

Effet vermicide *in vitro* de l'extrait aqueux des feuilles de *Chenopodium ambrosioides* L. 1753 sur *Haemonchus contortus* et *Oesophagostomum colombianum* parasites gastro-intestinaux des petits ruminants.

A. Maiga^{1,2} H.M.A. Houngnimassoun¹, S. Attindehou¹, M. Houinato³, S. Salifou¹

¹ Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi, Laboratoire National de Parasitologie Vétérinaire (LNPV), Bénin.

² Faculté d'Agronomie et médecine Animale (FAMA), Université de Ségou, Mali.

³ Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey-Calavi, Bénin.

* Adresse correspondance : maigaichata3@gmail.com / Tel : (00223)73653889

Mots-clés : *Chenopodium ambrosioides*, extrait aqueux, propriétés anthelminthiques, *Haemonchus contortus*, *Oesophagostomum columbianum*, Bénin.

Keywords: *Chenopodium ambrosioides*, aqueous extract, anthelmintic properties, *Haemonchus contortus*, *Oesophagostomum columbianum*, Benin.

Publication date 31/03/2020, <http://m.elewa.org/Journals/about-japs/>

1 RESUME

L'effet antiparasitaire de l'extrait aqueux de feuilles de *Chenopodium ambrosioides* (L.) a été étudié à travers un test *in-vitro* contre les strongles gastro-intestinaux des petits ruminants au Bénin. L'étude a consisté en un test de mortalité par contact dans lequel les vers adultes de *Haemonchus contortus* et d'*Oesophagostomum columbianum* ont été exposés à six (6) concentrations différentes (4, 8, 16, 32, 64 et 128 mg/ml) de l'extrait végétal, au Lévamisol à 4mg/ml (témoin de référence positive) et une solution tampon de Phosphate Buffer Sulfate (PBS) qui a servi de témoin négatif. Le test a été répété six fois pour chacune des concentrations. Les résultats ont montré des mortalités significatives comprises entre 66,66 et 100% des vers adultes de *H. contortus* et de *O. columbianum* après 12 heures d'exposition. Le plus fort taux de mortalité 100% a été obtenu après 6 heures de temps avec les concentrations de 32, 64 et 128 mg/ml de PBS. Ces fortes mortalités pourraient être attribuées aux composés chimiques à effet antiparasitaire détectés à travers le criblage phytochimique et surtout aux fortes doses de tanins condensés révélées par l'étude quantitative de l'extrait aqueux de la plante. L'utilisation traditionnelle de cette feuille comme anthelminthique semble alors être justifiée. Toutefois, les expérimentations doivent être poursuivies (tests *in vivo* sur les petits ruminants, essais toxicologiques) afin de mettre à la disposition des éleveurs et agro-éleveurs des formulations médicamenteuses à base de cette plante.

ABSTRACT

The antiparasitic effect of the aqueous extract of leaves of *Chenopodium ambrosioides* (L.) was studied through an *in-vitro* test against gastrointestinal strongles of small ruminants in Benin. The study consisted of a contact mortality test in which adult worms of *H. contortus* and *O. columbianum* were exposed to six (6) different concentrations (4, 8, 16, 32, 64 and 128 mg/ml) of the plant extract, Levamisole at 4mg/ml (positive reference control) and a

Phosphate Buffer Sulfate (PBS) buffer solution which served as a negative control. The test was repeated six times for each of the concentrations. Results showed significant mortalities ranging from 66.66 to 100% of adult worms of *H. contortus* and *O. columbianum* after 12 hours of exposure. The highest 100% mortality was obtained after 6 hours with concentrations of 32, 64 and 128 mg/ml PBS. These high mortalities could be attributed to the chemical compounds with antiparasitic effect detected through phytochemical screening and especially to the high doses of condensed tannins revealed by the quantitative study of the aqueous extract of the plant. The traditional use of this leaf as an anthelmintic then seems to be justified. However, experiments must be continued (in vivo tests on small ruminants, toxicological tests) in order to make available to farmers and agro-farmers drug formulations based on this plant.

2 INTRODUCTION

L'élevage représente 40 % de la valeur de la production agricole mondiale (Agridape, 2010). Il est l'une des premières sources alimentaires et constitue un élément essentiel de la plupart des systèmes agricoles (Zossou, 2014). Pour de nombreux petits exploitants agricoles, ce secteur constitue un important filet de sécurité et une source de couverture des besoins de la population en protéines (Akiyo, 2008 ; Agridape, 2010). Malgré ces atouts, de nombreuses contraintes limitent les productions animales. Parmi ces contraintes, figurent les parasitoses gastro-intestinales. Dans les pays tropicaux, les parasitoses gastro-intestinales représentent l'un des facteurs limitant la production des petits ruminants car elles induisent d'importantes pertes économiques dans les productions (Fao, 1991 ; Githiori *et al.*, 2004). Des études réalisées par Bonfoh (1993), Bastiaensen *et al.* (2003), Salifou (1996), Belem *et al.* (2000), Kaboré (2009), Tamssar (2006), et Maïga (2014) respectivement au Togo, au Bénin, au Burkina Faso, au Sénégal ainsi qu'au Mali ont montré que les petits ruminants souffrent de polyparasitisme helminthiques. Ces pathologies sont causées par les parasites du genre *Bunostomum*, *Strongyloïdes*, *Cooperia*, mais surtout *Haemonchus contortus* et

