

Activité Anthelminthique *In Vitro* Et Teneurs En Tanins Et Flavonoïdes De Huit Plantes Fourragères Utilisées En Elevage Des Petits Ruminants En Côte d'Ivoire

Koffi Yao Mesmin (Doctorant)

UFR Sciences de la Nature, Université Nangui Abrogoua,
Abidjan 02, Côte d'Ivoire

Kossonou Yao Kamélé (Assistant)

Université de Man, Man, Côte d'Ivoire

Kouame Amino Gervaise (Doctorante)

UFR Sciences de la Nature, Université Nangui Abrogoua,
Abidjan 02, Côte d'Ivoire

Kouadio N'Guessan Jules (Assistant)

UFR Sciences de la Nature, Université Nangui Abrogoua,
Abidjan 02, Côte d'Ivoire

Bakayoko Adama (Professeur)

UFR Sciences de la Nature, Université Nangui Abrogoua, Abidjan 02,
Côte d'Ivoire/ Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte
d'Ivoire, Abidjan 01, Côte d'Ivoire

Tra Bi Fézan Honora (Professeur)

UFR Sciences de la Nature, Université Nangui Abrogoua,
Abidjan 02, Côte d'Ivoire

Kone Mamidou Witabouna (Maître de Conférences)

UFR Sciences de la Nature, Université Nangui Abrogoua, Abidjan 02,
Côte d'Ivoire/ Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte
d'Ivoire, Abidjan 01, Côte d'Ivoire

Doi: 10.19044/esj.2018.v14n15p434 [URL:http://dx.doi.org/10.19044/esj.2018.v14n15p434](http://dx.doi.org/10.19044/esj.2018.v14n15p434)

Abstract

The search for alternatives to chemical anthelmintics in the control of gastrointestinal nematodes in small ruminants is now an imperative. The aim of this study was to evaluate the anthelmintic activity of eight forage plants from Côte d'Ivoire, including four Leguminosae and four Moraceae against *Haemonchus contortus*. The egg hatching inhibition and larvae paralysis were used for the assays. The contents of phenolic compounds (tannins and flavonoids) also were determined. Of the eight hydro-methanolic extracts

prepared, three showed strong anthelmintic activity. The extract of *Morus mesozygia* was ovicidal (% inhibition = 84.08%), while that of *Ficus lutea* and *Albizia adianthifolia* were larvicidal (% mortality = 100% and 97.42% respectively) at 2 mg/mL. Tannins and flavonoids contents ranged between 1.60 and 2.89 mg catechol equivalent/g dry matter and 2.42 and 2.89 mg quercetin equivalent/g dry matter respectively. These three forage plants may be a good alternative in the control of gastrointestinal nematodes in small ruminants farming.

Keywords: Forage plants, Leguminosae, Moraceae, polyphenols, *Haemonchus contortus*, Sheep

Résumé

La recherche de solutions alternatives aux anthelminthiques chimiques dans le contrôle des nématodes gastro-intestinaux parasites des petits ruminants est désormais un impératif. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'activité anthelminthique de huit plantes fourragères de Côte d'Ivoire, dont quatre Leguminosae et quatre Moraceae contre *Haemonchus contortus*. Les tests d'inhibition de l'éclosion des œufs et de paralysie des larves ont été utilisés. Les teneurs en composés phénoliques tels que les tanins et flavonoïdes ont été déterminées. Sur les huit extraits hydro-méthanoliques préparés, trois ont montré une forte activité anthelminthique. L'extrait de *Morus mesozygia* a été ovicide (à 84,08 %) à 2 mg/mL, tandis ceux de *Ficus lutea* et de *Albizia adianthifolia* ont été larvicides (% de mortalité = 100 % et à 97,42 % respectivement) également à 2 mg/mL. Les teneurs en tanins et flavonoïdes varient, respectivement, entre 1,60 et 2,99 mg équivalent catéchol/g de matière sèche et entre 2,42 et 2,89 mg équivalent quercétine/g de matière sèche. Ces trois plantes fourragères peuvent constituer une bonne alternative dans le contrôle des nématodes gastro-intestinaux en élevage de petits ruminants.

Mots-clés: Plantes fourragères, Leguminosae, Moraceae, Tanins, Flavonoïdes, *Haemonchus contortus*, Ovins

Introduction

Dans les pays en développement, l'élevage est confronté à de sérieuses contraintes d'ordre sanitaire dont les pathologies bactériennes, virales, parasitaires et métaboliques. Parmi ces pathologies, les parasitoses occupent une place importante à cause des pertes qu'elles occasionnent sur la productivité des animaux (Chiejina *et al.*, 2010).

Chez les petits ruminants, les infestations aux nématodes gastro-intestinaux constituent une véritable contrainte en élevage (Roerber, *et al.*, 2013), avec plus d'importance dans les régions tropicales et subtropicales

(Hoste, 2011). *Haemonchus contortus* compte parmi les espèces de nématodes qui dominent le spectre parasitaire en Afrique au sud du Sahara en général (Chiejina *et al.*, 2010) et particulièrement en Côte d'Ivoire (Komoin-Oka *et al.*, 2000 ; Achi *et al.*, 2003b ; Achi *et al.*, 2003c). Malgré l'arsenal antiparasitaire disponible dans le monde vétérinaire, les traitements anthelminthiques ne sont toujours pas à la portée des petits éleveurs. Par ailleurs, au niveau mondial, l'utilisation excessive de ces antiparasitaires a engendré des résistances vis-à-vis de l'ensemble des familles de molécules anthelminthiques (Kaplan, 2004 ; Waller, 2006). Les pays africains risquent d'être confrontés à ce problème avec la mise en place d'élevages de plus en plus modernes.

