



Original Paper

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

<http://indexmedicus.afro.who.int>

Effets strongylicides *in vitro* de l'extrait aqueux de feuilles de *Ficus exasperata* Valh. 1805 (Moraceae)

Houénagnon Marcel Aristide HOUNGNIMASSOUN¹, Sabbas ATTINDEHOUE^{1,2*},
Soumanou SALIFOU¹, Koffi Djigbodi KOUMODJI¹ et Sahidou SALIFOU¹

¹Laboratoire National de Parasitologie Vétérinaire, Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi,
Université d'Abomey-Calavi, 01 BP 2009 Cotonou, Bénin.

²Ecole de Gestion et d'Exploitation des Systèmes d'Elevage, Université Nationale d'Agriculture,
BP 43 Kétou, Bénin.

*Auteur correspondant ; E-mail : sabbastino@gmail.com; Tél.: +22996397845

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique du Bénin pour son appui financier sous forme de bourses doctorales.

RESUME

L'usage massif et abusif de composés chimiques dans la lutte contre les parasitoses animales a montré ses limites tant sur le plan efficacité (échecs consécutifs au phénomène de résistances) que sur le plan écologique (écotoxicité des molécules). Les recettes ethno-vétérinaires, qui se fondent sur l'exploitation de la riche flore tropicale, constituent une intéressante piste de recherche de solutions alternatives et durables. La présente étude a eu pour objectif d'évaluer *in vitro* les effets strongylicides de l'extrait aqueux de feuilles de *Ficus exasperata* (plante tropicale de la famille des Moraceae) sur des adultes de *Haemonchus contortus* (parasite gastro-intestinal des ruminants). L'étude a consisté en un test de mortalité par contact. Les vers ont été récoltés dans la caillette de moutons naturellement infestés puis exposés à six (6) concentrations différentes (4, 8, 16, 32, 64 et 128 mg/ml) de l'extrait végétal et à une molécule de référence, le lévamisole à 0,125 mg/ml. Une solution de *Phosphate Buffer Saline* (PBS) a servi de témoin négatif. Le test a été répété six fois. Les résultats ont montré des mortalités très significatives ($p < 0.001$) de 66,66 à 83,33%. L'étude a donc mis en évidence l'effet strongylicide dose-dépendant de l'extrait avec des concentrations létales moyenne et totale (CL_{50} et CL_{99}) respectivement de 7,8 mg/ml et 19,1 mg/ml. Les feuilles de *Ficus exasperata* possèdent des propriétés anthelminthiques qu'il est nécessaire d'explorer dans des études plus approfondies.

© 2017 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés : *Ficus exasperata*, extrait, contact, mortalité, *Haemonchus contortus*.

In vitro strongylicide effects of the aqueous extract of leaves of *Ficus exasperata* Valh. 1805 (Moraceae)

ABSTRACT

The massive and excessive use of chemical compounds in the management of animal parasites showed its limits both for efficiency (therapeutic failures due to resistances phenomenon) as for ecological aspect (ecotoxicity of molecules). The ethno-veterinary recipes which base on the exploitation of the rich tropical

flora represent a precious way of alternative and sustainable solutions. This study aimed at estimating, *in vitro*, the strongyloside effects of the aqueous extract of leaves of *Ficus exasperata* (a tropical plant of Moraceae's family) against adults of *Haemonchus contortus* (a gastroenteritis parasite). Worms adult motility test was undertaken. Worms collected from the abomasum of naturally infested sheep were exposed to six (6) concentrations (4, 8, 16, 32, 64 and 128 mg/ml) of the plant extract. Levamisole has been the reference drug. A solution of *Phosphate Buffer Saline* (PBS) was the negative control. The test was repeated six times. The results indicated significant ($p < 0.001$) mortalities from 66.66 to 83.33%. Thus, the study highlighted the extract's dose depending strongyloside effect with average and total lethal doses (LC_{50} and LC_{99}) respectively of 7.8 mg/ml and 19.1 mg/ml. The leaves of *Ficus exasperata* possess some anthelmintic properties requiring thorough studies.

© 2017 International Formulae Group. All rights reserved.

Keywords: *Ficus exasperata*, extract, contact, mortality, *Haemonchus contortus*.