Oesophagostomum columbianum. Par ailleurs, la gestion des verminoses chez les ruminants repose, pour la plupart du temps, sur l'utilisation des anthelminthiques de synthèse qui représentent 35 à 65 % des dépenses de médicaments destinés aux animaux d'élevage (Grosmond, 2012). Cependant, nombreux sont ces éleveurs qui ont d'énormes difficultés à accéder facilement à ces produits. Ces difficultés sont liées d'une part par le faible pouvoir d'achat de la plupart des éleveurs qui font recours aux plantes médicinales pour lutter contre les parasitoses (Fabiyyi, 1973 ; Hounzangbe- Adote *et al.*, 2001). Plusieurs études ont été réalisées sur les plantes à propriétés anthelminthiques dans la gestion des parasitoses digestives au Bénin (Hounzangbe-Adote *et al.*, 2001 ; Hounzangbé-Adoté, 2004 ; Kaboré, 2009 ; Alowanou, 2012 ; Attindéhou, 2012 ; Houngnimassoun *et al.*, 2017). Notre étude se propose d'évaluer les propriétés antiparasitaires de l'extrait aqueux des feuilles de *Chenopodium ambrosioides* sur les vers *Haemonchus contortus* et *Oesophagostomum columbianum* des petits ruminants dans la perspective de sa valorisation dans la lutte contre ces parasites.

3 MATERIEL ET METHODES

3.1 Matériel végétal et animal : L'extrait aqueux des feuilles de *C. ambrosioides* a servi de matériel végétal. Des adultes de *H. contortus* et d'*O. columbianum* prélevés des tractus digestifs d'ovins et de caprins ont constitué le matériel animal.

3.2 Méthodes

3.2.1 Récolte et identification de la plante : Les feuilles matures de *C. ambrosioides* ont été récoltées tôt le matin dans la commune d'Abomey-Calavi au Bénin. Elles ont été identifiées et certifiées à l'Herbier National du Bénin sis à l'Université d'Abomey-Calavi sous le numéro AA 6622/HNB. Après avoir été séchées à l'abri de la poussière et du soleil

pendant une semaine, elles ont été réduites en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique de marque Vicking exclusive Joncod- Type YL112M2-4.

3.2.2 Criblage phytochimique: La recherche des différents composés phytochimiques présents dans la poudre des feuilles de *C. ambrosioides* a été basée sur la méthode de Houghton et Raman (1998) revue et adaptée aux conditions du Laboratoire de Pharmacognosie et des Huiles Essentielles sis à l'Institut des Sciences Biomédicales Appliquées (ISBA). Cette méthode est résumée dans le tableau 1.

Tableau 1 : Réactions colorimétriques pour le screening phytochimique

Familles chimiques	Réactifs (compositions)	Résultats positifs
Alcaloïdes	Mayer {Iodure de Potassium +Chlorure de mercure}	Précipité jaunâtre
Flavonoïdes	SHINODA {Ethanol 95° + HCl (N/2) + (Mg ou Zn)}	Coloration orangée, rouge ou violette
Tanins	FeCl ₃ 1%	Coloration bleue foncée, verte ou noire
Tanins catéchiques	STIASNY {HCl / Formol}	Précipité rose
Tanins galliques	FeCl ₃ 1%	Teinte bleue ou noire
Anthocyanes	HCl 5% + ammoniaque 1/2	Coloration rouge qui vire au bleu-violacé ou verdâtre
Saponosides	Eau distillée	Indice Mousse : test positif si IM >1cm
Composés réducteurs	Eau distillée + Liqueur de Fehling (A+B)	Précipité rouge vif
Stéroïdes & terpénoïdes	Lieberman Bouchard {Anhydride acétique +acide sulfurique}	Coloration violette, bleue ou verte/rouge au vin
Quinones	BORN-TRAGER {HCl 5% + Chloroforme+Ammoniaque}	Coloration rose ou rouge violacée

3.2.3 Conditions de préparation de l'extrait aqueux : L'extraction a été réalisée par macération du matériel végétal. Cinquante grammes (50 g) de la poudre des feuilles de la plante ont été pesés à l'aide d'une balance électronique puis mélangés à 500 ml d'eau distillée. Le mélange a été soumis à une

agitation mécanique pendant 24 heures puis filtré avec du coton et du papier filtre. Le filtrat a été évaporé à l'étuve à 45°C. L'extrait sec ainsi obtenu a été pesé puis conservé au réfrigérateur à 4°C jusqu'à utilisation. Le dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des

tanins condensés contenus dans cet extrait s'est fait selon la méthodologie suivante :

3.2.4 Dosage des polyphénols totaux :

Pour doser ce composé, 125 μL de l'extrait ont été dissout dans 625 μL de réactif de Folin-Ciocalteu. Après incubation pendant 5 min, on ajoute 500 μL de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 75 mg/mL et 4,75 mL d'eau

distillée. Le mélange vortexé est incubé pendant 2 heures. La lecture des absorbances a été faite au spectrophotomètre de marque Biomate à 760 nm. Les concentrations des polyphénols sont déduites à partir de gammes d'étalonnages établies avec l'acide gallique (figure 1) et sont exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (Kim *et al.* 2003).

