

**Les Tanins et les Flavonoïdes dans l'Activité Anthelminthique
in Vivo et in Vitro de *Newbouldia Laevis* et *Zanthoxylum
Zanthoxyloïdes* sur les Vers Adultes de *Haemonchus
Contortus***

Erick Virgile Bertrand Azando

Laboratoire d'Ecologie, de Santé et de Production Animales (LESPA),
Faculté d'Agronomie (FA), Université de Parakou (UP), Parakou, Bénin
Laboratoire de Biotechnologies et d'Amélioration Animale (LABAA),
Institut des Sciences Biomédicales Appliquées (ISBA), Cotonou, Bénin
Laboratoire d'Ethnopharmacologie et de Santé Animale (LESA), Faculté des
Sciences Agronomiques (FSA), Université d'Abomey-Calavi (UAC),
Recette Principale, Cotonou, Bénin

Pascal Abiodoun Olounladé

Laboratoire des Sciences Animale et Halieutique (LaSAH), Unité de
Recherche en Zootechnie et Système d'Élevage (URZoSE), Ecole de Gestion
et d'Exploitation des Systèmes d'Élevage (EGESE), Université Nationale
d'Agriculture (UNA), Porto-Novo, Bénin

Laboratoire de Biotechnologies et d'Amélioration Animale (LABAA),
Institut des Sciences Biomédicales Appliquées (ISBA), Cotonou, Bénin
Laboratoire d'Ethnopharmacologie et de Santé Animale (LESA), Faculté des
Sciences Agronomiques (FSA), Université d'Abomey-Calavi (UAC),
Recette Principale, Cotonou, Bénin

Mawulé Sylvie Hounzangbé-Adoté

Laboratoire d'Ethnopharmacologie et de Santé Animale (LESA), Faculté des
Sciences Agronomiques (FSA), Université d'Abomey-Calavi (UAC),
Recette Principale, Cotonou, Bénin

[Doi: 10.19044/esipreprint.11.2022.p493](https://doi.org/10.19044/esipreprint.11.2022.p493)

Approved: 16 November 2022
Posted: 18 November 2022

Copyright 2022 Author(s)
Under Creative Commons BY-NC-ND
4.0 OPEN ACCESS

Cite As:

Azando E.V.B., Olounladé P.A. & Hounzangbé-Adoté M.S. (2022). *Les Tanins et les Flavonoïdes dans l'Activité Anthelminthique in Vivo et in Vitro de Newbouldia Laevis et Zanthoxylum Zanthoxyloïdes sur les Vers Adultes de Haemonchus Contortus*. ESI Preprints. <https://doi.org/10.19044/esipreprint.11.2022.p493>

Resume

Aux fins de déterminer *in vitro* et *in vivo* la part des tanins et des flavonoïdes dans l'activité anthelminthique de *Newbouldia laevis* et *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* (*Fagara zanthoxyloïdes*) sur les vers adultes de *H. contortus*, des ovins Djallonké infestés par *H. contortus* ont été traités *ad libitum* avec des feuilles fraîches de *Z. zanthoxyloïdes* associées ou non à un inhibiteur de tanins, le poly éthylène glycol (PEG) sur 7 jours consécutifs. Des vers adultes de *H. contortus* ont été également mis en contact d'extraits de *N. laevis* et *Z. zanthoxyloïdes* en présence ou non de polyvinyle polypyrrolidone (PVPP) un autre inhibiteur de tanins. *In vivo*, le *Fagara* a réduit de 20% l'excrétion fécale et l'inhibition de l'excrétion par le PEG n'est pas significative. Le nombre de vers adultes d'*H. contortus* a été réduit de 39%. Le traitement par les feuilles de *Fagara* a significativement réduit ($p < 0,05$) le nombre d'œuf par ver femelle d'*H. contortus* et cette réduction est inhibée par le PEG. *In vitro*, les vers adultes de *H. contortus* ont été très sensibles à l'effet des extraits dans les premières 24h et au-delà, où les différences d'effet avec le contrôle sont très significatives pour le *N. laevis* notamment la fraction cyclohexanique ($p < 0,001$) et significatives pour le *Fagara* avec la fraction acétonique ($p < 0,04$). Le PVPP a partiellement restauré la mobilité jusqu'à 36h pour *N. laevis* respectivement 25% et 40% pour les extraits acétonique et cyclohexanique. Quant au *Fagara* le PVPP a eu une action modeste sur l'extrait acétonique (33% de restauration en 24h) mais a mieux inhibé l'effet de l'extrait cyclohexanique (100% en 24h et 40% en 36h).

Mots-clés : *Zanthoxylum zanthoxyloïdes*, *Newbouldia laevis*, *Haemonchus contortus*, tanins, PVPP, PEG

Tannins and Flavonoids in the *in Vivo* and *in Vitro* Anthelmintic Activity of *Newbouldia Laevis* and *Zanthoxylum Zanthoxyloides* on Adult *Haemonchus Contortus* Worms

Erick Virgile Bertrand Azando

Laboratoire d'Ecologie, de Santé et de Production Animales (LESPA),
Faculté d'Agronomie (FA), Université de Parakou (UP), Parakou, Bénin
Laboratoire de Biotechnologies et d'Amélioration Animale (LABAA),
Institut des Sciences Biomédicales Appliquées (ISBA), Cotonou, Bénin
Laboratoire d'Ethnopharmacologie et de Santé Animale (LESA), Faculté des
Sciences Agronomiques (FSA), Université d'Abomey-Calavi (UAC),
Recette Principale, Cotonou, Bénin

Pascal Abiodoun Olounladé

Laboratoire des Sciences Animale et Halieutique (LaSAH), Unité de
Recherche en Zootechnie et Système d'Élevage (URZoSE), Ecole de Gestion
et d'Exploitation des Systèmes d'Élevage (EGESE), Université Nationale
d'Agriculture (UNA), Porto-Novo, Bénin

Laboratoire de Biotechnologies et d'Amélioration Animale (LABAA),
Institut des Sciences Biomédicales Appliquées (ISBA), Cotonou, Bénin
Laboratoire d'Ethnopharmacologie et de Santé Animale (LESA), Faculté des
Sciences Agronomiques (FSA), Université d'Abomey-Calavi (UAC),
Recette Principale, Cotonou, Bénin

Mawulé Sylvie Hounzangbé-Adoté

Laboratoire d'Ethnopharmacologie et de Santé Animale (LESA), Faculté des
Sciences Agronomiques (FSA), Université d'Abomey-Calavi (UAC),
Recette Principale, Cotonou, Bénin

Abstract

In order to determine *in vitro* and *in vivo* the involvement of tannins and flavonoids in the anthelmintic activity of *Newbouldia laevis* and *Zanthoxylum zanthoxyloides* (*Fagara zanthoxyloides*) on adult worms of *H. contortus*, Djallonke ovine infested by *H. contortus* have been treated *ad libitum* with cool leaves of *Z. zanthoxyloides* associated or no to an inhibitor of tannins, the poly ethylene glycol (PEG) on seven consecutive days. Adult worms of *H. contortus* have also been put in contact of extracts of *N. laevis* and *Z. zanthoxyloides* in presence or no of polyvinyle polypyrrolidone (PVPP) another inhibitor of tannins. *In vivo*, the *Fagara* decreased by 20% the fecal excretion and the inhibition of the excretion by the PEG is not significative. The number of adult worms of *H. contortus* has been decreased by 39%. The treatment by the leaves of *Fagara* reduced meaningfully ($p <$

