



HAL
open science

Control of gastro-intestinal parasites with essential oil from *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Fagara zanthoxyloides)

E.V.B. Azando, P. A. Olounlade, M.S. Hounzangbé-adoté, T. B. Tam Ha,
Nicolas Fabre, Alexis Valentin

► **To cite this version:**

E.V.B. Azando, P. A. Olounlade, M.S. Hounzangbé-adoté, T. B. Tam Ha, Nicolas Fabre, et al..
Control of gastro-intestinal parasites with essential oil from *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Fagara
zanthoxyloides). *Revue de Médecine Vétérinaire*, 2017, 168 (10-12), pp.205-212. hal-03148830

HAL Id: hal-03148830

<https://ut3-toulouseinp.hal.science/hal-03148830v1>

Submitted on 26 Mar 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Contrôle des parasitoses gastro-intestinales ovines par l'huile essentielle de *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* (*Fagara zanthoxyloïdes*)

E.V.B. AZANDO^{1*}, A.P. OLOUNLADE¹, M.S. HOUNZANGBE-ADOTE¹, T. B. TAM HA², N. FABRE², A. VALENTIN²

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

²UMR 152, IRD/UPS, Pharmaco-chimie des substances naturelles et pharmacophores rédox, Faculté des Sciences Pharmaceutiques, Université Paul Sabatier, Toulouse III, 35 Chemin des Maraîchers, 31062 Toulouse Cedex, France.

*Auteur chargé de la correspondance : verickaz@yahoo.fr

RESUME

Dans le but d'évaluer les propriétés anthelminthiques de l'huile essentielle de *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* communément appelé *Fagara* sur les nématodes parasites gastro-intestinaux, des agneaux Djallonké ont été traités par voie orale à raison de 1 mL/kg ou de 2 mL/kg de suspension huileuse à 0.42% pendant 3 jours lors d'infestation naturelle ou d'infestation contrôlée avec des larves infestantes L3 d'*Haemonchus contortus* et de *Trichostrongylus colubriformis* à raison de 3000 larves par animal. Par rapport aux témoins non traités, l'huile essentielle de *Fagara* a significativement ($p < 0.05$) réduit l'excrétion fécale des œufs de strongles ainsi que la viabilité des vers adultes et leur prolificité et a permis le maintien du poids vif et de l'hématocrite durant les 5 semaines d'expérimentation indépendamment des doses testées. De plus, ce traitement a considérablement limité l'implantation des larves infestantes d'*Haemonchus* et de *T. colubriformis* de façon dose-dépendante pour ces dernières. Ces résultats démontrent que l'huile essentielle de *Fagara* présente des effets antihelminthiques puissants et après identification de la totalité des principes actifs, l'usage de cette huile essentielle pourrait constituer une alternative à l'emploi des anthelminthiques chimiques.

Mots-clés: Huile essentielle, *Zanthoxylum zanthoxyloïdes*, *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis*, Ovins Djallonké, excrétion des œufs, Larves L3, implantation larvaire, prolificité.

SUMMARY

Control of gastro-intestinal parasites with essential oil from *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* (*Fagara zanthoxyloïdes*)

In order to evaluate the anthelmintic properties of the essential oil of *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* commonly named *Fagara* on the nematode gastrointestinal parasites, Djallonké breed lambs have been orally treated with 1 mL/kg and 2 mL/kg of the essential oil diluted to 0.42% for 3 days during natural infestation or controlled infestation with larvae L3 of *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* at the rate of 3000 larvae by animal. Compared to the not treated witnesses, the *Fagara* essential oil has significantly ($p < 0.05$) reduced the faecal excretion of strongle eggs, the viability and prolificacy of the adult worms and has assured the maintenance of the body weight and the haematocrit throughout the 5 week long trial, independently of the doses tested. In addition, this treatment has markedly alleviated the larvae L3 implantation with a dose-effect relation only on the *T. colubriformis* larvae. These results clearly show that the *Fagara* essential oil exhibit some powerful antihelminthic effects and after identification of the all active substances, the use of this essential oil would contribute to limit the use of chemical anthelmintic compounds.

Keywords: essential oil, *Zanthoxylum zanthoxyloïdes*, *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis*, Djallonké sheep breeds, egg excretion, Larvae L3, larvae implantation, prolificacy.

Introduction

Les helminthoses digestives constituent une dominante pathologique chez les petits ruminants entretenus au pâturage et peuvent parfois entraîner des pertes de production importantes [14, 21, 43]. L'action pathogène des strongles gastro-intestinaux se fait selon trois grandes modalités, par perturbation de l'assimilation des aliments (ingestion, digestion et métabolisation), par action purement mécanique (lésions traumatiques de la muqueuse digestive de l'hôte induites par la capsule buccale dentée de certains vers de la famille des *Strongylidae* et abrasion puis diminution de la fonction d'absorption des villosités intestinales en contact étroit avec les parasites [22]) et sécrétion puis excrétion de substances qui perturbent par leur nature biochimique variée l'équilibre physiologique de l'animal [22]. De plus, à l'état adulte, les mâles et les femelles de *Haemonchus contortus* sont hémato-phages. La ponction sanguine est importante :

il a été estimé qu'un mouton parasité par 5000 *H. contortus* perdait l'équivalent de 250 mL de sang par jour [42].

Il apparaît donc indispensable de contrôler au mieux le parasitisme. Depuis plusieurs décennies, le contrôle du parasitisme chez les ruminants s'appuie essentiellement sur l'utilisation de molécules anthelminthiques, dont l'efficacité n'a cessé d'augmenter au fur et à mesure du développement de nouvelles familles. Mais parallèlement à un emploi croissant et pas toujours raisonné de ces produits chimiques, de plus en plus de parasites sont devenus résistants aux antiparasitaires [10, 15, 44]. Face à l'inquiétante généralisation de la résistance des nématodes à ces produits, il devient primordial de mettre au point de nouvelles méthodes de contrôle du parasitisme. Dans le but de préserver l'efficacité des produits existants et de limiter l'expansion du phénomène de résistance, des méthodes alternatives doivent être envisagées et mises en place dans un avenir proche. Il n'y a pas aujourd'hui de

méthode permettant de s'affranchir totalement de l'emploi des anthelminthiques classiques [8], mais la production doit répondre aux attentes des consommateurs de plus en plus portés vers un élevage avec un moindre usage d'intrants chimiques [18, 45].

