

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
École Nationale Supérieure Vétérinaire



Domaine : Sciences de la nature et de la vie  
Filière : Sciences vétérinaires

# Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de Docteur  
en

Médecine vétérinaire

**THÈME**

## Évaluation *in vitro* de l'activité anticoccidienne de *Fumaria capreolata* chez le poulet de chair

**Présenté par :**

Melle HARROU Wafaa  
Melle SAHRAOUI Narimène

Soutenu publiquement le 05 Novembre 2020 devant le jury :

M. HAMDI TM	Pr (ENSV)	Président
Mme BOUAYAD L	MCA (ENSV)	Examinatrice)
Mme BOUHAMED R	MCB (ENSV)	Examinatrice
M. GOUCEM R	MAA (ENSV)	Promoteur

2019-2020

## *Remerciements*

Nous aimerions remercier tout d'abord, et avant toute chose, Dieu le clément, le tout-puissant, de nous avoir donné la force et le courage d'aller au bout de notre objectif et de pouvoir mener ce travail à terme.

Au terme de ce modeste travail qui est le fruit de plusieurs années de formation, nous tenons tout particulièrement à adresser nos remerciements les plus vifs à notre promoteur, Dr GOUCEM R, qui nous a fait l'honneur de nous guider tout au long de son élaboration, pour ses conseils, son sérieux dans le travail et surtout sa patience.

Nos sincères considérations et remerciements vont également aux membres du jury : Pr HAMDI TM, président, et Dr Bouayad L et Dr Bouhamed R, examinatrices, qui ont aimablement accepté de juger ce travail et de consacrer de leur temps pour son évaluation.

Nous tenons à adresser nos remerciements les plus sincères à Mme AMIRECHE Fouzia, pour son aide précieuse, ses services, conseils et encouragements durant la réalisation de ce travail.

Un grand merci aux ingénieurs de laboratoire, Melle Zouaoui Meriem, Mme Slimanou Hiba et M. Saadi Ahmed, qui ont été si gentils, pour leur entière disponibilité, leur bonne humeur, leur coopération et leur aide.

Nos remerciements vont également au Dr DJERRABEYA Abdenour, vétérinaire, pour son aide inestimable et ses conseils.

Enfin, nos remerciements s'adressent à tous les enseignants et à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## ***Dédicaces***

*C'est avec un immense honneur que je dédie ce modeste travail à celui et celle qui m'ont  
donné la vie*

*À ma mère, la prunelle de mes yeux, celle qui ma pleurée jour et nuit pour me voir toujours  
au sommet, ma chère et tendre mère Fatma-Zohra, source de courage, qui a tant sacrifié pour  
me voir atteindre ce jour, pour sa tendresse et son amour qui ont été pour moi une lumière et  
un appui ;*

*À mon père Mohammed, source de respect, reconnaissance pour tout l'effort et le soutien,  
pour tout ce qu'il a fait pour moi pour que je sois celle que je suis aujourd'hui, je te demande,  
en m'inclinant devant tes sacrifices, de bien trouver dans ces mots mon profond dévouement.  
À la mémoire de mes grands-parents, Rabah et Boualem, qu'ils reposent en paix, et Cherifa et  
Khadoudja.*

*À ma chère sœur Wassila et son mari Messaoud.*

*À mon précieux frère Toufik et son épouse Namira.*

*À mon adorable frère Réda.*

*À mes adorables nièces et neveux Fadela, Mohammed, Meriem, Akram et Sara que j'aimerai  
pour toujours.*

*À ma collègue Narimène ; ensemble nous avons pu faire et achevé ce travail, nous avons  
partagé d'agréables moments tout au long de notre cursus universitaire, Que de bonheur  
dans ta vie.*

*A mes meilleures copines Hania, Nour El Houda, Tinhinene, Romaiassa, Reyane, Ramila,  
Sabrine et Ghozlène pour tous ces bons moments qu'on a passés ensemble.*

