

# **Effets De La Digestion Gastrique Sur Les Propriétés Anthelminthiques De *Zanthoxylum Zanthoxyloides* (Lam.) Zepernick & Timlerto Et De *Newbouldia Laevis* (P.Beauv.) Sur *Haemonchus Contortus***

***Irvine Yèinou Minaflinou Sacca Sidi, (MA)***

***Géorcelin Goué Alowanou, (PhD, Assistant)***

***Esaïe Tchétan, (MA)***

***Maliki Youssouf Aminou, (MA)***

***Sylvie Mawulé Hounzangbé-Adoté, (PhD, Professeur Titulaire)***

Université d'Abomey-Calavi / Faculté des Sciences Agronomiques,

Laboratoire d'Ethnopharmacologie et de Santé Animale, Bénin

***Séverin Babatoundé, (PhD, Maître de conférences)***

Université d'Abomey Calavi / Faculté des Sciences Agronomiques,

Laboratoire de Zootechnie, Bénin

doi: 10.19044/esj.2017.v13n24p204 [URL:http://dx.doi.org/10.19044/esj.2017.v13n24p204](http://dx.doi.org/10.19044/esj.2017.v13n24p204)

---

## **Abstract**

Several recent studies have shown that medicinal plants *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Fagara) and *Newbouldia laevis* possess anthelmintic activities *in vitro* on different stages of development of gastrointestinal nematodes. The objective of this study was to evaluate the *in vitro* anthelmintic properties of residues from digestion in the rumen of leaf powders of both plants on the migration of the 3rd-stage larvae L3s of *Haemonchus contortus*. Residues obtained after incubation at 0 h, 24 h and 96 h kinetic points of the leaf powders of both plants in the rumen of sheep with fistulae were used for the assay. The larval migration inhibition test evaluated the anthelmintic properties of the methanolic extracts of residues of the two plants. The effect of plant extracts on larval migration was not-dose-dependent ( $p > 0.05$ ) but was a function of plant incubation time ( $p < 0.01$ ) with *N. laevis* extracts. The reduction in larval migration was dose-dependent ( $p < 0.05$ ) with the extract of the not-incubated Fagara powder, with the extracts of the residues (24 h and 96 h) she was not-dose-dependent ( $p > 0.05$ ). *N. Laevis* seems to have retained his anthelmintic property after incubation *in sacco* in the rumen. On the other hand, Fagara seems to lose its effectiveness as it stays in the rumen. Findings obtained on these plants

confirm their traditional use in veterinary medicine especially in the control of helminthiasis.

---

**Keywords:** *Newbouldia laevis*, *Haemonchus contortus*, *Zanthoxylum zanthoxyloides*

---

### Résumé

Plusieurs études récentes ont montré que les plantes médicinales *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Fagara) et *Newbouldia laevis* possèdent des activités anthelminthiques *in vitro* sur différents stades de développement des nématodes gastro intestinaux. La présente étude a pour objectif d'évaluer les propriétés anthelminthiques *in vitro*, des résidus issus de la digestion dans le rumen des poudres de feuilles des deux plantes sur la migration des larves infestantes L3s de *Haemonchus contortus*. Les résidus obtenus après incubation à des points cinétiques de 0 h, 24 h et 96 h des poudres de feuilles des deux plantes dans le rumen des ovins munis de fistules ont servi au test. Le test d'inhibition de la migration larvaire a permis d'évaluer les propriétés anthelminthiques des extraits méthanoliques de résidus des deux plantes. L'effet des extraits sur la migration des larves a été non dose-dépendante ( $p > 0,05$ ) mais fonction du temps d'incubation de la plante ( $p < 0,01$ ) avec les extraits de *N. laevis*. La réduction de la migration des larves a été dose dépendante ( $p < 0,05$ ) avec l'extrait de la poudre de Fagara non incubée par contre, avec les extraits des résidus (24h et 96h) elle a été non dose dépendante ( $p > 0,05$ ). *N. Laevis* semble avoir conservé sa propriété anthelminthique après incubation *in sacco* dans le rumen. Par contre Fagara semble perdre son efficacité au fur et à mesure qu'il séjourne dans le rumen. Les résultats obtenus sur les plantes confirment bien leur usage traditionnel en médecine vétérinaire notamment dans le contrôle des helminthiasis.

---

**Mots clés:** *Newbouldia laevis*, *Haemonchus contortus*, *Zanthoxylum zanthoxyloides*

---

### Introduction

Les parasitoses gastro-intestinales causées par les nématodes gastro-intestinaux constituent des pathologies majeures chez les petits ruminants entretenus au pâturage et, peuvent parfois entraîner des pertes importantes de production (Andrea *et al.*, 2011). Ces pertes se traduisent par la réduction du gain de poids vif, une diminution de l'ingestion alimentaire, de la production de laine et de la production laitière chez les moutons. Par ailleurs, il a été signalé que la présence de ces parasites dans le tube digestif peut entraîner l'anorexie, une augmentation du taux de protéines endogènes (albumine par exemple) dans le plasma, des pertes de sang et une production accrue de mucus (Hassanpour *et al.*, 2011).

