zone. Niamey, Niger, IAHS n° 199, 109-119.

#### Pour les abstracts :

- ✓ Takaiwa, F., Tnifuji, S., 1979: RNA synthesis in embryo axes of germination pea seeds. *Plant Cell Physiology abstracts*, 1980, 4533.

#### Thèse ou mémoire :

- ✓ Valero, M., 1987: Système de reproduction et fonctionnement des populations chez deux espèces de légumineuses du genre *Lathyrus*. PhD. Université des Sciences et Techniques, Lille, France, 310 p.

Pour les sites web : <http://www.iucnredlist.org>, consulté le 06/07/2007 à 18 h.

### Equations et formules

Les équations sont centrées, sur une seule ligne si possible. Si on s'y réfère dans le texte, un numéro d'identification est placé, entre crochets, à la fin de la ligne. Les fractions seront présentées sous la forme « 7/25 » ou « (a+b)/c ».

### Unités et conversion

Seules les unités de mesure, les symboles et équations usuels du système international (SI) comme expliqués au chapitre 23 du Mémento de l'Agronome, seront acceptés.

### Abréviations

Les abréviations internationales sont acceptées (OMS, DDT, etc.). Le développé des sigles des organisations devra être complet à la première citation avec le sigle en majuscule et entre parenthèses (FAO, RFA, IITA). Eviter les sigles reconnus localement et inconnus de la communauté scientifique. Citer complètement les organismes locaux.

### Nomenclature de pesticides, des noms d'espèces végétales et animales

Les noms commerciaux seront écrits en lettres capitales, mais la première fois, ils doivent être suivis par le(s) nom(s) communs(s) des matières actives, tel que acceptés par « International Organization for Standardization (ISO) ». En l'absence du nom ISO, le nom chimique complet devra être donné. Dans la page de la première mention, la société d'origine peut être indiquée par une note en bas de la page, p.e. PALUDRINE (Proguanil). Les noms d'espèces animales et végétales seront indiqués en latin (genre, espèce) en italique, complètement à la première occurrence, puis en abrégé (exemple : *Oryza sativa* = *O. sativa*). Les auteurs des noms scientifiques seront cités seulement la première fois que l'on écrira ce nom scientifique dans le texte.

### Tableaux, figures et illustrations

Chaque tableau (avec les colonnes rendus invisibles mais seules la première ligne et la dernière ligne sont visibles) ou figure doit avoir un titre. Les titres des tableaux seront écrits en haut de chaque tableau et ceux des figures/photographies seront écrits en bas des illustrations. Les légendes seront écrites directement sous les tableaux et autres illustrations. En ce qui concerne les illustrations (tableaux, figures et photos) seules les versions électroniques bien lisibles et claires, puis mises en extension jpeg avec haute résolution seront acceptées. Seules les illustrations dessinées à l'ordinateur et/ou scannées, puis les photographies en extension jpeg et de bonne qualité donc de haute résolution sont acceptées.

Les places des tableaux et figures dans le texte seront indiquées dans un cadre sur la marge. Les tableaux sont numérotés, appelés et commentés dans un ordre chronologique dans le texte. Ils présentent des données synthétiques. Les tableaux de données de base ne conviennent pas. Les figures doivent montrer à la lecture visuelle suffisamment d'informations compréhensibles sans recours au texte. Les figures sont en Excell, Havard, Lotus ou autre logiciel pour graphique sans grisés et sans relief. Il faudra fournir les données correspondant aux figures afin de pouvoir les reconstruire si c'est nécessaire.

## Evaluation de la toxicité des extraits totaux aqueux des feuilles de *Bridelia ferruginea* Benth (Euphorbiaceae) chez le rat Wistar

F. M. Adoukpe<sup>1\*</sup>, T. M. C. Medehouenou<sup>2</sup>, G. A. Hougbe<sup>3</sup>, D. T. Allode<sup>1</sup>, J. V. Aholoukpe<sup>1</sup>, L. L. Béhanzin<sup>4</sup> et L. S. Baba-Moussa<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Dr Ferdinand M. ADOUNKPE, Laboratoire National des Stupéfiants et de Toxicologie (LNST), Centre Béninois de la Recherche Scientifique et de l'Innovation (CBRSI), Université d'Abomey-Calavi (UAC), 04 BP 1357 Cadjehoun, E-mail : [amefer2000@yahoo.fr](mailto:amefer2000@yahoo.fr), Tél. : (+229)67466861, République du Bénin  
MSc. Ténor ALLODE, LNST/CBRSI/UAC, 04 BP 1357 Cadjehoun, E-mail : [tenorallode8@gmail.com](mailto:tenorallode8@gmail.com), Tél. : (+229)96641207, République du Bénin  
MSc. Viridiane AHOLOUKPE, LNST/CBRSI/UAC, 04 BP 1357 Cadjehoun, E-mail : [aviridiane@gmail.com](mailto:aviridiane@gmail.com), Tél. : (+229)67751475, République du Bénin

<sup>2</sup>Dr Marc MEDEHOUEOU, Laboratoire de Recherche en Biologie Appliquée, Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi (EPAC/UAC), 01 BP 2009 Cotonou 01, E-mail : [cm.medehouenou@gmail.com](mailto:cm.medehouenou@gmail.com), Tél. : (+229)66762131, République du Bénin

<sup>3</sup>Dr Alban HOUGBEME, Laboratoire National de Pharmacognosie de l'Institut de Recherche et d'Expérimentation en Médecine et Pharmacopée Traditionnelles, 01 BP 06 Oganla, Porto-Novo, E-mail : [albanusphd@yahoo.fr](mailto:albanusphd@yahoo.fr), Tél. : (+229)97387326, République du Bénin

<sup>4</sup>Dr Luc BEHANZIN, Axe Santé des populations et pratiques optimales en santé, Centre de recherche du CHU de Québec/ Université Laval, Québec, Canada & Ecole Nationale des Techniciens en Santé publique et Surveillance Épidémiologique. - B.P. 123, Route de l'Okpara Parakou, E-mail : [bphilus2013@gmail.com](mailto:bphilus2013@gmail.com), Tél. : (+229)66203208, République du Bénin

<sup>5</sup>Pr Dr Lamine Said BABA-MOUSSA, Laboratoire de Biologie et de Typage Moléculaire en Microbiologie ; Département de Biochimie et de Biologie Cellulaire, Faculté des Sciences et Techniques (FAST/UAC), 05 BP 1604 Cotonou, E-mail : [laminesaid@yahoo.fr](mailto:laminesaid@yahoo.fr), Tél. : (+229)97123468, République du Bénin

\*Auteur Correspondant : Dr Ferdinand ADOUNKPE, E-mail : [amefer2000@yahoo.fr](mailto:amefer2000@yahoo.fr)