*À tous ceux que j'ai rencontrés à l'Université, et avec qui j'ai passé des moments  
inoubliables, surtout la promotion 2020.*

*À tous ceux qui m'ont aidée, d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin, dans la  
réalisation de ce travail, je leur suis reconnaissante du fond du cœur.*

**WAFAA**

## ***Dédicaces***

*Je rends grâce à Dieu de m'avoir donné le courage, la volonté, et la patience pour achever ce travail.*

*Je dédie ce travail :*

*À ma mère Nawel*

*"Tu m'a donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir. Tout ce que je peux offrir ne pourra exprimer l'amour que je te porte. Je t'offre ce modeste travail pour te remercier pour tes sacrifices et pour l'affection dont tu m'as toujours entourée."*

*À mon père Mahfoud*

*"L'épaule solide, l'œil attentif, compréhensif, et la personne la plus digne de mon estime et de mon respect. Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, que Dieu te préserve et te procure santé et longue vie."*

*À mes chères sœurs Nihad, Yasmine, et mon petit ange Wissem. Merci pour vos précieuses aides à la réalisation de ce travail.*

*À mon unique et très cher frère Sid Ahmed, que j'aime tant ; que Dieu te garde à mes côtés et te prête une longue et heureuse vie.*

*Et à ma chère amie, avec qui j'ai partagé tout, à mon binôme Wafaa*

*Narimène*

## Résumé

Dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales de la flore algérienne, une étude est menée sur une espèce endémique, *Fumaria capreolata*, une plante riche en alcaloïdes isoquinoléiques et très utilisée en médecine traditionnelle.

Le but de cette étude est d'évaluer l'activité anticoccidienne des alcaloïdes totaux extraits à partir de *Fumaria capreolata* afin de limiter l'utilisation des produits chimiques et par conséquent préserver la santé publique.

L'étude expérimentale est faite en trois parties : la première permet l'extraction des alcaloïdes totaux de *Fumaria capreolata* (AFC), la deuxième concerne l'isolement des oocystes d'*Eimeria* à partir de sept poulets de chair et leurs fientes, en suivant le protocole de Remmal *et al.* (2011), et la troisième est l'étude de l'activité anticoccidienne des AFC, en utilisant deux techniques : l'absorbance à 273 nm et le dénombrement des oocystes.

Les résultats obtenus révèlent que l'extrait d'AFC réduit considérablement le nombre des oocystes *in vitro*, allant de  $7,68 \times 10^5$  à  $4,89 \times 10^5$  oocystes/ml après 24 heures d'incubation, en utilisant l'extrait le plus dilué, 5,375 mg/ml, suffisant pour induire un effet coccidiocide.

La concentration létale DL50 de l'extrait de *Fumaria capreolata* est de 21,5 mg/ml avec lequel le nombre des oocystes est réduit de moitié (50%).

Les résultats indiquent également que l'effet des AFC est directement proportionnel au temps et à l'augmentation de la concentration d'extrait.

Cette étude révèle que les alcaloïdes de *Fumaria Capreolata* ont une activité anticoccidienne *in vitro* intéressante.

**Mots-clés :** *Fumaria capreolata*, poulet de chair, activité anticoccidienne, *in vitro*, alcaloïdes totaux.

## Abstract

As part of the enhancement of the medicinal plants of the Algerian flora, a study is being conducted on an endemic species, *Fumaria capreolata*, a plant rich in isoquinoleic alkaloids and widely used in traditional medicine.

The aim of this study is to evaluate the anticoccidial activity of the total alkaloids extracted from *Fumaria capreolata* in order to reduce the use of chemicals and consequently preserve public health.

The experimental study is made in three parts: the first one allows the extraction of total alkaloids from *Fumaria capreolata* (AFC), the second one concerns the isolation of *Eimeria* oocysts from seven broilers and their droppings, following the protocol of Remmal *et al.* (2011), and the third one is the study of the anticoccidial activity of AFCs, using two techniques: absorbance at 273 nm and oocyst count.