En Côte d'Ivoire, la recherche des plantes aux propriétés anthelminthiques à visée vétérinaire constitue un début de solution à ces problèmes de résistance. Quelques espèces végétales efficaces contre les helminthes ont déjà été identifiées : *Anogeissus leiocarpus* (Koné *et al.*, 2005 ; Soro *et al.*, 2013), *Annona senegalensis* (Alawa *et al.*, 2003), *Newbouldia laevis* et *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Azando *et al.*, 2011). Cette alternative présente un plus grand intérêt lorsqu'elle concerne les ressources fourragères. En effet, au-delà de leurs valeurs nutritionnelles, ces plantes peuvent, également, contenir divers métabolites secondaires tels que les tanins ou les flavonoïdes (Hoste, 2011) dont les propriétés anthelminthiques et leur effet sur les performances zootechniques sont connus. Les études sur les plantes fourragères à tanins sont abondantes sur les légumineuses fourragères principalement celles des régions tempérées (Hoste *et al.*, 2006).

En Afrique et particulièrement en Côte d'Ivoire, la littérature sur les propriétés anthelminthiques des légumineuses fourragères reste rare, encore plus pour les autres familles de plantes fourragères.

L'objectif de cette étude est d'évaluer le potentiel anthelminthique de huit plantes ligneuses fourragères appartenant à deux familles botaniques, les Leguminosae et les Moraceae.

Matériel et méthodes

Récolte des espèces à étudier

Les plantes sélectionnées pour cette étude sont des espèces utilisées comme fourrages par les éleveurs. Il s'agit d'arbustes d'une part, de *Ficus exasperata*, *Morus Mesozygia*, *Antiaris africana*, *Albizia adianthifolia* et *Albizia zygia* et d'autre part, de *Pterocarpus erinaceus*, *Azelia africana* et *Ficus lutea* récoltées respectivement en juin 2016 à Agboville en zone forestière et à Pacobo en zone de savane. Ces huit espèces appartiennent aux familles des Leguminosae et Moraceae connues pour leur richesse en espèces fourragères. Les plantes ont été identifiées à l'herbier du Centre Suisse de Recherche Scientifique Côte d'Ivoire (CSRS), à Abidjan.

Préparation des extraits végétaux

Les feuilles ont été collectées et séchées en salle climatisée (18 °C) pendant une à deux semaines. Elles ont ensuite été réduites en poudre fine. Pour la préparation des extraits, une macération au méthanol 90 % (10 mL d'eau distillée dans 90 mL de méthanol) a été effectuée pendant 24 heures sous agitation mécanique à la température ambiante. Les extraits obtenus après filtration ont été concentrés à l'évaporateur rotatif. La solution aqueuse obtenue après l'évaporation du méthanol a été séchée à l'étuve à 40 °C.

Tests biologiques

Préparations des solutions mères

Pour la préparation des solutions mères, 40 mg de résidu sec de chaque extrait ont été dissouts au vortex dans 250 µL de diméthylsulfoxyde (DMSO). Un volume de 10 µL de la solution obtenue a été dilué 80 fois avec de l'eau distillée pour obtenir une solution finale de 2000 µg/mL. L'Albendazole (à 250 µg/mL), anthelminthique de référence, a été utilisé comme Témoin positif. Dans toutes les solutions, le DMSO a une concentration de 1,25 %. Il a été utilisé comme Témoin négatif (Molan *et al.*, 2000c).

Collecte des œufs de *Haemonchus contortus*

Les œufs ont été obtenus à partir des fèces selon Michael *et al.* (2001). Les matières fécales fraîchement prélevées du rectum de l'animal (brebis de race Djallonké) ont été malaxées dans de l'eau distillée et filtrées à l'aide d'une passoire à thé puis centrifugées pendant 10 minutes à 2000 tours/minute. Le surnageant a été renversé et, au culot, a été ajoutée une solution saturée de chlorure de sodium (400 g/L). Cette nouvelle suspension a été centrifugée à 1500 tours/minute pendant 10 minutes. Les œufs présents au niveau du ménisque supérieur des tubes ont été récupérés dans un tube puis rincés à l'eau distillée. La suspension a été ajustée à 120 œufs/20 µL.

Evaluation de l'activité ovicide

Le test de l'éclosion des œufs a été réalisé selon la méthode modifiée de Coles *et al.* (2006). Dans des tubes Eppendorf de 1,5 mL, à 20 µL de la suspension d'œufs, ont été ajoutés 80 µL d'extrait de plantes (à 2000 µg/mL) ou des contrôles positif (Albendazole à 250 µg/mL) et négatif (DMSO 1,25 %). Les tubes laissés ouverts ont, par la suite, été incubés à la température de la salle pendant 48 heures au bout desquelles 20 µL de formol ont été déposés dans chaque tube pour stopper l'évolution des œufs. Après l'incubation, pour chaque tube, les 120 µL ont été déposés en gouttes de 20 µL sur une lame microscopique et le nombre de larves développées a été évalué au microscope optique (Gx40). Le test a été répété cinq fois pour chacun des extraits et des contrôles utilisés.

L'activité inhibitrice des extraits de plantes a été déterminée en calculant le taux d'inhibition de l'éclosion des œufs (IEO) grâce à la formule décrite par D'Angelo *et al.* (2014) :

$$\text{IEO (\%)} = 100 - \left(\frac{\text{Nombre de larves L1}}{\text{Nombre d'œufs déposés}} \times 100 \right)$$

Pour les extraits ovicides, à 2000 µg/mL, il a été déterminé la concentration qui induit 50 % d'inhibition de l'éclosion des œufs (CO₅₀). Ainsi, les mêmes essais ont ainsi été effectués avec les extraits actifs à 2000 µg/mL, 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL et 62,5 µg/mL. Les CO₅₀ ont ensuite été déterminées graphiquement à l'aide de la droite de régression linéaire établie entre les différentes concentrations et les taux d'inhibition de l'éclosion des œufs induits pour chaque concentration.