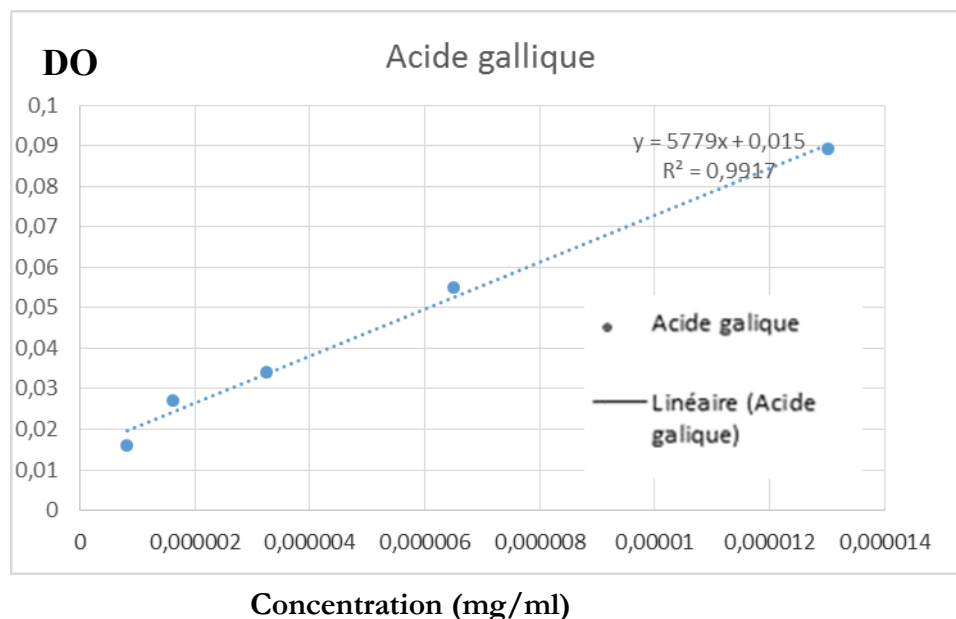


Figure 1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

3.2.5 Dosage des flavonoïdes totaux : La teneur en flavonoïdes totaux des extraits végétaux a été estimée par la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) (Zhishen *et al.*, 1999 ; Lebreton *et al.*, 1967). On prélève 500 μL d'une solution de AlCl_3 (2%) et on ajoute 500 μL de l'échantillon. A ce mélange, on ajoute 3 mL d'éthanol. Le blanc est constitué de 500 μL

d' AlCl_3 et de 3,5 mL d'éthanol. La lecture des absorbances est faite au spectrophotomètre à 415 nm après une incubation de 10 min. Les concentrations des flavonoïdes sont déduites à partir de gammes d'étalonnages établies avec la quercétine (figure 2) et sont exprimées en mg d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait sec.

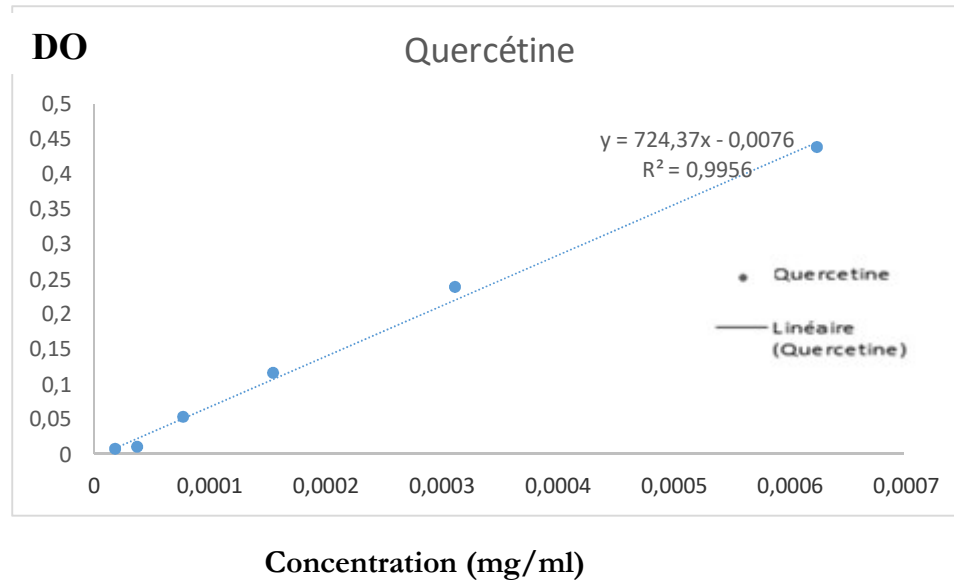


Figure 2 : Courbe d'étalonnage de la quercétine

3.2.6 Dosage des tanins condensés : Le dosage des tanins condensés dans les extraits des plantes a été effectué selon la méthode de (Price *et al.*, 1987). A 500 μ L de l'échantillon ou standard, on ajoute 3 mL de la solution de la vanilline sulfurique (4%). Le mélange est incubé

durant 15 min et l'absorbance est lue à 500 nm. Les concentrations des tanins condensés sont déduites à partir de gammes d'étalonnages établies avec la catéchine (figure 3) et sont exprimés en mg d'équivalent de la catéchine par gramme d'extrait sec.