La faible couverture vaccinale, combinée à l'inaccessibilité des produits vétérinaires et intrants zootechniques [18, 46], ainsi que les contrefaçons, prédisposent tout naturellement les éleveurs à faire grandement recours à un ensemble de remèdes à base des plantes et/ou minéraux pour soigner leurs animaux. Les savoir-faire de ces éleveurs, longtemps ignorés ou méprisés, ont été valorisés depuis quelques années, suite aux échecs des politiques de développement pastoral et grâce surtout aux travaux de recherches entrepris dans le domaine. En effet, les éleveurs nomades, pour faire face aux nombreuses maladies animales, utilisent un riche arsenal thérapeutique du fait de leurs connaissances séculaires et ancestrales de l'art vétérinaire [1, 5]. La flore africaine réputée pour sa richesse comprend des milliers d'espèces végétales parmi lesquelles certaines ont été scientifiquement étudiées et ont abouti à des médicaments utilisables dans les soins de santé primaire selon les recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé [28].

La feuille de *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* administrée à raison de 3 fois par semaine chez les petits ruminants diminue le taux de parasite [24] mais, il se pose chez les éleveurs un problème de dosage de la quantité de feuilles consommées. Il est aussi une réalité que l'essence est en voie de diminution car assez sollicitée en pharmacopée traditionnelle pour ses propriétés antiparasitaires, antiseptiques, antibactériennes, antianémiques, anti drépanocytaires ... en plus de son utilisation en tant que fourrage en dépit de ses épines qui génèrent des stomatites chez les ruminants. Toutes les parties de la plante (racines, tiges, écorce, feuilles, graines ...) entrent dans différentes préparations. Or, l'huile essentielle extraite des graines est plus concentrée en substances actives et devrait permettre l'administration de petites quantités douées d'une grande efficacité antiparasitaire. Il devient alors intéressant d'explorer d'autres formes d'utilisation du *Zanthoxylum* comme les huiles essentielles obtenues à partir des graines dont la récolte ne constitue pas une menace pour la plante. C'est dans cette perspective que la présente recherche a été entreprise.

Matériel et Méthodes

PRÉPARATION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE ZANTHOXYLUM ZANTHOXYLOÏDES

L'huile essentielle de *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* a été obtenue par hydro-distillation des fruits secs de *Fagara*, une Rutacée tropicale. L'authentification de cette plante a été faite par référence à l'Herbier National de la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université d'Abomey-Calavi. L'extraction a été réalisée à partir des graines mûres récoltées en novembre

et décembre, triées, mises à sécher et remuées régulièrement pendant 2 semaines à sec, à l'ombre, à l'abri de l'humidité et de toute source de chaleur et de lumière (l'essence étant thermosensible et photosensible). Les graines concassées à froid dans un broyeur ont ensuite subi une distillation immédiate. L'huile qui surnage au dessus de l'eau a été séparée et l'eau florale a ensuite été bi-distillée pour recueillir un maximum d'huile. Après séchage, 50 kg de graines fraîches ont donné 19,1 kg de graines sèches qui ont fourni 125 mL d'huile pure. Le rendement en huile essentielle est de 6,54 mL / kg de graine sèche. L'huile essentielle obtenue a tout d'abord été diluée dans l'alcool éthylique à 96° puis diluée dans l'eau à raison de 1 mL d'huile pure et de 47 mL d'éthanol à 96° et 192 mL d'eau (soit 240 mL de solution 0.42% prête à l'emploi).

ANIMAUX ET PROTOCOLES EXPÉRIMENTAUX

Les animaux inclus dans l'expérience sont des ovins Djallonké âgés de 4 à 6 mois, vaccinés avant le début de l'expérimentation contre la peste des petits ruminants (Ovipeste®), ayant subi un traitement contre les trypanosomoses à l'acéturate de diminazène (Bérényl®) et recevant tous les mois un bain détiqueur à base d'Amitraz (Taktic®). Ils ont disposé de fourrages secs de *Panicum maximum* C1, de blocs de pierre à lécher et d'eau à volonté et ils ont reçu un complément alimentaire (200g/animal/jour) de mélange de tourteaux de coton, de soja et de palmiste.

Durant une première expérimentation, trois lots de 5 animaux ont été exposés à une infestation naturelle en pâturant dans des enclos séparés. Alors que ceux du 1^{er} lot n'ont reçu aucun traitement, les ovins des 2 autres groupes ont été traités sur 3 jours à J₁₄, J₁₅ et J₁₆ par voie orale par l'huile essentielle de *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* à raison respectivement de 1 mL de solution à 0.42% par kg (soit 1 mL d'huile pure pour 240 kg de poids vif) et de 2 mL de solution à 0.42% par kg (soit 1 mL d'huile pure pour 120 kg de poids vif). Les animaux ont été pesés toutes les semaines pendant 5 semaines au total et les crottes ont été collectées également de façon hebdomadaire afin de mesurer l'excrétion parasitaire. Le nombre d'œufs par gramme de fèces (OPG) a été déterminé tous les 7 jours par la méthode quantitative de Mc MASTER [19]. La fertilité individuelle des vers femelles a été mesurée par la technique décrite par KLOOSTERMAN *et al.* [29]. En parallèle, les moutons ont subi un prélèvement sanguin à la veine jugulaire toutes les semaines et l'hématocrite a été déterminé par centrifugation (12000g, 5 min) du sang total prélevé sur EDTA. Les animaux ont été abattus entre J₂₈ et J₃₅ pour effectuer un bilan parasitaire consistant en l'identification et la numération des parasites intestinaux et de leurs stades larvaires.