Evaluation de l'activité larvicide

L'effet des extraits de plantes sur les larves L1 et L2 de *Haemonchus contortus* a été mis en évidence selon le protocole modifié de Sinha *et al.* (1987). Après 24 heures d'incubation de la suspension d'œufs préparée, les larves L1 libérées ont été mises en contact avec les extraits de plantes. Dans des tubes Eppendorf de 1,5 mL, 20 µL de suspension de larves (environ 120 larves/20µL) ont été mélangés à 80 µL d'extrait de plante à 2000 µg/mL ou des contrôles positif (Albendazole à 250 µg/mL) et négatif (DMSO 1,25 %). Ensuite, les tubes Eppendorf laissés ouverts ont été de nouveau incubés à la température de la salle pendant 24 heures. Après l'incubation, le contenu de chaque tube est déposé en gouttes de 20 µL sur une lame et le nombre de larves mortes a été compté au microscope optique (Gx40). Une larve immobile pendant 10 à 15 secondes a été considérée comme morte. Le test a été répété cinq fois pour chacun des extraits et les contrôles utilisés.

Le taux de mortalité larvaire a été calculé en utilisant la formule décrite par Hubert et Kerboeuf (1992) :

$$\text{M (\%)} = \left(\frac{\text{Nombre de larves immobiles}}{\text{Nombre total de larves en culture}} \right) \times 100$$

Pour les extraits larvicides à la concentration de 2000 µg/mL, il a été déterminé la concentration qui entraîne 50 % de la mortalité des larves (CL₅₀). Pour ce faire, les mêmes essais ont été effectués avec ces extraits actifs aux concentrations de 2000 µg/mL, 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL et 62,5 µg/mL. Les CL₅₀ ont été déterminées graphiquement à l'aide de la droite de régression linéaire établie entre ces concentrations et les taux de mortalité larvaire induits pour chaque concentration.

Dosage des composés phénoliques

Polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par Boizot et Charpentier (2006). Un volume de 100 μL d'extrait de plante a été mélangé avec 500 μL du réactif Folin-Ciocalteu et 400 μL de Na_2CO_3 à 7,5 % (m/v). Le mélange a été agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 10 min. L'absorbance a été mesurée à 760 nm au spectrophotomètre UV, avec comme blanc de l'eau distillée. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent acide gallique/g de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique obtenue avec une gamme de concentrations allant de 50 mg/mL à 6,25 mg/mL. Les essais ont été répétés trois fois.

Flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes totaux a été effectué selon la méthode décrite par Dehpour *et al.* (2009). A 500 μL de chaque extrait, ont été ajoutés 1500 μL de méthanol à 95 %, 100 μL de AlCl_3 à 10 % (m/v), 100 μL d'acétate de sodium 1 M et 2,8 mL d'eau distillée. Le mélange a été agité puis incubé à l'obscurité et à la température ambiante pendant 30 min. Le blanc a été réalisé par remplacement de l'extrait par du méthanol à 95 % et l'absorbance a été mesurée à 415 nm au spectrophotomètre UV. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent quercétine/g de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine avec une gamme de concentrations allant de 0,4 mg/mL à 0,04 mg/mL. Les essais ont été répétés trois fois.

Tanins condensés

Les teneurs en tanins condensés ont été déterminées par la méthode de la vanilline en milieu acide (Ba *et al.*, 2010). Le réactif de vanilline a été préparé en mélangeant à volume égal : du HCl à 8 % (v/v), du méthanol à 37 % (v/v) et de la vanilline (4 % dans du méthanol, m/v). Le mélange a été maintenu à 30 °C avant le dosage. Ensuite, 200 μL de chaque extrait à analyser ont été ajoutés à 1 000 μL de réactif de vanilline. Le mélange a été agité puis incubé à l'obscurité à 30 °C pendant 20 min. L'absorbance a été mesurée à 500 nm au spectrophotomètre UV contre un blanc constitué d'un mélange de méthanol (37 %) et de HCl (8%) à volume égal. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent catéchol/g de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage du catéchol construite à partir d'une gamme de concentrations allant de 0,025 mg/mL à 2 mg/mL. Les essais ont été répétés trois fois.

Analyses Statistiques

L'analyse de la variance à une voie (ANOVA 1) a été utilisée pour la comparaison des moyennes des taux d'inhibition de l'éclosion des œufs et pour la comparaison des moyennes des taux de mortalité des larves. Le test de Tukey (HSD) a été utilisé pour la comparaison multiple des moyennes lorsqu'elles étaient significativement différentes et au seuil de significativité 0,05.

Les mêmes analyses ont été utilisées pour la comparaison des moyennes des teneurs en phénols totaux, flavonoïdes totaux et en tanins condensés.

Pour la détermination des CO_{50} et des CL_{50} , un test de régression linéaire au seuil de significativité 0,05 a été effectué entre les concentrations des extraits et les pourcentages d'inhibition de l'éclosion des œufs ou les pourcentages de mortalité larvaire induits.

Toutes ces analyses statistiques ont été effectuées grâce au Logiciel XLSTAT 2017.02 incorporé dans EXCEL 16.4393.

Résultats

Activité anthelminthique

Inhibition de l'éclosion

Le Tableau 1 présente l'effet qu'ont eu les extraits hydro-méthanoliques des plantes sur l'éclosion des œufs de *Haemonchus contortus* à 2000 $\mu\text{g/mL}$.

L'analyse de ce tableau a montré que seul l'extrait de *Morus mesozygia* a manifesté une forte inhibition sur l'éclosion des œufs de *H. contortus*, avec 84,08 % d'inhibition (en moyenne). Les extraits de *Antiaris africana* et *Ficus exasperata*, avec respectivement 24,72 % et 22,58 % d'inhibition, ont exercé une faible activité sur l'éclosion des œufs. Les cinq extraits restants n'ont pas été actifs sur l'éclosion des œufs de ce parasite. Il s'agit des extraits de *Albizia zygia*, *Pterocarpus erinaceus*, *Azelia africana*, *Albizia adianthifolia* et de *Ficus lutea* dont l'inhibition moyenne, comprise entre 12,64 % et 5,65 %, est statistiquement comparable à celle du contrôle négatif (DMSO 1,25 %). Le témoin positif, l'Albendazole a été ovicide avec 97,8 % d'inhibition causée à la concentration 250 $\mu\text{g/mL}$.