INTRODUCTION

Le parasitisme constitue une contrainte sanitaire importante pour l'élevage. En Afrique subsaharienne en particulier, l'élevage des petits ruminants qui évolue dans un contexte d'exploitation familiale sans grands investissements et sans véritable suivi sanitaire, se trouve confronté à un fort parasitisme gastro-intestinal. D'après Sidibé (2001) et Gbangboché et al. (2002) plus de 40% du marché subsaharien des médicaments vétérinaires sont mus par la lutte anthelminthique. Le spectre parasitaire en cause est bien large. Au Bénin, Attindéhou et al. (2012a) ont rapporté que la faune parasitaire du tractus digestif des petits ruminants est dominée par les strongles avec en tête de file *Haemonchus contortus*. Les plus fortes prévalences seraient enregistrées chez les ovins comparés aux caprins. Bien qu'il est souvent difficile de chiffrer l'impact économique de ces pathologies, il est certain qu'elles occasionnent de lourdes pertes tant directes (baisse de productions et mortalité) qu'indirectes (coût de la lutte). Quant à l'efficacité des moyens de lutte, des chercheurs soutiennent, de par le monde, que l'usage abusif des anthelminthiques de synthèse serait une cause majeure du phénomène de résistances développées par les strongles (Jackson et Coop, 2000 ; Bengone-Ndong et Alvinerie, 2004 ; Kaplan, 2004 ; Coles et al., 2006 ; Pomroy, 2006 ; Waller, 2006). On assiste dorénavant à une propension de l'ethno-pharmacie avec un regain d'intérêt

pour les plantes médicinales entretenu par la quête de commodité, de facilité et d'amoindrissement des coûts. Le développement de la pharmacopée vétérinaire à partir des pratiques endogènes en zones rurales africaines est alors devenu, plus que jamais, une préoccupation scientifique. Au Bénin, la valorisation des recettes endogènes floristiques est en vogue et mobilise nombre de chercheurs (Hounzangbé-Adoté, 2004 ; Azando et al., 2011 ; Attindéhou et al., 2012b ; Akouédégni, 2013) dans les laboratoires universitaires. Dans le domaine de la lutte antiparasitaire, Attindéhou et al. (2012b) ont inventorié 22 plantes qui sont utilisées dans la lutte endogène au Bénin contre les parasitoses des petits ruminants. La présente étude a pour but d'évaluer *in vitro*, la sensibilité de *Haemonchus contortus* (nématode hématophage et parasite des petits ruminants) à l'extrait aqueux des feuilles de *Ficus exasperata*, une plante tropicale de la famille des Moracées très répandue en Afrique tropicale (Ahmed et al., 2012). Communément appelé arbre à papier de verre, *F. exasperata* est une plante à fleurs atteignant 20 m de hauteur et dont les feuilles ovales ont une face rugueuse. Ses différents organes végétatifs (racines, écorces, feuilles, ...) sont réputés bioactifs (Anowi et al., 2012 ; Amonkan et al., 2013) et très largement impliqués dans des recettes de la pharmacopée africaine. Les feuilles serviraient à combattre des infections microbiennes variées (Odunbaku et al., 2008 ; Adebayo et al.,

2009 ; Lawal et al., 2012 ; Ughachukwu et al., 2012) et des maladies inflammatoires (Ahmed et al., 2012).

MATERIEL ET METHODES

Matériel

Le matériel biologique est constitué des feuilles de *Ficus exasperata* Valh. 1805 (Moraceae) et des vers adultes de l'espèce *Haemonchus contortus*.

Les feuilles de *Ficus exasperata* ont été récoltées aux mois de juin et juillet 2016 (mois pluvieux) au Sud du Bénin. L'identification et la certification de l'espèce végétale ont été faites à l'Herbier National de l'Université d'Abomey-Calavi sous le numéro AA 6619/HNB. Ces feuilles ont été séchées à la température ambiante du laboratoire une semaine durant et ont été ensuite réduites en poudre dans un broyeur électrique.

Les vers adultes de *Haemonchus contortus* ont été prélevés dans la caillette de moutons abattus à cet effet aux abattoirs de Cotonou – Porto Novo au Bénin et placés dans une solution tampon de *Phosphate Buffer Saline* (PBS) puis transportés au Laboratoire National de Parasitologie Vétérinaire pour les tests.

Quant au matériel de laboratoire, il est constitué de peson électronique, d'agitateur, d'étuve, de loupes, de béchers et de produits divers (eau distillée, *Phosphate Buffer Saline*, ...).

