

EFFETS DE LA DIGESTION DANS LE RUMEN SUR LES PROPRIÉTÉS ANTHELMINTHIQUES DE *BRIDELIA FERRUGINEA* (BENTH.), *MITRAGYNA INERMIS* (WILLD.) KUNTZE ET *COMBRETUM GLUTINOSUM* (PERR. EX DC.)

Alowanou G. Géorcelin¹, Olounladé A. Pascal^{1,2}, Koudandé O. Delphin³, Babatoundé Séverin⁴, Hounzangbé-Adoté M. Sylvie¹.

RESUME

Plusieurs études réalisées ces dernières années ont montré que les plantes fourragères, *Mitragynainermis*, *Combretumglutinosum* et *Brideliaferruginea* possèdent des activités anthelminthiques *in vitro* sur les trois stades de développement du nématode *Haemonchus contortus*. La présente étude a été entreprise pour évaluer les propriétés anthelminthiques *in vitro*, des résidus issus de la digestion dans le rumen des poudres de feuilles des trois plantes sur la migration des larves L₃ de *H. contortus* et le devenir des tanins et flavonoïdes soupçonnés en être les responsables. Les résidus obtenus après incubation à des points cinétiques de 0h, 24h, 48h et 72h des poudres de feuilles des trois plantes dans le rumen des ovins munis de fistules ont servi aux différents tests. Les tanins, les flavonoïdes et les phénols totaux ont été dosés dans les extraits des résidus des plantes. Le test d'inhibition de la migration larvaire a permis d'évaluer les propriétés anthelminthiques des extraits de résidus des plantes. Les teneurs en tanins, flavonoïdes et phénols totaux dans les résidus des plantes issus de la digestion dans le rumen ont varié en fonction des temps d'incubation ($p < 0,05$) mais indépendamment des plantes incubées ($p > 0,05$). Le pourcentage d'inhibition de la migration des larves a été dose-dépendante ($p < 0,001$) et fonction du temps d'incubation des plantes ($p < 0,001$). Les trois plantes semblent avoir conservé leurs propriétés anthelminthiques après incubation *in sacco* dans le rumen confirmant l'usage de ces dernières par les petits éleveurs.

Mots clés: *Mitragynainermis*, *Combretumglutinosum*, *Brideliaferruginea*, digestion *in sacco*, propriétés anthelminthiques

ABSTRACT

Effects of digestion in the rumen on the anthelmintic properties of *Bridelia ferruginea* Benth., *Mitragyna inermis* (Willd.) Kuntze and *Combretum glutinosum* Perr. Ex De.

Several studies carried out these last years showed that the fodder plants, *Mitragyna inermis*, *Combretum glutinosum* and *Bridelia ferruginea* have an anthelmintic activity *in vitro* on the three stages of development of the nematode *Haemonchus contortus*. The present study was undertaken to evaluate the anthelmintic properties *in vitro*, residues resulting from digestion in the rumen of the leaves powders of the three plants on the migration of *H. contortus* larvae L₃ and to become of tannins, flavonoids and total phenol suspected to be the responsible. Residues obtained after incubation at kinetic points of 0h, 24h, 48h and 72h of plants leaves in the sheep's rumen were used for the various tests. The total tannins, flavonoids and phenols were proportioned in the extracts of plants residues. Inhibition test of larval migration was enabled to evaluate residues anthelmintic properties. Contents in tannins, flavonoids and phenols in plants residues resulting from digestion in the rumen were varied according to times of incubation ($p < 0,05$) but independently of plants incubated ($p > 0,05$). The percentage of inhibition of larval migration was dose dependent ($p < 0,001$) and function on the time of plants incubation ($p < 0,001$). The three plants seem to have preserved their anthelmintic properties after incubation *in sacco* into the rumen, confirming the use of these last by the small breeders.

Key words: *Mitragyna inermis*, *Combretum glutinosum*, *Bridelia ferruginea*, digestion *in sacco*, properties anthelmintic.

¹Laboratoire d'Ethnopharmacologie et de Santé Animale, Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey-Calavi, 01 BP 526 Cotonou, Bénin.

