



ESJ Natural/Life/Medical Sciences

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),
Cotonou, Bénin

Abiodoun Pascal 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),
Cotonou, Bénin

Mawulé Sylvie Hounzangbé-Adoté

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

[Doi:10.19044/esj.2022.v18n40p328](https://doi.org/10.19044/esj.2022.v18n40p328)

Submitted: 31 October 2022
Accepted: 24 December 2022
Published: 31 December 2022

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

Cite As:

Bertrand Azando E.V., Olounladé A.P. & Hounzangbé-Adoté M.S. (2022). *C 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*. European Scientific Journal, ESJ, 18 (40), 328. <https://doi.org/10.19044/esj.2022.v18n40p328>

Résumé

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 ont été 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. En ce qui concerne le *Fagara*, le PVPP a eu une faible action 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),
Cotonou, Bénin

Abiodoun Pascal 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),
Cotonou, Bénin

Mawulé Sylvie Hounzangbé-Adoté

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

Abstract

In order to determine *in vitro* and *in vivo* involvement of tannins and flavonoids to the anthelmintic activity of *Newbouldia laevis* and *Zanthoxylum zanthoxyloides* (*Fagara zanthoxyloides*) on adult *H. contortus* worms, Djallonke sheep infested with *H. contortus* was treated ad libitum with fresh leaves of *Z. zanthoxyloides* associated or not with a tannin inhibitor, poly ethylene glycol (PEG), for seven consecutive days. Adult *H. contortus* worms were also exposed to extracts of *N. laevis* and *Z. zanthoxyloides* in the presence or absence of polyvinyle polypyrrolidone (PVPP), another tannin inhibitor. *In vivo*, *Fagara* reduced fecal excretion by 20% and the inhibition of the excretion by the PEG was not significant. The number of adult worms of *H. contortus* was reduced by 39%. *Fagara* leaves treatment significantly reduced

($p < 0.05$) the number of eggs per female *H. contortus* worm and this reduction was inhibited by the PEG. *In vitro*, adult *H. contortus* worms were very sensitive to the effect of the extracts in the first 24 hours and beyond, where the differences of effect with the control were high for the *N. laevis* with the cyclohexanic fraction ($p < 0.01$) and significant for *Fagara* with the acetonic fraction ($p < 0.04$). PVPP partially restored mobility up to 36 hours for *N. laevis* by 25% and 40% for the acetonic and cyclohexanic extracts, respectively. Concerning *Fagara*, PVPP had a low action on acetonic extract (33% of restoration in 24 hours), but it inhibited the effect of the cyclohexanic extract (100% in 24 hours and 40% in 36 hours).

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

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 & 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 & 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 & 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 & 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 vitro* que *in vivo*. C'est le cas de *N. laevis* (Rutaceae), et de *Z. zanthoxyloïdes* (Bignoniaceae) dont les extraits ont été testés sur l'éclosion et le développement des œufs, la migration et le dégagement des larves, la viabilité des vers adultes et la fertilité des vers femelles (Hounzangbé-Adoté, 2005a; Azando *et al.*, 2011; Olounladé *et al.*, 2017a; Olounladé *et al.*, 2017b; Tchéta *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.*, 2005, 2006; Olounladé, 2018). Bien que le mode d'action ne soit pas encore

totalemment élucidé, le rôle des tanins a cependant été soupçonné dans les activités anthelminthiques des extraits de plantes dans les cas de parasitoses (Molan *et al.*, 2000; 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 femelles 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* 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 présents dans les 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 (PT) et des tanins totaux (TT) dans les extraits des plantes (Makkar, 2003). Les PT 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 matière sèche.

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 μL de l'extrait aqueux ont été déposés dans des puits creusés dans l'agarose par fraction de 15 μL . Les contrôles positif (15 μL d'acide tannique) et négatif (15 μL 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 : $\% = (\text{PPA extrait} \times 100) / \text{PPA acide tannique}$,

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

2.4. Ajout de l'inhibiteur de tanins (PVPP) aux extraits de plante

Le PVPP forme des complexes avec les tanins et les polyphénols et bloque leur activité biologique potentielle (Makkar, 2003). Il a été ajouté aux 2 extraits de plante à une concentration de 1200 $\mu\text{g/ml}$ 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 la réalisation des tests contre les vers adultes de *H. contortus*.