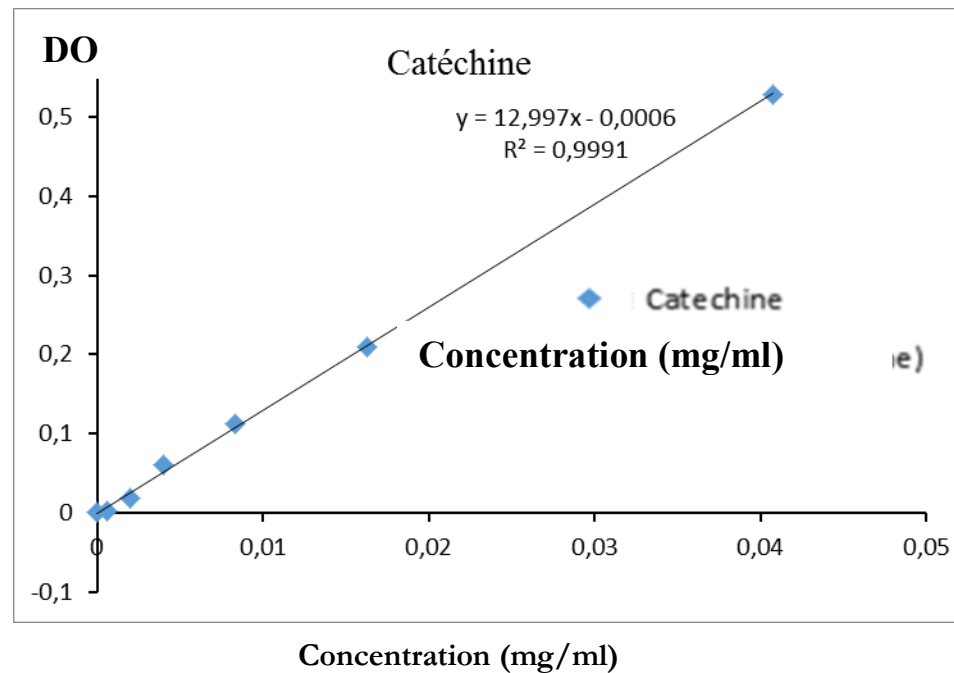


Figure 3 : Courbe d'étalonnage de la catéchine

3.2.7 Technique de récolte des vers : autopsies helminthologiques : Des tractus gastro-intestinaux complets ont été prélevés sur des animaux abattus à l'abattoir de Cotonou puis transportés au laboratoire où les trois compartiments (caillotte, l'intestin grêle et le gros intestin) ont été délimités par double ligatures puis séparés. Chaque compartiment a ensuite été ouvert dans le sens de la longueur et débarrassés de son contenu sous un mince filet d'eau et au-dessus des tamis de mailles différentes. Les nématodes retenus ont été soigneusement rincés à l'eau et délicatement récupérés à l'aide d'une pince puis plongés dans une solution tampon de Phosphate Buffered Saline (PBS) en attendant les tests *in vitro* avec l'extrait de la plante. Les vers du genre *O. columbianum* et *H. contortus* récoltés et identifiés à la lumière des clefs d'identification des strongles ont été sélectionnés. Le critère de sélection était la vitalité du ver à la mesure de sa motilité.

3.2.8 Test de motilité des adultes de *H. contortus* et de *O. columbianum* au contact de l'extrait : Les vers prélevés à l'autopsie helminthologique ont été rincés avec du PBS. Six concentrations croissantes de l'extrait à savoir 4, 8, 16, 32, 64, 128 mg/ml de PBS ont été préparées. Pour chacune de ces concentrations d'extrait, six puits consécutifs d'une plaque de micro titrage de contenance 0,5ml ont été apprêtés pour recevoir délicatement un ver vif. Six puits témoins négatifs de PBS simple et 6 puits témoins positifs de Lévamisolé à 4 mg/ml ont été aussi constitués pour recevoir, chacun, un ver. Après la mise en contact des vers avec l'extrait, la motilité a été observée à la loupe après 30 minutes, 1 heure, 2 heures puis chaque 2 heures jusqu'au moment où l'immobilité de tous les vers contenus dans le PBS (témoin négatif) est constatée. Une immobilité constatée pendant

plus de 10 secondes est considérée comme un signe d'inactivation et le ver est déclaré mort. Quand un des vers traités est déclaré inibier mort, il est replongé pendant 30 minutes dans du PBS pour détecter une éventuelle revitalisation post traitement. Lorsque le ver retrouve sa vitalité, il est remis dans son puits et le test continu.

4 Analyse statistique : Les résultats de la caractérisation des grands groupes chimiques présents dans la poudre des feuilles des deux plantes ont été notés suivant les codes ci-après : - (absent) + (présent).

Les teneurs des polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés sont déterminées par la formule suivante :

$$T = \frac{C \times V_r}{V_p \times C_p}$$

T = Teneur des composés ; C = Concentration obtenue à partir de la courbe d'étalonnage

V_r = Volume réactionnel ; V_p = Volume d'extrait prélevé ; C_p = Concentration de la solution de l'extrait prélevé.

Les résultats du test de contact des vers adultes de *H. contortus* et de *O. columbianum* aux différents traitements ont été analysés par le logiciel Stata 11.

Le taux de mortalité (M(%)) induite par l'extrait végétal a été calculée pour chacune des concentrations selon la formule suivante : M (%) = 100 x (N_E - N_{PBS}) / R., N_E et N_{PBS} représentent respectivement les nombres de vers morts au contact d'une concentration d'extrait et du tampon PBS à une même date. R= nombre de répétitions (Houngnimassoun *et al.*, 2017).