²Laboratoire Pluridisciplinaire, Ecole Nationale des Sciences et Techniques Agricoles, Université d'Agriculture de Kétou, BP : 95 Kétou, Bénin

³Laboratoire de Recherches Zootechnique, Vétérinaire et Halieutique, Institut

National des Recherches Agricoles du Bénin, 01 BP 884 Cotonou, Bénin.

⁴Laboratoire de Zootechnie, Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey Calavi, 01 BP 526 Cotonou, Bénin.

Auteur correspondant: Alowanou Goué Géorcelin, galowanou@gmail.com, (+229) 96006258, 03BP3397 Cotonou, Bénin.

Introduction

Les parasitoses digestives 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 (Hoste *et al.*, 2005 ; Andrea *et al.*, 2011) menaçant ainsi la sécurité alimentaire (Hannah *et al.*, 2015). La pathogénie des strongles gastro-intestinaux repose sur la perturbation de l'assimilation des aliments et la genèse de lésions traumatiques à la muqueuse digestive de l'hôte. Il en résulte une diminution de la fonction d'absorption, la sécrétion puis l'excrétion de substances qui perturbent de par leur nature biochimique

variée l'équilibre physiologique de l'hôte vertébré (Hoste *et al.*, 1997; Hassanpouret *et al.*, 2011). Les désordres ainsi créés ont une influence négative sur les paramètres zootechniques des animaux notamment des moutons (*et al.*, 2002). Cette influence se traduit par une diminution de l'ingestion alimentaire, une réduction du poids corporel, une diminution de la production de laine et de la production laitière chez les moutons. 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 synthèse, la cherté et l'inaccessibilité de ces derniers. Dans ces

conditions, il devient opportun d'envisager de nouvelles méthodes de lutte antiparasitaire (Satyavir Singh and Gupta, 2010) notamment l'usage des plantes médicinales potentiellement anthelminthiques (Wabo-Ponéet *al.*, 2011). Dans la perspective d'explorer ces plantes, plusieurs études ethnobotaniques et ethno-pharmacologiques ont été menées dans le monde et surtout en Afrique ces dernières décennies (Alawaet *al.*, 2003 ; Hounzangbé-Adoté, 2004 ; Gakuubi et Wanzala, 2012). Parmi ces plantes figurent *M.inermis*, *C.glutinosum* et *B.ferruginea*, trois plantes de la pharmacopée africaine utilisées par les petits éleveurs dans la lutte contre les parasitoses gastro-intestinales des ruminants (Koné *et al.*, 2008 ; Djoueché *et al.*, 2011 ; Attindéhouet *al.*, 2012). Une étude antérieure menée par Alowanouet *al* (sous presse) sur l'évaluation des propriétés anthelminthiques de la poudre de feuilles des trois plantes sur trois stades de développement de *H. contortus* *in vitro* a confirmé la pertinence de l'usage à but anthelminthique de ces plantes par les éleveurs. Les extraits des trois plantes se sont montrés efficaces en inhibant l'éclosion des œufs, la migration des larves L₃ et la motilité des vers adultes du parasite. Ces propriétés seraient rendues possibles grâce aux molécules bioactives contenues dans les différents organes des plantes notamment les tanins, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tri-terpènes, les dérivés quinoniques et les saponosides (Néné Bi *et al.*, 2009; Owoseniet *al.*, 2010; Akuodoret *al.*, 2011; Yahaya *et al.*, 2012; Soréet *al.*, 2012). *M.inermis*, *C.glutinosum* et *B.ferruginea* sont également des espèces fourragères consommées par les animaux. Cette utilisation nous conduit vers les problèmes de recherche comme l'effet de la dégradabilité *in sacco* sur les propriétés anthelminthiques des plantes dans le rumen et le devenir des molécules bioactives contenues dans les plantes après digestion au niveau du rumen. C'est dans le but de répondre à cette question de recherche que cette étude a été entreprise pour évaluer les propriétés anthelminthiques *in vitro* des résidus issus de la digestion dans le rumen des poudres de feuilles des trois plantes sur *H.contortus*.