Criblage phytochimique de la poudre de feuille de *Ficus exasperata*

La réaction colorimétrique de la poudre de feuilles de *Ficus exasperata* à une gamme de réactifs chimiques (Tableau 1) a permis de déterminer les grands groupes chimiques présents dans la drogue végétale.

Préparation de l'extrait végétal

L'extraction a été réalisée par macération de la poudre végétale dans l'eau distillée à raison de 50 g de poudre pour 500 ml d'eau distillée. Le mélange a subi une agitation mécanique pendant 24 heures puis filtré avec du coton et du papier filtre. Le

filtrat a été mis à l'étuve à 45 °C pendant 24 heures pour l'évaporation. L'extrait sec ainsi obtenu a été pesé puis conservé au réfrigérateur à 4 °C jusqu'à utilisation. Le rendement d'extraction noté « R » a été déterminé par la formule suivante :

$R = 100 * m_e / m$ où « m_e » désigne la masse d'extrait sec et « m » la masse de poudre mise en extraction.

Les préparations médicamenteuses devant être testées ont été obtenues par dilution d'une masse déterminée de cet extrait sec dans un volume de solution de *Phosphate Buffer Saline* (PBS). Une gamme croissante de six (6) concentrations (4, 8, 16, 32, 64 et 128 mg/ml) a été retenue après des essais préliminaires qui ont montré l'inactivité de l'extrait (maintien de vitalité des vers au-delà de 24 heures) pour les doses inférieures à 4 mg/ml. Le lévamisole a servi de substance de référence (témoin positif) et a été utilisé à la concentration de 0,125 mg/ml, la plus faible concentration efficace à 100% et la plus proche de la dose minimale (4 mg/ml) dans les lots expérimentaux. Une solution tampon de PBS a servi au traitement des témoins négatifs.

Test de motilité des adultes de *H. contortus* au contact de l'extrait

Les vers adultes dont la bonne vitalité est établie (une motilité constatée d'au moins 1 mouvement toutes les 5 secondes) sont placés dans les puits d'une plaque de micro titrage contenant 0,5 ml des préparations de la gamme médicamenteuse à tester. Chaque puits reçoit un ver. Ainsi, de la gauche vers la droite et en ligne horizontale, huit (8) vers sont plongés dans huit (8) puits contenant respectivement la solution tampon PBS, les six concentrations de l'extrait végétal et la solution de lévamisole. Six répétitions de cette gamme ont été faites de haut en bas sur la plaque, ce qui correspond à un total de 48 enregistrements dans lesquels la survie (mobilité) des vers est examinée dans le temps à 0 ; 1 ; 6 ; 12 ; 24 ; 48 et 72 heures. Tout ver présentant une immobilité totale continue pendant 10 secondes est suspecté de mort. Il

est alors délicatement sorti du puits et placé dans 10 ml de solution de PBS en vue d'une probable revitalisation. Au cas où le ver retrouve de la vitalité dans les 30 mn qui suivent son retrait du puits expérimental, il est considéré comme vivant et replacé dans son puits ; puis les observations se poursuivent. Dans le cas contraire, le ver est déclaré mort.

Analyses statistiques

Les résultats de la caractérisation des grands groupes chimiques présents dans la poudre de feuilles de *Ficus exasperata* ont été notés suivant les codes ci-après : - (absent) ; + (présent).

Pour le test de sensibilité des vers à l'extrait, trois variables sont enregistrées et codées dans une base de données STATA 11. Il s'agit de la variable indépendante (concentration C d'extrait végétal) et deux

variables dépendantes (survie ; mort). Les taux de mortalité M (exprimé en pourcentage) des vers ont été calculés en suivant la formule : $M_{(\%)} = 100 * (N_E - N_{PBS}) / 6$.

N_E et N_{PBS} correspondent respectivement aux nombres de vers morts au contact d'une concentration d'extrait et du tampon PBS à une même date. Une régression logistique sous STATA 11 a permis de déterminer à quels points les mortalités enregistrées sont imputables à la bio activité de l'extrait de plante et d'analyser le tandem dose-effet. Les concentrations létales moyenne (CL_{50}) et absolue (CL_{99}) ont été déterminées par calcul selon la formule statistique : « Dose = $[\ln(P/1-P) + 2,03] / 0,26$ » générée par la régression logistique sous STATA 11 et où P correspond à la valeur de la prédiction (50% puis 99%).