### Résumé

*Bridelia ferruginea* Benth est une plante médicinale très connue de la pharmacopée traditionnelle béninoise et largement utilisée pour ses nombreuses propriétés thérapeutiques. Cependant, cette plante est susceptible d'une certaine toxicité. L'objectif de cette étude était d'évaluer la toxicité aiguë et subaiguë des extraits totaux aqueux des feuilles de *B. ferruginea* chez le rat Wistar. Le screening phyto-chimique et l'extraction aqueuse de la poudre des feuilles de *B. ferruginea* ont été suivis de l'étude de toxicité des extraits totaux aqueux chez des rats femelles Wistar conformément aux instructions de l'OCDE 423. Le test de toxicité aiguë a été réalisé par gavage à la dose unique de 2.000 mg/kg et le test de toxicité subaiguë de 28 jours a été mené avec les doses de 500 et 1.000 mg/kg. L'évolution du poids, de la température et de quelques paramètres biologiques a été suivie et des coupes histologiques ont été réalisées sur le foie et les reins. La poudre de feuilles contient des alcaloïdes, stérols, flavonoïdes, anthocyanes, mucilages, triterpènes, tanins catéchiques et galliques. Aucune mort n'a été enregistrée lors du test de toxicité aiguë. La DL<sub>50</sub> a été estimée supérieure à 2000 mg/kg. Aucun signe cliniquement décelable n'a été observé durant les 28 jours de traitement. Aucune différence significative n'a été observée au niveau des paramètres biologiques des rats témoins et traités. La lecture des coupes histologiques des reins et foies a montré une architecture rénale et hépatique normale. L'étude a permis de montrer que l'extrait aqueux des feuilles de *B. ferruginea* a une DL<sub>50</sub> supérieure à 2000 mg/kg et se révèle un candidat sérieux pouvant être pris en compte dans un processus de recherche et développement de nouveaux médicaments.

**Mots clés** : Tests précliniques, Développement de médicaments, Innocuité, Bénin.

### Toxicity evaluation of total aqueous extracts of the leaves of *Bridelia ferruginea* Benth (Euphorbiaceae) in the Wistar rat

#### Abstract

*Bridelia ferruginea* Benth is a well-known medicinal plant in the traditional Beninese pharmacopoeia and widely used for its many therapeutic properties. However, this plant is susceptible to some toxicity. The objective of this study was to evaluate the acute and subacute toxicity of total aqueous extracts of *B. ferruginea* leaves in Wistar rats. The phyto-chemical screening and the aqueous extraction of the powder from the leaves of *B. ferruginea* were followed by the toxicity study of the total aqueous extracts in female Wistar rats in accordance with the instructions of the OECD 423. The acute toxicity test was carried out by gavage at a single dose of 2,000 mg/kg and the 28-day subacute toxicity test was carried out with doses of 500 and 1,000 mg/kg. The evolution of weight, temperature and some biological parameters, was followed and histological sections were made on the liver and kidneys. The leaf powder contains alkaloids, sterols, flavonoids, anthocyanins, mucilages, triterpenes, catechic and gallic tannins. No deaths were recorded during the acute toxicity test. The LD<sub>50</sub> was estimated to be greater than 2,000 mg/kg. No clinically detectable signs were observed during the 28 days of treatment. No significant difference was observed in the biological parameters of the control and treated rats. Reading of the histological sections of the kidneys and livers showed normal renal and hepatic architecture. The study has shown that the aqueous extract of *B. ferruginea* leaves has an LD<sub>50</sub> greater than 2,000 mg/kg and

proves to be a serious candidate that can be taken into account in a process of research and development of new drugs.

**Keywords:** Preclinical tests, Drug development, Safety, Benin.

## Introduction

Les ressources végétales occupent une grande place dans la vie des hommes et des animaux, notamment dans la satisfaction de nombreux besoins de base des communautés locales : alimentation, prévention et traitement des maladies, soins de santé, habitation, énergie et artisanat (IPGRI, 2001). Depuis de nombreuses années, les connaissances sur la biodiversité végétale locale sont transmises et conservées de génération en génération (Olivier *et al.*, 2012).

Pour faire face au coût de plus en plus élevé des traitements à base de médicaments conventionnels ou pour pallier l'absence de médicaments efficaces face aux maladies émergentes, la recherche de nouvelles molécules plus efficaces à base de plantes s'impose comme une priorité de santé publique (Brochot *et al.*, 2017; Burman *et al.*, 2018). Le recours à la phytothérapie se justifie pleinement et nécessite cependant la connaissance et la vérification du profil toxicologique des intrants végétaux malgré leur grande utilité. En effet, l'utilisation des plantes médicinales aux propriétés thérapeutiques avérées n'est pas toujours sans danger malgré leur potentiel hautement bénéfique pour la santé (Ouerdia *et al.*, 2020). De nombreuses études ne cessent d'attirer l'attention sur la toxicité de certaines d'entre elles, soit de la plante entière ou d'une partie de celle-ci (Adetutu *et al.*, 2011 ; Tchacondo *et al.*, 2011 ; Adomou *et al.*, 2012 ; Bakwaye *et al.*, 2013 ; Kouame, 2014 ; Kpodar *et al.*, 2016 ; Etame *et al.*, 2017 ; Ouerdia *et al.*, 2020).

*B. ferruginea* est l'une de ces plantes de la pharmacopée africaine et béninoise, largement utilisée comme purgatif, diurétique, antimicrobien, aphrodisiaque, anti-blennorragique et aussi comme remède contre l'infertilité féminine, le diabète, la diarrhée, les maladies infantiles, le paludisme et des maux gastro intestinaux (Nene Bi *et al.*, 2009 ; Fah *et al.*, 2013; Ezuruike *et al.*, 2014; Tchouya *et al.*, 2015; Kouchadé *et al.*, 2016 ; Dougnon *et al.*, 2017; Houmènou *et al.*, 2018; Dougnon *et al.*, 2021). Aucune des études consultées n'a pas insisté sur la toxicité éventuelle de *B. ferruginea*. C'est dans l'optique de combler ce vide que la présente étude s'est intéressée à l'innocuité de *B. ferruginea* afin d'éclairer l'opinion publique sur les éventuels dangers de toxicité pouvant être liés à sa large utilisation. C'est dans cette optique que le présent travail a eu pour objectif d'évaluer la toxicité aiguë et subaiguë des extraits totaux aqueux des feuillies de *B. ferruginea* sur le rat Wistar.

## Matériels et méthodes

### Matériels

Le matériel végétal utilisé a été constitué de feuilles de *B. ferruginea* (Figure1).



Figure 1. Feuilles de *Bridelia ferruginea* Benth.

Source : Photo de terrain, Adoukpè, 2021

Les feuilles fraîches de *B. ferruginea* ont été récoltées en Avril 2021 dans la commune d'Abomey. Abomey est une ville et une commune du Sud de la République du Bénin, située à environ 145 km au Nord de Cotonou. Elle vit dans un climat de savane, principalement avec un hiver sec. La température moyenne chaque année se trouve entre 25 °C à 29 °C. Par contre, la nuit les températures peuvent

chuter à 22 °C. Les précipitations modérées sont comprises dans les 92 mm assurant le renouvellement continu d'une végétation diversifiée. Les feuilles collectées ont été identifiées à l'Université National d'Abomey Calavi où se trouve conservé un échantillon de cette plante sous le numéro n° 13-21/HNB/FAST/UAC en 2021.