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

Ce test a été conduit conformément à la méthode décrite par Hounzangbé-Adoté *et al.* (2005c). Les vers femelles adultes de *Haemonchus contortus* ont été obtenus d'une chèvre donneuse infestée avec des souches pures de *H. contortus*. Après sacrifice de l'animal, les vers, prélevés au niveau de l'abomasum, rincés dans du sérum physiologique, ont été laissés durant une heure dans du sérum physiologique dans une étuve à 37 °C, puis mis en contact dans des puits de plaques NUNC avec les extraits de *Newbouldia laevis* ou de *Zanthoxylum zanthoxyloides* à 1200 $\mu\text{g/mL}$. Les vers ont également été mis en contact avec les extraits additionnés de PVPP et un Témoin négatif (le PBS) a été constitué. A toutes les solutions sont ajoutées de la pénicilline et de la streptomycine à 2% pour empêcher le développement des bactéries et des champignons.

Le séjour des vers dans les extraits et le PBS a été de 48 heures et la mobilité des vers a été évaluée sous loupe binoculaire toutes les 6 heures au

grossissement 200 X. Huit répétitions ont été réalisées pour chaque type d'extrait de plante. Le taux de mobilité a été calculé selon la formule :
Taux (%) = 100 x Nombre total de vers mobiles / Nombre total de vers présents

2.6. Tests biologiques *in vivo*

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

Lot 1 : Témoin négatif infesté et sans aucun traitement ;

Lot 2 : infesté et ayant reçu les feuilles fraîches de *Z. zanthoxyloïdes* pendant 7 jours consécutifs sous forme de fourrages;

Lot 3 : infesté et ayant reçu les feuilles fraîches de *Z. zanthoxyloïdes* avec du polyéthylène glycol (PEG) pendant 7 jours consécutifs sous forme de fourrages.

Les ovins ont été 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 ont tous été 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*.

Chez les animaux ayant reçu les feuilles de *Zanthoxylum zanthoxyloïdes*, la coupe a été faite tous les matins entre 7h et 8h. Les feuilles ont ensuite été pesées puis distribuées *ad libitum* aux animaux entre 10h et 11h. Les feuilles non consommées ont été retirées et pesées.

Les ovins du lot PEG ont reçu par jour, 25 g de polyéthylène glycol (PEG) dissouts dans de l'eau de robinet et donnés 30 min avant et 30 min après la distribution des feuilles de *Z. zanthoxyloïdes* (Silanikove *et al.*, 2001).

Examens parasitaires

Les collectes de crottes suivies d'examens coproscopiques ont été effectués deux fois par semaine et la détermination de l'OPG a été faite par la méthode quantitative de Mc Master (Hansen & Perry, 1995).

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). Les vers collectés au cours du bilan parasitaire ont été conservés dans une solution d'éthanol à 70°. Pour la détermination de la fécondité, les vers ont d'abord été mis dans de l'eau pendant 5 min pour réhydratation. Les vers femelles ont été introduits

individuellement dans 200 µL de solution d'hypochlorite à 0,4% (solution concentrée à 2% diluée au 1/5) et laissés 2 à 5 min pour l'éclatement afin de compter les œufs *in utero*. Le comptage des œufs libérés est fait dans 30% du volume total. Le nombre (N) obtenu est rapporté à la totalité selon la formule :

$$N = (N1 + N2) \times 30/100$$
 où N1 et N2 = nombres d'œufs comptés dans 2 aliquotes.

2.7. Analyses statistiques

Le tableur Excel 2010[®] de Microsoft[®] a été utilisé pour réaliser une étude statistique descriptive (calcul des moyennes et écart-types et pour générer les graphiques d'illustration). Les moyennes des taux de survie au niveau de la motilité des vers adultes ont été comparées au moyen d'une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs sur le logiciel R (Version 2.15.3; 2013). Le même test a été utilisé pour comparer la consommation journalière de feuilles et l'excrétion fécale après transformation $\log(x + 1)$ des valeurs de l'OPG. Les différences entre deux valeurs moyennes comparées sont considérées significatives au seuil de 5%.