Dans une seconde expérimentation, correspondant à une infestation expérimentale, 3 lots de 5 animaux chacun ont été placés dans des enclos séparés préalablement traités par l'Albendazole (Benzal®) à la dose de 7,5 mg/kg PV, puis infestés artificiellement 2 semaines plus tard, à J₁₅, avec un mélange de 3000 larves L3 de *Haemonchus contortus* et de

Trichostrongylus colubriformis. De même que précédemment, les moutons du 1^{er} lot n'ont reçu aucun traitement tandis que ceux des 2 autres lots ont été traités par voie orale sur 3 jours (de J₁₄ à J₁₆) par respectivement 1 mL d'huile essentielle pure de *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* pour 240 kg de poids vif (1 mL de solution à 0.42%/kg) et 2 mL d'huile essentielle pure de *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* pour 120 kg de poids vif (2 mL de solution à 0.42%/kg). Les animaux ont été sacrifiés à J₃₀ en vue de l'établissement du bilan parasitaire selon les mêmes modalités que précédemment.

ANALYSE STATISTIQUE

Pour minimiser les variations, les OPG ont subi une transformation $\log(x + 1)$ avant analyse statistique. Cette dernière a été réalisée en utilisant le modèle linéaire général GLM (Systat Ltd) pour la comparaison entre divers traitements et la mise en évidence de l'effet dose. Il a été également utilisé le logiciel Excel 2003[®] de Microsoft[®] pour réaliser une étude statistique descriptive. La différence entre deux valeurs moyennes comparées et testées avec une probabilité $p < 0.05$ a été considérée significative.

Résultats

EFFET SUR L'EXCRÉTION FÉCALE DES ŒUFS

Lors de l'infestation naturelle, l'excrétion des œufs par les vers adultes a progressivement augmenté pendant les 2 premières semaines chez l'ensemble des agneaux (avant administration de l'huile essentielle de *Fagara* dans les lots 2 et 3) mais, alors que la quantité d'œufs excrétés a considérablement augmenté chez les agneaux témoins non traités de J₂₁ à J₃₅, les OPG ont significativement diminué par rapport aux témoins ($p < 0.05$) entre J₁₄ et J₂₁ (1 semaine après le traitement) de 73% et de 64% chez les lots traités par respectivement 1 mL/kg (lot 2) et 2 mL/kg (lot 3) de suspension huileuse à 0.42% (figure 1). A J₃₅ (3 semaines après traitement), l'excrétion des œufs a été réduite de 89% dans le lot 2 et de 81% dans le lot 3. Néanmoins, le taux de réduction de l'excrétion fécale des œufs mesurée dans les 2 lots traités n'a pas présenté de différence significative ($p > 0.05$) en fonction de la dose d'huile de *Fagara* reçue.

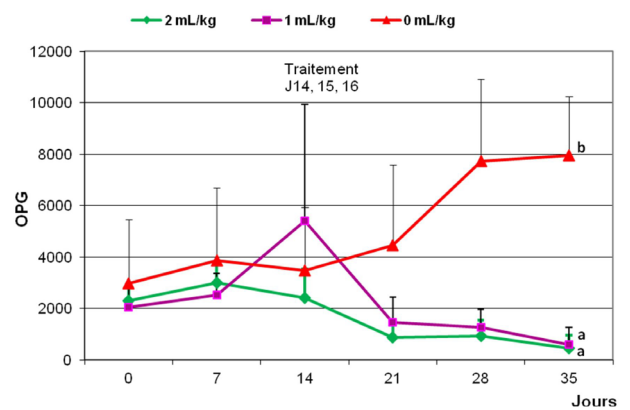


FIGURE 1 : Variations de l'excrétion des œufs par les strongles adultes (OPG : nombre d'œufs par gramme de fèces) en fonction du temps (témoins) et de l'administration par voie orale de J₁₄ à J₁₆ d'huile essentielle de *Fagara* (*Zanthoxylum zanthoxyloïdes*) à 0.42% à raison de 1 mL/kg/j et de 2 mL/kg/j chez des agneaux Djallonké naturellement infestés (n = 5 par groupe).

EFFET SUR LA VIABILITÉ ET LA FERTILITÉ DES VERS ADULTES

D'après le bilan parasitaire réalisé à l'abattage des animaux naturellement infestés (Tableau I), le nombre de parasites adultes (*Trichostrongylus* et *Haemonchus*) a significativement diminué chez ceux traités par l'huile essentielle de *Fagara* par rapport aux témoins non traités ($p < 0.05$) : en effet, le nombre total de vers adultes de *Trichostrongylus* dénombré à l'examen post-mortem était de 1700 pour le lot témoin contre 120 (réduction de 93%) et 191 (réduction de 89%) respectivement pour les lots traités avec 1 mL/kg et 2 mL/kg de suspension huileuse à 0.42% et le nombre d'*Haemonchus* adultes est passé de 3400 chez les témoins à 138 (lot 2, réduction de 96%) et 256 (lot 3, réduction de 92%) en moyenne.

De façon similaire, le dénombrement des œufs isolés de l'utérus des *Haemonchus* femelles a été diminué significativement ($p < 0.05$) par l'administration d'huile essentielle de *Fagara*, passant de 148 œufs/ver femelle en moyenne chez les individus non traités à 48 (réduction de 68%) et 73 (réduction de 51%) respectivement pour les lots traités avec 1 mL/kg et 2 mL/kg de suspension huileuse à 0.42% (Tableau I).

Parasites	Lots	Vers adultes ¹	Prolificté ²
<i>Trichostrongylus colubriformis</i>	0 mL/kg	1700 ± 1018 ^a	ND
	1 mL/kg	120 ± 51 ^b	ND
	2 mL/kg	191 ± 88 ^b	ND
<i>Haemonchus contortus</i>	0 mL/kg	3400 ± 2467 ^a	148 ± 36 ^a
	1 mL/kg	138 ± 76 ^b	48 ± 24 ^b
	2 mL/kg	256 ± 64 ^b	73 ± 17 ^b

¹Nombre de vers adultes dénombrés dans le tractus gastro-intestinal des moutons à l'abattage ; ²Nombre d'œufs isolés dans l'utérus des vers femelles ; ND : non déterminé.