Les animaux utilisés pour l'expérimentation étaient des rats femelles de souche Wistar pesant 160 g et âgés de trois mois. Ils provenaient de l'animalerie du Laboratoire d'Histologie, Biologie de la Reproduction, Cytogénétique et Génétique Médicale de l'Institut des Sciences Biomédicales Appliquées (ISBA). Les rats, regroupés dans des cages tapissées de copeaux de bois, ont eu un accès libre à l'eau et à la nourriture dans les conditions environnementales optimales de l'animalerie.

## Méthodes

Les analyses ont été faites dans le Laboratoire National des Stupéfiants et de Toxicologie et le Laboratoire National de Pharmacognosie de l'Institut de Recherche et d'Expérimentation en Médecine et Pharmacopée Traditionnelles, deux laboratoires du Centre Béninois de la Recherche Scientifique et de l'Innovation (CBRSI).

### Séchage et Broyage des feuilles et extraction aqueuse

Les feuilles ont été séchées à l'ombre à une température de 16 °C durant 14 jours au laboratoire, une température permettant de préserver au maximum l'intégrité des molécules présentes dans les feuilles. A l'aide d'un micro broyeur, les feuilles ont été finement broyées et réduites en poudre. La poudre obtenue est tamisée puis stockée dans un contenant adéquat pour les analyses.

L'extraction aqueuse a été faite en utilisant la poudre de feuilles de *B. ferruginea* selon la méthode décrite par Hounbèmè *et al.* (2014). Le filtrat obtenu a été transféré dans un ballon de 1.000 ml puis soumis à l'évaporation (40°C) jusqu'à sec à l'aide d'un Rotavator Heidolph Laborota 4000 couplé à un refroidisseur d'eau de type Julabo FL 300 (Hounbeme *et al.*, 2014).

### Criblage phyto-chimique et évaluation de la toxicité aiguë orale

La méthode classique de Houghton et Raman (1998) et reprise par Adounpkè *et al.* (2018) a été utilisée pour la réalisation du criblage phyto-chimique qualitative. Cette méthode est basée sur des réactions de coloration et de précipitation différentielle. L'évaluation de la toxicité aiguë de l'extrait de feuilles de *B. ferruginea* a été inspirée de la méthode OCDE 423 (Guideline 2001). En effet, 8 rats femelles de poids vif corporel moyen de 160 g ont été marqués et répartis en deux lots de quatre rats. Les rats ont été mis à jeun 12 heures avant l'administration de 2 mL d'une dose unique par gavage de l'extrait aqueux de feuilles de *B. ferruginea* dosé à 2.000 mg/kg à chacun des rats du lot d'essai et de 2 mL d'eau physiologique à chacun des rats du lot Témoin. Les rats ont été observés attentivement pendant les quatre premières heures à la recherche de signes cliniques de toxicité. Les observations de changement de comportement ont été poursuivies sur 24 heures.

### Évaluation de la toxicité subaiguë orale

L'évaluation de la toxicité subaiguë a été effectuée en s'inspirant de la méthode de Ganfon *et al.* (2012). Les rats femelles, de poids vif corporel moyen de 160 g gardés à jeun depuis 12 heures, ont été marqués et répartis au hasard en trois groupes de quatre rats. Le lot Témoin a reçu quotidiennement 2 mL d'eau physiologique tandis que les deux Lots d'expérimentation ont été traités quotidiennement avec 2 mL par gavage de l'extrait aqueux de feuilles de *B. ferruginea* respectivement aux doses de 500 et 1.000 mg/kg de poids vif corporel, sur une durée de 28 jours. Une prise du poids vif corporel et de température a été effectuée avant le gavage et régulièrement chaque deux jours. Un prélèvement sanguin a été effectué sur chaque rat au début et à la fin des 28 jours sur tube sec et sur tube EDTA. Ces échantillons ont servi pour la réalisation de la numération formule sanguine, au dosage des transaminases (ALAT et ASAT) et de la glycémie. Après dissection des animaux, le foie et les reins ont été prélevés et conservés dans du Formol à 10% pour l'examen d'histopathologie.

### Traitement statistique des données

Les données ont été présentées sous forme de moyenne  $\pm$  écart-type. Le traitement informatique a été fait à l'aide du logiciel Excel et le test de Student a été utilisé pour faire la comparaison des moyennes par rapport au contrôle. Le symbole \* dans les tableaux signifie l'existence d'une différence statistiquement significative à  $p < 0,05$ .

## Résultats

### Criblage phytochimique

Les résultats du criblage phytochimique effectué sur les poudres des feuilles de *B. Ferruginea* ont été résumés dans le tableau I. La poudre de feuilles de *B. Ferruginea* a renfermé des tanins galliques et catéchiques, des flavonoïdes, des anthocyanes, des leuco-anthocyanes, des stéroïdes, des triterpènes, des mucilages et des alcaloïdes, tous des métabolites secondaires connus pour leurs propriétés pharmacologiques (tableau I).

Tableau I. Résultat du criblage phytochimique

Groupes Chimiques	Composition phytochimique de la poudre de feuilles de <i>Bridelia ferruginea</i> B.
Tanins catéchiques	Présence accentuée (++)
Tanins galliques	Présence accentuée (++)
Flavonoïdes	Présence accentuée (++)
Leuco-Anthocyanes	Présence accentuée (++)
Anthocyanes	Présence accentuée (++)
Alcaloïdes	Présence accentuée (++)
Composés réducteurs	Absence (-)
Mucilage	Présence accentuée (++)
Saponoside	Absence (-)
Dérivés cyanogéniques	Absence (-)
Triterpènes	Présence (+)
Stéroïdes	Présence accentuée (++)
Coumarines	Absence (-)
Dérivés quinoniques	Absence (-)
Anthracéniques libres	Absence (-)
C-Hétérosides	Absence (-)
O-Hétérosides	Absence (-)
Dérivés cardiotoniques	Absence (-)

### Evaluation de la toxicité aiguë

Au cours de cette étude, aucun des rats mis en expérimentation n'a présenté de signe clinique de toxicité. En effet, le gavage à la dose unique de 2.000 mg/kg de l'extrait de feuilles de *B. ferruginea* n'a entraîné que quelques modifications physiques au niveau des rats. Au cours de ce laps de temps, tous les rats traités avaient les oreilles tendues, se nettoyaient le museau avec des poils redressés hérissés et se blottissaient les uns contre les autres. Tous ces signes physiques ont cessé une demi-heure après le gavage et tous les animaux ont repris leurs comportements habituels. Après 24 heures d'observation aucun décès n'a été observé chez les rats de l'expérience qui ont repris une vie apparemment normale. Les résultats ont été consignés dans le Tableau II.

Tableau II. Comportements et signes cliniques observés chez les rats durant les premières 24 heures après administration de l'extrait aqueux de feuilles de *Bridelia ferruginea* Benth.