La Figure 1 montre l'activité en fonction de la concentration de l'extrait de *M. mesozygia* sur l'éclosion des œufs de *Haemonchus contortus*. La concentration qui a inhibé 50 % de l'éclosion des œufs (CO_{50}) déterminée pour l'extrait de cette plante fourragère est de 1170 $\mu\text{g/mL}$ (Tableau 2).

Tableau 1 : Effet des extraits hydro-méthanoliques des plantes sur l'écllosion des œufs de *Haemonchus contortus* à 2000 µg/mL

Echantillons	Familles	% d'inhibition de l'écllosion des œufs					Moyenne ± σ
		R1	R2	R3	R4	R5	
Momez	Moraceae	78,89	85,59	81,82	91,4	82,69	84,08 ± 4,74 ^a
Anafr	Moraceae	30,53	21,35	19,79	44,32	24,42	28,08 ± 9,96 ^b
Fiexa	Moraceae	24,72	25	18,08	19,23	36,84	24,77 ± 7,43 ^b
Azygi	Leguminosae	22,58	7,32	10,71	7,53	15,04	12,64 ± 6,38 ^c
Pteri	Leguminosae	6,45	11,34	11,25	14,29	3,37	9,34 ± 4,36 ^c
Afzaf	Leguminosae	5,26	7,48	8,26	11,43	3,3	7,15 ± 3,08 ^c
Adian	Leguminosae	9,88	6,9	5,88	8,33	4,71	7,14 ± 2,03 ^c
Filut	Moraceae	8,42	3,31	6,8	5,75	3,97	5,65 ± 2,08 ^c
DMSO 1,25%	Témoin négatif	5,05	3,3	4,17	1,83	2,65	3,40 ± 1,26 ^c
Albendazole (250 µg/mL)	Témoin positif	98,04	100	98,79	96,84	95,33	97,8 ± 1,80

R = Répétition ; σ = écart-type. Momes = *Morus mesozygia* ; Anafr = *Antiaris africana* ; Fiexa = *Ficus exasperata* ; Azygi = *Albizia zygia* ; Pteri = *Pterocarpus erinaceus* ; Afzaf = *Afzelia africana* ; Adian = *Albizia adianthifolia* ; Filut = *Ficus lutea*. Les moyennes des pourcentages d'inhibition avec des lettres distinctes sont statistiquement différentes entre elles (P<0,05).

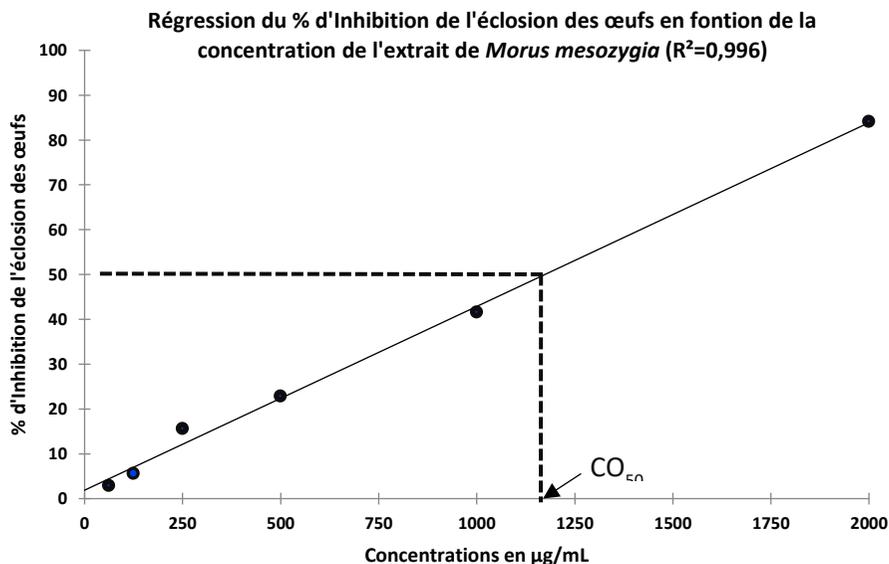


Figure 1 : Inhibition induite par l'extrait de *Morus mesozygia* sur l'écllosion des œufs de *Haemonchus contortus* en fonction de la concentration et détermination de la CO₅₀

Le tableau 2 indique la valeur de la CO₅₀ obtenue de l'effet de l'extrait de *Morus mesozygia* sur les œufs de *Haemonchus contortus*

Tableau 2 : Valeur de la CO₅₀ de *M. mesozygia* à partir de l'équation de la droite de régression linéaire établie entre le IEO (%) et la concentration au seuil 5 % (IEO (%) = a + b*Concentration)

	R ² d'ajustement	a	b	CO ₅₀
<i>Morus mesozygia</i>	0,996	1,881	40,997	1170 µg/mL

a = Ordonnée à l'origine de la droite de régression linéaire ; b = Pente de la droite de régression

Mortalité Larvaire

Le Tableau 3 présente l'effet qu'ont eu les extraits hydro-méthanoliques des plantes sur la mortalité des larves L1 et L2 de *Haemonchus contortus* à 2000 µg/mL.

Il ressort de ces résultats que les extraits de plantes ont manifesté des effets allant de très actif à aucune activité. Deux extraits de plantes ont été très actifs avec des effets statistiquement identiques. Il s'agit des extraits de *Ficus lutea* et de *Albizia adianthifolia* avec respectivement 100 % et 97,42 % de mortalité larvaire occasionnée.