Matériels et méthodes

Récolte et préparation des plantes

Les feuilles de *B. ferruginea*, *C. glutinosum* et *M. inermis* ont été récoltées matures respectivement à Savè, Kandiet Comé. Un herbier a été réalisé, et *B. ferruginea*, *C. glutinosum* et *M. inermis* ont été identifiées et authentifiées à l'Herbier National de l'Université d'Abomey-Calavi respectivement sous les numéros: AA6527/HNB, AA6528/HNB et AA6529/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 (5) bœufs 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 bœufs 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

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 trois 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 minutes 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 trois (03) 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 (24, 48 et 72 heures), 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 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 d'acétone dans une proportion de 70:30 (acétone-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.

Etude quantitative des extraits acétoniques des résidus issus de la digestion dans le rumen des plantes

Les métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les tanins condensés et les phénols totaux suspectés dans la littérature d'avoir des propriétés anthelminthiques ont été dosés dans les résidus des plantes issus de la digestion dans le rumen. A cet effet, pour la quantification des phénols totaux, la méthode utilisée a été basée sur celle décrite par Singleton (1998), les teneurs des flavonoïdes ont été mesurées par une méthode adaptée de Zhishen *et al.* (1999) et Kim *et al.* (2003) et le dosage des tanins condensés a été effectué selon la méthode de Heimler *et al.* (2006).

Activité biologique des trois 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 des larves.

□ 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 (Rabelet *et al.*, 1994). Une quantité connue de larves L_3 (1000 L_3 /ml) est mise en contact pendant 3 heures à 23 °C avec chaque extrait à tester à différentes concentrations (1200, 600, 300 et 150 μ g/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 μ g/ml) a été également constitué. Les larves L_3 sont ensuite rincées 3 fois et centrifugées, puis laissées en migration à travers des mailles de 20 μ m de diamètre pendant 3 heures 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 μ l. 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_3 ayant été en contact du PBS et M le nombre de L_3 en contact avec les extraits.

Analyses statistiques

Les différentes valeurs de la quantification des métabolites secondaires et 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 (R Core Team 2013). Les moyennes générées ont servi à construire les graphes d'illustration. Les différences sont considérées significatives au seuil de 5%.

Résultats

Dosage de quelques composés chimiques contenus dans l'extrait acétonique des résidus de plantes issus de la digestion dans le rumen

Dosage des phénols totaux

Aucune différence significative n'a été observée sur la teneur des phénols totaux dans les résidus en considérant la poudre de feuilles des plantes incubée ($p > 0,05$). Néanmoins la teneur des phénols a variée en fonction des différents temps d'incubation ($p < 0,05$). Il aurait eu d'énormes pertes en concentration des phénols totaux ($p < 0,05$) de 0h (avant incubation) à 72h (après incubation) dans les résidus issus de la digestion dans le rumen de la poudre des plantes (Figure 1). Cependant excepté les extraits de *M. inermis*, entre les points cinétiques 24h, 48h et 72h la perte a été négligeable ($p > 0,05$) (Figure 1).

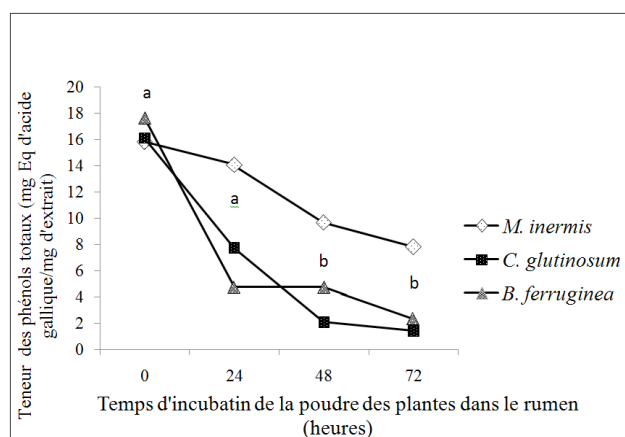


Figure 1: Teneur des phénols totaux dans les résidus et la poudre simple des plantes.

Les valeurs avec des lettres différentes sont significatives à $p < 0,05$.

Dosage des flavonoïdes totaux

La variation de la teneur des flavonoïdes dans les résidus n'a été ni fonction de la plante ($p > 0,05$) ni du temps d'incubation des plantes ($p > 0,05$). Il aurait eu du début de l'incubation (0h) à la fin (72h) une baisse significative ($p > 0,05$) en concentration des flavonoïdes dans la poudre de feuilles des plantes au niveau du rumen (Figure 2). Néanmoins notons que 24h après l'incubation des plantes, leur teneur a sensiblement augmenté avant de baisser (Figure 2). Cette légère augmentation laisse penser à un effet additif des molécules chimiques lors de la perte de matière au niveau des poudres incubées au cours de la digestion dans le rumen.