Signes cliniques	Lot témoin	Lot d'essai (Rats gavés à 2.000 mg/kg)			
		≤ 30 min	30 mn – 01 h	01 – 04 h	04 -24 h
Immobilité	N	N	N	N	N
Constrictions abdominales	N	N	N	N	N
Respiration	N	N	N	N	N
Paralysie membres postérieurs	N	N	N	N	N
Se frottent le museau	N	N	N	N	N
Se blottissent l'un contre l'autre	N	N	N	N	N
Oreilles tendues	N	N	N	N	N
Poils légèrement hérissés	N	X	N	N	N
Mort	*	*	*	*	*

N = Comportement habituel ;

X = poils hérissés ;

\* = aucun décès

### Evaluation de la toxicité subaiguë

Après 28 jours d'administration des extraits par gavage, aucune modification comportementale n'a été observée chez les rats. Aucun des rats gavés aux doses de 500 et 1.000 mg/kg d'extrait des feuilles de *B. ferruginea* n'a montré de signe clinique de toxicité décelable durant les 28 jours d'expérimentation. Tous les animaux ont continué à se nourrir et à mener une vie apparemment normale. Les effets liés à l'administration quotidienne par voie orale à des doses répétées de l'extrait aqueux de *B. ferruginea* ont été appréciés après l'évaluation de poids, de la température, de la masse des organes, des paramètres biochimiques et hématologiques puis des examens histopathologiques.

### Effets de l'extrait sur la croissance pondérale chez les rats

Les droites brisées de la figure 2 ont illustré l'évolution de la croissance pondérale des rats après administration de l'extrait de *B. ferruginea* pendant les 28 jours.

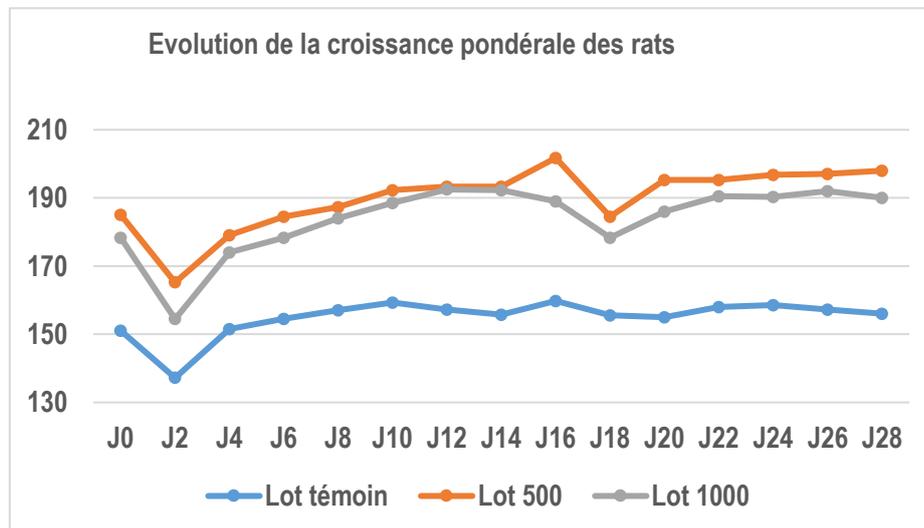
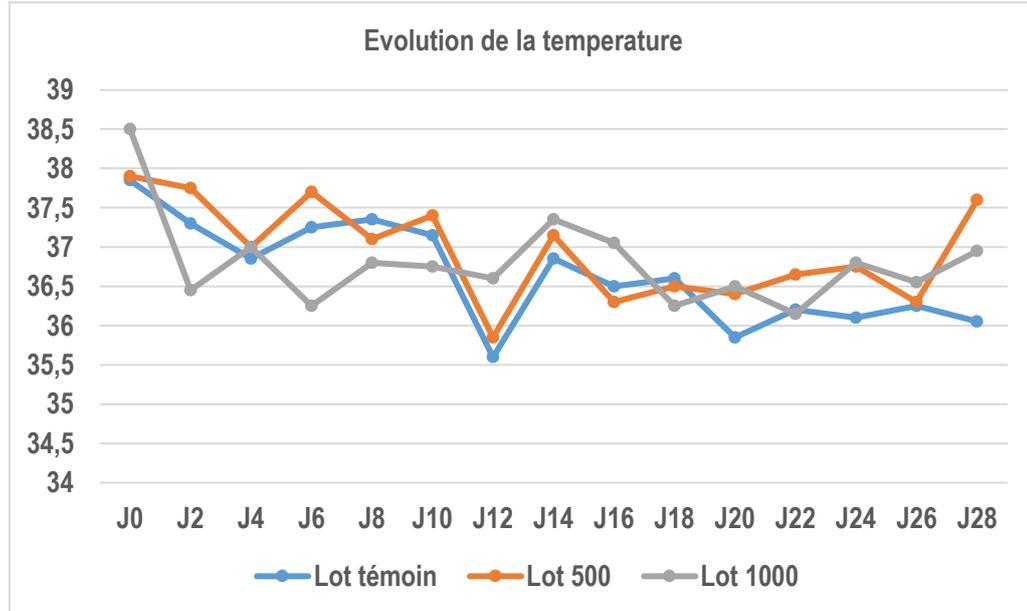


Figure 2. Evolution de la croissance pondérale des rats

Le poids vif corporel des rats traités a globalement augmenté au cours du temps dans les différents lots traités après une chute observée à J<sub>2</sub>.

### Evolution de la température des rats

Les droites brisées de la figure 3 ont illustré l'évolution de la température des rats tout au long des 28 jours d'expérimentation.



**Figure 3. Evolution de la température**

Les courbes de la figure 3 ont montré que la température des rats a globalement baissé au cours du temps, quel qu'ait été le lot de rats considéré en oscillant entre 35,5 et 38,5°C.

### Analyses biochimiques

Les résultats des analyses biochimiques effectuées ont été présentés dans le Tableau III. Les valeurs moyennes obtenues ont été présentées sous forme moyenne  $\pm$  écart-type. Aucune différence statistiquement significative ( $p > 0,05$ ) n'a été trouvée entre les paramètres biochimiques du lot témoin et ceux de chacun des Lots traités à 500 et 1.000 mg/kg.

**Tableau III. Paramètres biochimiques chez les rats**

Paramètres	Lot Témoin (n = 4)	Lot traité à	
		500 mg/kg (n = 4)	1.000 mg/kg (n = 4)
Glycémie	0,96 $\pm$ 0,06	1,06 $\pm$ 0,06	0,93 $\pm$ 0,11
Créatininémie	4,97 $\pm$ 2,40	8,63 $\pm$ 2,19	8,77 $\pm$ 5,11
Urée	0,81 $\pm$ 0,06	1,17 $\pm$ 0,37	0,80 $\pm$ 0,12
ASAT	68,00 $\pm$ 2,35	75,49 $\pm$ 17,68	54,67 $\pm$ 17,91
ALAT	30,00 $\pm$ 5,66	18,90 $\pm$ 1,27	22,66 $\pm$ 4,24

ASAT : Aspartate-Amino-Transférase ; ALAT : Alanine-Amino-Transférase

### Résultats des analyses hématologiques

Les résultats des analyses hématologiques effectuées ont été présentés dans le Tableau IV. Les valeurs moyennes obtenues ont été présentées sous forme moyenne  $\pm$  écart-type. Aucune différence statistiquement significative ( $p > 0,05$ ) n'a été trouvée entre les paramètres hématologiques des rats du Lot témoin et ceux de chacun des lots traités à 500 et 1.000 mg/kg, excepté pour le Volume Globulaire Moyen où une augmentation a été observée à la dose 1.000 mg/kg.