Tableau 3: Effet des extraits hydro-méthanoliques des plantes sur les larves L1 et L2 de *Haemonchus contortus* à 2000 µg/mL

Echantillons	Familles	% de Mortalité des larves					Moyenne ± σ
		R1	R2	R3	R4	R5	
Filut	Moraceae	100	100	100	100	100	100 ± 0 ^a
Adian	Leguminosae	100	100	95,83	94,95	96,3	97,42 ± 2,41 ^a
Momez	Moraceae	52,63	41,18	56,25	50	55,56	51,12 ± 6,09 ^b
Fiexa	Moraceae	28,36	28,57	19,48	19,05	28,33	24,76 ± 5,02 ^c
Anafr	Moraceae	0	0	0	0	0	0 ± 0 ^d
Afzaf	Leguminosae	0	0	0	0	0	0 ± 0 ^d
Azygi	Leguminosae	0	0	0	0	0	0 ± 0 ^d
Pteri	Leguminosae	0	0	0	0	0	0 ± 0 ^d
DMSO 1,25%	Témoin négatif	0	0	0	0	0	0 ± 0 ^d
Albendazole (250 µg/mL)	Témoin positif	100	100	100	100	100	100 ± 0

R = Répétition ; σ = écart-type. Momes = *Morus mesozygia* ; Anafr = *Antiaris africana* ; Fiexa = *Ficus exasperata* ; Azygi = *Albizia zygia* ; Pteri = *Pterocarpus erinaceus* ; Afzaf = *Afzelia africana* ; Adian = *Albizia adianthifolia* ; Filut = *Ficus lutea*. Les moyennes des pourcentages de mortalité avec des lettres distinctes sont statistiquement différentes entre elles (P<0,05).

Morus mesozygia, a quant à elle induit une activité modérée d'environ 51,12 % sur la mortalité des larves. L'extrait de *Ficus exasperata*, avec un taux de mortalité larvaire de 24,76 %, a manifesté faible activité. Pour les autres extraits, c'est-à-dire ceux de *Antiaris africana*, *Albizia zygia*, *Afzelia africana* et de *Pterocarpus erinaceus*, il n'y a pas eu d'activité sur les larves.

Pour les deux extraits très actifs, à savoir *Ficus lutea* et *Abizia adianthifolia*, les activités manifestées sont plus importantes aux fortes concentrations. La Figure 2 montre l'activité en fonction de la concentration de ces deux extraits de plantes sur les larves L 1 et L 2 de *Haemonchus contortus*. Les CL₅₀ déterminées sont respectivement de 796 µg/mL pour *A. adianthifolia* et de 978 µg/mL pour *F. lutea* (Tableau 4). L'analyse comparée de ces deux valeurs montre que *A. adianthifolia* a été plus active aux faibles concentrations que *F. lutea*.

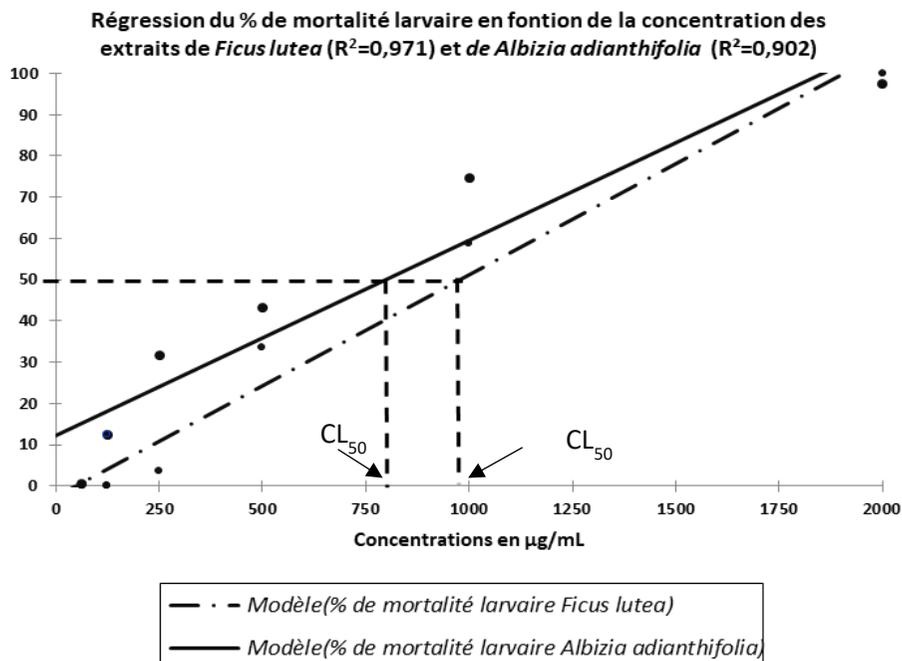


Figure 2 : Mortalité larvaire induite par les extraits de *Ficus lutea* et de *Albizia adianthifolia* sur les larves L1 et L2 de *Haemonchus contortus* en fonction de la concentration et détermination des CL₅₀

Le Tableau 4 indique les valeurs des CL₅₀ obtenues de l'effet des extraits de *F. lutea* et de *A. adianthifolia* sur les larves L1 et L2 de *Haemonchus contortus*.

Tableau 4 : CL₅₀ de *Albizia adianthifolia* et de *Ficus lutea* à partir de l'équation de la droite de régression linéaire établie entre le M (%) et la concentration au seuil 5 % (M (%) = a + b*Concentration)

	R ² d'ajustement	a	b	CL ₅₀
<i>Albizia adianthifolia</i>	0,902	12,38	47,25	796 µg/mL
<i>Ficus lutea</i>	0,971	(-2,6)	53,78	978 µg/mL

a = Ordonnée à l'origine de la droite de régression linéaire ; b = Pente de la droite de régression

Teneurs en composés phénoliques des plantes actives

Le Tableau 5 présente les teneurs en phénols totaux, flavonoïdes totaux et en tanins condensés des trois plantes fourragères qui ont montré une activité anthelminthique.