0.05) the number of eggs by female worm of *H. contortus* and this reduction is inhibited by the PEG. In vitro, adult worms of *H. contortus* was very sensitive to the effect of the extracts in the first 24h and beyond, where the differences of effect with the control are very meaningful for the *N. laevis* notably the cyclohexanic fraction ($p < 0.01$) and meaningful for the Fagara with the acetonic fraction ($p < 0.04$). The PVPP partially restored the mobility until 36h for *N. laevis* respectively 25% and 40% for the acetonic and cyclohexanic extracts. With regard to the Fagara the PVPP had a modest action on acetonic extract (33% of restoration in 24h) but inhibited the effect of cyclohexanic extract (100% in 24h and 40% in 36h) better.

Keywords: *Zanthoxylum zanthoxyloïdes*, *Newbouldia laevis*, *Haemonchus contortus*, tannins, PVPP, PEG

1. Introduction

Dans de nombreuses contrées les pathologies gastro-intestinales arrivent en tête des maladies parasitaires chez les petits ruminants et engendrent des conséquences économiques non négligeables (Hoste et Chartier, 1993 ; Knox *et al.*, 2006). L'utilisation à grande échelle et depuis des décennies des anthelminthiques de synthèse pour venir à bout des strongles gastro-intestinaux, a fini par générer une résistance des parasites vis-à-vis de ces produits chimiques (Beugnet et Kerboeuf, 1997 ; Waller, 1997 ; Chartier *et al.*, 2001). Une alternative au phénomène de résistance dans le contrôle des parasitoses digestives a été l'emploi de plantes bioactives ayant des propriétés anthelminthiques (Enwerem *et al.*, 2001 ; Alawa *et al.*, 2003, Athanasiadou et Kyriazakis, 2004; Wolstenholme *et al.*, 2004 ; Githiori *et al.*, 2006).

Dans cette phytothérapie l'usage de plantes riches en tanins a été proposé comme une stratégie alternative pour le contrôle des nématodes gastro-intestinales chez les ovins et caprins afin de réduire la dépendance vis-à-vis des anthelminthiques chimiques (Kahn et Díaz-Hernandez, 2000; Hoste *et al.*, 2006; Ketzis *et al.*, 2006). La flore tropicale notamment africaine est riche en espèces fourragères et légumineuses dotées de ces propriétés et dont des études antérieures ont prouvé leur efficacité aussi bien *in vivo* que *in vitro*. C'est le cas de *N. laevis* (de la famille des Rutaceae), et de *Z. zanthoxyloïdes* (de la famille des Bignoniaceae), éprouvées sur l'éclosion et le développement des œufs, la migration et le dégagement des larves, la viabilité des vers adultes, la fertilité des vers femelles (Hounzangbé-Adoté, 2005a ; Azando *et al.*, 2011 ; Olounladé *et al.*, 2017a, Olounladé *et al.*, 2017b, Tchétañ *et al.*, 2020). Ces plantes renferment des métabolites secondaires tels que les tanins, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les anthocyanes, les dérivés quinoniques, les saponosides, les mucilages, des

huiles essentielles ... (Eyong *et al.*, 2006 ; Olounladé, 2018). Bien que le mode d'action ne soit pas encore totalement élucidé, le rôle des tanins a été soupçonné dans l'activité anthelminthique (Molan *et al.*, 2000b; Paolini *et al.*, 2004).

Le but de la présente recherche est de vérifier *in vivo* l'effet direct de la consommation des feuilles fraîches de *Z. zanthoxyloïdes* sur la viabilité, l'excrétion fécale et la fécondité des vers adultes de *H. contortus*, de déterminer *in vitro* avec les extraits de cette plante et de *N. laevis* l'effet sur la motilité des vers adultes de *H. contortus* et d'évaluer au niveau de chaque tests l'importance de certains métabolites secondaires qu'elles contiennent.

2. Matériel et méthodes

2.1. Collection et identification des plantes

Le matériel végétal, composé des feuilles de *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* (*Fagara zanthoxyloïdes*), et de *Newbouldia laevis*, a été identifié et un échantillon de référence se trouve à l'Herbier National de l'Université d'Abomey- Calavi sous les numéros respectifs AA 6301 / HNB et AA 6302 / HNB. Les feuilles récoltées au Sud du Bénin au début de la grande saison pluvieuse (mi-avril) sont données selon le cas aux animaux ou séchées (25 °C) et réduites en poudre.

2.2. Procédure d'extraction

Pour chacune des espèces de plante, 50 g de poudre mélangée à 500 ml de solvant Acétone-eau (70/30) est mis sous agitation continue pendant 1 heure en présence d'acide ascorbique pour limiter l'oxydation. Le mélange est filtré et l'acétone est enlevée à 40 °C sous pression réduite. La solution aqueuse obtenue est débarrassée des pigments et des lipides par trois séries de lavage avec le dichlorométhane et l'acétate d'éthyle. Enfin l'extrait est congelé (- 70 °C) puis lyophilisés.

2.3. Dosage des polyphénols des extraits de plantes

Les phénols totaux, tanins totaux, tanins condensés et l'activité biologique des tanins (capacité à former des complexes avec les protéines) ont été mesurés pour les deux plantes pour donner un profil quantitatif des composés polyphénoliques et les corrélés avec les effets anthelminthiques.

La méthode Folin-Ciocalteu a été utilisée pour déterminer la valeur des phénols totaux (TP) et des tanins totaux (TT) dans les extraits des plantes (Makkar 2003). Les TP ont été déterminés en premier et les TT par différence après addition du polyvinyle polypyrrolidone (PVPP). La quantification de tanins a été exécutée au moyen d'un spectrophotomètre à la longueur d'onde de 725 nm (Agilent 8453[®]). Les solutions standard ont été formulées avec le réactif Folin-Ciocalteu et la courbe du calibrage a été faite

avec l'acide tannique. Les tanins ont été exprimés en équivalent grammes d'acide tannique/100 grammes de plante séchée.

L'activité biologique des échantillons de la plante, relativement au contenu tannique a été mesurée par la Méthode de la Diffusion Radiale qui est basée sur la distribution de complexe entre tanins et Albumine du Sérum Bovin (BSA) dans un gel d'agarose (Hagerman 1987). Quatre-vingt-dix μ l de l'extrait aqueux a été déposé dans des puits creusés dans l'agarose par fraction de 15 μ l. Les contrôles positif (15 μ l d'acide tannique) et négatif (15 μ l d'extraits de plante) ont aussi été inclus dans l'essai. Après 24 heures d'incubation, les diamètres des disques formés ont été mesurés avec un micromètre numérique. Ces diamètres ont été mis en rapport avec l'activité biologique des tanins de la plante qui peut être évaluée d'après la formule suivante : % = (PPA extrait X100) / PPA acide tannique),

PPA = $[(D^2 - d^2) \times (\text{Vol. extrait} / \text{Vol. dépôt})] / (\text{masse d'échantillon});$

D : diamètre des disques formés (mm); d : diamètre du puits (mm);

Les résultats ont été exprimés en équivalent gramme d'acide tannique par 100 grammes de plante sèche.