The results obtained show that AFC extract significantly reduces the number of oocysts *in vitro*, ranging from  $7.68 \times 10^5$  to  $4.89 \times 10^5$  oocysts/ml after 24 hours of incubation, using the most diluted extract, 5.375 mg/ml, sufficient to induce a coccidiocidal effect.

The LD50 lethal concentration of *Fumaria capreolata* extract is 21.5 mg/ml with which the number of oocysts is halved (50%).

The results also indicate that the effect of AFCs is directly proportional to time and to the increase in extract concentration.

This study reveals that the alkaloids of *Fumaria Capreolata* have an interesting *in vitro* anticoccidial activity.

**Keywords:** *Fumaria capreolata*, broiler, anticoccidial activity, *in vitro*, total alkaloids.

## ملخص

في إطار ترمين النباتات الطبية للجزائر، اهتمت بدراسة الأنواع المتوطنة، *Fumaria capreolata* وهو نبات غني جداً بالقلويات الأيزوكوينولينية ويستخدم جداً في الطب التقليدي. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم نشاط مضاد للكوكسيديا للقلويات الكلية المستخرجة من *Fumaria capreolata* لتقليل استخدام المواد الكيميائية وبالتالي حماية الصحة العامة. الجزء الأول من هذه الدراسة يتعلق باستخراج إجمالي للقلويدات من *Fumaria capreolata*، ويتعلق الجزء الثاني بعزلة بويضات إيميريا من سبع دجاجات تسمين وروثها بمتابعة بروتوكول (رمال وآخرون. 2011)، والجزء الثالث هو دراسة النشاط مضاد للكوكسيديا لـ AFCs باستخدام طريقتين: الامتصاص عند 273 نانومتر وتعداد البويضات. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن مستخلص AFC قلل إلى حد كبير عدد البويضات في المختبر التي تتراوح من  $10^5 \times 7.68$  إلى  $10^5 \times 4.89$  من البويضات بعد 24 ساعة من الحضانة باستخدام أكثر المستخلصات المخففة 5.375 مغ / مل يكفي لتحفيز تأثير الكوكسيدي. ويلاحظ أيضاً أن التركيز المميت (DL50) لمستخلص *Fumaria capreolata* كان 21.5 مجم / مل حيث انخفض عدد البويضات إلى النصف (50%). تشير النتائج أيضاً إلى أن تأثير AFC يتناسب طردياً مع الوقت وزيادة تركيز المستخلص. كشفت هذه الدراسة أن قلويدات *Fumaria capreolata* لها نشاط مضاد للكوكسيديا في المختبر. الكلمات المفتاحية ، *Fumaria capreolata* ، نشاط مضاد للكوكسيديا ، مجموع قلويدات في المختبر ، لحم الدجاج