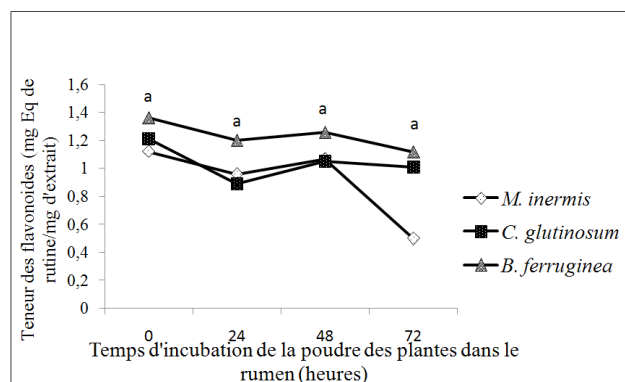


Figure 2: Teneur des flavonoïdes dans les résidus et la poudre simple des plantes.

Les valeurs avec des lettres différentes sont significatives à $p < 0,05$.

Dosage des tanins condensés totaux

La teneur des tanins dans les résidus des plantes a variée en fonction du temps d'incubation des plantes ($p < 0,05$) mais pas suivant la plante incubée ($p > 0,05$) (Figure 3).

Une diminution significative ($p < 0,05$) de la teneur en tanin dans la poudre simple (avant incubation) aux résidus de poudre (après incubation) des trois plantes a été constatée (Figure 3). Cependant entre les points cinétiques 24h, 48h et 72h la différence n'était pas significative ($p > 0,05$). Il y aurait eu un effet additif 48h après l'incubation des plantes puisque la teneur en tanins de *M. inermis* a sensiblement augmentée (0,89 mg) par rapport au temps d'incubation 24h (0.7 mg) (Figure 3).

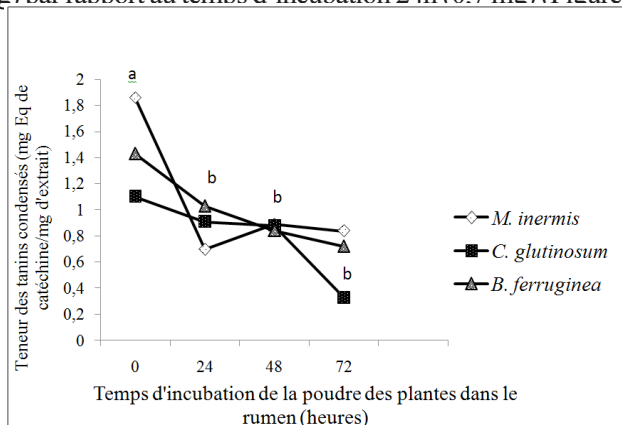


Figure 3: Teneur des tanins condensés dans les résidus et la poudre simple des plantes.

Les valeurs avec des lettres différentes sont significatives à $p < 0,05$.

Effets de l'extrait acétonique des résidus des trois plantes issus de la digestion sur la migration des larves (L_3) de *Haemonchus contortus*

L'action inhibitrice des plantes sur la migration des larves de *H. contortus* a été dose dépendante ($p < 0,001$) et fonction du temps d'incubation des plantes d'autre part ($p < 0,001$) (Figures 4,5et 6).

Aux fortes doses de 1200 et 600 $\mu\text{g/mL}$ la migration des larves de *B. ferruginea* a été fortement inhibée quel que soit le type d'extrait et le temps d'incubation de la plante ($p < 0,05$) (Figure 4). Cependant, à la dose moyenne de 300 $\mu\text{g/mL}$, l'extrait simple et celui de la poudre incubée à 48h ont significativement bloqué la migration des larves ($p < 0,05$). A la faible dose de 150 $\mu\text{g/mL}$ excepté la poudre incubée à 24h, l'effet inhibiteur des extraits de la plante a été non négligeable ($p < 0,05$) (Figure 4).