**Tableau IV. Paramètres hématologiques chez les rats.**

Paramètres	Lot Témoin (n = 4)	Lot traité à 500 mg/kg (n = 4)	Lot traité à 1000 mg/kg (n = 4)
NB	6,05 $\pm$ 1,34	6,25 $\pm$ 2,19	7,60 $\pm$ 2,69
NR	8,12 $\pm$ 0,78	7,37 $\pm$ 0,90	8,50 $\pm$ 0,71
Hb	14,20 $\pm$ 1,98	13,05 $\pm$ 0,92	15,05 $\pm$ 1,48

Paramètres	Lot Témoin (n = 4)	Lot traité à 500 mg/kg (n = 4)	Lot traité à 1000 mg/kg (n = 4)
Hte	49,20 ± 5,02	45,60 ± 5,37	53,00 ± 4,53
VGM	61,20 ± 0,28	61,95 ± 0,21	62,25 ± 0,07*
TCMH	17,20 ± 0,71	17,75 ± 0,92	17,65 ± 0,21
CCMH	29,20 ± 0,99	28,70 ± 1,41	28,35 ± 0,35
L	4,42 ± 1,06	70,00 ± 0,00	66,50 ± 0,71
M	3,50 ± 3,54	4,00 ± 2,83	4,50 ± 0,71
PN	27,50 ± 0,71	16,00 ± 1,97	29,00 ± 1,41

**NB** : Nombre de globules blancs ; **NR** : Nombre de globules rouges ; **Hb** : Taux d'hémoglobine ; **L** : Nombre de leucocytes ; **Hte** : Hématocrite ; **VGM** : Volume globulaire moyen ; **TCMH** : Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine ; **CCMH** : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine ; **M** : Nombre de monocytes ; **PN** : Nombre de polynucléaires; \* : Différence significative (P < 0,05).

### Evolution du poids relatif des organes des rats disséqués

Au bout de 28 jours, les animaux ont été sacrifiés et le foie et les reins ont été prélevés pour les analyses histopathologiques. Les effets de l'extrait aqueux de *B. ferruginea* sur le poids relatif des organes des rats sacrifiés en fin d'expérimentation en fonction de la dose administrée ont été présentés sous forme d'histogrammes sur la figure 5. Aucune différence statistiquement significative ( $p > 0,05$ ) n'a été trouvée entre les poids des reins et des foies des animaux du lot témoin et ceux des lots traités aux doses de 500 et 1.000 mg/kg d'extraits aqueux de feuilles de *B. ferruginea*.

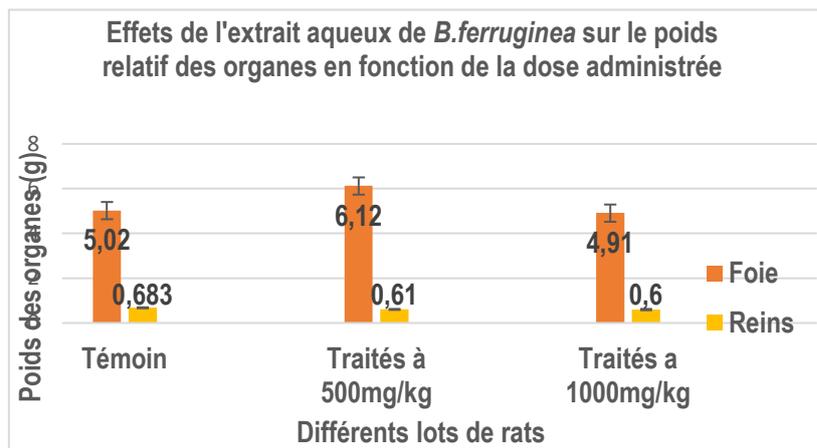
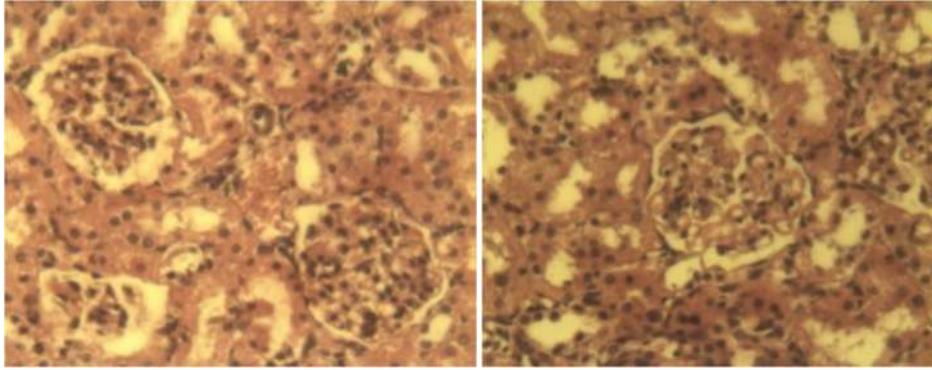


Figure 5. Effets d'extraits totaux aqueux de feuilles de *Bridelia ferruginea* Benth sur le poids relatif des organes en fonction de la dose administrée.

### Résultats examens histopathologiques

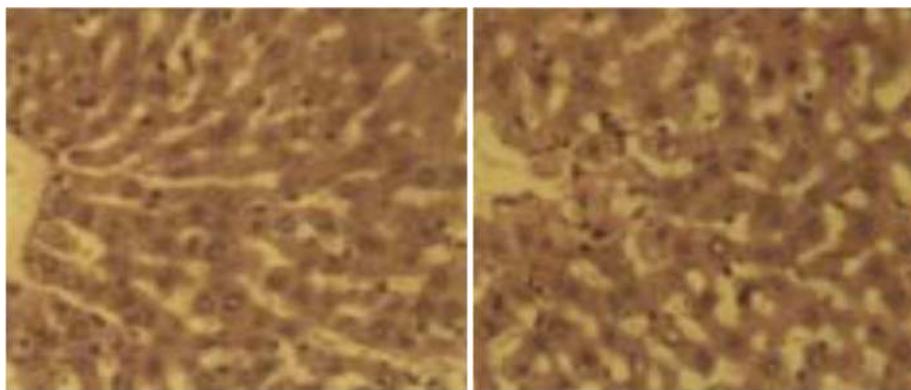
Sur les figures 6 et 7 ont été illustrées les photographies des coupes de reins et foies de rats du lot Témoin et de rats traités respectivement aux doses de 500 mg/kg et 1.000 mg/kg d'extraits totaux aqueux de feuilles de *B. ferruginea* après 28 jours d'expérimentation. Aucune anomalie morphologique tissulaire n'a été observée sur les coupes de reins et de foies de rats gavés à 500 mg/kg d'extraits aqueux de feuilles de *B. ferruginea* durant 28 jours. Aucune anomalie morphologique tissulaire n'a été observée sur les coupes de reins et de foies de rats gavés à 1.000 mg/kg d'extraits totaux aqueux de feuilles de *B. ferruginea* durant 28 jours.