Tableau 1: Réactions colorimétriques pour le criblage 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)}	Coloration orangée, rouge ou violette
Tanins	FeCl ₃ 1%	Coloration bleue foncée, noire
Tanins catéchiques	Stiasny {HCl / Formol}	Précipité rose
Tanins galliques	FeCl ₃ 1%	Teinte bleue ou noire ou verte
Anthocyanes	HCl 5% + ammoniacque 1/2	Coloration rouge qui vire au bleu-violacé ou verdâtre
Saponines	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}	Coloration rose ou rouge violacée

RESULTATS

Composés chimiques et rendement d'extraction de la poudre de feuilles de *Ficus exasperata* Valh. 1805

Les résultats du criblage phytochimique de la poudre des feuilles de *Ficus exasperata* sont présentés dans le Tableau 2. Il en ressort que les grands groupes chimiques présents dans cet extrait végétal sont les composés réducteurs, les alcaloïdes, les tanins, et les flavonoïdes. On note l'absence de triterpénoïdes et de stéroïdes. Il est à noter que le rendement de l'extraction a été de 16,35%.

Mortalité des adultes de *H. contortus* par contact avec l'extrait aqueux de *Ficus exasperata*

La Figure 1 montre l'évolution des taux de mortalités induites par les différentes

préparations médicamenteuses. On note que le lévamisole (molécule de référence) appliqué à la concentration de 0,125 mg/ml a induit une mortalité absolue (100%). Des mortalités importantes comprises entre 66,66 et 83,33% en 24 heures d'exposition ont été enregistrées dans les groupes expérimentaux. L'analyse logistique sous STATA 11 assure d'une influence hautement significative ($p < 0,001$) de l'extrait sur les taux de mortalité des groupes expérimentaux. Le plus fort taux de mortalité (83,33%) a été enregistré au bout de 12 heures avec la dose de 64 mg/ml. La régression logistique a par ailleurs, fait apparaître une nette influence ($p < 0,05$) de la concentration de l'extrait sur le taux de mortalité. Il y a donc, au-delà de l'efficacité prouvée, un effet dose-dépendant décrit par la courbe de la prédiction des mortalités (Figure 2). Les CL_{50} et CL_{99} calculées sont respectivement de 7,8 mg/ml et 19,1 mg/ml.

Tableau 2: Groupes ou composés chimiques présents dans la poudre de feuilles de *Ficus exasperata* Valh. 1805.

Groupes chimiques	Abondance
Composés réducteurs	++
Alcaloïdes	+
Tanins catéchiques	+
Tanins galliques	+
Flavonoïdes	+
Anthocyanes	+
Leuco-anthocyanes	-
Dérivés quinoniques	-
Saponosides	-
Triterpénoïdes	-
Stéroïdes	-