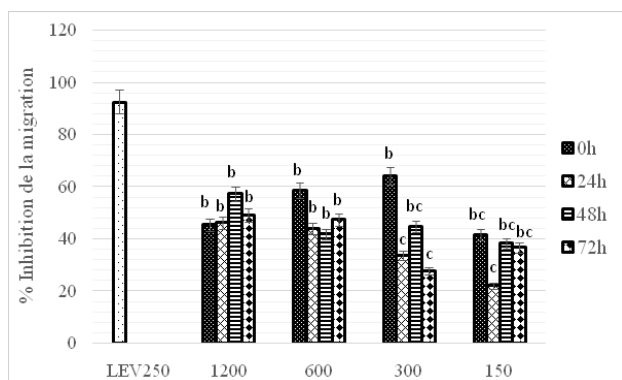


Figure 4: Variation de l'inhibition de la migration larvaire de *H. contortus* en fonction du temps d'incubation de *B. ferruginea* dans le jus de rumen des ovins.

Chaque bande représente la moyenne \pm ESM, $n = 3$, a ($p < 0,001$) ; b ($p < 0,01$) et c ($p < 0,05$) comparé au témoin négatif (PBS).

Les extraits des résidus de *C. glutinosum* à l'exception de l'extrait du résidu de 72h à la dose de 300 $\mu\text{g/mL}$ ont significativement réduit la migration des larves aux doses de 1200, 600 et 300 $\mu\text{g/mL}$ ($p < 0,05$) (Figure 5). La différence entre les effets de l'extrait de la poudre simple et ceux des résidus de la plante n'a pas été significative ($p > 0,05$) (Figure 5).

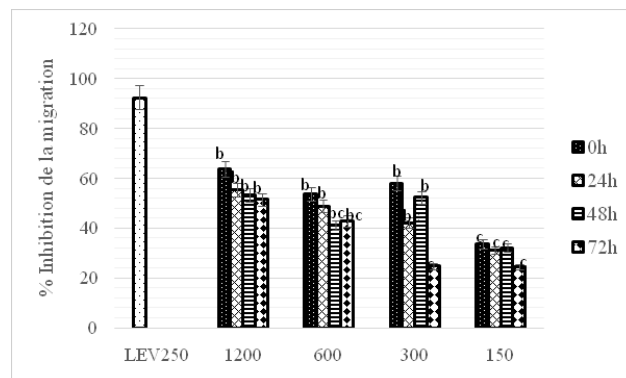


Figure 5: Variation de l'inhibition de la migration larvaire de *H. contortus* en fonction du temps d'incubation de *C. glutinosum* dans le jus de rumen des ovins. Chaque bande représente la moyenne \pm ESM, $n = 3$, a ($p < 0,001$) ; b ($p < 0,01$) et c ($p < 0,05$) comparé au témoin négatif (PBS).

L'extrait de la poudre simple et ceux des résidus de *M. inermis* ont inhibé à plus de 40% la migration des larves de *H. contortus* quelle que soit la dose et le temps d'incubation excepté les extraits de 24h, 72h de la dose 300 $\mu\text{g/mL}$ et ceux de 0h, 24h et 72h de la dose 150 $\mu\text{g/mL}$ (Figure 6). L'action inhibitrice obtenue avec l'extrait de la poudre simple a été pratiquement la même avec les extraits des résidus de la plante ($p > 0,05$) (Figure 6).

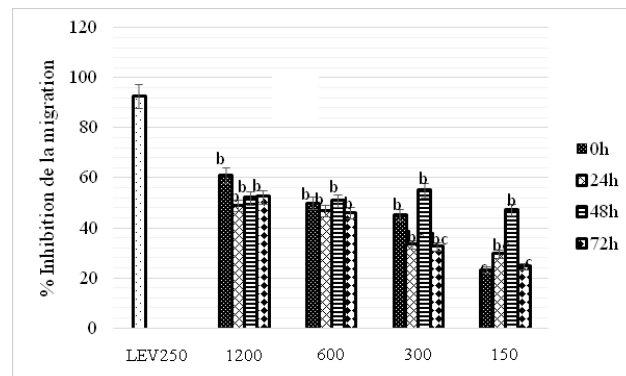


Figure 6: Variation de l'inhibition de la migration larvaire de *H. contortus* en fonction de la dose et du temps d'incubation de *M. inermis* dans le jus de rumen des ovins. Chaque bande représente la moyenne \pm ESM, $n = 3$, a ($p < 0,001$) ; b ($p < 0,01$) et c ($p < 0,05$) comparé au témoin négatif (PBS).