La teneur en composés phénoliques est variable d'une plante à une autre non seulement pour les phénols totaux, mais également pour les flavonoïdes totaux et les tanins condensés. *Morus mesozygia* qui a les teneurs les plus élevées en phénols totaux (129,7 mg éq AG/g MS) et en flavonoïdes (29,9 mg éq Qu/g MS), présente la teneur la plus basse en tanins condensés (24,2 mg éq Cat/g MS). *Albizia adianthifolia* a la plus importante teneur en tanins condensés (28,9 mg éq Cat/g MS) mais possède les plus faibles teneurs en phénols totaux (81 mg éq AG/g MS) et en flavonoïdes (16 mg éq Qu/g MS). Concernant *F. lutea*, les teneurs en phénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés sont comprises entre celles de *M. mesozygia* et de *A. adianthifolia*.

Tableau 5 : Teneurs en composés phénoliques des espèces de plantes actives

Plantes actives	Type d'activité	Teneurs en composés phénoliques		
		Phénols totaux (mg éq AG/g MS)	flavonoïdes totaux (mg éq Qu/g MS)	tanins condensés (mg éq Cat/g MS)
<i>Morus mesozygia</i>	Ovicide	129,7 ± 0,06 ^a	29,90 ± 0,00 ^a	24,20 ± 0,00 ^c
<i>Albizia adianthifolia</i>	Larvicide	81,00 ± 0,02 ^c	16,00 ± 0,00 ^c	28,90 ± 0,00 ^a
<i>Ficus lutea</i>	Larvicide	108,80 ± 0,16 ^b	23,00 ± 0,01 ^b	25,80 ± 0,02 ^b

MS = Matière sèche ; éq AG = équivalent acide gallique ; éq Qu = équivalent quercétine ; éq Cat = équivalent catéchol. Des lettres distinctes dans une même colonne indiquent une différence significative entre les teneurs (P<0,05).

Discussion

La présente étude a montré que, sur les huit plantes fourragères utilisées, seuls les extraits hydro-méthanoliques de *Morus mesozygia*, *Ficus lutea* et *Albizia adianthifolia* ont eu une importante activité anthelminthique à 2000 µg/mL sur le parasite *Haemonchus contortus*. *M. mesozygia* a été ovicide avec 84,08 % d'inhibition de l'éclosion des œufs tandis que *Ficus lutea* et *Albizia adianthifolia* ont été larvicides avec respectivement 100 % et 97,42 % de mortalité des larves L1 et L2. Les activités anthelminthiques de ces trois espèces fourragères sont signalées ici pour la première fois.

Morus mesozygia et *F. lutea* qui ont eu les extraits végétaux les plus actifs à 2000 µg/mL, sur les œufs et les larves L 1 et L 2 de *Haemonchus contortus*, appartiennent à la famille des Moraceae.

M. mesozygia, *F. lutea* et *A. adianthifolia* appartiennent à des familles de plantes dont des espèces sont déjà connues pour leurs propriétés anthelminthiques. Ainsi, la famille des Leguminosae est connue pour sa richesse en espèces possédant des propriétés anthelminthiques contre les nématodes gastro-intestinaux (Paolini *et al.*, 2004 ; Barrau *et al.*, 2005 ;

Alonzo-Diaz *et al.*, 2010b). Dans le genre *Albizia* (Leguminosae), *A. anthelmintica* et *A. lebeck* ont été actives contre des nématodes, des trématodes et des cestodes (Koko *et al.*, 2000 ; Gathuma *et al.*, 2004 ; Grade *et al.*, 2008). Pour les Moraceae, quelques espèces ont été rapportées, elles appartiennent principalement au genre *Ficus*. Iqbal *et al.*, (2001b) a montré que *F. religiosa* a occasionné 100 % de mortalité des vers adultes de *H. contortus* après 6 heures d'exposition aux extraits. *F. insipida* et *F. carica* ont également été actives contre des trématodes et cestodes (Amorim *et al.*, 1998).

L'effet anthelminthique des extraits végétaux contre les nématodes gastro-intestinaux pourrait être lié à la présence des métabolites secondaires comme les tanins, les flavonoïdes. Les tanins condensés ont été identifiés comme étant les principaux composés responsables de l'effet anthelminthique observé chez plusieurs Leguminosae fourragères des régions tempérées, tels les lotiers pédonculé (*Lotus pedunculatus*) et corniculé (*Lotus corniculatus*), le sulla (*Hedysarum coronarium*), le sainfoin (*Onobrychus viciifolia*) et la dorycnie (*Dorycnium rectum*) (Barrau *et al.*, 2005 ; Hoste *et al.*, 2006). En général, selon Molan *et al.* (2000c), les inhibitions induites par certaines plantes contre les nématodes parasites sont dues à la présence des tanins condensés. Plusieurs auteurs (Min *et al.*, 2003 ; Brunet *et al.*, 2007) ont rapporté que les tanins condensés diffuseraient à la surface membranaire des œufs et des larves afin de se lier aux protéines libres de la membrane, induisant ainsi l'inhibition de l'éclosion des œufs et la mortalité des larves.

L'implication des flavonoïdes dans les propriétés anthelminthiques des extraits de plantes a été aussi relevée par Paolini *et al.* (2003) et Barrau *et al.* (2005). Pour Adémola *et al.* (2005), les flavonoïdes et les tanins contenus dans la fraction polaire de *Leuceana leucocephala* ont montré un effet sur la migration des larves L3 de *H. contortus*. De même, Azando *et al.* (2011b) ont montré un rôle des tanins et des flavonoïdes de *Zanthoxylum zanthoxyloides* et de *Newbouldia laevis* dans les propriétés anthelminthiques de ces deux plantes sur le dégainement des larves L3 de *Haemonchus contortus* et de *Trichostrongylus colubriformis*. Selon Brunet (2008), la gaine des larves infestantes des nématodes parasites est la cible des flavonoïdes du sainfoin.