## Liste des Figures

Figure 1 : Cycle évolutif d' <i>Eimeria</i> spp. (Jean <i>et al.</i> , 2011). .....	3
Figure 2 : Localisation lésionnelle des espèces de coccidies chez le poulet (Merck Veterinary Manual).....	7
Figure 3 : Quelques espèces appartenant à la famille des Fumariacées (Janzein, 1995). 10	
Figure 4 : Photographies de <i>Fumaria capreolata</i> prises à Ain Benian (photos personnelles). .....	11
Figure 5 : Différentes parties aériennes de <i>Fumaria capreolata</i> (photo personnelle). ....	14
Figure 6 : Matériel utilisé (photos personnelles). .....	15
Figure 7 : Carte géographique de la région de récolte de <i>Fumaria capreolata</i> (www.googlemaps.com). .....	16
Figure 8 : Préparation de la matière végétale (photos personnelles). .....	16
Figure 9 : Protocole d'extraction des alcaloïdes totaux de <i>Fumaria capreolata</i> (photos personnelles). .....	17
Figure 10 : Apparition du point d'équivalence lors de dosage acido-basique (photos personnelle). .....	18
Figure 11 : Réalisation des dilutions (photos personnelles).....	18
Figure 12 : Étapes d'échantillonnage des fientes de poulet (photos personnelles).....	19
Figure 13 : Prélèvement des fientes par raclage (photos personnelles).....	20
Figure 14 : Protocole de la flottaison (photos personnelles).....	21
Figure 15 : Étapes de préparation d'une suspension à partir des fientes (photos personnelles). .....	22
Figure 16 : Dénombrement des oocystes sur la lame McMaster (photos personnelles). .	24
Figure 17 : Utilisation du bichromate de potassium (photos personnelles).....	24
Figure 18 : Préparation du milieu PBS (photos personnelles). .....	25
Figure 19 : Étapes du protocole suivi pour déterminer l'effet des AFC (photos personnelles). .....	26
Figure 20 : Cæcum hypertrophié et intestin congestionné et infecté par la coccidiose d'un sujet de 32 jours (photos personnelles).....	27
Figure 21 : Oocyste <i>Eimeria</i> (x40) (photos personnelles).....	27
Figure 22 : Oocystes <i>Eimeria</i> sp. (x10) (photo personnelle). .....	28
Figure 23 : Représentation graphique du nombre d'oocystes détruits et libération de matériaux cellulaires. ....	30
Figure 24 : Représentation graphique de l'effet des AFC sur le nombre d'oocystes et de la variation d'absorbance à 273 nm.....	30

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 : Taxonomie du genre <i>Eimeria</i> (Bussiéras et Chermette, 1992).....</b>	<b>2</b>
<b>Tableau 2 : Lésions dues aux différentes espèces de coccidies (Fortineau et Troncy, 1985) .....</b>	<b>6</b>
<b>Tableau 3 : Classification taxonomique de <i>Fumaria capreolata</i> (Goetz <i>et al.</i>, 2009).....</b>	<b>12</b>
<b>Tableau 4 : Composition chimique de <i>Fumaria capreolata</i> (Forgaces <i>et al.</i>, 2000) 7 .....</b>	<b>13</b>
<b>Tableau 5 : Score lésionnel d'après la méthode de Johnson et Reid (1970) .....</b>	<b>20</b>
<b>Tableau 6 : Différentes espèces d'<i>Eimeria</i> qui affectent le poulet de chair (Reid <i>et al.</i>, 1978) .....</b>	<b>23</b>
<b>Tableau 7 : Composition chimique de la solution tampon PBS (Remmal <i>et al.</i>, 2011)....</b>	<b>25</b>
<b>Tableau 8 : Effet des AFC sur le nombre d'oocystes d'<i>Eimeria</i> (X 10<sup>5</sup>) selon la concentration .....</b>	<b>29</b>
<b>Tableau 9 : Effet des AFC sur la libération du contenu intracellulaire absorbant à à 273 nm selon la concentration .....</b>	<b>29</b>

## Liste des abréviations

**Abs** : Absorbance

**AFC** : Alcaloïdes de *Fumaria capreolata*

**DL50** : Dose létale à 50%

**E** : *Eimeria*

**KCl** : Chlorure de potassium

**K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>** : Bichromate de potassium

**KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>** : Phosphate de potassium

**NaCl** : Chlorure de sodium

**Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>** : Hydrogénophosphate de sodium

**PBS** : Phosphate Buffered Saline

**Sp** : Espèce

**λ** : Longueur d'onde

# Sommaire

Introduction .....	1
--------------------	---

## Partie bibliographique

### Chapitre I: La coccidiose aviaire

I.1.Définition .....	2
I.2.Taxonomie .....	2
I.3.Détermination du parasite .....	2
I.4.Cycle évolutif.....	3
I.4.1. Phase exogène .....	3
I.4.1.1. Sporulation.....	3
I.4.1.2. Conditions de la sporulation.....	3
I.4.2. Phase endogène.....	4
I.4.2.1. Excystation .....	4
I.4.2.2. Mérogonie (schizogonie) .....	4
I.4.2.3. Gamogonie .....	4
I.5.Épidémiologie .....	5
I.6.Pouvoir pathogène .....	5
I.7.Symptômes.....	6
I.8.Lésions .....	6
I.9.Diagnostic .....	7
I.10.Moyens de lutte .....	7
I.10.1. Traitement .....	7
I.10.2. Prophylaxie .....	8
I.10.2.1. Prophylaxie sanitaire.....	8
I.10.2.2. Prophylaxie médicale .....	8
I.10.2.2.1. Chimio-prévention .....	8
I.10.2.2.2. Vaccination .....	9