Discussion

L'efficacité des feuilles de *M. inermis*, *C. glutinosum* et *B. ferruginea* dans une étude récente a été démontrée sur trois stade de développement (œufs, larves, vers adultes) du parasite hématophage *H. contortus* (Alowanouet al., sous presse). Le test de migration larvaire utilisé dans l'étude pour évaluer l'effet antiparasitaire des résidus des plantes est un test rapide et moins couteux pour la détermination de l'effet des substances qui pourraient causer la paralysie des nématodes gastro-intestinaux (D'Assonvilleet al., 1996). Les extraits du résidu des plantes issu de la digestion dans le rumen d'une manière générale ont inhibé la migration des

larves de *H. contortus* et cette inhibition est dose dépendante avec une efficacité beaucoup plus prouvée avec *M. inermis* et *C. glutinosum*. Les deux plantes se sont montrées en effet plus efficaces que *B. ferruginea* dans l'étude précédente qui a porté sur l'effet de la poudre simple des plantes (Alowanou *et al.*, sous presse). Les plantes ont conservé leur efficacité après une incubation dans le rumen de 24 à 72h. La diminution de la migration des larves L₃ par les extraits des résidus des plantes observée 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), Brunet (2008) ont montré que les flavonoïdes induisaient des altérations structurelles au niveau des larves infestantes empêchant ainsi leur migration. Les flavonoïdes et les tanins contenus dans la fraction polaire de *Leucaena leucocephala* (Adémola *et al.*, 2005) ont montré un effet sur la migration des larves L₃ de *H. contortus*. De même Olounladé *et al.* (2011) ont rapporté une inhibition de migration des larves L₃ de *H. contortus* due aux tanins pour *Zanthoxylum zanthoxyloides* et *Newbouldialaavis*. Notons dans cette étude une augmentation de l'effet anthelminthique des extraits des résidus des plantes après 48h d'incubation. Cette observation peut être expliquée par l'effet additif des métabolites secondaires en l'occurrence les tanins. L'évolution de la teneur des flavonoïdes dans les résidus n'a été ni fonction de la plante incubée ni du temps d'incubation des plantes. Cette observation laisse penser que la digestion par les bactéries dans le rumen n'a eu aucun effet sur la structure et le métabolisme de ce composé chimique. Ce qui expliquerait la forte inhibition de la migration des larves L₃ par les extraits des résidus issus des plantes ayant subi la digestion dans le rumen.

Une perte non négligeable de la teneur en tanins condensés et en phénols totaux dans le rumen a été observée au cours de l'incubation de la poudre de feuilles des plantes. 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). La formation des complexes tanins condensés-protéines serait à la base de la diminution de la teneur en tanins condensés observée et de manière logique celle des phénols totaux. Mais cette perte est quand même bénéfique pour les animaux. Au fait, un apport faible et modéré de tanins condensés produit des effets positifs sur les paramètres zootechniques, la physiologie digestive et la santé des animaux (Min *et al.*, 2003; Waghorn et Mc Nabb, 2003). Ainsi la concentration en tanins condensés dans les résidus des plantes après incubation a été suffisante pour inhiber fortement la migration des larves de *H. contortus* dans cette étude. En étude *in vivo*, le mécanisme s'explique mieux. 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 (Hounzangbé-Adoté, 2004 ; Marie-Magdeleine *et al.*, 2010 ; Azando *et al.*, 2011).

Conclusion

La présente étude a mis en évidence *in vitro* l'action inhibitrice des extraits des résidus de *B. ferruginea*, *C. glutinosum* et *M. inermis* sur la migration des larves infestantes de *H. contortus*. Les propriétés anthelminthiques des plantes sont conservées après une incubation *in sacco* dans le rumen avec de légères variations malgré les pertes en métabolites secondaires enregistrées. Ce travail conforte encore plus le choix des petits éleveurs de l'Afrique de l'Ouest à traiter leurs animaux par l'usage des trois plantes. Néanmoins il serait intéressant dans des études ultérieures de voir le mode d'action de ces métabolites secondaires soupçonnés en être les responsables.