La régression logistique sous le logiciel Stata 11 a permis de déterminer à quels points les mortalités enregistrées sont imputables à l'extrait de plante.

5 RESULTATS

5.1 Criblage phytochimique : Les résultats du screening phytochimique de la poudre des feuilles de *C. ambrosioides* ont révélé la présence des alcaloïdes, des tanins, des

flavonoïdes et des saponosides. On note l'absence des anthocyanes et des composés réducteurs (Tableau 2).

Tableau 2 : composés chimiques présent dans la poudre des feuilles de *C. ambrosioides*
+ : (Présent) ; - : (Absent)

Familles phytochimiques	<i>C. ambrosioides</i>
Alcaloïdes	+
Tanins	+
Flavonoïdes	+
Anthocyanes	-
Saponosides	+
Composés réducteurs	-

5.2 Etude quantitative des composés chimiques : Les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés dosées sont exprimées en mg équivalent d'acide gallique, de quercétine et de catéchine par gramme d'extrait sec (Tableau 3). Ces résultats

révèlent que l'extrait aqueux des feuilles de *C. ambrosioides* est plus riche en tanins. Il faut relever que les polyphénols totaux et les flavonoïdes sont en faible proportion dans cet extrait végétal.

Tableau 3 Résultats du dosage de l'extrait aqueux de feuilles de *C. ambrosioides*

	Quantité des composés chimiques	Equation de la courbe	R ²
Polyphénols totaux	2,056 mg EAG/g ES	Y = 5779x + 0,015	0,9917
Flavonoïdes	6,16 mg EQ/g ES	Y = 724,37x - 0,0076	0,9956
Tanins	42,07 mg EC/g ES	Y = 12,997x - 0,0006	0,9991

EAG : équivalent d'acide gallique, EQ : équivalent de quercétine EC : équivalent de catéchine, ES : extrait sec.

5.3 Effet de l'extrait des feuilles de *C. ambrosioides* sur la motilité des vers adultes de *H. contortus* et de *O. columbianum* : Les taux de mortalités de *H. contortus* et de *O. columbianum* entraînés par les différentes préparations médicamenteuses sont respectivement présentés par les figures 4 et 5. On en déduit que, la molécule de référence (Lévamisole à 4 mg/ml de PBS) a induit une mortalité absolue des deux vers en moins d'une heure. Après un contact de 12 heures de temps, des mortalités importantes de *H. contortus* et de *O. columbianum* comprises entre 66,66 et 100% ont été enregistrées dans les groupes expérimentaux. Le plus fort taux de mortalité (100%) a été obtenu par la concentration de 32

mg/ml de PBS après 6 heures de temps d'exposition sur *H. contortus* et après 12 heures de temps sur *O. columbianum*. La concentration moyenne (64 mg/ml de PBS) a entraîné en 6 heures de temps, 100% des vers adultes de *H. contortus* et 83,33% de *O. columbianum*. Cet extrait a réduit significativement *in vitro*, la motilité des vers adultes de *H. contortus* et de *O. columbianum* comparé au PBS. Ce test n'a montré aucun effet dose - dépendante sur *H. contortus* contrairement au test sur *O. columbianum*. Au cours du test, l'effet inhibiteur de la motilité des vers adultes de *O. columbianum* a été dose-dépendante et fonction du temps de contact avec l'extrait de plante mais ne l'est pas avec le test sur *H. contortus*.

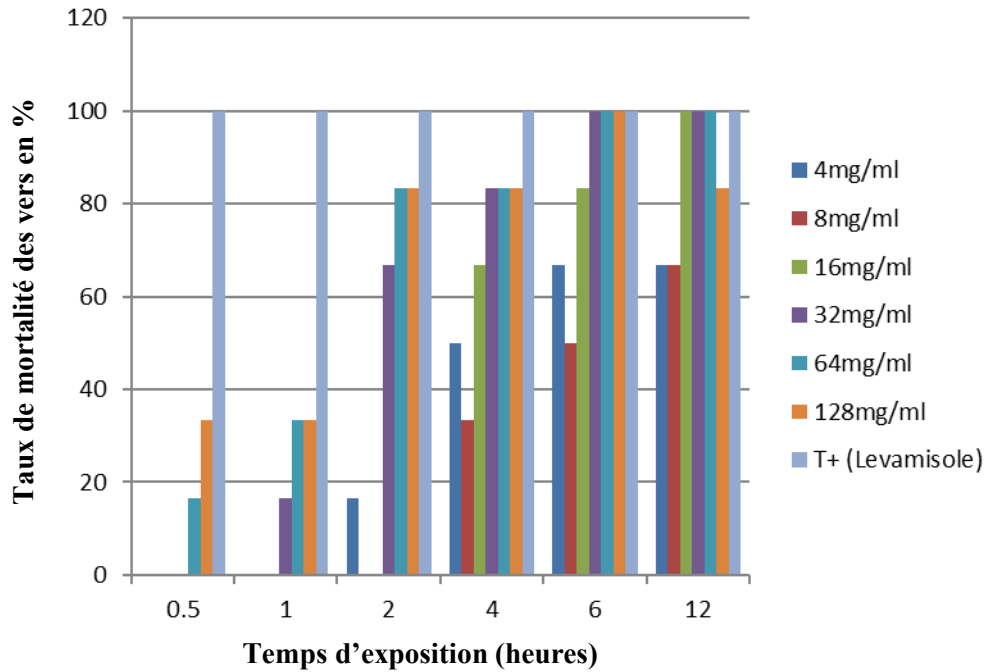


Figure 4 : Evolution des mortalités des adultes de *H. contortus* exposés aux différentes concentrations de l'extrait de *C. ambrosioides* et au Levamisole en fonction du temps