Le contrôle de ces parasites a toujours été basé sur l'utilisation des molécules de synthèse qui ont fini par montrer leurs limites telles que la résistance développée par les parasites face aux anthelminthiques de synthèses, la cherté et l'inaccessibilité de ces derniers. Dans ces conditions, il devient opportun d'envisager de nouvelles méthodes de lutte antiparasitaire (Satyavir Singh et Gupta, 2010) notamment l'usage des plantes médicinales potentiellement anthelminthiques (Wabo-Poné *et al.*, 2011). Dans les pays à revenus limités, le contrôle des helminthiases par les petits éleveurs est largement basé sur l'utilisation des plantes médicinales (Hounzangbé-Adoté *et al.*, 2005a) dont *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Fagara) et *Newbouldia laevis* potentiellement dotées de propriétés antiparasitaires. Pour la validation scientifique des deux plantes pour leur propriété anthelminthique, plusieurs investigations cliniques ont été entreprises débouchant sur des résultats satisfaisants. Elles se sont révélées sous différentes formes (Feuilles fraîches, poudre de feuilles extraits organiques) très efficaces sur les parasites gastro-intestinaux des petits ruminants (Hounzangbé-Adoté *et al.*, 2005a,b ; Azando *et al.*, 2011a, Minanflinou *et al.*, 2015). Le plus souvent ces plantes anthelminthiques sont des plantes fourragères consommées par les ruminants et par conséquent auront une double fonction de nutrition et de déparasitant regroupée sous le nom d'aliment.

Dans le but de comprendre alors l'utilisation que ces animaux font de ces plantes lorsqu'ils les consomment, des études ont été entreprises pour évaluer les propriétés anthelminthiques *in vitro* des résidus issus de la digestion dans le rumen des ruminants plus précisément des ovins Djallonké sur *Haemonchus contortus*. Ainsi, les travaux de Dédéhou (2015) sur *Pterocarpus erinaceus* et *Parkia biglobosa* ont montré que les deux plantes ne perdaient pas leurs propriétés anthelminthiques après 72 h d'incubation dans le rumen des animaux malgré une disparité non négligeable de la matière sèche. Ces résultats ont été confortés par les travaux de Alowanou *et al.*, (2015) sur trois autres espèces fourragères (*Mitragyna inermis*, *Combretum glutinosum* et *Bridelia ferruginea*) cette fois ci en quantifiant les métabolites secondaires (Tanins condensés, flavonoïdes et phénols totaux) contenus dans les résidus des plantes obtenus après 72 h d'incubation dans le rumen des animaux. Les résultats ont montré que les pertes en matières sèches et logiquement en métabolites secondaires responsables des propriétés anthelminthiques n'avaient aucune influence sur l'efficacité des plantes. La question qui se dégage alors est de savoir si un temps incubation plus prolongé n'affecterait pas l'efficacité des plantes ?

C'est pour répondre à cette interrogation que la présente étude se donne comme objectif d'évaluer les propriétés anthelminthiques *in vitro* des résidus de *Fagara* et *N. laevis* issus de la digestion dans le rumen des ovins

Djallonké sur *Haemonchus contortus*, un parasite hématophage à intérêts agronomiques.

## **Matériels et méthodes**

### **Récolte et préparation des plantes**

Les feuilles de Fagara et *N. laevis* ont été récoltées matures dans la commune d'Abomey-Calavi (Sud du Bénin) courant le mois de Novembre 2016. Ensuite, elles ont été identifiées et authentifiées à l'Herbier National de l'Université d'Abomey-Calavi respectivement sous les numéros : AA 6301 /HNB et AA 6302 / HNB. Les feuilles des plantes ont été séchées en salle à la température ambiante du laboratoire. Après deux semaines de séchage, elles ont été broyées au tamis de 2 mm de maille dans un moulin à marteau. La poudre est conservée dans un bocal hermétique à la température ambiante.