3. Resultats

3.1. Composition en polyphénols de *Newbouldia laevis* et de *Zanthoxylum zanthoxyloides*

Le profil quantitatif des composés polyphénoliques et l'activité biologique des extraits de *Newbouldia laevis* et de *Zanthoxylum zanthoxyloides* sont exprimés dans le Tableau I. Il ressort de l'analyse des résultats de ce tableau que les deux plantes contiennent des phénols, des tanins et qu'elles ont exprimé à la diffusion radiale une activité biologique dont la teneur est plus élevée chez *Zanthoxylum zanthoxyloides* que chez *Newbouldia laevis*.

Tableau I. Composition des plantes en phénols, tanins et activité biologique

| | Phénols totaux* | Tanins totaux* | Activité biologique* |
|-----------------------------------|-----------------|----------------|----------------------|
| <i>Newbouldia laevis</i> | 5,40 | 1,18 | 1,56 |
| <i>Zanthoxylum zanthoxyloides</i> | 7,76 | 3,19 | 2,92 |

* valeurs exprimées en équivalent gramme d'acide tannique / 100 g de matière sèche

3.2. 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.

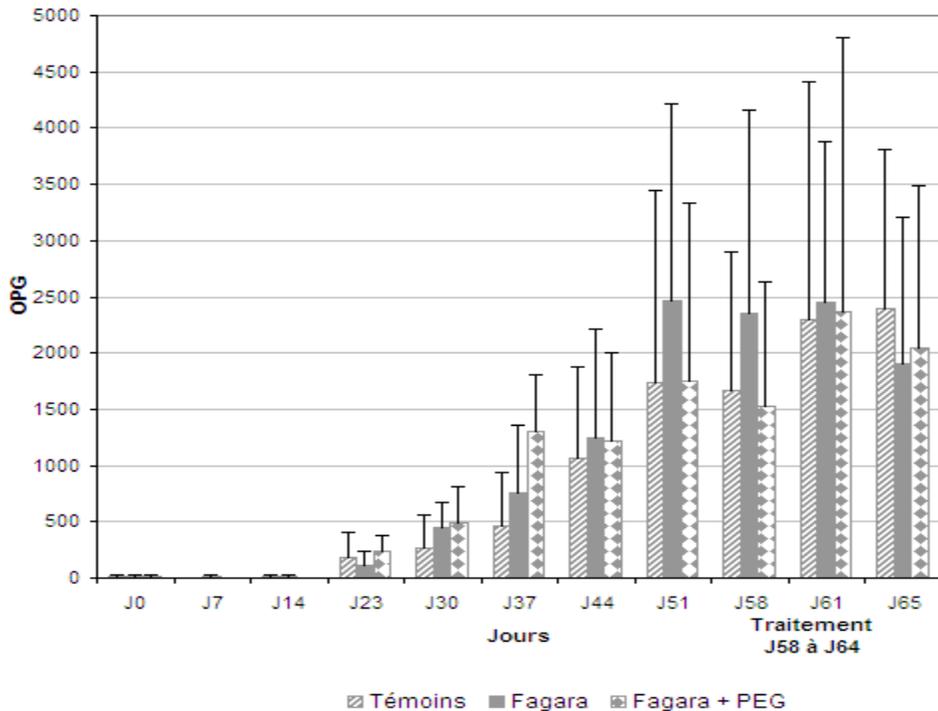


Figure 1. Excrétion fécale des œufs chez les *H. contortus* adultes (consommation de *Fagara* de J58 à J64)

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.