Les tests de dosage réalisés avec les extraits hydro-méthanoliques de *Morus mesozygia*, *Albizia adianthifolia* et *Ficus lutea* ont bien montré la présence des tanins condensés et des flavonoïdes, à des teneurs qui varient entre 2,42 mg éq Cat/g MS et 2,89 mg éq Cat/g MS pour les tanins condensés et entre 1,60 mg éq Qu/g MS et 2,99 mg éq Qu/g MS pour les flavonoïdes. Les activités manifestées par ces trois espèces végétales contre le nématode parasite *Haemonchus contortus* pourraient être liées à la présence de ces composés.

Conclusion

Les plantes fourragères constituent une alternative de choix dans la lutte contre les nématodes gastro-intestinaux des petits ruminants. Sur les huit extraits des plantes testées dans la présente étude, trois ont montré une forte activité *in vitro* sur trois stades de développement de *Haemonchus contortus*. Ce sont *Albizia adianthifolia* et *Ficus lutea* qui ont été larvicides et *Morus mesozygia* qui a été ovicide. La famille des Moraceae a été plus intéressante par rapport à celle des Leguminosae par le nombre d'espèces actives obtenues. La présence des tanins condensés et des flavonoïdes dans les extraits des trois plantes laisse suggérer que les activités manifestées seraient liées à leur richesse en ces composés phénoliques. L'évaluation de l'effet de ces plantes sur les performances zootechniques des ovins infestés par *H. contortus* est en cours.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier l'Unité de Recherche en Sciences Appliquées à la production et Santé Animale/Humaine (URSASAH/Zoonose), de l'Université Nangui Abrogoua (Abidjan), dirigée par le Professeur Fantodji Agathe, pour son appui technique.

References:

1. Achi, Y.L., Zinsstag, J., Yao, K., Yéo, N., Dorchies, P., 2003b. Epidémiologie des helminthoses des moutons et des chèvres dans la région des savanes du Nord de la Côte d'Ivoire. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 154 (3) : 179-188.
2. Achi, Y.L., Zinsstag, J., Yao, K., Yéo, N., Dorchies, P., Jacquet, P., 2003c. Host specificity of *Haemonchus* spp. for domestic ruminants in the savanna in northern Ivory Coast. *Veterinary Parasitology*, 116 (2):151-158.
3. Ademola, I.O., Akanbi, A.I., Idowu, S.O., 2005. Comparative nematocidal activity of chromatographic fraction of *Leucaena leucocephala* seed against gastrointestinal sheep nematodes. *Pharmaceutical Biology*, 43: 599-604.
4. Alawa, C.B.I., Adamu, A.M., Gefu, J.O., Ajanusi, O.J., Abdu, P.A., Chiezey, N.P., Alawa, J.N., Bowman D.D., 2003. *In vitro* screening of two Nigerian medicinal plants (*Vernonia amygdalina* and *Annona senegalensis*) for anthelmintic activity. *Veterinary Parasitology*, 113: 73-81.
5. Alonso-Díaz, M.A., Torres-Acosta, J.F.J., Sandoval-Castro, C.A., Hoste, H., 2010b. Tannins in tropical tree fodders fed to small ruminants: A friendly foe? *Small Ruminant Research*, 89: 164-173.
6. Amorim, A.D., Botha, H.R., Rodrigues, M.D.L.D.A., Anjos,

- D.H.D.S., Correa, D.V.A., 1998. *In vitro* effect of aqueous extracts of *Chenopodium ambrosioides* L. on first and third larval stages of Strongylidae from horses. *Revista brasileira de medicina veterinaria*, 20: 14-16.
7. Azando, E.B.V., Hounzangbé–Adoté, M.S., Olounladé, P.A., Brunet, S., Fabre, N., Valentin, A., Hoste, H., 2011b. Involvement of tannins and flavonoids in the *in vitro* effects of *Newbouldia laevis* and *Zanthoxylum zanthoxyloides* extracts on the exsheathment of third-stage infective larvae of gastrointestinal nematodes. *Veterinary Parasitology*, 180 (2011): 292-297.
 8. Azando, E.B.V., Olounlade, A.P., Hounzangbe-Adote, M.S., Hoste, H., 2011. Effets anthelminthiques *in vivo* de la poudre de feuilles de *Zanthoxylum zanthoxyloides* et de *Newbouldia laevis* sur les nématodes parasites gastro-intestinaux des chevreaux Djallonké. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5 (3) : 1054-1062.
 9. Ba, K., Tine, E., Destain, J., Cisse, N., Thonart, P., 2010. Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 14: 131-139.
 10. Barrau, E., Fabre, N., Fouraste, I., Hoste, H., 2005. Effect of bioactive compounds from sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) on the *in vitro* larval migration of *Haemonchus contortus*: role of tannins and flavonol glycosides. *Parasitology*, 131 (4): 531-538.
 11. Boizot, N., Charpentier, J-P., 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'Inra., N° spécial*, 79-82.
 12. Brunet, S., 2008. Analyse des mécanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en substances polyphénoliques sur les nématodes du tube digestifs des ruminants. Thèse de Doctorat, Université Paul Sabatier de Toulouse, Toulouse, France, 246 p.
 13. Brunet, S., Aufrere, J., Elbabili, F., Fourasté, I., Hoste, H., 2007. The kinetics of exsheathment of infective nematode larvae is disturbed in the presence of a tannin-rich plant extract (sainfoin) both *in vitro* and *in vivo*. *Parasitology*, 135: 1-10.
 14. Chiejina, S.N., Behnke, J.M., Musongong, G.A., Nnadi, P.A., Ngongeh, L.A., 2010. Resistance and resilience of West African Dwarf goats of the Nigerian savanna zone exposed to experimental escalating primary and challenge infections with *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, 171: 81-90.
 15. Coles, G.C., Jackson, F., Pomroy, W.E., Prichard, R.K., Von samson-