### **Réalisation de la dégradabilité *in sacco***

#### **❖ *Matériel animal et rationnement***

Cinq (05) béliers adultes de race Djallonké pesant en moyenne 30 kg ont été utilisés. Ces animaux fistulés ont porté des canules du rumen de 4 cm de diamètre, lavées tous les jours avec du Dettol à 5%. Durant l'expérimentation, les béliers ont été logés en stabulation entravée et ont reçu une ration d'entretien à base de *Panicum maximum* var. C1 frais et un complément (graines de coton et épluchures de manioc) à raison de 50 g de matière sèche/ kg PV distribuée en 2 repas à 8 h et à 16 h. Cette ration a été distribuée aussi bien en période pré - expérimentale qu'expérimentale. La composition centésimale de la ration est la suivante : 70% de *Panicum maximum* var. C1 frais + 30% de concentré, c'est à dire 35 g/kg PV de *Panicum maximum* var. C1 frais, 7,5 g matière sèche /kg PV de graines de coton et 7,5 g matière sèche /kg PV d'épluchures de manioc par repas. Cette proportion est généralement utilisée dans les études de dégradabilité *in sacco* (Babatoundé, 2005). Les graines de coton ont été distribuées le matin et les épluchures de manioc l'après-midi. Les animaux ont disposé de blocs à lécher à base de sels minéraux et ont reçu de l'eau *ad libitum*.

#### **❖ *Préparations des sachets et des échantillons à incuber***

Les sachets en toile de nylon de porosité 42 µm et de dimensions internes : 10 cm x 15 cm ont été utilisés. Les supports des sachets ont été des tuyaux en plastiques souples de 1 cm de diamètre et 10 cm de longueur. Dans leurs bords supérieurs, les tuyaux ont été reliés par un fil en nylon de 0,60 mm de diamètre et de 25 cm de longueur pour faciliter leur retrait du rumen. Chaque tuyau a correspondu à une des espèces de plantes en études si bien qu'un animal en expérimentation a reçu deux tuyaux. Les sachets vides ont été séchés à l'étuve à 60 °C pendant 24 h avant d'être pesés à l'aide d'une

balance analytique de précision au 1/10 mg. Deux pesées ont été effectuées sur les sachets vides. Après les pesées, les sachets ont été remis à l'étuve à 60 °C pendant 30 min avant d'être pesés à nouveau. La prise d'essai a été de 5 g de matière broyée au tamis de 2 mm. Les sachets ont été ensuite fermés par un collier de serrage en plastique avant leur fixation sur le tuyau.

#### ❖ ***Incubation des sachets dans le rumen***

Les deux (02) tuyaux portant les sachets ont été introduits dans le rumen juste avant les repas. Chaque tuyau a porté 3 sachets disposés en quinconce, chaque sachet représentant un temps d'incubation pour un fourrage donné. L'étude de dégradabilité *in sacco* a été établie sur trois points de cinétique (0h, 24 et 96 h), ceci afin de permettre une digestion complète des poudres des plantes. L'introduction des sachets a été réalisée de manière séquentielle afin de retirer en même temps les trois sachets à la fin de la période d'incubation considérée.

#### ❖ ***Récupération, lavage et pesée des sachets après incubation***

Au terme de l'incubation, les sachets ont été retirés du rumen pour l'ensemble des animaux. Le retrait s'est fait grâce au fil en nylon relié au bout du tuyau. Une fois retirés, ils ont été rincés sous jet d'eau au robinet. Après les lavages successifs, les sachets ont été séchés avec leur contenu à l'étuve à 40 °C pendant 48 h. A la sortie de l'étuve, deux pesées ont été réalisées sur les sachets avec leur contenu et de la même manière que pour les pesées de sachets vides avant l'incubation. Après cette double pesée, le contenu des sachets a été récupéré dans un récipient en plastique pour les analyses ultérieures.

### **Techniques de préparation des extraits**

Les résidus obtenus après incubation des poudres dans le rumen sont extraits dans une solution de méthanol dans une proportion de 70 :30 (méthanol-eau distillée) pendant une heure sous agitation magnétique à 50 °C. Après filtration du mélange, le filtrat est recueilli et évaporé sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif. La phase aqueuse obtenue a été mise à l'étuve à 40 °C pour l'évaporation à sec. L'extrait ainsi obtenu est pesé puis conservé au réfrigérateur à +4 °C.

### **Activité biologique des deux plantes**

#### ❖ ***Extraction des larves***

Les larves infestantes ont été obtenues par coproculture à partir de matières fécales de brebis préalablement infestées artificiellement par une souche pure de *H. contortus*, laissées en culture à température ambiante pendant 10 jours. Les larves ont ensuite été extraites de la masse fécale par le dispositif de Baermann dont le principe repose sur l'hygrotopisme.