Les différents exposants a,b dans une même colonne indiquent une différence significative ($p < 0.05$) entre les lots pour le paramètre considéré.

TABLEAU I : Comparaisons de la viabilité des strongles adultes (*Trichostrongylus colubriformis* et *Haemonchus contortus*) et de la prolificté des vers femelles entre les agneaux témoins (n = 5) et ceux traités par une administration orale de J₁₄ à J₁₆ d'huile essentielle de *Fagara* (*Zanthoxylum zanthoxyloïdes*) à 0.42% à raison de 1 mL/kg/j et de 2 mL/kg/j chez des agneaux Djallonké naturellement infestés (n = 5 par groupe).

Cependant, la réduction de la viabilité des strongles adultes et la fertilité des femelles n'ont pas significativement varié en fonction de la dose d'huile administrée et au contraire, le nombre de vers adultes encore présents et le nombre d'œufs chez les parasites femelles ont été numériquement plus importants (mais non significativement) chez les ruminants traités par la plus forte dose.

VARIATIONS DU POIDS VIF ET DE L'HÉMATOCRITE

Chez les témoins non traités, le poids vif a varié de 10,25 à 9 kg durant les 5 semaines d'expérimentation et il est resté relativement stable chez les agneaux ayant reçu l'huile essentielle de *Fagara* diluée à 0.42%, compris entre 11 et 10 kg pour les animaux du lot 2 (1 mL/kg) et entre 10,50 et 10 kg pour ceux du lot 3 (2 mL/kg). Comme le montre la figure 2, l'hématocrite chez les ovins infestés naturellement et non traités a continuellement décliné au cours des 5 semaines d'expérimentation et a atteint de faibles valeurs (inférieures à 23%) à J₂₈ et J₃₅ alors que ce paramètre s'est maintenu stable, entre 25% et 27%, durant toute la période d'infestation, y compris durant les 4^{ème} et 5^{ème} semaines chez les animaux ayant reçu l'huile essentielle de *Fagara* (lots 2 et 3) : (p < 0.05 à J₂₁, J₂₈ et J₃₅). De même que précédemment, bien que les différences entre les 2 lots traités n'aient pas été significatives, il est à noter que l'hématocrite s'est maintenu à des valeurs plus élevées chez les agneaux traités par 1 mL/kg de suspension huileuse que chez ceux traités par 2 mL/kg.

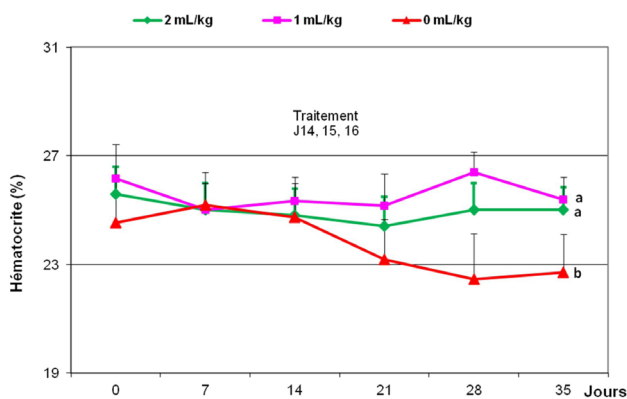


FIGURE 2 : Variations de l'hématocrite en fonction du temps (témoins) et de l'administration par voie orale de J₁₄ à J₁₆ d'huile essentielle de *Fagara* (*Zanthoxylum zanthoxyloides*) à 0.42% à raison de 1 mL/kg/j et de 2 mL/kg/j chez des agneaux Djallonké naturellement infestés (n = 5 par groupe).

EFFET SUR L'INSTALLATION DES LARVES (INFESTATION CONTRÔLÉE)

Lors d'infestation expérimentale par des larves L3 de *Trichostrongylus colubriformis* et d'*Haemonchus contortus*, le nombre de strongles implantés dans le tractus gastro-intestinal au bout de 35 jours a significativement diminué chez les agneaux traités par l'huile essentielle de *Fagara* par rapport aux témoins (p < 0.05) (Tableau II). Une réduction du nombre total de vers implantés appartenant aux 2 espèces de strongles de 77% et de 88% a été observée respectivement chez les agneaux du lot 2 et du lot 3. Alors que la réduction du nombre d'*Haemonchus* implantés a été identique (82%) dans les 2 lots traités, celle du nombre de *T. colubriformis* a été significativement plus importante lorsque les ovins ont reçu une dose de 2 mL/kg/j de suspension huileuse à 0.42% (réduction de 99% avec 2 mL/kg et réduction de 68% avec 1 mL/kg (p < 0.05).

Discussion

L'huile essentielle de *Fagara* a significativement et durablement réduit l'excrétion fécale des œufs de strongles lors d'infestation naturelle. Ceci est révélateur d'une activité anthelminthique de l'essence de *Fagara* qui s'est même étendue à la diminution du nombre de vers adultes implantés dans le tractus gastro-intestinal de l'hôte, en particulier du genre *Haemonchus*. La réduction de l'excrétion fécale des œufs par *Fagara* avait déjà été obtenue avec les feuilles fraîches [27] et la poudre de feuilles de cette plante [2]. Ceci indique que les composés anthelminthiques de *Fagara* ne sont pas que contenus dans les feuilles de la plante, objet de pression anthropique. La baisse de l'OPG après traitement est une réponse à l'effet de l'huile essentielle de *Fagara* sur la viabilité et/ou sur la fertilité des vers adultes. En effet, une diminution de l'excrétion fécale traduit le fait que la population de vers a diminué ou que les femelles des parasites sont moins prolifiques. Les données de l'infestation naturelle indiquent une diminution significative du nombre de vers implantés et une réduction sensible de la fertilité des *Haemonchus* femelles. Ces résultats sont contraires à ceux obtenus *in vivo* avec les feuilles et les extraits par HOUNZANGBÉ-ADOTÉ *et al.* [27] qui montraient un effet plus important de *Zanthoxylum* sur la fertilité des vers adultes que sur leur viabilité. En outre, les

Parasites	Lots	Vers adultes ¹
<i>Trichostrongylus colubriformis</i>	0 mL/kg	547 ± 197 ^a
	1 mL/kg	177 ± 146 ^b
	2 mL/kg	7 ± 6 ^c
<i>Haemonchus contortus</i>	0 mL/kg	967 ± 363 ^a
	1 mL/kg	170 ± 48 ^b
	2 mL/kg	177 ± 153 ^b

¹Nombre de vers adultes dénombrés dans le tractus gastro-intestinal des moutons à l'abattage à J₃₅.