- Himmelstjerna, G, Woodland, A., Taylor, M.A., Vercruyssen, J., 2006. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 136: 167-185.
16. D'Angelo, F., Poné, J.W., Yondo, J., Claire, K.M., Vittori, S., Mbida, M., 2014. Evaluation of Ovicidal and Larvicidal Activities of Methylene Chloride Extract of *Annona senegalensis* (Annonaceae) Stem Bark on *Heligmosomoides bakeri* (Nematoda, Heligmosomatidae). *Global Journal of Science Frontier Research*, 14: 21-39.
17. Dehpour, A.A., Ibrahimzadeh, M.A., Seyed Fazel, N., Seyed Mohammad, N., 2009. Antioxydant activity of the methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition. *Grasas Aceites*, 60: 405-412.
18. Gathuma, J.M., Mbaria, J.M., Wanyama, J., Kaburia, H.F.A., Mpoke, L., Mwangi, J.N., 2004. Efficacy of *Myrsine africana*, *Albizia anthelmintica* and *Hildebrandtia sepalosa* herbal remedies against mixed natural sheep helminthosis in Samburu district, Kenya. *Journal of Ethnopharmacology*, 91: 7-12.
19. Grade, J.T., Arble, B.L., Weladji, R.B., Van Damme, P., 2008. Anthelmintic efficacy and dose determination of *Albizia anthelmintica* against gastrointestinal nematodes in naturally infected Ugandan sheep. *Veterinary Parasitology*, 157: 267-274.
20. Hoste, H., 2011. Influence de la nutrition sur les infestations par les nématodes gastro-intestinaux chez les petits ruminants. UMR 1225 INRA/DGER, Ecole Nationale Vétérinaire, Toulouse (France).
21. Hoste, H., Jackson, F., Athanasiadou, S., Thamsborg, S.M., Hoskin, S.O., 2006. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. In: *Trends Parasitology*, 22: 253-261.
22. Hubert, J., Kerboeuf, D., 1992. A Microlarval Development Assay for the Detection of Anthelmintic Resistance in Sheep Nematode. *Veterinary Record*, 130: 442-446.
23. Iqbal, Z., Nadeem, Q.K., Khan, M.N., Akhtar, M.S., Waraich, F.N., 2001b. *In vitro* anthelmintic activity of *Allium sativum*, *Zingiber officinale*, *Curcubita mexicana* and *Ficus religiosa*", *International Journal of Agriculture and Biology*, 3: 454-457.
24. Kaplan, R.M., 2004. Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. *Trends Parasitology*, 20: 477-481.
25. Koko, W.S., Galal, M., Khalid, H.S., 2000. Fasciolicidal efficacy of *Albizia anthelmintica* and *Balanites aegyptiaca* compared with albendazole. *Journal of Ethnopharmacology*, 71: 247-252
26. Komoin-Oka, C., Zinsstag, J., Fofona, F., N'Depo, A., Pandey, V.S., 2000. Epidémiologie des nématodes gastro-intestinaux des bovins

- dans la région centre de la Côte d'Ivoire. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 55 (3) : 257-262.
27. Koné, W.M., Kamanzi Atindehou, K., Dossahoua, T., Betschart, B., 2005. Anthelmintic activity of medicinal plants used in northern Côte d'Ivoire against intestinal helminthiasis. *Pharmaceutical Biology*, 43 (1):72-78.
 28. Michael, B., Meinke, T.P., Schoop, W., 2001. Comparison of Ivermectin Doramectin, Selamectin and eleven intermediates in nematode larval development assay. *Journal of Parasitology*, 81 (3): 692-696.
 29. Min, B.R., Barry, T.N., Attwood, G.T., McNabb, W.C., 2003. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 106: 3-19.
 30. Molan, A.L., Waghorn, G.C., Min, B.R., Mc Nabb, W.C., 2000c. The effect of condensed tannins from seven herbages on *Trichostrongylus colubriformis* larval migration *in vitro*. *Folia Parasitology*, 47 (1): 39-44.
 31. Paolini, V., Bergeaud, J.P., Grisez, C., Prevot, F., Dorchies, P., Hoste, H., 2003. Effects of condensed tannins on goats experimentally infected with *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, 113 (3-4): 253-261.
 32. Paolini, V., Fouraste, I., Hoste, H., 2004. *In vitro* effects of three woody plant and sainfoin extracts on 3rd-stage larvae and adult worms of three gastrointestinal nematodes. *Parasitology*, 129 (1): 69-77.
 33. Roeber, F., Jex, A.R., Gasser, R.B., 2013. Impact of gastrointestinal parasitic nematodes of sheep, and the role of advanced molecular tools for exploring epidemiology and drug resistance an Australian perspective. *Parasites & Vectors*, 6: 153-165.
 34. Sinha, H.K., Sivastava, P.S., Singh, S.P., Sinha, K.V., Sinha, S.R., 1987. Efficacy of Various Anthelmintics on the Mortality of the Infective Larva of *Toxocara vitulorum* and Treatment of Calf Ascariasis. *Indian journal of animal sciences*, 57: 185-188.
 35. Soro, D., Koné, M.W., Bonfoh, B., Dro, B., Toily, K.B., Kamanzi K., 2013. *In vivo* anthelmintic activity of *Anogeissus leiocarpus* Guill & Perr (Combretaceae) against nematodes in naturally infected sheep. *Parasitology Research*, 112 (7): 2681-2688.
 36. Waller, P.J., 2006. From discovery to development: current industry perspectives for the development of novel methods of helminth control in livestock. *Veterinary Parasitology*, 139 (1-3): 1-14.