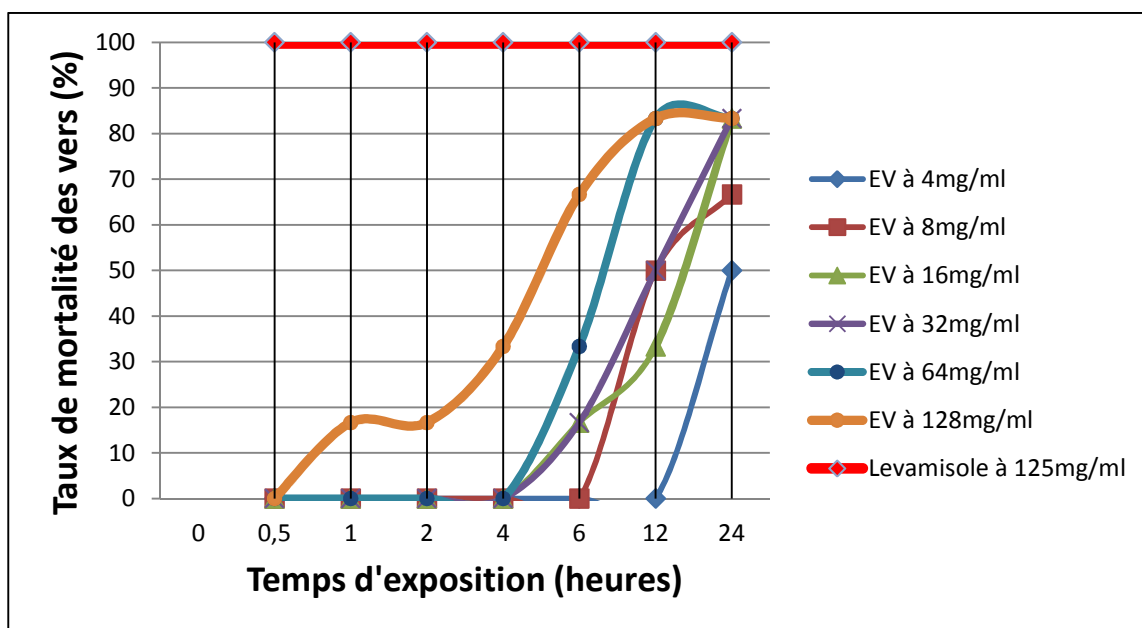


Figure 1: Evolution temporelle de l'effet létal de l'extrait végétal (EV) de *F. exasperata* sur les adultes de *H. contortus* en fonction des concentrations.

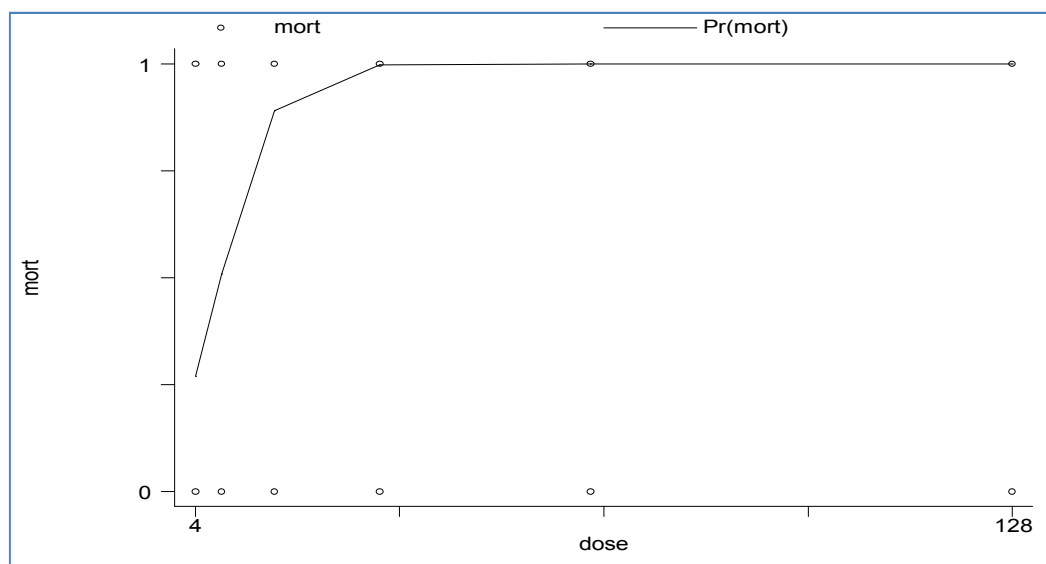


Figure 2: Prédiction de la mortalité [Pr (mort)] des adultes de *H. contortus* en fonction de la concentration de l'extrait aqueux de *F. exasperata*.

DISCUSSION

La présence de composés réducteurs dans l'extrait cru paraît inédite. Celle des alcaloïdes et des flavonoïdes a par contre, été largement rapportée (Adebayo et al., 2009 ; Anowi, 2012 ; Amonkan et al., 2013). Alcaloïdes et flavonoïdes ont par ailleurs été mis en évidence dans un extrait alcoolique réalisé par Ughachukwu et al. (2012) sur des feuilles récoltées au Nigéria. Ces composés semblent donc communs à la plupart des chémotypes de *F. exasperata*. Cette étude a aussi révélé la présence inattendue des tannins, composés dont l'absence a été rapportée par N'Guessan et al. (2009) à la suite d'un criblage de la même plante en Côte d'Ivoire. Cette présence de tannins et d'alcaloïdes dans la feuille de *F. exasperata* présage bien de probables propriétés anthelminthiques pour son extrait. La bio activité antiparasitaire de ces composés ont, en effet, été largement rapportée (Athanasidou et al., 2001 ; Paolini et al., 2002 ; Ademola et al., 2005 ; Hoste et al., 2006 ; Chagas et al., 2008). Les résultats du test de mortalité par contact a d'ailleurs confirmé le potentiel strongylicide de l'extrait de feuilles de *F. exasperata*. Plus de 80% des vers sont tués par la concentration moyenne de l'extrait (64 mg/ml) en 12 heures d'exposition. Il est vrai que cette efficacité doit être prise avec assez de prudence étant donné le grand écart entre la dose efficace (64 mg/ml) et la dose référentielle de 0,125 mg/ml de Levamisole. Il n'empêche que le caractère naturel des extraits végétaux en fait a priori substances peu dangereuses. L'usage populaire des feuilles de *Ficus exasperata* dans des recettes antiparasitaires dans certains pays d'Afrique rapporté par Ahmed et al. (2012) édifié bien. Au Bénin également, la plante a été répertoriée par Ogni et al. (2014) dans une étude ethno-pharmacologique des plantes dirigées contre les maladies parasitaires. Même si aucun cas de toxicité aigüe n'a été rapporté dans ces études, il conviendrait d'approfondir l'exploration thérapeutique de l'extrait et les risques toxicologiques aux moyens de tests *in vivo*. L'évaluation du potentiel anthelminthique doit