2.4. Pré-incubation des solutions d'extrait avec le polyvinyle polypyrrolidone (PVPP) et rôle de tanins dans l'activité antihelminthique.

Le PVPP forme des complexes avec les tanins et les poly phénols et bloque leur activité biologique potentielle (Makkar 2003). Il a été ajouté aux 2 extraits de plante à une concentration de 1200 μ g/ml pour 3 heures à 25 °C dans un ratio de 1:50 (Barrau *et al.*, 2005) avec agitation toutes les heures. Ces solutions ont été centrifugées à 4500 tours/min (5 min, 20°C). Après centrifugation, le surnageant a été utilisé pour incuber les vers adultes de *H. contortus*.

2.5. Test d'inhibition de la motilité des vers adultes

Les vers femelles adultes de *H. contortus* ont été obtenus d'une chèvre donneuse infestée avec des souches pures de *H. contortus*. Après sacrifice de l'animal, les vers ont été prélevés au niveau de l'abomasum, rincés dans du sérum physiologique, pré-incubés durant une heure dans du sérum physiologique (37 °C), puis incubés à 37 °C dans des extraits de *N. laevis* ou de *Z. zanthoxyloïdes* à 1200 μ g/ml avec un témoin négatif (PBS) et avec des extraits des 2 plantes additionnés de PVPP tel que décrit précédemment. A toutes les solutions sont ajoutées de la pénicilline et de la streptomycine à 2%.

L'incubation a duré 48 heures et la mobilité des vers est évaluée sous loupe binoculaire toutes les 6 heures au grossissement 200 X. Huit répétitions ont été faites pour chaque type d'extrait dans des puits de plaques NUNC.

2.6. Matériel animal et conduite

Dix huit (18) ovins Djallonké âgés au début de l'expérience de 3 à 4 mois et demi sont constitués en trois lots de 6 animaux chacun :

Lot 1 : témoin négatif infesté et sans aucun traitement

Lot 2 : infesté et traité aux feuilles fraîches de *Fagara* pendant 7 jours consécutifs

Lot 3 : infesté et traité aux feuilles fraîches de *Fagara* avec du polyéthylène glycol (PEG) pendant 7 jours consécutifs

Les ovins sont vaccinés avant le début de l'essai contre la peste des petits ruminants (Ovipeste®), traités contre les trypanosomoses au diacéturate de diminazène (Bérényl®) et reçoivent tous les mois un bain détiqueur à base de Cyperméthrin (Alfapor®). Ils disposent de fourrages d'*Andropogon gayanus*, de fourrages secs de *Panicum maximum* C1, de blocs de pierre à lécher, d'eau à volonté et reçoivent un complément alimentaire bétail (concentré) et des épluchures de manioc. Ils sont tous déparasités à l'Albendazole (Vermiprazol®) à la dose de 7,5 mg/kg PV puis infestés artificiellement 12 jours plus tard avec 3000 larves L3 de *H. contortus*.

Les feuilles de *Fagara* sont coupées le matin entre 7h et 8h, pesées et distribuées *ad libitum* aux animaux des lots concernés entre 10h et 11h. Les refus sont retirés et pesés.

Les ovins du lot PEG reçoivent 25 g de polyéthylène glycol (PEG) par jour dissous dans de l'eau (du robinet) et donné en 2 prises : avant la distribution des feuilles de *Fagara* et 30 min après (Silanikove *et al.*, 2001).

Collecte bi-hebdomadaire de crottes et détermination de l'OPG par la méthode quantitative de Mc Master (Hansen et Perry, 1995), prélèvement de sang et détermination de l'hématocrite par centrifugation sur micro tube EDTA. Les animaux ont été sacrifiés après les 7 jours de traitement et un bilan parasitaire a été réalisé, consistant en l'identification et la numération des parasites intestinaux et de leurs stades larvaires. La fertilité individuelle des vers femelles a été mesurée par la technique décrite par Kloosterman *et al.*, (1978)

2.7. Analyses statistiques

La comparaison des traitements s'est faite au moyen de test de comparaison de moyenne (test T de Student) sur le logiciel Statistica®. Pour minimiser les variations, les OPG ont subi une transformation $\log(x + 1)$ avant les analyses statistiques. Le logiciel Excel 2010® de Microsoft® a été également utilisé pour réaliser une étude statistique descriptive. La différence entre deux valeurs moyennes comparées et testées avec une probabilité $p < 0.05$ a été considérée significative

3. Resultats

3.1. Expérience *in vivo*

Consommation de feuilles fraîches de Fagara

La consommation journalière *ad libitum* des feuilles fraîches de *Fagara* n'a pas significativement varié d'un lot à l'autre. Elle a été en effet de 211 g/kg poids vif pour le lot *Fagara* et de 192 g/kg poids vif pour le lot *Fagara* + PEG.

Excrétion fécale

L'excrétion fécale des œufs après 7 jours de consommation des feuilles de *Fagara* est respectivement de 2400, 1900 et 1050 pour le contrôle, le lot *Fagara* et le lot *Fagara* + PEG (Figure 1). Bien qu'il y ait une réduction de 20% au niveau du lot *Fagara* par rapport au témoin aucune différence significative n'a été observée entre les différents lots ($p > 0,05$). La restauration partielle de l'excrétion fécale au niveau du lot *Fagara* + PEG n'est pas non plus significative.

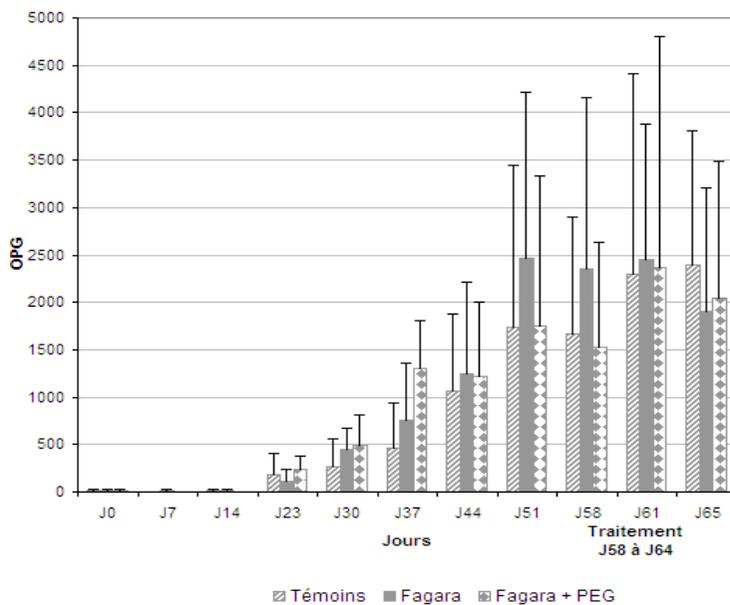


Figure 1. Excrétion fécale des œufs chez les *H. contortus* adultes (consommation de *Fagara* de J58 à J64)

Bilan parasitaire

Au bilan parasitaire post mortem, le nombre de vers adultes de *H. contortus* dénombré dans l'abomasum est respectivement de 480, 186 et 296 pour le contrôle, le lot *Fagara* et le lot *Fagara* + PEG (Figure 2). La consommation des feuilles de *Fagara* a réduit le nombre de vers adultes mais

comparée au témoin, celle-ci n'est pas significative ($p = 0,082$). La restauration du nombre de vers au niveau du lot *Fagara* + PEG est partielle.