1-Rein rats Lot Témoin

2-Rein rats traités à 500 mg/kg

Photographies (X400) de coupes de rein de rats du Lot Témoin (1) montrant des nucléides cellulaires ; coupes de reins de rats traités à 500mg/kg (2).

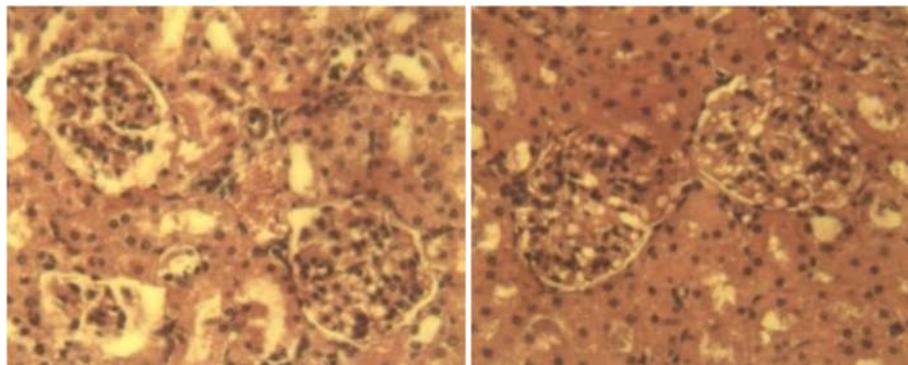


3-Foie rats Lot Témoin

4-Foie rats traités à 500 mg/kg

Photographies (X400) de coupes de foie de rats du Lot Témoin (3) avec lobule hépatique montrant des hépatocytes disposés radialement autour du lobule central veineux ; coupes de foie de rats traités à 500 mg/kg (4)

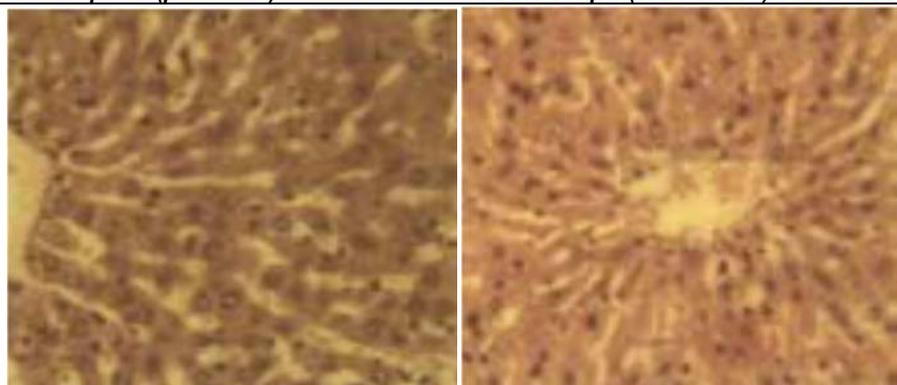
Figure 6. Photographies de coupes de reins et de foies de rats du Lot témoin et de rats traités à 500mg/kg d'extraits aqueux de feuilles de *Bridelia ferruginea* Benth après 28 jours d'expérimentation.



a-Rein rats lot témoin

b-Rein rats traités à 1.000mg/kg

Photographies (X400) de coupes de rein de rats du Lot Témoin (a) montrant des nucléides cellulaires ; coupes de reins de rats traités à 1.000 mg/kg (b).



c-Foie rats lot témoin

d-Foie rats traités à 1.000 mg/kg

Photographies (X400) de coupes de foie de rats du Lot Témoin (c) avec lobule hépatique montrant des hépatocytes disposés radialement autour du lobule central veineux ; coupes de foie de rats traités à 1.000 mg/kg (d).

Figure 7. Photographies coupes de reins et de foies rats du lot témoin et rats traités à 1.000 mg/kg d'extraits aqueux de feuilles de *Bridelia ferruginea* Benth après 28 jours d'expérimentation

## Discussion

L'extrait aqueux de feuilles de *B. ferruginea* est utilisé dans cette étude sachant que l'eau est le solvant qu'utilisent les guérisseurs et les populations dans la préparation quotidienne de leurs remèdes à base de plantes. L'étude phytochimique de l'extrait aqueux de feuilles de *B. ferruginea* a montré qu'il contient plusieurs composés chimiques tels que les tanins galliques et catéchiques, les flavonoïdes, les anthocyanes, les leuco-anthocyanes, les stéroïdes, les triterpènes, les mucilages et les alcaloïdes contrairement à la composition chimique de l'extrait obtenu avec de l'Hexane par Nene BI *et al.*, (2009) qui n'a révélé que la présence des alcaloïdes, des stérols et des poly terpènes. La richesse de cet extrait aqueux en composés chimiques actifs pourrait expliquer l'utilisation traditionnelle de *B. ferruginea* pour soigner de nombreuses maladies telles que la dysenterie (Nene BI *et al.*, 2008), les douleurs abdominales (Göhre *et al.*, 2016), les maladies opportunistes et maux d'estomac (Tchouya *et al.*, 2015). Cette étude a confirmé la richesse de *B. ferruginea* en composés chimiques aux propriétés pharmacologiques prouvées et ce résultat est bien en accord avec les travaux de Praveen et Kumud, (2012), qui ont observé que l'extrait de *B. ferruginea* avait des activités anti diarrhéique et anti inflammatoire. La mise en évidence de ces grands groupes pharmacologiquement actifs dans l'extrait de feuilles de *B. ferruginea* vient appuyer les résultats de nombreux travaux dont ceux de Gbaguidi *et al.*, (2005) et de Houngbèmè *et al.*, (2015) qui ont abouti à la reconnaissance du haut potentiel thérapeutique de cette plante à travers ses propriétés antibactériennes, fongicides, antiseptiques, antivirales, anti-inflammatoires, laxatifs, antalgiques pour ne citer que celles-là. L'usage de cette plante dans la préparation de plusieurs remèdes en pharmacopée et médecine traditionnelle béninoises se comprend donc aisément.