Les différents exposants a, b, c dans une même colonne indiquent une différence significative (p < 0.05) entre les lots pour le paramètre considéré.

Tableau II : Comparaison de l'efficacité de l'installation de larves infestantes L3 (*Trichostrongylus colubriformis* et *Haemonchus contortus*) entre les agneaux témoins (n = 5) et ceux traités par une administration orale de J₁₄ à J₁₆ d'huile essentielle de *Fagara* (*Zanthoxylum zanthoxyloides*) à 0.42% à raison de 1 mL/kg/j et de 2 mL/kg/j chez des agneaux Djallonké expérimentalement infestés (n = 5 par groupe).

strongles du genre *Haemonchus* se sont révélés plus sensibles à l'activité anthelminthique de cette huile en termes de viabilité et de prolificité que ceux du genre *Trichostrongylus*. De même, lors de l'infestation expérimentale des agneaux par des larves infestantes L3, l'implantation des *Haemonchus* a été réduite de 82% quelle que soit la dose d'huile essentielle alors que celle des *Trichostrongylus* a été réduite de 67% à 99% en fonction de la dose d'huile administrée. Il est probable que la différence d'efficacité de l'essence de *Fagara* sur ces 2 types de vers découle de leur implantation différente dans le tractus gastro-intestinal, les vers adultes de *Haemonchus* s'installant préférentiellement dans la caillette et ceux de *Trichostrongylus* dans l'intestin grêle, donc probablement moins accessibles aux principes actifs de la plante que les précédents. En effet, le dégainement larvaire préalable à la continuation de la phase interne du cycle biologique des vers s'opère dans la portion du tube digestif qui précède le segment où s'établissent les adultes [20]. Ainsi, l'effet dose observé sur l'implantation des *T. colubriformis* lors de l'infestation expérimentale pourrait résulter d'une meilleure atteinte des parasites même à distance par les principes actifs de la plante en quantité plus importante.

D'autres investigations sur la même huile essentielle issue des graines de *Z. zanthoxyloides*, ont montré qu'elle possède une activité anthelminthique significative *in vitro* sur *Strongyloides ratti*, par inhibition de l'éclosion des œufs et par inhibition de la migration des larves infestantes L3 [33]. La chromatographie par spectrophotométrie de masse de cette huile a montré qu'elle est constituée de 27 composés chimiques dont les plus importants sont le γ -terpinène (18%), l'undécane (15%), la valencène (8.3%), le décanal (8.3%) et le 3-carène (6.8%) [33]. Par ailleurs Qi *et al.* [37] sur une autre espèce du même genre (*Zanthoxylum simulans*) ont montré que l'huile essentielle extraite des feuilles avait *in vitro* des propriétés ovicide et larvicide sur *H. contortus* et les composés chimiques majoritaires de cette huile étaient le borneol et le β -elemene.

Le maintien de l'hématocrite entre 25% et 27% chez les animaux traités suggère un effet direct néfaste de la plante sur les parasites hématophages ou l'induction d'une augmentation de l'érythropoïèse. Des observations identiques avaient été faites avec les feuilles fraîches et la poudre de feuilles [2, 27] où les ovins bien que parasités par des nématodes hématophages du genre *Haemonchus contortus* n'avaient pas exprimé d'anémie. Ceci confirme les propriétés antianémiques de *Fagara* évoquées dans le traitement d'autres affections comme la drépanocytose humaine [36, 39] et dont les principes actifs responsables de cette activité sont isolés (acide hydroxyméthyl-benzoïque et xanthoxylol). Par ailleurs une activité anti-tumorale de *Fagara* a été décrite [30] et cette plante aurait un effet réparateur sur les entérites et les lésions tumorales induites par les nématodes hématophages chez l'hôte. D'autre part, le maintien du poids vif et de l'hématocrite en dépit d'une infestation massive pourrait aussi résulter de la résilience des ovins Djallonké, c'est-à-dire de leur aptitude à surmonter un parasitisme gastro-intestinal

[7, 23]. Cependant, cette explication liée aux facteurs de résistance intrinsèques de la race Djallonké ne prend pas en considération la chute de l'hématocrite observée chez les agneaux témoins, infestés mais non traités.

Les propriétés anthelminthiques de certaines plantes médicinales résultent de leur composition chimique. L'analyse phytochimique des feuilles de *Zanthoxylum zanthoxyloides* ayant révélé la présence d'une forte proportion de tanins, ces derniers seraient principalement responsables des propriétés anthelminthiques des feuilles de la plante comme l'ont prouvé des essais précédents avec d'autres plantes riches en tanins [13, 34]. Toutefois, les molécules responsables de l'effet anthelminthique de l'huile essentielle de *Fagara* sont encore mal connues et restent à identifier. Plusieurs alcaloïdes [16, 17, 45], flavonoïdes [9], terpénoïdes et coumarines [31] ont été isolés des différents organes des plantes appartenant au genre *Zanthoxylum* et pourraient également être en partie responsables des propriétés anthelminthiques. NGASSOUM *et al.* [32] ont mis en évidence dans les fruits secs de *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepernick et Timler, de nombreux composés volatils, doués d'activité antimicrobienne contre *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* et *Escherichia faecalis*, parmi lesquels le α -pinène, composé majoritaire de cette huile essentielle, le *trans*- β -ocimène, le citronellol, l'acétate de citronellyl, le α -terpinolène, le α -phellandrene, le géraniol, le limonène et le β -myrcène. De plus, l'activité antiparasitaire de l'atanine (un alcaloïde isolé de *Fagara*) a été démontrée sur les larves de *Schistosoma mansoni* et *Ostertagia circumcincta*, des trématodes qui infectent l'homme, ainsi que sur les formes adulte et larvaire de *Caenorhabditis elegans*, un nématode terrestre [35].