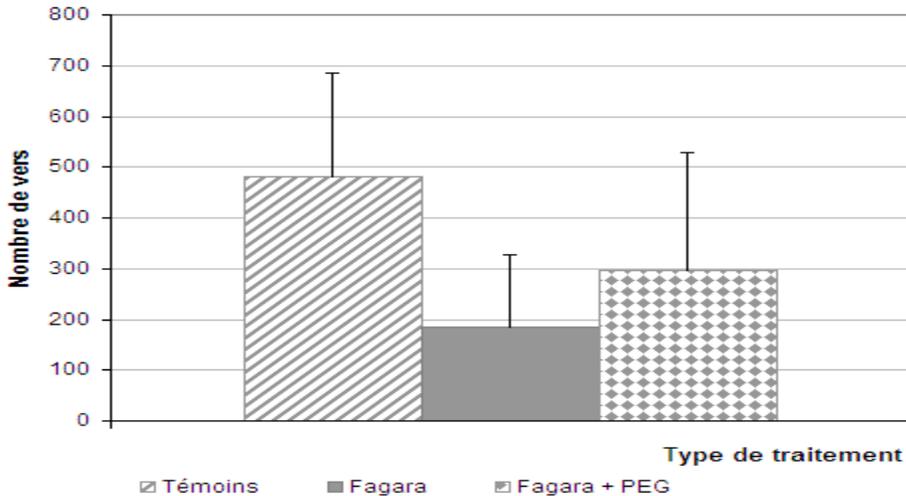


Figure 2. Inventaire des vers adultes dans l'abomasum

Fertilité des vers femelles de H. contortus

La variation du nombre d'œufs par ver femelle de *H. contortus* est respectivement de 460 ± 170 , 270 ± 29 et 543 ± 9 pour le contrôle, le lot *Fagara* et le lot *Fagara* + PEG (Figure 3). Le traitement par les feuilles de *Fagara* a significativement réduit ($p = 0,049$) le nombre d'œuf par ver femelle. Au niveau du lot *Fagara* + PEG cette réduction du nombre d'œufs a été inhibée.

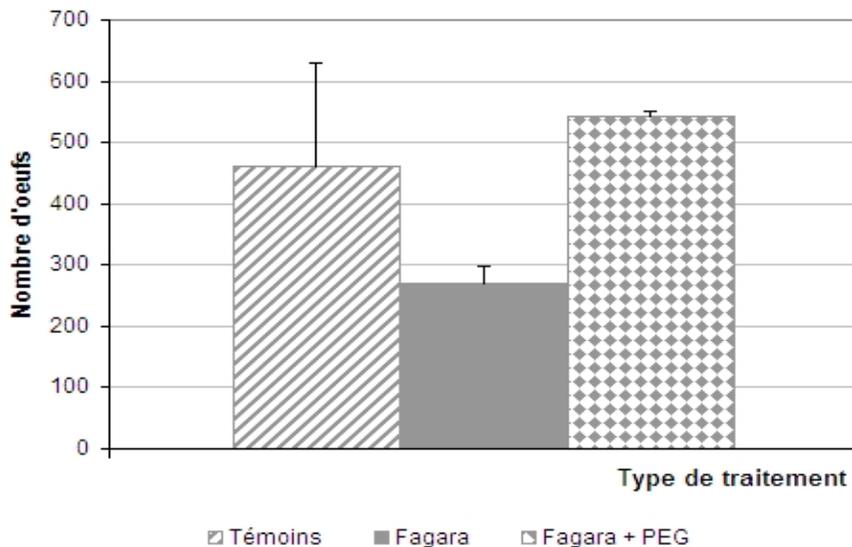


Figure 3. Nombre d'œufs par vers femelle de *H. contortus*

3.2. Expérience *in vitro*

Motilité des vers adultes de H. contortus

In vitro, les vers adultes de *H. contortus* ont été très sensibles à l'effet des extraits dans les premières 24h où les différences d'effet avec le contrôle (PBS) sont très significatives pour le *N. laevis* notamment la fraction cyclohexanique ($p < 0,01$) et significatives pour le *Fagara* avec la fraction acétonique ($p < 0,04$) (Tableaux I et II). Au-delà des 24h les *H. contortus* adultes sont plus sensibles aux extraits de *N. laevis* qu'à ceux de *Fagara* quel que soit le type de solvant d'extraction (Tableaux I et II).

Avec *Fagara* l'extrait cyclohexanique réduit mieux la mobilité des *H. contortus* adultes que l'extrait acétonique (Tableau I)

Avec le *N. laevis* (Tableau II), l'addition du PVPP a partiellement restauré la mobilité jusqu'à 36h (25% et 40% respectivement pour les extraits acétonique et cyclohexanique). Quant au *Fagara* (Tableau I) le PVPP a eu une action modeste sur l'extrait acétonique (33% de restauration en 24h) mais a mieux inhibé l'effet de l'extrait cyclohexanique (100% en 24h et 40% en 36h).

Tableau I. Taux (%) de mobilité des vers adultes de *H. contortus in vitro* dans les extraits de *Z. zanthoxyloïdes* avec ou sans PVPP

Types d'extraits	Temps (en heure)			
	6h	24h	36h	48h
PBS	100	100	100	0
<i>Z.zanthoxyloïdes</i> acétonique	100	67	25	0
<i>Z.zanthoxyloïdes</i> acétonique + PVPP	100	100	25	0
<i>Z.zanthoxyloïdes</i> cyclohexanique	100	100	0	0
<i>Z.zanthoxyloïdes</i> cyclohexanique + PVPP	100	100	40	0

Tableau II. Taux (%) de mobilité des vers adultes de *H. contortus in vitro* dans les extraits de *N. laevis* avec ou sans PVPP

Types d'extraits	Temps (en heure)			
	6h	24h	36h	48h
PBS	100	100	75	0
<i>N. laevis</i> acétonique	100	67	0	0
<i>N. laevis</i> acétonique + PVPP	100	67	25	0
<i>N. laevis</i> cyclohexanique	100	50	0	0
<i>N. laevis</i> cyclohexanique + PVPP	100	80	40	0