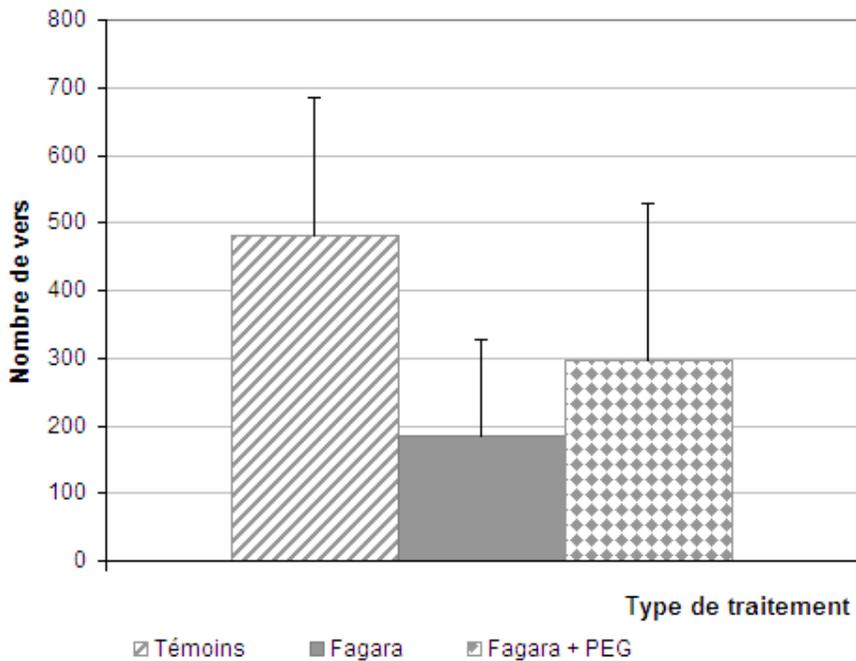


Figure 2. Inventaire des vers adultes dans l'abomasum

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.

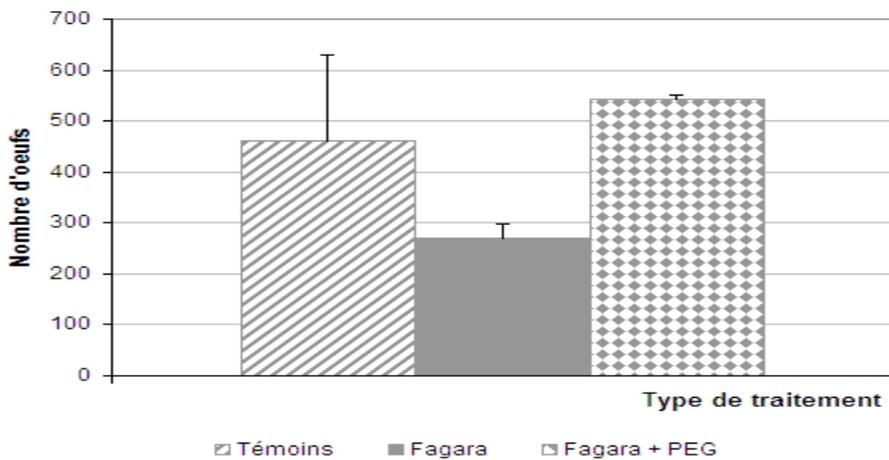


Figure 3. Nombre d'œufs par vers femelle de *H. contortus*

3.3. 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 II et III). 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 II et III).

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

Avec le *N. laevis* (Tableau III), 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 II) le PVPP a eu une faible action 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 II. 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 III. 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 faible. 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. La teneur en tanins totaux de cette plante (3,19 eq g/100 kg MS) et la consommation sur 7 jours à raison d'une heure par jour, sont loin de conférer une efficacité significative de

l'activité anthelminthique dans la diminution de l'excrétion fécale. 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 anthelminthique. *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* étant une plante fourragère très appréciée des petits ruminants, sa teneur en tannins suggère une consommation journalière sur une plus longue durée. 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, 2007), Niezen *et al.* (2002), Thamsborg *et al.* (2003), Tzamaloukas *et al.* (2005), Shaik *et al.* (2004, 2006), et Rojas *et al.* (2006). Les ovins ayant été sacrifiés au lendemain de 7 jours de traitement les données sur la fertilité confortent l'idée 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 Kuisseu *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 (Akouedegni *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 (Rogosic *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 & 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 glycosilés, 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, 2001b; Paolini *et al.*, 2003a, 2003b), extrait qui peut contenir jusqu'à 80% de tanins condensés (Streit & Fengel, 1994) ou de légumineuses fourragères (Thamsborg *et al.*, 2003; Hoste *et al.*, 2005; 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 & Whitfield, 1995)