#### ❖ ***Test de migration larvaire***

Le test appliqué repose sur la mesure du taux de migration des larves du parasite à travers une membrane après contact avec les extraits à tester. Le pourcentage de larves ayant traversé la membrane permet de calculer l'inhibition de la migration larvaire (LMI) associée aux extraits de plantes (Rabel *et al.*, 1994). Une quantité connue de larves L<sub>3s</sub> (1000 L<sub>3s</sub>/mL) est mise en contact pendant 3 h à 23 °C avec chaque extrait à tester à différentes concentrations (1200, 600, 300 et 150 µg/mL) à raison de 3 répétitions par concentration. Un témoin négatif (tampon PBS, pH 7 et 0,15 M) a permis d'évaluer la migration des larves en absence de la plante. Un témoin positif (lévamisole 125, 250 et 500 µg/mL) a été également constitué. Les larves L<sub>3s</sub> sont ensuite rincées 3 fois et centrifugées, puis laissées en migration à travers des mailles de 20 µm de diamètre pendant 3 h à une température de 23 °C. Les larves ayant migré sont reprises dans un volume de 1,5 mL. Le nombre de larves est alors compté dans 200 µl. Le pourcentage d'inhibition de la migration larvaire a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$LMI = \frac{T - M}{T} \times 100$$

Où T le nombre total de L<sub>3s</sub> ayant été en contact du PBS et M le nombre de L<sub>3</sub> en contact avec les extraits.

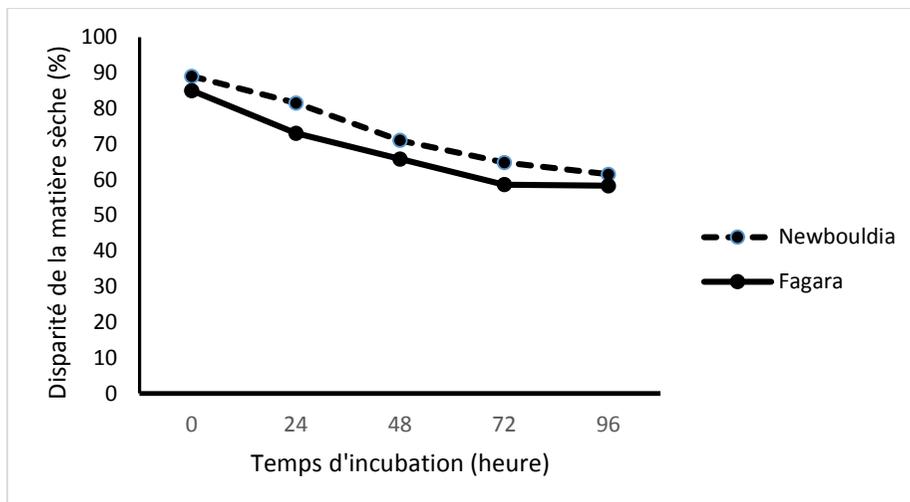
### **Analyses statistiques**

Les différentes valeurs de la migration des larves infestantes ont été intégrées dans un modèle d'analyse de variance sur mesure répété à deux facteurs (temps d'incubation, résidu de la plante testée) exécuté dans le logiciel R (R Core Team, 2013). La comparaison des différentes moyennes a été faite à l'aide de la procédure SNK qui exécute le test Student-Newman-Keuls(SNK) à l'aide du package agricolae (Mendiburu, 2013) du logiciel R (RCore Team 2013). Les moyennes générées ont servi à construire les graphes d'illustration. Les différences sont considérées significatives au seuil de 5%.

### **Résultats**

#### **Pourcentage de disparition de la matière sèche**

Les pourcentages de disparition de la matière sèche de Fagara et de *N.laevis* en fonction du temps d'incubation dans le jus de rumen des ovins Djallonké sont présentés par la figure 1.



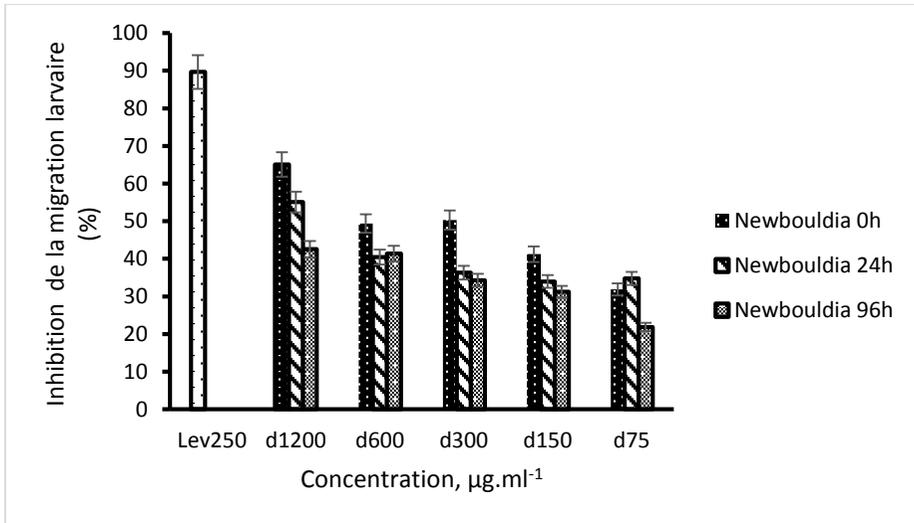
**Figure 1 :** Courbe de disparité de la matière sèche de Fagara et de *N. laevis* dans le rumen.