4. Discussion

La réduction de l'excrétion fécale induite par la consommation des feuilles de *Z. zanthoxyloïdes* par les ovins Djallonké est relativement modeste. Ces observations avaient été déjà faites par Hounzangbé-Adoté *et al.*, (2005a) qui ont trouvé que l'excrétion fécale n'est significative qu'avec une consommation des feuilles sur le long terme. Il semble qu'une teneur minimale en tanins condensés dans la ration soit nécessaire, 3 à 4% de la

matière sèche selon Hoste *et al.*, (2006) afin d'obtenir un effet antihelminthique. Une réduction de la ponte des œufs est la conséquence soit de la diminution de la population de vers adultes, soit de la baisse de la fécondité des vers femelles comme ont pu l'observer sur diverses plantes riches en tanins Heckendorn *et al.*, (2006 et 2007), Niezen *et al.*, (2002), Thamsborg *et al.*, (2003), Tzamaloukas *et al.*, (2005), Shaik *et al.*, (2004 et 2006), Rojas *et al.*, (2006). Les ovins ayant été sacrifiés au lendemain de 7 jours de traitement les données sur la fertilité confortent l'hypothèse que le *Fagara* perturbe la fécondité des femelles de *H. contortus*. Des résultats similaires sont obtenus avec *Lysiloma latisiliquum* une plante tropicale également riche en tanins (Martinez-Ortiz-De-Montellano *et al.*, 2010). Cette même plante selon Martinez-Ortiz-De-Montellano *et al.*, (2013) induirait des lésions entre autres au niveau de la vulve des femelles de *H. contortus*, ce qui affecterait les fonctions reproductives et donc la réduction de la ponte. Par ailleurs, Minaflinou *et al.*, (2015) qui ont observé que les poudres des feuilles de

Z. zanthoxyloïdes et *N. laevis* administrées séparément ou en combinaison sur trois jours consécutifs perturbent la prolificité de *H. contortus* et de *T. colubriformis*. De même Olounladé et al (2017b) ont rapporté que les feuilles fraîches de *N. laevis* en consommation *ad libitum* trois fois par semaine durant 45 jours ont significativement réduit l'excrétion des œufs de strongles gastro-intestinaux chez les agneaux Djallonké infestés naturellement. Ces résultats sont également similaires à ceux obtenus en 2017 avec l'huile essentielle de *Fagara zanthoxyloïdes* qui a considérablement réduit l'excrétion fécale des œufs de strongles et perturbé la viabilité des vers adultes, leur prolificité ainsi que l'implantation des larves infestantes de *H. contortus* et de *T. colubriformis*.

Bien d'autres plantes médicinales ont exprimé des effets identiques sur la mobilité des vers adultes de *Haemonchus contortus*. C'est le cas par exemple de *Anogeissus leiocarpus* et *Adansonia digitata* rapporté par Kuiseu *et al.*, (2022) avec effet dose-dépendant où tous les vers adultes étaient immobiles après 6 h d'exposition à la concentration de 2400 µg/mL, tandis qu'à 75 µg/mL, l'immobilité est constatée après 36 h d'exposition. Comme le rapportent également Zinsou *et al.*, (2021), l'ensilage produit à partir des tiges de maïs a des propriétés anthelminthiques puisque ses extraits aqueux, hydroéthanolique et chloroformique mis en contact les parasites, inhibent la migration des larves de *H. contortus* et la motilité des vers adultes. Les feuilles de *Spondias mombin* en poudre pendant trois jours de consommation ont induit une réduction de plus de 50% du niveau d'excrétion des œufs chez les brebis pendant que les extraits des feuilles de la même plante ont inhibé la migration des larves L3 et la motilité des vers adultes après 30 heures d'exposition (Akouédégni *et al.*, 2019).

La majorité des études menées sur les plantes anthelminthiques en conditions naturelle ou expérimentale ont imputé les effets observés sur les vers aux métabolites secondaires des plantes, et plus particulièrement aux tanins. Les feuilles de *Fagara* contiennent selon Azando *et al.*, (2011) des phénols, des tanins totaux, des tanins condensés et ont une activité biologique quantifiable. L'addition *in vivo* d'un inhibiteur de tanins (Rogosis *et al.*, 2008) comme le polyéthylène glycol (PEG) a totalement inhibé l'effet de *Fagara* sur la fécondité et partiellement l'effet sur l'excrétion fécale et la viabilité des vers adultes. Ceci révèle le rôle et l'importance de ces composés dans la propriété anthelminthique de cette plante et la restauration partielle indique également qu'ils ne sont pas les seuls responsables de l'activité anthelminthique.

L'hypothèse d'un mode d'action direct des tanins condensés sur les nématodes gastro-intestinaux a été évoquée par de nombreux auteurs (Kahn et Diaz-Hernandez, 2000; Athanasiadou *et al.*, 2001; Paolini *et al.*, 2004; Hoste *et al.*, 2006; Waghorn *et al.*, 2006; Cenci *et al.*, 2007, Brunet *et al.*, 2007).

L'immobilité et la mortalité des vers adultes de *H. contortus* ont évolué en fonction du temps. *N. laevis* a eu un effet plus marqué sur *H. contortus* que *Fagara*. Ces mêmes observations avaient été faites par Hounzangbé-Adoté *et al.*, (2005b) à la différence qu'il s'agit d'extrait éthanolique et l'action des plantes sur la mobilité des vers était relativement plus précoce (dès 6 h de contact avec les extraits). Marie-Magdeleine *et al.*, (2009) avait également observé avec les extraits de *Cucurbita moschata* une plante anthelminthique riche en tanins, que l'effet sur la mobilité des adultes de *H. contortus* n'était apparent qu'après 24h et était modeste par rapport à l'action du levamisole. Dans la restauration partielle de l'effet des extraits après addition des inhibiteurs des tanins, on ne peut écarter le rôle potentiel d'autres métabolites secondaires, comme les flavonols glycosylés, dans les effets observés. Ces résultats confortent ceux de Olounladé *et al.*, (2017a) qui ont observé que *Zanthoxylum zanthoxyloides* et *Newbouldia laevis* inhibaient significativement la migration larvaire de *Trichostrongylus colubriformis*, un autre parasite gastro-intestinal des petits ruminants qui a une prédilection intestinale et que l'effet était en grande partie l'œuvre des tanins et de flavonoïdes.

Le rôle des tanins condensés sur le parasitisme gastro-intestinal a été mis en relief plus spécifiquement à partir d'études portant sur l'effet de la distribution de quebracho (Athanasiadou *et al.*, 2000 et 2001b; Paolini *et al.*, 2003a et 2003b), extrait qui peut contenir jusqu'à 80% de tanins condensés (Streit et Fengel, 1994) ou de légumineuses fourragères (Thamsborg *et al.*, 2003; Hoste *et al.*, 2005a; Heckendorn *et al.*, 2006), dont les tanins sont uniquement des tanins condensés (Foo *et al.*, 1996, 1997, 2000).