La composition de l'huile essentielle des graines de *Z. zanthoxyloides* collectés au Bénin est déjà différente de celle des feuilles de *Z. zanthoxyloides* collectées au Monteverde, Costa Rica [38] ou même des graines en provenance du Cameroun (Ngassoum *et al.*, 2003). Les tanins responsables de l'activité anthelminthique dans les feuilles fraîches, poudre et différents extraits de *Z. zanthoxyloides* sont absents des huiles essentielles ce qui met en évidence le rôle d'autres composés ayant des propriétés anthelminthiques tout comme le beta-caryophyllène et l'eugénol trouvés dans l'huile essentielle de *Newbouldia laevis* et qui ont la même activité que celle de *Z. zanthoxyloides* [33]. Tine *et al.* [40] ont identifié dans l'huile essentielle issue des graines de *Z. zanthoxyloides* dix coumarines et six furanocoumarines montrant ainsi la diversité chimique des différents tissus de cette Rutaceae.

L'huile essentielle de *Fagara* a perturbé la phase d'installation des larves infestantes L3 de *T. colubriformis* et d'*H. contortus*. Il est connu que la consommation d'une plante riche en tanins interfère avec la phase précoce de l'installation larvaire des nématodes gastro-intestinaux chez l'hôte [13]. Ce phénomène serait fondé *a priori* sur un mécanisme d'action direct des tanins sur les larves L3. Cette perturbation peut tenir du fait que la plante induit des altérations sur la larve, qu'elle l'immobilise ou qu'elle l'empêche de se débarrasser

de sa gaine protectrice pour continuer son cycle de vie. Ces résultats confirment partiellement ceux obtenus *in vitro* avec l'extrait de *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Acétone 70% Eau 30%) qui inhibe la capacité de dégagement des larves de *Trichostrongylus colubriformis* et de *Haemonchus contortus* indépendamment de la dose [3, 4]. Or le dégagement est une étape indispensable du cycle de vie des nématodes gastro-intestinaux où les larves L3 doivent muer en L4 avant de pénétrer dans les villosités intestinales et continuer leur développement. Des études ont montré que l'extrait de Sainfoin, une plante bioactive riche en tanins comme le *Fagara*, affecte la cinétique de dégagement des larves L3 de *Haemonchus contortus* et de *Trichostrongylus colubriformis* et que cet effet inhibiteur dépend de la concentration en extrait [11]. D'autres recherches avaient également montré que certaines plantes bioactives plus ou moins riches en tanins pouvaient inhiber partiellement ou complètement le dégagement *in vitro* des larves L3 [6]. La perturbation de l'installation des larves L3 réside également dans la capacité de la plante à inhiber la migration larvaire. Les extraits de *Fagara* immobilisent *in vitro* les larves L3 de *T. colubriformis* et *H. contortus* [25, 26]. Par ailleurs, des lésions structurelles ont également été observées sur les larves L3 ayant été en contact avec des extraits de plante riche en tanins (Sainfoin) [12]. De telles altérations rendraient difficile l'installation et le développement des larves infestantes et donc perturberaient énormément leur cycle de vie.

En conclusion, le *Zanthoxylum zanthoxyloides* sous la forme d'huile essentielle extraite des graines, s'est montré efficace sur les nématodes gastro-intestinaux les plus importants à travers une réduction sensible du taux d'excrétion des œufs, une diminution du nombre des vers adultes, une régression du nombre d'œufs dans l'utérus des vers femelles et un maintien de l'hématocrite. Etant donné l'absence d'une relation dose-effet sur ces paramètres, cette plante pourrait donc être utilisée sous la forme de suspension huileuse à 0.42% à la dose de 1 mL/kg par voie orale sur 3 jours chez les agneaux dans le contrôle des parasitoses gastro-intestinales, ce qui constituerait une méthode alternative ou complémentaire aux anthelminthiques dans la maîtrise du parasitisme digestif en milieu tropical. Des investigations sur le fractionnement bio-guidé de l'huile essentielle de *Zanthoxylum zanthoxyloides* doivent cependant se poursuivre aussi bien *in vitro* qu'*in vivo* afin d'identifier les substances responsables de cette activité anthelminthique et leurs mécanismes d'action.

Remerciements

Les auteurs remercient le projet CORUS-II 6040, l'Institut National des Recherches Agricoles du Bénin à travers le programme APPRA qui a financé la présente recherche, Dr Hervé Hoste de l'UMR 1225 INRA Toulouse pour sa contribution, ainsi que Mme Michèle Nardelli et M. Philibert Amable du laboratoire « BIOTECH » pour leur assistance technique.