L'extrait aqueux de *B. ferruginea* administré par voie orale à la dose 2.000 mg/kg n'a entraîné aucun signe clinique de toxicité ni aucun décès de rats gavés. La DL<sub>50</sub> orale de l'extrait aqueux de *B. ferruginea* est estimée supérieure à 2.000 mg/kg. Ce résultat confirme celui de Nene BI *et al.*, (2008) sur des souris qui a montré que l'extrait aqueux de *B. ferruginea* administré par voie orale est modérément toxique avec une DL<sub>50</sub> égale à 3568,88 ± 308,45 mg/kg. Cette valeur de DL<sub>50</sub> est en accord avec l'estimation faite dans cette étude. Durant les 28 jours de l'étude, l'extrait aqueux de *B. ferruginea* a favorisé la croissance pondérale des rats gavés aux doses quotidiennes de 500 mg/kg et 1.000 mg/kg sans aucun signe clinique de toxicité. L'observation du comportement tout au long de la période d'étude a permis de constater que, aucune des deux doses utilisées de l'extrait n'a produit un changement perceptible du comportemental des animaux qui ont continué une vie apparemment normale durant toute la période d'expérimentation de 28 jours. Aucun signe clinique de toxicité subaiguë n'a été observé chez les rats. Les résultats des analyses biochimiques effectuées n'ont montré aucune différence statistiquement significative entre les paramètres biochimiques des rats de lot Témoin et ceux des rats traités 500 et à 1000mg/kg d'extrait aqueux de feuilles de *B. ferruginea*. De même, les résultats des analyses hématologiques effectuées n'ont montré aucune différence statistiquement significative entre les paramètres hématologiques des rats de lot Témoin et ceux des rats traités 500 et à 1.000 mg/kg d'extrait aqueux de feuilles de *B. ferruginea*, excepté une augmentation du Volume Globulaire Moyen observée à la dose de 1.000 mg/kg.

La différence significative observée au niveau du Volume Globulaire Moyen laissait penser à une augmentation du volume des globules rouges. Cette différence semble ne pas être due à l'extrait aqueux. Il s'agirait d'une valeur aberrante de VGM à 500 mg/kg et la preuve en est qu'avec une dose plus élevée de 1.000mg/kg, aucune différence significative n'a été observée. Ceci a d'ailleurs été confirmé par l'observation des coupes histopathologiques des reins et foies des rats traités quotidiennement aux doses de 500 mg/kg et 1.000 mg/kg d'extrait aqueux de feuilles de *B. ferruginea*. L'analyse des coupes histologiques du foie et des reins n'a révélé aucune altération morphologique tissulaire attribuable à l'extrait aqueux de feuilles de *B. ferruginea* administré aux rats.

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Bakoma *et al.*, (2013) dans leurs travaux sur l'évaluation de la toxicité aiguë et subchronique orales de l'extrait hydro-éthanolique des racines de *B. ferruginea* chez le rat Wistar mâle et la souris. Ils n'ont observé aucun décès ni de signes cliniques de toxicité chez les animaux utilisés. De plus, aucune différence significative relative à l'évolution des paramètres biologiques comparée au lot Témoin ni aucune altération morphologique tissulaire au niveau des foies et reins n'a été observé chez les animaux suivis. De plus cette étude est arrivée à la conclusion que l'extrait aqueux des feuilles de *B. ferruginea* administré par gavage n'a pas été toxique chez le rat Wistar. Aussi, Shittu Olalere *et al.*, (2020), dans leur étude sur l'altération des paramètres histologiques, biochimiques et hématologiques chez des souris infectées par Plasmodium traitées avec l'extrait d'écorce de tige de *B. ferruginea*, sont-ils arrivés à la conclusion que l'extrait de *B. ferruginea* est classé de toxicité très modérée et qu'il est un puissant remède antiplasmodial et antioxydant lorsqu'il est administré à dose contrôlée.

## Conclusion

L'objectif de l'étude, celui d'évaluer la toxicité aiguë et subaiguë des extraits totaux aqueux des feuilles de *B. ferruginea* sur le rat Wistar, est atteint. Le criblage phytochimique de la poudre de feuilles révèle la présence de tanins, de flavonoïdes, d'anthocyanes, de leuco-anthocyanes, de stéroïdes, de triterpènes, de mucilages et d'alcaloïdes. La DL<sub>50</sub> de l'extrait est estimée supérieure à 2.000 mg/kg. Administré en toxicité subaiguë, l'extrait aqueux du *B. ferruginea* stimule une croissance pondérale des rats sans qu'aucune différence statistiquement significative ne soit trouvée entre les paramètres biochimiques et hématologiques des rats des lots traités comparés à ceux du lot Témoin. De plus, les coupes histologiques ne révèlent aucune altération morphologique tissulaire au niveau des reins et du foie des animaux traités. Les extraits totaux aqueux des feuilles de *B. ferruginea* administrés par gavage ne sont pas toxiques chez le rat Wistar. Ces résultats encourageants font de cette plante un sérieux candidat pouvant être pris en compte dans un processus de recherche et développement de nouveaux médicaments.

## Références bibliographiques

- Adetutu, A., W. A. Morgan, O. Corcorana, 2011: Ethnopharmacological survey and in vitro evaluation of wound-healing plants used in South-western Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology* 137, 50–56.
- Adomou, A.C., H. Yedomonhan, B. Djossa, S. I. Legba, M. Oumorou, A. Akoegninou, 2012 : Etude Ethnobotanique des plantes médicinales vendues dans le marché d'Abomey-Calavi au Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 6(2); 745-772.
- Adoukpe, F.M., T.C.M Medehouenou, J. R. Klotoe V. T. Dougnon, 2018: Antibacterial pharmacochémical activity "in vitro" of total alkaloid extracts of *Crateva religiosa* G. forst. (Capparidaceae) versus amoxicillin + Clavulanic acid on germs responsible of human common affections, *Journal of Medicinal Plants Studies*; 6(6): 175-179.
- Batomayena B., B. Berké, K. Eklou-Gadegbeku, A. Agbonon, K. Aklirikokou, M. Gbeassor, E. E. Creppy, N. Moore, 2013: Acute and sub-chronic (28 days) oral toxicity evaluation of hydroethanolic extract of *Bridelia ferruginea* Benth root bark in male rodent animals. *Food and Chemical Toxicology*, Volume 52, February 2013, Pages 176-179 <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.11.021>.
- Brochot, A., Guilbot, A., Haddioui, L., Roques, C., 2017: Antibacterial, antifungal, and antiviral effects of three essential oil blends. *Microbiology Open* 6, e00459. <https://doi.org/10.1002/mbo3.459>
- Burman, S., Bhattacharya, K., Mukherjee, D., Chandra, G., 2018: Antibacterial efficacy of leaf extracts of *Combretum album* Pers. against some pathogenic bacteria. *BMC Complement. Altern. Med.* 18, 213. <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2271-0>.
- Dougnon T.V., E. Déguénon, L. Fah, B. Lègba, Y. M. G. Hounmanou, J. Agbankpè, A. Amadou, H. Koudokpon, K. Fabiyi, A. Aniambossou, P. Assogba, E. Hounsa, M. de Souza, F. Avlessi, T. J. Dougnon, F. Gbaguidi, M. Boko, H. S. Bankolé, L. Baba-Moussa, 2017: Traditional treatment of human and animal salmonellosis in Southern Benin: Knowledge of farmers and traditherapists, *Veterinary World*, 10(6): 580-592.
- Dougnon, V., Agbodjento, E., Hounsa, E., Legba, B.B., Deguenon, E., Bohoungbe, N., Akotegnon, R., Klotoe, J.R., Dougnon, J., 2021: An ethnobotanical survey of seventeen plants species used against diarrhoea and other diseases in southern Benin (West Africa). *J. Biol. Res. - Boll. Della Soc. Ital. Biol. Sper.* 94. <https://doi.org/10.4081/jbr.2021.9486>.