La disparition de la matière sèche a varié en fonction du temps d'incubation de la poudre de feuilles des plantes ( $p < 0,05$ ) mais pas suivant la poudre de feuilles des plantes incubées ( $p > 0,05$ ). Cette disparition a été entre 0 h et 96 h de 30,7% pour *N. laevis* et de 26,7% pour Fagara.

### **Effets de l'extrait méthanolique des résidus des deux plantes issues de la digestion sur la migration des larves (L<sub>3s</sub>) de *H. contortus***

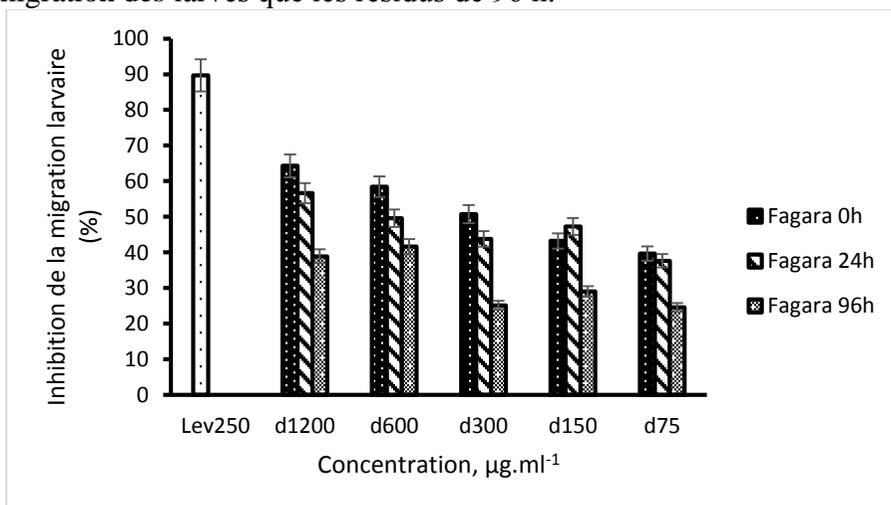
L'action inhibitrice des plantes sur la migration des larves infestantes de *H. contortus* a été fonction du temps d'incubation des plantes ( $p < 0,001$ ) d'une part et non dose dépendante ( $p > 0,05$ ) d'autre part (Figures 2,3 et 4).

L'extrait de la poudre simple de *N. laevis* excepté la dose faible dose de 75 µg/mL a inhibé à plus de 40% la migration des larves de *H. contortus in vitro* quel que soit le temps d'incubation dans le rumen des animaux (Figure 2). Les extraits des résidus de *N. laevis* obtenus après 24 h et 96 h ont connu le même taux de réduction de la migration des larves seulement aux fortes doses de 1200 et 600 µg/mL (Figure 2). A faible dose de 75 µg/mL les résidus obtenus après 96 h d'incubation dans le rumen des animaux sont moins efficaces ( $p > 0,05$ ) que ceux obtenus après 24 h.



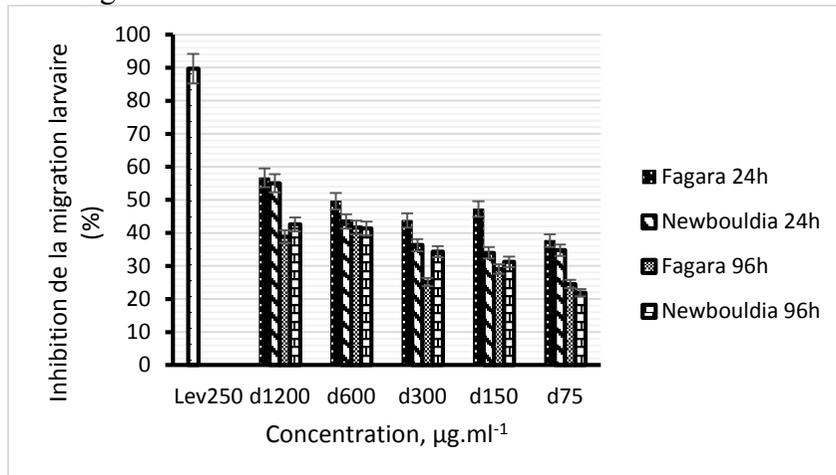
**Figure 2 :** Effets de l'extrait méthanolique de la poudre simple et des résidus d'incubation de *N. laevis* sur la migration larvaire de *H. contortus*.