Références

1. - ANJARIA J.: Ethnoveterinary pharmacology in India: Past, present and future. In: Mc CORKLE C.M., MATHIAS E. and SCHILHORN VAN VEEN T.W. (Eds), Intermediate Technology London, 1996, pp.: 137-147.
2. - AZANDO E.V.B., OLOUNLADÉ P.A., HOUNZANGBÉ-ADOTÉ M.S., HOSTE H.: Traitement des parasitoses gastro-intestinales des petits ruminants par le *Zanthoxylum Zanthoxyloides* sous forme de poudre de feuilles et d'huiles essentielles. 3^{ème} Atelier scientifique de l'INRAB, Abomey-Calavi, 16 – 19 Décembre 2006, Bénin.
3. - AZANDO E.V.B., OLOUNLADÉ P.A., VALENTIN A., HOSTE H., HOUNZANGBÉ-ADOTÉ M.S.: Effet *in vitro* d'extraits de 2 plantes tropicales *Newbouldia laevis* et *Zanthoxylum zanthoxyloides* sur les larves infestantes de nématodes gastro-intestinaux de petits ruminants, Congrès de Parasitologie de la Société Française de Parasitologie et de Mycologie, 16-18 Juin 2009, Poitiers, France.
4. - AZANDO E.V.B., HOUNZANGBÉ - ADOTÉ M.S., OLOUNLADÉ P.A., BRUNET S., FABRE N., VALENTIN A., HOSTE H.: Involvement of tannins and flavonoids in the *in vitro* effects of *Newbouldia laevis* and *Zanthoxylum zanthoxyloides* extracts on the exsheathment of third-stage infective larvae of gastrointestinal nematodes. *Vet. Parasitol.* 2011, **180**, 292-297.
5. - BÂ A.S.: L'art vétérinaire et la pharmacopée traditionnelle en Afrique. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 1994, **13**, 373-395.
6. - BAHUAUD D., MARTINEZ-ORTIZ DE MONTELLANO C., CHAUVEAU S., PREVOT F., TORRES-ACOSTA F., FOURASTE I., HOSTE H.: Effects of four tanniferous plant extracts on the *in vitro* exsheathment of third-stage larvae of parasitic nematodes. *Parasitology*, 2006, **132**, 545-554.
7. - BAKER R.L., MWAMACHI D.M., AUDHO J.O., ADUDA E.O., THORPE W.: Resistance of Galla and Small East African goats in the sub-humid tropics to gastro-intestinal nematode infections and the periparturient rise in faecal egg counts. *Vet. Parasitol.*, 1998, **79**, 53-64.
8. - BARGER I.A.: Control by management. *Vet. Parasitol.*, 1997, **72**, 493-500.
9. - BARRAU E., FABRE N., FOURASTE I., HOSTE H.: Effect of bioactive compounds from Sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) on the *in vitro* larval migration of *Haemonchus contortus*: role of tannins and flavonol glycosides. *Parasitology*, 2005, **131**, 531-538.
10. - BEUGNET F., KERBOEUF D.: La résistance aux antiparasitaires chez les parasites des ruminants. *Point Vét.*, 1997, **28** (suppl. Parasitologie des ruminants), 1949-1956.
11. - BRUNET S., AUFRERE J., EL BABILI F., FOURASTE

- I., HOSTE H.: The kinetics of exsheathment of infective nematode larvae is disturbed in the presence of a tannin-rich plant extract (sainfoin) both *in vitro* and *in vivo*. *Parasitology*, 2007, **135**, 1-10.
12. - BRUNET S., JACKSON F., HOSTE H.: Effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) extract and monomers of condensed tannins on the association of abomasal nematode larvae with fundic explants. *Int. J. Parasitol.*, 2008a, **38**, 783-790.
 13. - BRUNET S., MARTINEZ-ORTIZ DE MONTELLANO C., TORRES-ACOSTA J.F.J., SANDOVAL-CASTRO C.A., AGUILAR-CABALLERO A.J., CAPETILLO-LEAL C., HOSTE H.: Effect of the consumption of *Lysiloma latisiliquum* on the larval establishment of gastrointestinal nematodes in goats. *Vet. Parasitol.*, 2008b, **157**, 81-88.
 14. - CHARTIER C., HOSTE H.: Anthelmintic treatments against digestive-tract nematodes in dairy goats with high or low levels of milk production. *Vet. Res.*, 1994, **25**, 450-457.
 15. - CHARTIER C., LESPINE A., HOSTE H., ALVINERIE M.: Les endectocides chez les caprins : pharmacologie, efficacité et conditions d'utilisation dans le contexte de la résistance aux anthelminthiques. *Renc. Rech. Rum.*, 2001, **8**, 181-186.
 16. - COUILLEROT E., CARON L., AUDRAN J.C., MOLINATTI P., LE MEN OLIVIER L., JARDILLET J.C., CHENIEUX J.C.: Benzophenanthridine and furoquinoline accumulation in cell suspension culture of *Fagara zanthoxyloides*. *Phytochemistry*, 1994, **37**, 425-428.
 17. - DIÉGUEZ-HURTADO R., GARRIDO G., PRIETO GONZALEZ S., IZNAGA Y., GONZALEZ L., MOLINA TORES J., CURINI M., EPIFANO F., MARCOTULLIO M.C.: Antifungal activity of some Cuban *Zanthoxylum* species. *Fitoterapia*, 2003, **74**, 384-386.
 18. - HAMMOND J.A., FEILING D., BISHOP S.C.: Prospects for plant anthelmintics in tropical veterinary medicine. *Vet. Res. Comm.*, 1997, **21**, 213-228.
 19. - HANSEN J., PERRY B.: Épidémiologie, diagnostic et prophylaxie des helminthiases des ruminants domestiques (7nd edition) FAO – Rome, Italie, 1995, 176p.
 20. - HERTZBERG H., HUWYLER U., KOHLER, L., REHBEIN, S. ET WANNER, M.: Kinetics of exsheathment of infective ovine and bovine strongylid larvae *in vivo* and *in vitro*. *Parasitology*, 2002, **125**, 65-70.
 21. - HOSTE H., CHARTIER C.: Comparison of the effects on milk production of concurrent infection with *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in high-and low-producing dairy goats. *Am. J. Vet. Res.*, 1993, **54**, 1886-1893.
 22. - HOSTE H., HUBY F., MALLET S.: Strongyloses gastro-intestinales des ruminants : conséquences physiopathologiques et mécanismes pathogéniques. *Point Vét.*, 1997, **28** (suppl. Parasitologie des ruminants), 1835-1841.
 23. - HOSTE H., JACKSON F., ATHANASIADOU S., THAMSBORG S.M., HOSKIN S.O.: The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trends Parasitol.*, 2006, **22**, 253-261.
 24. - HOUNZANGBÉ-ADOTÉ M.S.: La pharmacopée en médecine vétérinaire au sud Bénin (cas des ovins et caprins) : Colloque Européen d'Ethnopharmacologie. Société Française d'ethnopharmacologie. 11-13 Mai 2000, Metz, France.
 25. - HOUNZANGBE-ADOTE M.S., PAOLINI V., FOURASTE I., MOUTAÏROU K., HOSTE H.: *In vitro* effects of four tropical plants on three stages of the parasitic nematodes, *Haemonchus contortus*. *Res. Vet. Sci.*, 2005a, **78**, 155-160.
 26. - HOUNZANGBE-ADOTE M.S., MOUTAÏROU K., HOSTE H.: *In vitro* effects of four tropical plants on three stages of the parasitic nematodes, *Trichostrongylus colubriformis*. *J. Helminthol.*, 2005b, **79**, 29-33.
 27. - HOUNZANGBÉ-ADOTÉ M.S., ZINSOU F.E., HOUNPKÈ V., MOUTAÏROU K., HOSTE H.: *In vivo* effects of *Fagara* leaves on sheep infected with gastrointestinal nematodes. *Trop. Anim. Health Prod.*, 2005c, **37**, 205-214.
 28. - KÉITA S.M., ARNASSON J.T., BAUM B.R., MARLES R.F.: Etude ethnopharmacologique traditionnelle de quelques plantes médicinales anthelminthiques de la République de Guinée. *Rev. Med. Pharm. Afr.*, 1995, **9**, 119-134.
 29. - KLOOSTERMAN A., ALBERS G.A.A., VAN DEN BRINK R.: Genetic variations among calves in resistance to nematode parasites. *Vet. Parasitol.*, 1978, **4**, 353-368
 30. - LEWIS J.R.: Biological activity of some Rutaceous compounds. In: Chemistry and chemical taxonomy of the Rutales, WATERMAN P.G. and GRUNDON M.F. (Eds.), Academic Press, London, UK, 1983, pp.: 301-318.
 31. - MARA S.P., ARRUDA JAO B., FERNANDES PAULO C., VIERA M., FATIMA DAS G.F., DA SILVA JOSE R.P.: Chemistry of *Zanthoxylum rhoifolium*. A new secofuraquinoline alkaloids. *Biochem. System. Ecol.*, 1992, **20**, 173-178.
 32. - NGASSOUM M.B., ESSIA-NGANG J.J., TATSADJIEU L.N., JIROVETZ L., BUCHBAUER G., ADJOUJJI O.: Antimicrobial study of essential oils of *Ocimum gratissimum* leaves and *Zanthoxylum xanthoxyloides* fruits from Cameroon. *Fitoterapia*, 2003, **74**, 284-287.
 33. - OLOUNLADE P.A., AZANDO E.V.B., HOUNZANGBE-ADOTE M.S., TAM HA T.B., LEROY E., C. MOULIS C., FABRE N., MAGNAVAL J.F., HOSTE H., VALENTIN A.: *In vitro* anthelmintic activity of the essential oils of *Zanthoxylum zanthoxyloides* and *Newbouldia laevis* against *Strongyloides ratti*. *Parasitol. Res.* 2011, **110**, 1427-1433.
 34. - PAOLINI V., DORCHIES P., HOSTE H.: Effects of sainfoin hay on gastrointestinal nematode infections in goats. *Vet. Rec.*, 2003, **152**, 600-601.
 35. - PERRETT S. WHITFIELD P.J.: Atanine (3-dimethylallyl-4-methoxy-2-quinolone), an alkaloid