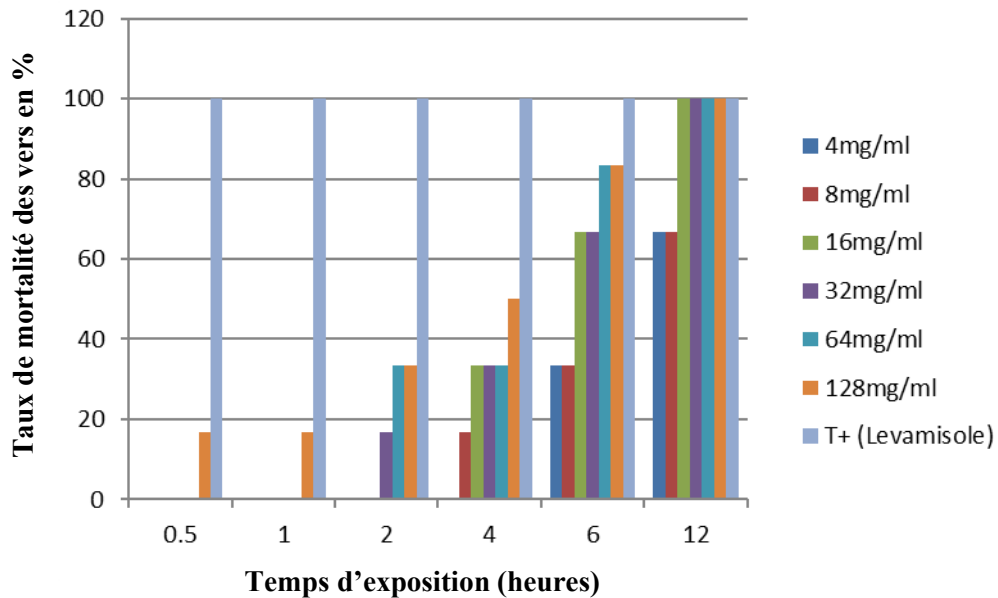


Figure 5 : Evolution des mortalités des adultes de *O. columbianum* exposés aux différentes concentrations de l'extrait de *C. ambrosioides* et au Lévisole en fonction du temps

6 DISCUSSION

Le screening phytochimique des feuilles de *C. ambrosioides* a permis d'identifier la présence des alcaloïdes, des tanins, des flavonoïdes et des saponosides. Dans les feuilles de la même plante au Bénin, Yemoa *et al.* (2008) ont mis en évidence uniquement que des Saponosides et des huiles essentielles. Cette différence pourrait s'expliquer par la nature du sol sur lequel cette plante a été récoltée. Les résultats du test de mortalité par contact réalisé ont montré que l'extrait aqueux des feuilles de *C. ambrosioides* présente des effets strongylicides contre *H. contortus* et *O. columbianum*. Cet effet noté pourrait s'expliquer par la composition chimique de la poudre de feuilles de la plante. D'ailleurs, l'analyse quantitative de l'extrait de cette plante réalisée montre une forte teneur en tanins ce qui renforce les données du screening phytochimique. Selon Paolini *et al.* (2005), la présence de substances bioactives telles que les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tanins confère des propriétés anthelminthiques aux plantes médicinales. Ces substances ont été identifiées dans les feuilles de *C. ambrosioides*, ce qui pourrait alors justifier les effets anthelminthiques observés. *C. ambrosioides* contient également des saponosides. Or les travaux scientifiques sur les saponines, montrent que cette classe de molécules possède des propriétés molluscicide, anti-inflammatoire, antifongique, antiparasitaire et cytotoxique (Lacaille-Dubois et Wagner, 1996 et 2000 ; Lacaille-Dubois, 2005 ; Hostettmann et Marston, 1995). L'inhibition de la survie des vers adultes induit par l'extrait de cette plante serait un facteur important dans la lutte contre ces parasites. En effet, la perturbation de leur motilité aurait pour conséquences des difficultés à s'alimenter (donc une moindre déplétion sanguine pour les parasites hématophages) et à s'accoupler (donc une moindre excrétion d'œufs) (Zinsou, 2015). Par

6 CONCLUSION

En sommes, l'extrait aqueux de feuilles de *C. ambrosioides* a montré des effets strongylicides *in vitro* sur les adultes de *H. contortus* et de *O.*