Aux doses fortes de 1200 et 600 µg/ml et la dose moyenne de 300 µg/mL, l'extrait de la poudre simple (Fagara 0 h) et les résidus de Fagara obtenus après 24 h d'incubation ont fortement inhibé la migration des larves ( $p < 0,01$ ) avec une forte sensibilité des larves à l'extrait de la poudre simple (Figure 3). Aux faibles doses (150 et 75 µg/mL), la réduction de la migration par les extraits de la poudre simple (Fagara 0 h) et des résidus de 24 h a été aussi non négligeable ( $p < 0,05$ ) et comparable à l'effet de l'extrait des résidus de Fagara obtenus après 96 h d'incubation aux fortes doses (Figure 3). Aux faibles doses néanmoins, les résidus de 24 h ont plus réduit ( $p < 0,05$ ) la migration des larves que les résidus de 96 h.



**Figure 3 :** Effets de l'extrait méthanolique de la poudre simple et des résidus d'incubation de Fagara sur la migration larvaire de *H. contortus*.

La comparaison des différents effets inhibiteurs des résidus de 24 h et de 96 h des deux plantes montre que quel que soit la dose et la plante, les résidus de 24 h ont plus réduit ( $p < 0,05$ ) la mobilité des larves de *H. contortus* que les résidus de 96 h (Figure 4). Egalement les résidus de Fagara ont semblé être plus efficaces que ceux de *N. laevis* même si la différence n'a pas été significative.



**Figure 4 :** Effets comparés de l'extrait méthanolique des résidus d'incubation de Fagara et de *N. laevis* sur la migration larvaire de *H. contortus*.

## Discussion

Fagara et *N. laevis* sont des plantes tropicales largement étudiées pour leurs propriétés anthelminthiques sur les parasites gastro-intestinaux des petits ruminants. Les deux plantes se sont déjà révélées efficaces sur les trois stades de développement de *H. contortus* et de *Trichostrongylus colubriformis in vitro* (Hounzangbé-Adoté *et al.*, 2005a, b) et *in vivo* chez les ovins et les caprins (Hounzangbé-Adoté *et al.*, 2005c ; Azando *et al.*, 2011a ; Minanflinou *et al.*, 2015). Toutes ces études réalisées prouvent que les deux plantes peuvent être utilisées comme alternative ou en complément aux anthelminthiques de synthèse. Alors il est question de savoir si la digestion ruminale des deux plantes fourragères dans les conditions naturelles ne réduirait pas l'efficacité de ces plantes ?

Le test de migration larvaire utilisé dans cette étude pour évaluer l'effet antiparasitaire des résidus des plantes est un test rapide et moins coûteux pour la détermination de l'effet des substances qui pourraient causer la paralysie des nématodes gastro-intestinaux (D'Assonville *et al.*, 1996). Les extraits du résidu des plantes issues de la digestion dans le rumen ont significativement à forte dose et au temps d'incubation de 24 h inhibé la migration des larves de *H. contortus*. Cette inhibition a été non dose dépendante avec une efficacité beaucoup plus prouvée de Fagara. Les plantes conserveraient donc leurs propriétés anthelminthiques après 24 h

d'incubation. Cette efficacité diminuerait ainsi en fonction des temps d'incubation dans le rumen puisque les résidus de 96 h ont été les moins efficaces. Ce fait est justifié par le fort taux de disparité de la matière sèche enregistré chez les deux plantes à la fin de l'incubation des plantes dans le jus de rumen des animaux au temps 96 h. La forte activité des microorganismes du rumen aurait favorisé une forte perte des métabolites secondaires comme les tanins condensés, les flavonoïdes, les alcaloïdes (Olounladé, 2005) et les terpènes identifiés dans les plantes et reconnus être responsables des propriétés anthelminthiques de ces dernières (Azando *et al.*, 2011b). En effet, chez les ruminants, le rumen est un compartiment doté d'un écosystème qui abrite plusieurs types de microorganismes majoritairement anaérobies ou anaérobies facultatives, et qui se caractérise par un pH proche de la neutralité (6 à 7) (Brunet, 2008). Ainsi, lorsque les tanins condensés sont ingérés, ils se fixent aux protéines salivaires (en particulier avec les protéines riches en proline) ou alimentaires (Butter *et al.*, 1999) aux enzymes bactériennes (Brunet, 2008) et forment avec elles des complexes stables au pH du rumen (Aerts *et al.*, 1999).

Mieux dans une étude récente, Alowanou *et al.* (2015) ont montré qu'un temps de digestion étendu des plantes, *M. inermis*, *C. glutinosum* et *B. ferruginea* dans le rumen des animaux induisait une perte des tanins condensés, des flavonoïdes et des phénols totaux. Mais ces auteurs n'ont pas enregistré une baisse significative de l'efficacité des trois plantes après un temps d'incubation étendu de 72 h. On pourrait supposer qu'au-delà de 72 h d'incubation comme le cas de la présente étude, l'efficacité des trois plantes baisserait significativement. Aussi on doit prendre en compte le degré de dégradabilité de la matière sèche propre à chaque plante fourragère.