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 et le Rectorat de l'Université d'Abomey-Calavi du Bénin à travers le Projet « Valorisation des plantes médicinales de la pharmacopée béninoise pour l'amélioration de la santé animale et humaine (VPMAS) » pour le financement de cette étude. Profondes gratitude à l'endroit des reviewers pour leurs précieuses contributions au manuscrit.

Références

- Adémola IO, Akanbi AI, Idowu SO (2005). Comparative nematocidal activity of chromatographic fraction of *Leucaena leucocephala* seed against gastrointestinal sheep nematodes. *Pharmacy and Biology*, 43: 599-604.
- Aerts RJ, Barry TN, McNabb WC (1999). Polyphenols and agriculture: beneficial effects of proanthocyanidins in forages. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 75 (1-2): 1-12.
- Akuodor GC, Mbah CC, Anyalewechi NA, Idris-Usman M, Iwuanyanwu TC, Osunkwo UA (2011). Pharmacological profile of aqueous extract of *Bridelia ferruginea* stem bark in the relief of pain and fever. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(22): 5366-5369.
- Alawa CBI, Adamu AM, Gefu JO, Ajanusi OJ, Abdu PA, Chiezey NP, Alawa JN, Bowman DD (2003). *In vitro* screening of two Nigerian medicinal plants (*Vernonia amygdalina* & *Annona senegalensis*) for anthelmintic activity. *Veterinary Parasitology*, 113: 73-81.
- Alawa CBI, Adamu AM, Gefu JO, Ajanusi OJ, Abdu PA, Chiezey NP, Alawa JN, Bowman DD (2003). *In vitro* screening of two Nigerian medicinal plants (*Vernonia amygdalina* and *Annona senegalensis*) for anthelmintic activity. *Veterinary Parasitology*, 113: 73 - 81.
- Alowanou GG, Azando VBE, Olounladé AP, Adenilé DA, Akouédégni CG, Daga DF, Hounzangbé-Adoté MS. *In vitro* anthelmintic activity of *Bridelia ferruginea*, *Combretum glutinosum* and *Mitragyna inermis* leaves extracts on three life - cycle stages of

the parasitic nematode, *Haemonchus contortus*. (Submitted).

Andrea B, Doeschl-Wilson R, Davidson J, Conington T, Roughsedge MR, Hutchings BV (2011). Implications of host genetic variation on the risk and prevalence of infectious diseases transmitted through the environment. *Genetics*, 188: 683-693.

Attindéhou S, Hounnigmassoun MA, Salifou S, Biaou CF (2012). Inventorying of herbal remedies used to control small ruminant's parasites in Southern Benin. *International Multidisciplinary Research Journal*; 2(8):14-16.

Azando EVB, Hounzangbé-Adoté MS, Olounladé PA, Brunet S, Fabre N, Valentin A, Hoste H (2011). Involvement of tannins and flavonoids in the *in vitro* effects of *Newbouldialaevis* and *Zanthoxylum zanthoxyloides* extracts on the exsheathment of third-stage infective larvae of gastrointestinal nematodes. *Veterinary Parasitology*; 180 : 292-297.

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. Gembloux Agro-Bio Tech (ULg) - Université de Liège. 265 p

Brunet S (2008). Analyse des mécanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en substances polyphénoliques sur les nématodes du tube digestifs des ruminants. Thèse de Doctorat, Université Paul Sabatier de Toulouse, 2008. 246 pp.

Bruneton J (1999). Tannins. In: *Pharmacognosie, phytochimie, Plantes*

Butter NL, Dawson JM, Buttery PJ (1999). Effects of dietary tannins on ruminants. In: *Secondary Plant Products* Nottingham-University-Press, Nottingham, pp. 51-70.

D'Assonville JA, Janovsky E, Versley A (1996). In vitro screening of *Haemonchus contortus* third stage larvae for ivermectin resistance. *Veterinary Parasitology*, 61:73-80.

Djoueché CM, Azebaze AB, Dongmol AB (2011). Investigation of Plants Used for the ethnoveterinary control of gastrointestinal parasites in Bénoué Region, Cameroon. *Tropicicultura*; 29(4): 205-211.