Les alcaloïdes et les flavonoïdes sont également en partie responsables des propriétés anthelminthiques des plantes médicinales or plusieurs molécules d'alcaloïdes, (Diéguez-Hurtado *et al.*, 2003 ; Tringali *et al.*, 2001 ; Couillerot *et al.*, 1994), de flavonoïdes (Barrau *et al.*, 2005), de terpénoïdes et de coumarines (Mara *et al.*, 1992) ont été isolées des différents organes de plantes appartenant au même genre *Zanthoxylum*. L'activité antiparasitaire de l'atanine (un alcaloïde isolé de *Fagara*) a été rapportée sur les larves de *Schistosoma mansoni* et *Ostertagia circumcincta*, des trématodes qui infectent l'homme et sur la forme adulte et larvaire de *Caenorhabditis elegans*, un nématode terrestre (Perrett et Whitfield, 1995)

L'analyse phytochimique indique que *N. laevis* renferme les grandes familles de composés tels que : des dérivés phénoliques (flavonoïdes, tanins, acides phénoliques, glucuronat de flavones et flavonols), des mucilages, des traces d'huiles essentielles, des alcaloïdes, des anthocyanes, des glucides, des dérivés quinoniques (naphtaquinones), des saponosides, des stéroïdes et triterpénoïdes, des quinones et des alcaloïdes associés à des pigments (Eyong *et al.*, 2005, 2006 ; Olounladé, 2018).

Les tanins, les alcaloïdes et les flavonoïdes jouent un rôle essentiel dans l'activité anthelminthique des plantes (Barrau *et al.*, 2005 ; Brunet *et al.*, 2007 ; Paolini *et al.*, 2003a). Plusieurs études chez les ovins et caprins ont montré qu'une alimentation riche en tanins a été associée à une modulation de la biologie des populations de vers adultes, en affectant l'excrétion de l'œuf en particulier (Paolini *et al.*, 2005; Heckendorn *et al.*, 2007; Lange *et al.*, 2006; Shaik *et al.*, 2006).

Conclusion

La consommation des feuilles de *Z. zanthoxyloïdes* par les ovins Djallonké a réduit la fécondité des vers adultes femelles de *H. contortus*, la charge parasitaire ainsi que l'excrétion fécale. Les extraits éthanolique et cyclohexanique de *N. laevis* et de *Z. zanthoxyloïdes* ont immobilisé et tué les vers adultes de *H. contortus*. Les tanins ont pris une part directe dans les propriétés anthelminthiques de ces plantes bioactives qui constituent une alternative à l'épineux problème de résistance aux anthelminthiques. Leur mode d'action reste encore à élucider.

Remerciements

Les auteurs remercient le Gouvernement Français à travers les responsables du projet Coopération pour la Recherche Universitaire et Scientifique (CORUS 6040), de l'Agence universitaire de la Francophonie (AUF) et du projet Appui à la Restructuration et à l'Harmonisation de l'Enseignement Supérieur (AHRES) ainsi que Dr Hervé HOSTE de l'Unité

Mixte de Recherche (UMR) 1225 Interactions Hôte Agents Pathogènes de l'Institut National de Recherche Agronomique (INRA).

Conflicts d'Interets: Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêt dans le cadre de ce travail.

References:

1. Akouedegni C.G., Daga F.D., Olounlade P.A., Allowanou G.O., Ahoussi E., Tamboura Hamidou H., Hounzangbe-Adote M.S. (2019). Evaluation *in vitro* et *in vivo* des propriétés anthelminthiques de feuilles de *Spondias mombin* sur *Haemonchus contortus* des ovins Djallonké. *Agronomie Africaine*, 31(2): 213-222.
2. Alawa CBI., Adamu AM., Gefu JO., Ajanusi OJ., Abdu PA., Chiezey NP., Alawa JN., Bowman DD. (2003). *In vitro* screening of two Nigerian medicinal plants (*Vernonia amygdalina* and *Annona senegaiensis*) for anthelmintic activity, *Vet. Parasitol.* 113, 73 – 81.
3. Athanasiadou, S., Kyriazakis, I., Jackson, F., Coop, R.L. (2000). Consequences of long-term feeding with condensed tannins on sheep parasitised with *Trichostrongylus colubriformis*. *Int. J. Parasitol.* 30 (9), 1025-1033.
4. Athanasiadou, S., Kyriazakis, I., Jackson, F., Coop, R.L. (2001). Direct anthelmintic effects of condensed tannins towards different gastrointestinal nematodes of sheep: *in vitro* and *in vivo* studies. *Vet. Parasitol.* 99 (3), 205-219.
5. Athanasiadou, S., Kyriazakis, I. (2004). Plant secondary metabolites: antiparasitic effects and their role in ruminant production systems. *Proc. Nutr. Soc.* 63, 631–639.
6. Azando, E.V.B., Hounzangbé–Adoté, M.S., Olounladé, P.A., Brunet, S., Fabre, N., Valentin, A., Hoste, H. (2011). 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. *Vet. Parasitol.* 180, 292-297.
7. Azando E.V.B., Olounladé A.P., Hounzangbé-Adoté M.S., Tam Ha T.B., Fabre N., Valentin A. (2017). Contrôle des parasitoses gastro-intestinales ovines par l'huile essentielle de *Zanthoxylum zanthoxyloides* (*Fagara zanthoxyloides*). *Revue de Médecine Vétérinaire*. 168, 10-12, 205-212.
8. Barrau, E., Fabre, N., Fouraste, I. et 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, 531-538.

9. Beugnet, F., Kerboeuf, D. (1997). La résistance aux antiparasitaires chez les parasites des ruminants. *Le Point Vétérinaire*, 28, n° spécial « Parasitologie des ruminants », 1949-1956.
10. Brunet, S., Aufrère, J., El Babili, F., Fouraste, 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* 134, 1253–1262.
11. Cenci, F.B., Louvandini, H., Mcmanus, C.M., Dell'porto, A., Costa, D.M., Araujo, S.C., Minho, A.P., Abdalla, A.L. (2007). Effects of condensed tannin from *Acacia mearnsii* on sheep infected naturally with gastrointestinal helminthes. *Vet. Parasitol.* 144 (1-2), 132-137.
12. Chartier, C., Soubirac, F., Pors, I., Silvestre, A., Hubert, J., Couquet, C., Cabaret, J. (2001). Prevalence of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of dairy goats under extensive management conditions in southwestern France. *J. Helminthol.* 75, 325-330. Couillerot, E., Caron, L., Audran, J.C., Molinatti, P., Le Men Olivier, L., Jardillet, J.C., Chenieux, J.C. (1994). Benzophenanthridine and furoquinoline accumulation in cell suspension culture of *Fagara zanthoxyloïdes*. *Phytochemistry* 37, 425-428.
13. Diéguez-Hurtado, R., Garrido, G., Prieto Gonzalez, S. Iznaga, Y., Gonzalez, L., Molina Tores, J., Curini, M., Epifano, F., Marcotullio, M.C. (2003). Antifungal activity of some Cuban Zanthoxylum species. *Fitoterapia* 74, 384-386.
14. Enwerem NM., Okogun JI., Wambebe CO., Okorie DA., Akah PA. (2001). Anthelmintic activity of the stem bark extracts of *Berlina grandiflora* and one of its active principles, Betulinic acid. *Phytomed* , 8: 112 -114.
15. Eyong, K.O., Krohn, K., Hussain, H., Folefoc, G.N., Nkengfack, A.E., Schulz, B., Hu, Q. (2005). Newbouldiaquinone and newbouldiamide: a new naphthoquinone-anthraquinone coupled pigment and a new ceramide from *Newbouldia laevis*. *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo) 53, 616–619.
16. Eyong, K.O., Folefoe, G.N., Kuete, V., Beng, V.P., Krohn, K., Hussain, H., Nkengfack, A.E., Saftel, M., Sarite, S.R., Hoerauf, A. (2006). New446 bouldiaquinone A: a naphthoquinone–anthraquinone ether coupled pigments, as a potential antimicrobial and antimalarial agents for *Newbouldia laevis*. *Phytochemistry* 67, 605–609.
17. Foo, L.Y., Newman, R., Waghorn, G., Mc Nabb, W.C., Ulyatt, M.J. (1996). Proanthocyanidins from *Lotus corniculatus*. *Phytochemistry* 41, 617-624.