La diminution de la migration des larves L<sub>3s</sub> par les extraits des résidus des plantes observées dans cette étude pourrait être à l'origine de la perturbation de leur installation dans la paroi de la muqueuse du tube digestif. Cette action inhibitrice de la migration des larves de *H. contortus* serait rendue possible grâce aux grandes familles de composés chimiques mises en évidence dans cette étude à savoir les tanins, les flavonoïdes et les phénols totaux. En effet Molan *et al.* (2003) et Brunet (2008) ont montré que les flavonoïdes induisaient désaltérations structurelles au niveau des larves infestantes empêchant ainsi leur migration. Les flavonoïdes et les tanins contenus dans la fraction polaire de *Leuceana leucocephala* (Adémola *et al.*, 2005) ont montré un effet sur la migration des larves L<sub>3s</sub> de *H. contortus*. En effet selon Brunet (1999), la stabilité de ces complexes tanins condensés-protéines devient défavorisée au pH acide de l'abomasum. Ainsi, les conditions de l'abomasum induisent une libération des tanins condensés fixés. Ces derniers sont par la suite disponibles dans les portions du tube digestif qui font suite au rumen, ce qui justifierait l'aptitude des plantes qui

en contiennent à perturber la viabilité des vers adultes ou la fertilité des vers femelles (Marie-Magdeleine *et al.*, 2010 ; Azando *et al.*, 2011b).

## Conclusion

La présente étude a mis en évidence *in vitro* l'action inhibitrice des extraits des résidus de Fagara et *N. laevis* après un temps d'incubation plus long dans le rumen des animaux sur la migration des larves infestantes de *H. contortus*. Les deux plantes sont plus efficaces sur *H. contortus* uniquement à une forte dose d'extrait des résidus lorsque le temps d'incubation est de 96 h. Ce travail conforte encore plus le choix des petits éleveurs du Bénin à traiter leurs animaux notamment les petits ruminants par l'usage des deux plantes. De plus ses différents résultats constituent des prémices dans le long processus de mise en place de Médicaments Traditionnels Améliorés (MTA).

## Remerciement

Les auteurs sont reconnaissants au Projet Valorisation des Plantes locales pour l'Amélioration de la santé et de la Production des animaux d'élevage (VPMAP) en Afrique de l'Ouest financé par l'UEMOA à travers le Projet PAES Profondes gratitude à l'endroit des reviewers pour leurs précieuses contributions au manuscrit.

## References:

1. Adémola, I.O., Akanbi, A.I. & Idowu, S.O. (2005). Comparative nematocidal activity of chromatographic fraction of *Leucaena leucocephala* seed against gastrointestinal sheep nematodes. *Pharmacy and Biology*, 43: 599- 604.
2. Aerts, R.J., Barry, T.N. & McNabb, W.C. (1999). Polyphenols and agriculture: beneficial effects of proanthocyanidins in forages. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 75 (1-2): 1-12.
3. Alowanou, G.G., Olounladé, A. P., Koudandé, O. D., Babatoundé, S. & Hounzangbé-Adoté, M. S. (2015). Effets de la digestion dans le rumen sur les propriétés anthelminthiques de *Bridelia ferruginea*, *Mitragyna inermis* et *Combretum glutinosum*. *Science de la vie, de la terre et agronomie*, 03(2): 50-56.
4. Andrea, B., Doeschl-Wilson, R., Davidson, J., Conington, T., Roughsedge, M.R. & Hutchings, B.V. (2011). Implications of host genetic variation on the risk and prevalence of infectious diseases transmitted through the environment. *Genetics*, 188: 683-693.
5. Azando, E.V.B., Olounladé, A.P., Hounzangbé-Adoté, M.S. & Hoste, H. (2011a). Effets anthelminthiques *in vivo* de la poudre de feuilles de *Zanthoxylum zanthoxyloides* et de *Newbouldia laevis* sur les nématodes parasites gastro-intestinaux des chevreaux Djallonké.