- with anthelmintic activity from the Chinese medicinal plant, *Evodia rutaecarpa*. *Plant. Med.*, 1995, **61**, 276-278.
36. - POUSSET J.L.: Nouveaux médicaments : Savoir discerner le véritable progrès thérapeutique. *Rés. Méd. Dévelop.*, 2002, **26**, 11-13.
37. - QI H., WANG W.X., DAI J.L., ZHU L.: *In vitro* anthelmintic activity of *Zanthoxylum simulans* essential oil against *Haemonchus contortus*. *Vet. Parasitol.*, 2015, **211**, 223-227.
38. - SETZER W.N., NOLETTO J.A., LAWTON R.O., HABER W.: A Leaf essential oil composition of five *Zanthoxylum* species from Monteverde, Costa Rica. *Mol. Divers.*, 2005, **9**, 3-13.
39. - SOFOWORA E.A., ISAACS-SODEYE W.A., OGUNKOYA L.O.: Isolation and characterization of an anti-sickling agent from *Fagara xanthoxyloides* root. *Lloydia*, 1975, **38**, 169.
40. - TINE Y., RENUCCI F., COSTA J., WELE A., PAOLINI J.: A Method for LC-MS/MS Profiling of Coumarins in *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) B. Zepernich and Timler Extracts and Essential Oils. *Molecules*, 2017, **22**:174. doi.org/ 10.3390/molecules22010174
41. - TRINGALI C., CARMELA C., VALERIA CALI V., SIMMONDS M.S.J.: Antifeedant constituents from *Fagara macrophylla*. *Fitoterapia*, 2001, **72**, 538-543.
42. - URQUHART G.M., ARMOUR J., DUNCAN J.L., DUNN A.M., JENNINGS F.W.: *Veterinary Parasitology* 2nd Edition. Blackwell Science Ltd, London, 1996, 307p.
43. - VENEZIANO V., RINALDI L., CAPUTO A.R., FEDELE V., GRINGOLI G. Effects of gastro-intestinal strongyle parasitism on milk quality. *In: the quality of goat products*, IGA-CRA edition, Bella, Italy, 2007, pp.: 142-145.
44. - WALLER P.J.: International approaches to the concept of integrated control of nematode parasite of livestock. *Int. J. Parasitol.*, 1999, **29**, 155-164.
45. - WALLER P.J., THAMSBORG S.M.: Nematode control in 'green' ruminant production systems. *Trends Parasitol.*, 2004, **20**, 493-497.
46. - WENIGER B.: Interest and limitation of the global ethnopharmacological survey. *J. Ethnompharmacol.*, 1991, **32**, 37-41.