18. Foo, L.Y., Lu, Y., Mc Nabb, W.C., Waghorn, G., Ulyatt, M.J. (1997). Proanthocyanidins from *Lotus pedunculatus*. *Phytochemistry* 45, 1689-1696.
19. Foo, L.Y., Lu, Y., Molan, A.L., Woodfield, D.R., Mc Nabb, W.C. (2000). The phenols and prodelphinidins of white clover flowers. *Phytochemistry* 54 (5), 539-548.
20. Githiori, J.B., Athanasiadou, S., Thamsborg, S.M. (2006). Use of plants in novel approaches for control of gastrointestinal helminths in livestock with emphasis on small ruminants. *Vet. Parasitol.* 139 (4), 308-320.
21. Hagerman, A.E., (1987). Radial diffusion method for determining tannin in plant extracts. *J. Chem. Ecol.* 13, 437-449.
22. Hansen J., Perry B. (1995). Épidémiologie, diagnostic et prophylaxie des helminthiases des ruminants domestiques, FAO-Rome, Italie, 7^{ème} édition, 176 p.
23. Heckendorn, F., Häring, D.A., Maurer, V., Zinsstag, J., Langhans, W., Hertzberg, H. (2006). Effect of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) silage and hay on established populations of *Haemonchus contortus* and *Cooperia curticei* in lambs. *Vet. Parasitol.* 142 (3-4), 293-300.
24. Heckendorn, F., Häring, D.A., Maurer, V., Senn, M., Hertzberg, H. (2007). Individual administration of three tanniferous forage plants to lambs artificially infected with *Haemonchus contortus* and *Cooperia curticei*. *Vet. Parasitol.* 146, 123-134.
25. Hoste, H., Jackson, F., Athanasiadou, S., Thamsborg, S.M., Hoskin, S.O. (2006). The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trends Parasitol.* 22, 253-261.
26. Hoste, H., Gaillard, H., Le Frileux, Y. (2005). Consequences of the regular distribution of sainfoin hay on gastrointestinal parasitism with nematodes and milk production in dairy goats. *Small Rum. Res.* 59 (2-3), 265-271.
27. Hoste, H., Chartier, C. (1993). Comparison of the effects on milk production of concurrent infection with *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in high- and low-producing dairy goats. *Am. J. Vet. Res.* 54 (11), 1886-1893.
28. Hounzangbé-Adoté, S., Zinsou, F.E., Hounkpè, V., Moutairou, K., Hoste, H. (2005a). *In vivo* effects of fagara leaves on sheep infected with gastrointestinal nematodes. *Trop. Anim. Health Product* 37, 205-214.
29. Hounzangbé-Adoté, S., Paolini, V., Fouraste, I., Moutairou, K., Hoste, H. (2005b). *In vitro* effects of four tropical plants on the intestinal parasitic nematode, *Haemonchus contortus*. *Res. Vet. Sci.* 78, 155-160.

30. Kahn, L.P., Diaz-Hernandez, A. (2000). Tannins with anthelmintic properties. In: *Tannins in livestock and human nutrition: ACIAR proceeding n.92, international workshop* (Brooker, ed.), Adelaide.
31. Kerharo, J., Adam, J.G. (1974). La pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques, Vigot frères, Paris, 1007 p.
32. Ketzis, J.K., Vercruyse, J., Stromberg, B.E., Larsen, M., Athanasiadou, S., Houdijk, J.G. (2006). Evaluation of efficacy expectations for novel and non-chemical helminth control strategies in ruminants. *Vet. Parasitol.* 139 (4), 321-335.
33. Kloosterman A., Albers G.A.A., Van Den Brink R.(1978). Genetic variations among calves in resistance to nematode parasites. *Vet. Parasitol.*, 4, 353-368.
34. Knox, M.R., Torres-Acosta, J.F., Aguilar-Caballero, A.J. (2006). Exploiting the effect of dietary supplementation of small ruminants on resilience and resistance against gastrointestinal nematodes. *Vet. Parasitol.* 139 (4), 385-393.
35. Kuiseu J., Olounladé A.P., Houssoukpè G.C., Sounkéré A.B.T.T., Zinsou A.T.F Konmy B.S.B., Dansou C.D., Moudachirou I., Babatoundé S., Hounzangbé-Adoté M.S., Edorh A.P. (2022). *In vitro* effects of *Anogeissus leiocarpus* and *Adansonia digitata* on two life-cycle stages of *Haemonchus contortus*, a gastrointestinal parasite of small ruminants. *Animal and Veterinary Sciences*, 10(1): 1-7.
36. Lange, K.C., Olcott, D.D., Miller, J.E., Mosjidis, J.A., Terrill, T.H., Burke, J.M., Kearney, M.T. (2006). Effect of *Sericea lespedeza* (*Lespedeza cuneata*) fed as hay, on natural and experimental *Haemonchus contortus* infections in lambs. *Vet. Parasitol.* 141 (3-4), 273-278.
37. Makkar, H.P.S. (2003). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Rum. Res.* 49 (3), 241-256.
38. Mara, S.P., Arruda Jao, B., Fernandes Paulo, C., Viera, M., Fatima Das, G.F., Da Silva, Jose, R.P. (1992). Chemistry of *Zanthoxylum rhoifolium*. A new secofuraquinoline alkaloids. *Biochem. System. Ecol.* 20, 173-178.
39. Marie-Magdeleine, C., Hoste, H., Mahieu, M., Varo, H., Archimede, H. (2009). *In vitro* effects of *Cucurbita moschata* seed extracts on *Haemonchus contortus*. *Vet. Parasitol.* 161, 99–105.
40. Martínez-Ortíz-de-Montellano, C., C Arroyo-López, C., Fourquaux, I., Torres-Acosta, J.F.J., Sandoval-Castro, C.A., Hoste, H. (2013). Scanning electron microscopy of *Haemonchus contortus* exposed to