ailleurs en 2013, Salifou *et al.*, ont prouvé *in vivo* l'activité anthelminthique de la décoction aqueuse des feuilles de *C. ambrosioides* sur les nématodes gastro intestinaux des chèvres sahéliennes infestées naturellement. Une réduction significative des œufs dans les fèces a été notée après 3 jours de traitement et atteint 100% de réduction, 5 à 6 jours après le traitement avec la concentration de 4 ml/Kg. L'évaluation de la sensibilité des extraits de plantes sur des vers adultes des ruminants date de plusieurs décennies. C'est ainsi que, de nombreux auteurs ont prouvé l'efficacité d'extraits de plusieurs plantes sur des strongles gastro-intestinaux. Par exemple, Hounzangbé-Adoté *et al.* (2005) ont prouvé sur les vers adultes de *H. contortus*, l'efficacité d'extraits alcooliques de quatre plantes tropicales avec de forts taux de réduction de mobilité des vers après 6h d'exposition aux extraits de *Newbouldia laevis* et après 24 h d'exposition avec *Z. xanthoxyloides*, *M. lucida* et *C. papaya*. Dèdèhou *et al.*, (2014), ont évalué sur deux stades de développement (larves et vers adultes) de *H. contortus*, les effets d'une série de concentrations d'extraits de *Pterocarpus erinaceus* et de *Parkia biglobosa* avec des résultats efficaces. Au Burkina Faso, Kaboré *et al.*, (2009) ont prouvé *in vitro* l'effet anthelminthique de deux plantes médicinales (*Anogeissus leiocarpus* et *Daniellia oliveri*) sur *H. contortus* des moutons. Un effet dose-dépendant a été observé sur les œufs et les larves L₁ mais pas sur les vers adultes. Comparativement à ces différentes plantes, *C. ambrosioides* a aussi un effet anthelminthique sur les adultes de *H. contortus* et de *O. columbianum*. L'utilisation traditionnelle des feuilles de *C. ambrosioides* comme anthelminthique semble alors être justifiée. Toutefois, des études approfondies doit être faites afin de confirmer l'efficacité notée avec cette plante.

columbianum. Ces effets sont imputables aux alcaloïdes, tanins, saponosides et flavonoïdes mis en évidence dans cette drogue végétale. Au

cours de ce test, l'effet inhibiteur de la motilité des vers adultes de *O. columbianum* a été dose-dépendante et fonction du temps de contact avec l'extrait de plante mais ne l'est pas sur *H. contortus*. L'utilisation traditionnelle de cette feuille comme anthelminthique semble alors être justifiée. Toutefois, les expérimentations doivent être poursuivies par d'autres tests (tests

in vivo sur les petits ruminants, essais toxicologiques), afin de mettre à la disposition des éleveurs et agro-éleveurs des formulations médicamenteuses à base de cette plante. Il faudra également tester ces extraits de plantes sur le reste des parasites constituant le spectre parasitaire helminthique des petits ruminants d'élevage.

7 RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Agridape, 2010. Elevage durable, revue sur l'agriculture durable à faibles apports externes. Volume 26 n°1, 40 p.
- Akiyo, T.O.N.S., 2008. Helminthes parasites du tube digestif des petits ruminants au Bénin : cas des départements de l'Atlantique, du Littoral et du Zou. Thèse de doctorat soutenue le 07 Mai 2008 à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de Dakar, 105p.
- Attindehou S., 2012. Helminthoses Gastro-intestinales et Myiases cavitaires des ovins et caprins : Epidémiologie et moyens endogènes de lutte au Bénin. Thèse de doctorat en Science Agronomique soutenu le 29 octobre 2012 à l'Université d'Abomey-Calavi, 126p.
- Alowanou G.G., 2012. Evaluation *in vitro* des propriétés anthelminthiques de *Parkia biglobosa* et de *Pterocarpus ericeus* sur *Haemonchus contortus*. Mémoire DEA soutenu à l'Université d'Abomey-Calavi, 58p.
- Belem A.M., Nikiema Z.L., Sawadogo L., Dorchie Ph., 2000. Parasites gastro-intestinaux des moutons et risques d'infestation parasitaire des pâturages en saison pluvieuse dans la région centrale du Burkina Faso. Revue. Méd. Vét., 151: 5, 437-442.
- Bastiaensen P., Dorny P., Batawui K., Boukaya A., Napala A., Hendrickx G., 2003a. Parasitisme des petits ruminants dans la zone périurbaine de Sokode, Togo. II. Ovins. Revue Elev. Med. Vet. Pays trop., 56: 51-56.
- Bonfoh B., 1993. Epidémiologie des nématodes gastro-intestinaux chez les petits ruminants de race Djallonké du Togo (région des plateaux). Thèse de doctorat soutenue à l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar, 137 p.
- Dédéhou VFGN, Olounladé PA, Adenilé AD, Azando EVB, Alowanou GG, Daga FD, Hounzangbé-Adoté MS (2014b). Effets *in vitro* des feuilles de *Pterocarpus erinaceus* et des cosses de fruits de *Parkia biglobosa* sur deux stades du cycle de développement de *Haemonchus contortus* nématode parasite gastro-intestinal de petits ruminants. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 22: 3368-3378.
- Fabiyi, J. P., 1973. Seasonal fluctuations of nematode infestations in goats in the savannah belt of Nigeria. Bull. Epizoot. Afr. 21 (3) : 139 -143.
- Fao, 1991. Report of the Food and Agriculture Organization Expert Consultation on the Helminth Infection of livestock in Developing Countries. AGA-815. Rome, 23-27.
- Grosmond, G., 2012. Santé animale et solutions alternatives. Paris : Editions France Agricole, 270p.
- Githiori J.B., Høglund J., Waller P.J., Baker R.L., 2004. Evaluation of anthelmintic properties of some plants used as livestock dewormers against *H. contortus* infection in sheep. *Pasitol.*, 129: 245-253.
- Hostettmann K. et Marston A., 1995. *Saponins*. Chemistry and Pharmacology of Natural products : saponins. Cambridge University Press.