- Etame L. G., Yinyang J., Okalla E. C., Makondo B. V., NGABA G. P., Mpondo Mpondo E., Dibong S. D., 2017: Étude de la toxicité aigüe et subaigüe de l'extrait au vin des graines de *Carica papaya* Linn 12077 Journal of Applied Biosciences 120 : 12077-12085.
- Fah L., Klotoé J. R., Dougnon V., Koudokpon H. ; Fanou, V. B. A., Dandjesso C., Loko F., 2013 : Etude ethnobotanique des plantes utilisées dans le traitement du diabète chez les femmes enceintes à Cotonou et Abomey-calavi (Bénin), Journal of Animal and Plants Sciences, Vol 18 (1) : 2647-2658.
- Feuya Tchouya, G. R., A. Souza, J. C. Tchouankeu, J.-F. Yala, M. Boukandou, H. Foundikou, G. D. Nguema Obiang, F. Fekam Boyom, R. Mabika Mabika, E. Zeuko'o Menkem, D. Tantoh Ndinteh, J. Lebibi, 2015: Ethnopharmacological surveys and pharmacological studies of plants used in traditional medicine in the treatment of HIV/AIDS opportunistic diseases in Gabon. Journal of Ethnopharmacology 162, 306–316.
- Ganfou, H., J. Bero, A. T. Tchinda, F. Gbaguidi, J. Gbenou, M. Moudachirou, M. Frédéricich, J. Quetin-Leclercq, 2012 : Antiparasitic activities of two sesquiterpenic lactones isolated from *Acanthospermum hispidum* D.C. Journal of Ethnopharmacology, Volume 141, Issue 1, 7 May 2012, Pages 411-417. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.03.002>
- Göhre, Á., B. Toto-Nienguesse, M. Futuro, C. Neinhuis & T. Lautenschläge, 2016: Plants from disturbed savannah vegetation and their usage by Bakongo tribes in Uíge, Northern Angola. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine 12; 42 DOI 10.1186/s13002-016-0116-9.
- Houghton, P.J., Raman, A., 1998: A Laboratory handbook for the fractionation of natural extracts. Chapman et Hall, London, 199 p.
- Houngbeme A., Gandonou C, Yehouenou B, Kpoviessi SDS, SohounhloueD, Moudachirou M and Gbaguidi F., 2014: Phytochemical analysis, toxicity and antibacterial activity of Benin medicinal plants extracts used in the treatment of sexually transmitted infections associated with HIV-AIDS. *Int J Pharm Sci Res*; 5 (5): 1739-1745.
- Houmènou, V., Adjatin, A., Assogba, F., Gbénou, J., & Akoègninou, A., 2018 : Étude Phytochimique Et De Cytotoxicité De Quelques Plantes Utilisées Dans Le Traitement De La Stérilité Féminine Au Sud-Bénin. European Scientific Journal, 14(6), 156-171.
- IPGRI, E., GR, A., 2001: Descriptors for *Allium* (*Allium* spp.). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy, 6.
- Kouame K. B., Mamidou W. K., 2017 : Evaluation des conditions de traitement et de stockage des plantes médicinales sur les marchés du district d'Abidjan (Côte d'Ivoire). European Journal of Scientific Research 13 (3), 396-415
- Kouchadé A. S., Adonou A. C., Tossou G. M. Yédomonhan H., Dassou G. H., Akoègninou A., 2016 : Etude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des maladies infantiles et vendues sur les marchés au sud du Bénin, Journal of Animal and Plants Sciences, Vol 28 (2) : 4418-4438.
- Kpodar, M., S. D. Karou, G. Katawa, K. Anani, H. E. Gbekley, Y. Adjrah, T. Tchacondo, K. Batawila, J. Simporé, 2016 : An ethnobotanical study of plants used to treat liver diseases in the Maritime region of Togo Journal of Ethnopharmacology 181, 263–273.
- Olivier, M., P. Zerbo, J. I. Boussim, S. Guinko, 2012 : Les plantes des galeries forestières à usage traditionnel par les tradipraticiens de santé et les chasseurs Dozo Sénoufo du Burkina Faso Int. J. Biol. Chem. Sci. 6(5): 2170-2191.
- F. Nzuki Bakwaye , C. Termote, K. Kibungu, P. Van Damme, 2013: Identification et importance locale des plantes médicinales utilisées dans la région de Mbanza-Ngungu, République démocratique du Congo. Bois et Forêts des Tropiques, N° 316 (2).
- OCDE, 2001: Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques 423.
- Ouerdia, Z., Lyla, I., Abdelghani, T., Abderrahmane, A., 2020: Pertinence de l'analyse toxicologique au cours d'une intoxication médicamenteuse aigüe : Elargissement du protocole toxicologique au niveau du service de toxicologie de Tizi-ouzou. 134.
- Praveen, K., Kumud, U., 2012: Tannins are Astringent. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 1(3): 45-50.
- Semi A.N.B., Traore F., Zahoui O. S. et Soro T. Y., 2008 : Composition chimique d'un extrait aqueux de *Bridelia ferruginea* Benth. (Euphorbiaceae) et études de ses effets toxicologique et pharmacologique chez les mammifères. Afrique Science 04(2) 287 – 305.
- Nene Bi, S. A., F. Traore, T. Y. Soro, A. Souza, 2009 : Etude phytochimique et pharmacologique du *Bridelia ferruginea* Benth (Euphorbiaceae) sur la motricité du *Taenia colis* de cobaye. Afrique science 05(2) 305-320.
- Shittu, Olalere, O., S. Olufunke Adenike, A. Muritala Kayode, M. Abeeb Adio, A. Shadrach Ayodeji, S. Nnaemeka, K. Kehinde Funmilola, A. Rafiu Adebisi, I. Olusola O., Ajibaye, 2021: Alterations in histological, biochemical and hematological parameters in Plasmodium berghei NK-65 infected balb/c mice treated with *Bridelia ferruginea* stem bark extract" Journal of Complementary and Integrative Medicine, vol. 18, no. 1, 2021, pp. 93-105. <https://doi.org/10.1515/jcim-2018-0219>.
- Tchacondo, T., S. D. Karou, K. Batawila, A. Agban, K. Ouro-Bang'na, K. T. Anani, M. Gbeassor, C. de Souza, 2011 : Herbal remedies and their adverse effects in Tem tribe traditional medicine in Togo. African. Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicine, 8(1): pp.45-60.
- Udoamaka, F., N. Ezurike, J.M. Prieto, 2014: The use of plants in the traditional management of diabetes in Nigeria: Pharmacological and toxicological considerations, Journal of Ethnopharmacology 155, 857–924.