- International Journal of Biological and Chemical Science*, 5 (3): 1054-1062.
6. Azando, E.V.B., Hounzangbé–Adoté, M.S., Olounladé, P.A., Brunet, S., Fabre, N., Valentin, A. & Hoste, H. (2011b). Involvement of tannins and flavonoids in the *in vitro* effects of *Newbouldia laevis* and *Zanthoxylum zanthoxyloides* extracts on the exsheathment of third-stage infective larvae of gastrointestinal nematodes. *Veterinary Parasitology*; 180: 292-297.
  7. Babatoundé, S. (2005). Etude et prédiction de la valeur alimentaire de graminées et de légumineuses fourragères en zone tropicale humide du Bénin. Thèse de doctorat Unique. Université de Liège-Gembloux Agro-Bio Tech (ULg) (Belgique).
  8. Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie-Phytochimie, plantes médicinales, 4e éd., revue et augmentée, Paris, Tec & Doc - Éditions médicales internationales.1288pp.
  9. D'Assonville, J.A., Janovsky, E. & Versley, A. (1996). *In vitro* screening of *Haemonchus contortus* third stage larvae for ivermectin resistance. *Veterinary Parasitol*, 61:73-80.
  10. Dédéhou, N.F. (2015). Utilisation de *Parkia biglobosa* et de *Pterocarpus erinaceus* dans la gestion du parasitisme à *Haemonchus contortus* chez le mouton Djallonké au Bénin. Thèse de doctorat en Sciences Agronomiques - Université d'Abomey-Calavi (Bénin).
  11. Hassanpour, S., Eshratkhah, B., Sadaghian, M., Maherisis, N. & Chaichisemsari, M. (2011). Relationship between plasma minerals and nematode infection load in Moghani ewes. *Global Veterinaria*, 6 (4):357-361.
  12. Hoste, H., Torres-Acosta, J.F.J., Paolini, V., Aguilar-Caballero, A., Etter, E., Lefrileux, Y., Chartier, C. & Broqua, C. (2005). Interactions between nutrition and gastrointestinal infections with parasitic nematodes in goats. *Small Ruminant Research*, 60, 141–151.
  13. Hounzangbé-Adote, M.S., Paolini, V., Fouraste, I., Moutairou, K. & Hoste, H. (2005a). *In vitro* effects of four tropical plants on three stages of the parasitic nematodes, *Haemonchus contortus*. *Research in Veterinary Science*, 78: 155-160.
  14. Hounzangbé-Adoté, S., Paolini, V., Fouraste, I., Moutairou, K. & Hoste, H. (2005b). *In vitro* effects of four tropical plants on the intestinal parasitic nematode, *T. colubriformis*. *Journal of Helminthology*, 79: 29-33.
  15. Hounzangbé-Adoté, S., Zinsou, F.E., Hounkpe, V., Moutairou, K. & Hoste, H. (2005c). *In vivo* effects of Fagara leaves on sheep infected with gastrointestinal nematodes. *Tropical Animal Health and Production*, 37: 205-214.

16. Marie-Magdeleine, C., Boval, M., Philibert, L., Borde, A. & Archimède, H. (2010). Effect of banana foliage (*Musa x paradisiaca*) on nutrition, parasite infection and growth of lambs. *Livestock Science*, 131(2-3): 234-239.
17. Minaflinou, S.S.I., Azando, E.V.B., Olounladé, A.P. & 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 Science*, 9(4): 2078-2090.
18. Molan, A.L., Duncan, A.J., Barry, T.N. & McNabb, W.C. (2003). Effects of condensed tannins and crude sesquiterpene lactones extracted from chicory on the motility of larvae of deer lungworm and gastrointestinal nematodes. *Parasitology International*, 52 (3), 209-218.
19. Olounladé, A.P. (2005). Effets anthelminthiques des feuilles de *Newbouldia laevis* testées *in vivo* sur les nématodes gastro-intestinaux (*Haemonchus contortus* et *Trichostrongylus colubriformis*) chez les moutons Djallonké. DEA, Université de Lomé (Togo).
20. Olounladé, P.A., Hounzangbé-Adoté, M.S., Azando, E.V.B., Tam Ha, T.B., Brunet, S., Moulis, C. & Fabre, N. (2011). Etude *in vitro* de l'effet des tannins de *Newbouldia laevis* et de *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* sur la migration des larves infestantes de *Haemonchus contortus*. *International Journal of Biological and Chemical Science*; 5: 1414-1422.
21. R Core Team. (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
22. Rabel, B., McGregor, P. & Dough, G. (1994). Improved bioassay for estimation of effects of ovine gastrointestinal inhibitory mucus and on nematode larval migration anthelminthic. *International Journal of Parasitology*, 24: 671-676.
23. Satyavir, S. & Gupta, S.K. (2010). A survey of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematode in sheep of Haryana. *Haryana Veterinary*, 49: 25-28.
24. Wabo-Poné, J., Yondo, J., Fossi, T.O., Komtangi, M.C., Bilong-Bilong, C.F. & Mpoame, M. (2011). The *in vitro* effects of *Chenopodium ambrosioides* (Chenopodiaceae) extracts on the parasitic nematode *Heligmosomoid esbakeri* (Nematoda, Heligmosomatidae). *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 3: 56-62.