L'analyse phytochimique comparée, effectuée par Olounladé *et al.* (2018) indique que *Newbouldia laevis* et *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* renferment en commun des tanins, des flavonoïdes, des anthocyanes, des leucoanthocyanes, des coumarines, des alcaloïdes, des huiles volatiles, des composés réducteurs. En plus *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* renferme des mucilages qu'on ne retrouve pas chez *Newbouldia laevis* et cette dernière contient des quinones que ne renferme pas *Zanthoxylum zanthoxyloïdes*.

Les tanins, les alcaloïdes et les flavonoïdes dont regorgent les deux plantes expérimentées, jouent un rôle essentiel dans l'activité anthelminthique des plantes (Paolini *et al.*, 2003a; Barrau *et al.*, 2005; Brunet *et al.*, 2007). 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 sur sept jours 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, 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 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., & 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., Aufrere, 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.
 13. 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.
 14. 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
 15. Enwerem, N.M., Okogun, J.I., Wambebe, C.O., Okorie, D.A., & Akah, P.A. (2001). Anthelmintic activity of the stem bark extracts of *Berlina grandiflora* and one of its active principles, Betulinic acid. *Phytomed* 8, 112 -114.
 16. 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.
 17. Eyong, K.O., Folefoe, G.N., Kuete, V., Beng, V.P., Krohn, K., Hussain, H., Nkengfack, A.E., Saefel, 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.
 18. Foo, L.Y., Newman, R., Waghorn, G., Mc Nabb, W.C., & Ulyatt, M.J. (1996). Proanthocyanidins from *Lotus corniculatus*. *Phytochemistry* 41, 617-624.

19. Foo, L.Y., Lu, Y., Mc Nabb, W.C., Waghorn, G., & Ulyatt, M.J. (1997). Proanthocyanidins from *Lotus pedunculatus*. *Phytochemistry* 45, 1689-1696.
20. 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.
21. 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.
22. Hagerman, A.E. (1987). Radial diffusion method for determining tannin in plant extracts. *J. Chem. Ecol.* 13, 437-449.
23. Hansen, J. & Perry, B. (1995). Épidémiologie, diagnostic et prophylaxie des helminthiases des ruminants domestiques, FAO-Rome, Italie, 7^{ème} édition, 176 p.
24. 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.
25. 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.
26. 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.
27. 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.=
28. 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.
29. 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.
30. 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.

31. Hounzangbé-Adoté, S., Fouraste, I., Moutairou, K., & Hoste, H. (2005c). *In vitro* effects of four tropical plants on the activity and development of the parasitic nematode, *Trichostrongylus colubriformis*. *Journal of Helminthology* 79, 29-33.
32. 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.
33. Kerharo, J. & Adam, J.G. (1974). La pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques, Paris, France Vigot Frères Editions, 1007 p.
34. 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.
35. 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.
36. 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.
37. 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., & Edoth 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.
38. 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.
39. 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.
40. 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.
41. 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.

42. 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
43. 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.
44. Minaflinou Sacca Sidi, I.Y., Azando, E.V.B., Olounladé, P.A., & Hounzangbé-Adoté, M.S. (2015). Effets combinés des feuilles de *Newbouldia laevis* et de *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* sur les nématodes parasites gastro-intestinaux des ovins Djallonké. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 9 (4), 2078-2090.
45. 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.
46. 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.
47. 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 zanthoxyloïdes* on infective larvae of *Trichostrongylus colubriformis*. *African Journal of Agricultural Research* 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 zanthoxyloïdes* related to environmental factors. *Annales des Sciences Agronomiques* 22 (1), 73-92.

50. Paolini, V., Bergeaud, J.P., Grisez, C., Prevot, F., Dorchies, 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. & Fengel, D. (1994). Purified tannins from *Quebracho colorado*. *Phytochemistry* 36, 481-484.

61. Tchétan, E., Azando, E.V.B., Olounladé, P.A., Alowanou, 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.