Gakuubi MM, Wanzala W (2012). A survey of plants and plant products traditionally used in livestock health management in Buuri district, Meru County, Kenya. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 8:39.

Hassanpour S, Eshratkhab B, Sadaghian M, Maherisis N, Chaichisem Sari M (2011). Relationship between plasma minerals and nematode infection load in Moghani ewes. *Global Veterinaria*, 6 (4):357-361.

Heimler D, Vignolini P, Dini MG, Vincieri FF, Romani A (2006). Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. *Food Chemistry*, 99: 464-469.

Hoste H, Huby F, Mallet S (1997). Strongyloses gastro-intestinales des ruminants: conséquences physiopathologiques et mécanismes pathogéniques. *Point Vétérinaire*, 28: 53-59.

Hoste H, Torres-Acosta JFJ, 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 Res.* 60, 141-151.

Hounzangbé-Adoté MS (2004). Propriétés anthelminthiques de 4 plantes tropicales testées *in vitro* et *in vivo* sur les nématodes gastro-intestinaux chez les petits ruminants Djallonké. Thèse de doctorat, Université' Abomey-Calavi, Bénin.

Kim DO, Chun OK, Kim YJ, Moon HY, Lee CY (2003). Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 16:509-515.

Koné MW, Kamanzi A (2008). Ethnobotanical inventory of medicinal plants used in traditional veterinary. *South African Journal of Botany*, 74: 76-84.

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.

Min BR, Barry TN, Attwood GT, McNabb WC (2003). The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. *Animal Feed Science and Technology*; 106 (1-4), 3-19.

Molan AL, Duncan AJ, Barry TN, McNabb WC (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.

Néné BSA, Traoré F, Soro TY, Souza A (2009). Etudes phytochimique et pharmacologique de *Bridelia ferruginea* benth (euphorbiaceae) sur la motricité du taenia coli de cobaye. *Afrique Science*, 05(2) : 305 - 320.

Olounladé PA, Hounzangbé-Adoté MS, Azando EVB, Tam Ha TB, Brunet S, Moulis C, Fabre N (2011). Etude *in vitro* de l'effet des tannins de *Newbouldialaevis* et de *Zanthoxylum zanthoxyloides* sur la migration des larves infestantes de *Haemonchus contortus*. *International Journal of Biological and Chemical Science*; 5: 1414-1422.

Owoseni A, Abimbola A, Ayanbamiji TA, Ajayi YO, Ikeoluwa B (2010). Antimicrobial and phytochemical analysis of leaves and bark extracts from *Bridelia ferruginea*. *African Journal of Biotechnology*, 9(7): 1031-1036.

Perry B, Randolph TH, Mcdermont JJ, Sones KR, Thornton PK (2002). Investing in Animal Health Research to alleviate Poverty. International Livestock Research Institute (ILLRI), Nairobi, Kenya.

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/>.

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.

Satyavir S, Gupta SK (2010). A survey of anthelmintic

resistance in gastrointestinal nematode in sheep of Haryana. *Haryana Veterinary*, 49: 25-28.

Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM (1998). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu's 299:152-170.

Soré H, Hilou A, Sombie PAED, Compaoré M, Meda R, Millogo J, Nacoulma OG (2012). Phytochemistry and biological activities of extracts from two Combretaceae found in Burkina Faso: *Anogeissus leiocarpus* (DC) Guill. And Perr. And *Combretum glutinosum* Perr. Ex D C. *Universal Journal of Environmental Research and Technology*, 2 (5): 383-392.

WaboPoné J, Yondo J, Fossi TO, Komtangi MC, BilongBilong CF, MpoameM (2011). The *in vitro* effects of *Chenopodium ambrosioides*

(Chenopodiaceae) extracts on the parasitic nematode *Heligmosomoides bakeri* (Nematoda, Heligmosomatidae). *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 3(4): 56-62.

Waghorn, G, McNabb WC (2003). Consequences of plant phenolic compounds for productivity and health of ruminants. *Proc. Nutr. Soc.* 62, 383-392.

Yahaya O, Yabefa JA, Usman B (2012). Phytochemical screening and antibacterial activity of *Combretum glutinosum* extract against some human pathogens. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*, 3(5): 233-236.

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.