- Houngnimassoun, H.M.A., Attindéhou, S., Salifou, S., Koumodji, K.D., Salifou, S., 2017. Effets strongylicides in vitro de l'extrait aqueux de feuilles de *Ficus exasperata* Valh. 1805 (Moraceae). *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 11(3) : 1012-1020.
- Hounzangbe-Adote, M. S., Zinsou, F. E., Affognon, K. J., Koutinhoun, B., N'diaye, M. A., Moutairou, K., 2001. Efficacité antiparasitaire de la poudre de graines de papaye (*Carica papaya*) sur les strongles gastro-intestinaux des moutons Djallonké au sud du Bénin. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop*, 229p.
- Hounzangbé-Adoté, M.S., 2004. Propriétés anthelminthiques de 4 plantes tropicales testées in vitro et in vivo sur les nématodes gastro-intestinaux chez les petits ruminants Djallonké. Thèse doctorat, Université d'Abomey-Calavi, Bénin. 240 pp.
- Hounzangbé-Adoté M.S., Paolini V., Fouraste I., Moutairou K., Hoste H., 2005. *In vitro* effects of four tropical plants on three life-cycle stages of the parasitic nematode, *Haemonchus contortus*. *Research Veterinary Science*, 78: 155-160.
- Houghton, P. J., Raman, A., 1998. Laboratory handbook for the fractionation of natural extracts. Ed. *Chapman and Hall*, New York, 208 p.
- Kaboré A., 2009. Activité anthelminthique de deux plantes tropicales testées in vitro et in vivo sur les strongles gastro-intestinaux des ovins de race Mossi du Burkina Faso. Thèse de doctorat unique en développement rural soutenue publiquement le 22 décembre 2009 à l'Université polytechnique de Bobo-Dioulasso, 167p.
- Kim D.O., Chun O.K., Kim Y.J., Moon H.Y., Lee C.Y. 2003. Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51(22), 6509-6515.
- Lacaille-Dubois M.A., 2005. Bioactive saponins with Cancer related and immunomodulatory activity: recent developments. In: Attar-ur-Rahman (Ed.). *Stud. Nat. Prod. Chem.* 32, 209–246.
- Lacaille-Dubois M.A. et Wagner H., 2000. In Atta-Ur-Rhaman, Editor. Bioactive saponins from plants: an update in studies in Natural Product Chemistry Vol. 21, Elsevier: Amsterdam, 633–687.
- Lacaille-Dubois M.A. et Wagner H., 1996. A review of the biological and pharmacological activities of saponins. *Phytomedicine* 2, 363–386.
- Lebreton P., Jay M., Voirin B. 1967. Sur l'analyse quantitative des flavonoïdes. *Chim. Anal. (Paris)*, 49(7), 375-383.
- Maiga A., 2014. Enquête sur les parasitoses gastro-intestinales des petits ruminants dans la zone périurbaine de Bougouni, (Mali). Mémoire de fin cycle pour l'obtention du Diplôme de Licence bachelor's degree soutenu à l'Université de Ségou, 46 p.
- Price M.L., Scoyoc S.V., Butle L.G. 1987. A critical evaluation of the vanillin Reaction as an Assay for Tannin in Sorghum grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26, N°5.
- Salifou S., 1996. Nématodes et nématodose du tube digestif des petits ruminants du Sud Bénin, Taxonomie, Epidémiologie et les facteurs de variation. Thèse de doctorat, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Sénégal. 162 pp.
- Salifou S., Daga D.F., Attindéhou S., Deguenon R., Biaou C.F., 2013. Antiparasitic effects of the water extract from *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) against some gastrointestinal nematodes in West African Long Legged goats. *J. Parasitol. Vector Biol.*, 5(2) : 3-16.
- Tamassar M.N. I., 2006. Parasitisme Helminthique Gastro-intestinal des moutons abattus aux abattoirs de Dakar. Thèse de doctorat soutenue publiquement le 03 Mai 2006 devant la

- Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de Dakar pour obtenir le Grade de docteur vétérinaire (diplôme d'état), 106 p.
- Paolini V., Hounzangbe-adoté M.S., Fouraste, I., Moutairou K., Hoste H., 2005. *In vitro* effects of four tropical plants on three life-cycle stages of the parasitic nematode, *Haemonchus contortus*. *Res. Vet. Sci.* 78 (2), 155-160.
- Yemoa A.L., Gbenou J.D., Johnson R.C., Djego J.G., Zinsou C., Moudachirou M., Quetin-Leclercq J., Bigot A., Portaels F., 2008. Identification et étude phytochimique de plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'ulcère de Buruli au Bénin. *Ethnopharmacologia*, n°42.
- Zhishen J., Mengcheng T., Jianming W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555-559.
- Zinsou, A.L., 2015. Evaluation *ex vivo* de l'extrait aqueux de *Pleiocarpa pycnantha* (k.schum) sur *Haemonchus contortus*, nématode parasite gastro-intestinale des petits ruminants. Mémoire pour l'obtention du diplôme de master en physiologie et applications soutenu à l'Université d'Abomey-Calavi, 63p.
- Zossou, O.W., 2014. L'élevage des caprins au Bénin : pratiques d'alimentation et gestion des ressources alimentaires locales disponibles, cas des communes de Glazoué et Kpomassè, 71p.