### Chapitre II : *Fumaria capreolata*

II.1.Généralités sur les plantes médicinales .....	10
II.1.1. Fumariacées.....	10
II.2. <i>Fumaria capreolata</i> .....	11
II.2.1. Définition et description botanique de <i>Fumaria capreolata</i> .....	11
II.2.2. Taxonomie de <i>Fumaria capreolata</i> .....	11

II.2.3. Écologie .....	12
II.2.4. Origine et répartition géographique de <i>Fumaria capreolata</i> .....	12
II.2.5. Composition chimique de <i>Fumaria capreolata</i> .....	12
II.2.6. Utilisation médicinale de <i>Fumaria capreolata</i> .....	13

## Partie Expérimentale

1.Objectifs .....	14
2.Matériel et méthode .....	14
2.1. Matériel végétal.....	14
2.2. Matériels de laboratoire.....	14
2.3. Produits chimiques .....	15
2.4. Méthode .....	15
2.4.1. Préparation de la matière végétale .....	15
2.4.2. Extraction des alcaloïdes .....	17
2.4.2.1 Détermination de la concentration des alcaloïdes totaux.....	18
2.4.2.2 Préparation des dilutions .....	18
2.4.3. Préparation des fientes de poulet de chair .....	19
2.4.3.1. Échantillonnage.....	19
2.4.3.2 Prélèvements.....	19
2.4.3.3 Évaluation des lésions .....	20
2.4.3.4 Méthode de flottaison .....	20
2.4.3.5. Préparation de la suspension parasitaire .....	21
2.4.3.6. Identification des espèces .....	23
2.4.3.7. Dénombrement des oocystes .....	23
2.4.3.8. Conservation des échantillons .....	24
2.4.4. Préparation du milieu de culture PBS.....	25
2.4.5. Étude de l'activité anticoccidienne de l'extrait de <i>Fumaria capreolata</i> .....	26
3.Résultats et discussion.....	27
3.1. Identification des oocystes d' <i>Eimeria</i> spp.....	27
3.2. Dénombrement des oocystes .....	27
3.3. Effet des AFC sur le nombre d'oocystes d' <i>Eimeria</i> et la libération du contenu intracellulaire .....	28
Conclusion.....	31

## Introduction

L'Algérie est classée troisième pays arabe producteur de viandes blanches ; ce dernier est un produit de bonne qualité car il est riche en protéines et pauvre en graisses (Djauini, 2006).

En revanche, les pathologies aviaires causent des pertes économiques importantes dans les élevages avicoles (Villate, 1992) ; parmi celles-ci, la coccidiose est la maladie parasitaire la plus fréquente en aviculture ; elle est causée par le développement de coccidies dans l'intestin des oiseaux. Cela provoque des dommages économiques directs suite à la mortalité, la baisse de croissance et une mauvaise conversion alimentaire.

De nos jours, les anticoccidiens restent encore le principal moyen de lutte contre cette pathologie parasitaire (Sanders, 2005), mais l'apparition de souches résistantes rendent inefficaces la plupart des substances disponibles. L'homme cherche toujours d'autres méthodes de lutte contre ces affections (Naciri, 2003). La phytothérapie, en particulier, parmi les nouvelles stratégies, et l'utilisation des extraits de plantes et d'huiles essentielles, est proposée dans plusieurs travaux (Nweze et Obiwulu, 2009).