aussi s'étendre aux autres stades de développement des parasites en cause en vue de mieux caractériser le rapport doses / effets.

Conclusion

L'étude a révélé le potentiel strongylicide de l'extrait aqueux des feuilles de *F. exasperata* sur les adultes de *H. contortus*. Il s'agit d'un effet dose dépendant avec des concentrations létales moyenne et totale respectives de 7,8 mg/ml et 19,1 mg/ml. Ces effets sont imputables aux alcaloïdes, tanins et flavonoïdes mis en évidence dans cet extrait. Cependant, des tests *in vivo* sur les petits ruminants et *in vitro* contre les autres stades de développement du parasite permettront de conclure de façon ferme à l'efficacité anthelminthique de cet extrait végétal.

CONFLIT D'INTERETS

Les auteurs déclarent qu'il n'y a aucun conflit d'intérêt au sujet de cet article.

CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

HMAH est l'investigateur principal, Sahidou S a défini le protocole expérimental, L'encadrement des travaux de terrain et des manipulations de laboratoire a été assuré par AS, Soumanou S et KKD ont participé dans la réalisation matérielle de l'étude.

REFERENCES

- Adebayo EA, Ishola OR, Taiwo OS, Majolagbe ON, Adekeye BT. 2009. Evaluations of the methanol extract of *Ficus exasperata* stem bark, leaf and root for phytochemical analysis and antimicrobial activities. *Afr. J. Plant Sci.*, **3**(12): 283-287.
- Adémola IO, Akanbi AI, Idowu SO. 2005. Comparative nematocidal activity of chromatographic fraction of *Leucaena leucocephala* seed against gastrointestinal sheep nematodes. *Pharm. Biol.*, **43**: 599-604. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/13880200500301761>
- Ahmed F, Mueen Ahmed KK, Abedin MZ, Karim AA. 2012. Traditional Uses and