- tannin-rich plants under in vivo and in vitro conditions. *Experimental Parasitology*. 133(3): 281-286
41. Martínez-Ortiz-de-Montellano, C.; Vargas-Magaña, J.J.; Canul-Ku, L.; Miranda-Soberanis, R.; Capetillo-Leal, C.; Sandoval-Castro, C.A.; Hoste, H.; Torres-Acosta, J.F. (2010). Effect of a tropical tannin-rich plant, *Lysiloma latisiliquum* on adult populations of *Haemonchus contortus* in sheep. *Vet. Parasitol.* 172, 283-290.
 42. Minaflinou Sacca Sidi I.Y., Azando E.V.B., Olounladé P.A., Hounzangbé-Adoté M.S. (2015).
 43. Effets combinés des feuilles de *Newbouldia laevis* et de *Zanthoxylum zanthoxyloides* sur les nématodes parasites gastro-intestinaux des ovins Djallonké. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 9 (4): 2078-2090.
 44. Molan, A.L., Hoskin, S.O., Barry, T.N., Mc Nabb, W.C. (2000). Effect of condensed tannins extracted from four forages on the viability of the larvae of deer lungworms and gastrointestinal nematodes. *Vet. Rec.* 147 (2), 44-48.
 45. Niezen, J.H., Charleston, W.A.G., Robertson, H.A., Shelton, I.D., Waghorn, G., Green, R. (2002). The effect of feeding sulla (*Hedysarum coronarium*) or lucerne (*Medicago sativa*) on lamb parasite burdens and development of immunity to gastrointestinal nematodes. *Vet. Parasitol.* 105, 229-245.
 46. Olounladé P.A., Azando E.V.B., Attakpa E.Y., Gbnéou J.D., Alowanou G.G, Tchétan E., Dansou C.C., Hounzangbé-Adoté M.S., Gbaguidi F., Moudachirou M., Hoste H., Valentin A. (2017a). *In vitro* study on the role of the tannins of *Newbouldia laevis* and *Zanthoxylum zanthoxyloides* on infective larvae of *Trichostrongylus colubriformis*. *African Journal of Agricultural Research*. Vol. 12(50): 3513-3519.
 47. Agricultural Research. Vol. 12(50): 3513-3519.
 48. Olounladé A.P., Attakpa Y.E., Azando E.V.B., Hounzangbé-Adoté M. S., Hoste H. (2017b). Effet *in vivo* de *Newbouldia laevis* (Bignoniaceae) sur des strongles gastro-intestinaux des moutons. *European Scientific Journal*. 13 (12) : 335-351.
 49. Olounladé P.A., Azando E. V. B., Gbaguidi F., Gbnéou J., Hoste H., Valentin A., Moudachirou M., Hounzangbé-Adoté M. S. (2018). Variability of chemical composition of *Newbouldia laevis* and *Zanthoxylum zanthoxyloides* related to environmental factors. *Annales des sciences agronomiques* 22(1) : 73-92.
 50. Paolini, V., Bergeaud, J.P., Grisez, C., Prevot, F., Dorchie, P., Hoste, H. (2003a). Effects of condensed tannins on goats experimentally infected with *Haemonchus contortus*. *Vet. Parasitol.* 113 (3-4), 253-261.

51. Paolini, V., Dorchies, P., Hoste, H. (2003b). Effects of sainfoin hay on gastrointestinal nematode infections in goats. *Vet. Rec.* 152 (19), 600-601.
52. 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.
53. Paolini, V., De La Farge, F., Prevot, F., Dorchies, P., Hoste, H. (2005). Effects of the repeated distribution of sainfoin hay on the resistance and the resilience of goats naturally infected with gastrointestinal nematodes. *Vet. Parasitol.* 127 (3-4), 277-283.
54. Perrett, S., Whitfield, P.J. (1995). Atanine (3-dimethylallyl-4-methoxy-2-quinolone), an alkaloid with anthelmintic activity from the Chinese medicinal plant, *Evodia rutaecarpa*. *Planta Medica* 61, 276-278.
55. Rogosic, J., Estell, R.E., Ivankovic, S., Kezic, J., Razov, J. (2008). Potential mechanisms to increase shrub intake and performance of small ruminants in mediterranean shrubby ecosystems. *Small Rum. Res.* 74 (1-3), 1-15.
56. Rojas, D.K., Lopez, J., Tejada, I., Vazquez, V., Shimada, A., Sanchez, D., Ibarra, F. (2006). Impact of condensed tannins from tropical forages on *Haemonchus contortus* burdens in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*) and Pelibuey lambs. *An. Feed Sci. Technol.* 128, 218-228.
57. Shaik, S.A., Terrill, T.H., Miller, D., Kouakou, B., Kamman, G., Kallu, R.K., Mosjidis, J. (2004). Effects of feeding *Sericea lespedeza* hay to goats infected with *Haemonchus contortus*. *South African J. Anim. Sci.* 34, 234-237.
58. Shaik, S.A., Terrill, T.H., Miller, J.E., Kouakou, B., Kannan, G., Kaplan, R.M., Burke, J.M., Mosjidis, J.A. (2006). *Sericea lespedeza* hay as a natural deworming agent against gastrointestinal nematode infection in goats. *Vet. Parasitol.* 139 (1-3), 150-157.
59. Silanikove, N., Perevolotsky, A., Provenza, F.D. (2001). Use of tanninbinding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 91 (1-2), 69-81.
60. Streit, W. et Fengel, D. (1994). Purified tannins from quebracho colorado. *Phytochemistry* 36, 481-484.
61. Tchetan E., Azando E.V.B., Olounladé P.A., Alowanoua G.G., Hounzangbé-Adoté S.M. (2020). *In vitro* effects of tannin and extracts of *Bridelia ferruginea* and *Mitragyna inermis* on the exsheathment of infective larvae of *Haemonchus contortus*.

- International Journal of Veterinary Science and Medicine, 8(1): 93–99.
62. Thamsborg, S.M., Mejer, H., Bandier, M., Larsen, M. (2003). Influence of different forages on gastrointestinal nematode infections in grazing lambs. In: *The 19th International Conferences of WAAVP*, pp. 189, New Orleans, USA.
 63. Tringali, C., Carmela, C., Valeria Cali, V., Simmonds, M.S.J. (2001). Antifeedant constituents from *Fagara macrophylla*. *Fitoterapia* 72, 538-543.
 64. Tzamaloukas, O., Athanasiadou, S., Kyriazakis, I., Jackson, F., Coop, R.L. (2005). The consequences of short-term grazing of bioactive forages on established adult and incoming larvae populations of *Teladorsagia circumcincta* in lambs. *Int. J. Parasitol.* 35 (3), 329-335.
 65. Waghorn, T.S., Molan, A.L., Deighton, M., Alexander, R.A., Leathwick, D.M., Mc Nabb, W.C., Meagher, L.P. (2006). *In vivo* anthelmintic activity of *Dorycnium rectum* and grape seed extract against *Ostertagia (Teladorsagia) circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis* in sheep. *N. Z. Vet. J.* 54 (1), 21-27.
 66. Waller, P.J. (1997). Anthelmintic resistance. *Vet. Parasitol.* 72 (3-4), 391-405; 405-412.
 67. Wolstenholme, A.J., Fairweather, I., Prichard, R.K., Samson-Himmelstjerna, G., Sangster, N.C. (2004). Drug resistance in veterinary helminths. *Trends Parasitol.* 20 (10), 469-476.
 68. Zinsou A.T.F., Olounladé A.P., Adenilé D.A., Alowanou G.G., Hounzangbé-Adoté M.S., Babayemi O.J. (2021). *In vitro* effects of maize silage extracts on *Haemonchus contortus*, gastrointestinal nematode parasite in Red Maradi Goats. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 48 (2): 8686-8702.