- Pharmacological Potential of *Ficus exasperata* Vahl. *Syst. Rev. Pharm.*, **3**: 15-23. DOI: <https://doi.org/10.4103/0975-8453.107131>
- Akouédégni CG. 2013. Contribution à l'ethnopharmacopée vétérinaire: cas de deux plantes galactogènes chez les ovins Djallonké au Bénin. Thèse doctorat, Université d'Abomey-Calavi, Bénin. 208 pp.
- Amonkan AK, Konan AB, Kouakou LK, Bouafou GMK, Bleyere MN, Ahui MLB, Zannou VT, Ouattara H, Datte JY, Kati-Coulibaly S. 2010. Criblage phytochimique et effets d'un extrait aqueux de feuilles de *Ficus exasperata* Vahl. 1805 (Moraceae) sur la pression artérielle et l'activité contractile du cœur chez les mammifères. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **4**(3): 681-691.
- Anowi CF, Umanah U, Emezie AU, Utoh-Nedosa AU. 2012. Anti-diarrhoeal, antispasmodic and phytochemical properties of ethanol extract of the leaves of *Ficus exasperata*. *Asian J. Res. Pharm. Sci.*, **2**(1): 26-32.
- Athanasiadou S, Kyriazakis I, Jackson F, Coop RL. 2001. Direct anthelmintic effects of condensed tannins towards different gastrointestinal nematodes of sheep: *in vitro* and *in vivo* studies. *Vet. Parasitol.*, **99**: 205-219.
- Attindéhou S, Salifou S, BIAOU CF, Gbati OB, Adamou-Ndiaye M, Pangui LJ. 2012a. Epidemiology of haemonchosis in sheep and goats in Benin. *J. Parasitol. Vector Biol.*, **4**(2): 20-24. DOI: <https://doi.org/10.5897/JPVB12.012>
- Attindéhou S, Houngnimassoun HMA, Salifou S, Biaou CF. 2012b. Inventorying of herbal remedies used to control small ruminant's parasites in Southern Benin. *Int. Multidisciplinary Res. J.*, **2**(8): 14-16.
- Azando EVB, Hounzangbe-Adote SM, Olounlade PA, Brunet S, Fabre N. 2011. Involvement of tanins and flavonoids in the *in vitro* effects of *Newbouldia laevis* and *Zanthoxylum zanthoxyloides* extracts on the exsheathment of third-stage infective larvae of gastrointestinal nematodes. *Vet. Parasitol.*, **180**: 292-297. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.03.010>
- Chagas AC, Vieira LS, Freitas AR, Araujo MR, Araujo-Filho JA, Araguao WR, Navarro AM. 2008. Anthelmintic efficacy of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) and the homeopathic product FatorVermes (R) in Morada Nova sheep. *Vet. Parasitol.*, **151**(1): 68-73. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.10.003>
- Coles GC, Jackson F, Pomroy WE, Prichard RK, Von samson-Himmelstjerna G, Woodland A, Taylor MA, Vercruyse J. 2006. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol.*, **136**: 167-185. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.11.019>
- Gbangboché AB, Abiola FA, Laporte JP, Salifou S, Leroy PL. 2002. Amélioration des ovins dans l'Ouémé et le Plateau en République du Bénin. Enjeux de croisement des ovins Djallonké avec les moutons du Sahel. *Tropicicultura*, **20**(2): 70-75.
- Hoste H, Jackson F, Athanasiadou S, Thamsborg SM, Hoskin SO. 2006. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trends Parasitol.*, **22**(6): 253-261. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pt.2006.04.004>
- 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 doctorat, Université d'Abomey-Calavi, Bénin. 240 pp.
- Jackson F, Coop RL. 2000. The development of anthelmintic resistance in sheep nematodes. *Parasitol.*, **120**: 95-107.
- Kaplan RM. 2004. Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. *Trends in Parasitol.*, **20**: 477-481. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pt.2004.08.001>

- N'Guessan K, Kadja B, Zirihi G, Traoré D, Aké-Assi L. 2009. Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sci. Nat.*, **6**(1): 1-15. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/scinat.v6i1.48575>
- Odunbaku OA, Ilusanya OA, Akasoro KS. 2008. Antibacterial activity of ethanolic leaf extract of *Ficus exasperata* on *Escherichia coli* and *Staphylococcus albus*. *Scientific Res. Essay*, **3**(11): 562-564.
- Ogni CA, Kpodékon MT, Dassou HG, Boko CK, Koutinhoun BG, Dougnon JT, Youssao AKI, Yedomonhan H, Akoègninou A. 2014. Inventaire ethnopharmacologique des plantes utilisées dans le traitement des pathologies parasitaires dans les élevages extensifs et semi-intensifs du Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **8**(3): 1089-1102. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v10i5.13>
- Paolini V, Dorchies Ph, Athanasiadou S, Hoste H. 2002. Effets des tannins condensés et des plantes à tannins sur le parasitisme gastro-intestinal par les nématodes chez la chèvre. *Renc. Rech. Ruminants*, **9**: 411-414.
- Pomroy WE. 2006. Anthelmintic resistance in New Zealand: a perspective on recent findings and options for the future. *N. Z. Vet. J.*, **54**(6): 265-270. DOI: <https://doi.org/10.1080/00480169.2006.36709>
- Sidibé AS. 2001. Impact économique des maladies animales sur l'élevage en Afrique subsaharienne. In: Utilisation des trypanocides en Afrique Subsaharienne : actes du séminaire sous-régional, Dakar. Février 2001. pp.18-28.
- Ughachukwu PO, Ezenyeaku CCT, Ezeagwuna DA, Anahalu IC. 2012. Evaluation of anti-bacterial properties of ethanol extract of *Ficus exasperata* leaf. *Afri. J. Biotechnol.*, **11**(16): 3874-3876. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJB11.651>
- Waller PJ. 2006. From discovery to development: current industry perspectives for the development of novel methods of helminth control in livestock. *Vet. Parasitol.*, **139**(1-3): 1-14. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.02.036>