Le traitement par les plantes est reconnu pour sa facilité d'utilisation et son efficacité, et a tendance de plus en plus à se développer pour rechercher des molécules actives d'origine naturelle à cause des effets indésirables des produits chimiques classiques. Parmi les plantes utilisées dans la médecine traditionnelle, le genre *Fumaria* est connu pour ses multiples activités biologiques : anti-inflammatoire, antimicrobienne, diurétique...

Pour cette raison, le présent travail consiste à évaluer *in vitro* l'effet des molécules bioactives d'extraits alcaloïdiques de plantes de *Fumaria capreolata* sur les oocystes d'*Eimeria* chez le poulet de chair.

Ce travail comporte des études bibliographiques sur la coccidiose aviaire et également l'espèce *Fumaria capreolata* suivi d'une étude expérimentale commence par l'extraction des alcaloïdes à partir d'une poudre végétale déjà préparée, l'exécution de la méthode de flottaison dans le but de détecter les oocystes d'*Eimeria* et identifier l'espèce en cause afin de préparer une suspension parasitaire et il se termine par l'étude de l'activité anticoccidienne en basant sur le dénombrement des oocyste d'une par et l'absorbance au spectrophotomètre d'autre part.

# Partie Bibliographique

# Chapitre I : Coccidiose aviaire

## I.1. Définition

La coccidiose est considérée comme une maladie fréquente et importante des volailles. Cette maladie est causée par la présence et la multiplication de diverses coccidies du genre *Eimeria*, dont on dénombre plusieurs espèces, dans les cellules épithéliales de l'intestin. Elle se manifeste par une entérite, parfois hémorragique, d'évolution aiguë et mortelle, ou par une forme subclinique (Lancaster, 1983).

L'impact négatif de la coccidiose est palpable, tels que la mauvaise conversion alimentaire, le retard de croissance, des frais supplémentaires en médicaments et la détérioration de la qualité des carcasses (Pierre, 2001).

Elle se traduit également par un taux de mortalité et de morbidité pouvant atteindre 80 à 100% de l'effectif (Buldgen *et al.*, 1996).

## I.2. Taxonomie

Selon Bussiéras et Chermette (1992), les parasites agents de coccidioses du poulet appartiennent au genre *Eimeria* et sont classés comme suit (tableau 1) :

**Tableau 1** : Taxonomie du genre *Eimeria* (Bussiéras et Chermette, 1992)

<b>Règne</b>	Animal
<b>Sous- embranchement</b>	<i>Apicomplexa</i>
<b>Classe</b>	<i>Sporozoasidae</i>
<b>Sous-classe</b>	<i>Coccidiosina</i>
<b>Ordre</b>	<i>Eucoccidiorida</i>
<b>Sous-ordre</b>	<i>Eimeriorina</i>
<b>Famille</b>	<i>Eimeriidae</i>
<b>Genre</b>	<i>Eimeria</i>
<b>Espèces</b>	<i>E. tenella</i> ; <i>E. necatrix</i> ; <i>E. maxima</i> ; <i>E. brunetti</i> ; <i>E. acervulina</i> ; <i>E. praecox</i> ; <i>E. mitis</i>

## I.3. Détermination du parasite

Les coccidies sont des protozoaires intracellulaires obligatoires (Fritzsche et Gerriet, 1965). Elles se distinguent par la taille de leur oocyste, la localisation intestinale de leur développement et la

forme de résistance et de dissémination du parasite dans le milieu extérieur. D'autres paramètres, comme la durée de sporulation et la forme des oocystes (ovoïde, ellipsoïde, subsphérique ou circulaire), peuvent aider à la détermination des espèces de coccidies (Fortineau et Troncy, 1985).

## I.4. Cycle évolutif

Les coccidies ont un cycle de développement biphasique (figure 1), avec une phase extérieure à l'hôte (phase de résistance et de dissémination), et une phase intérieure à l'hôte (phase de multiplication et de reproduction) (Crevieu et Naciri, 2001).

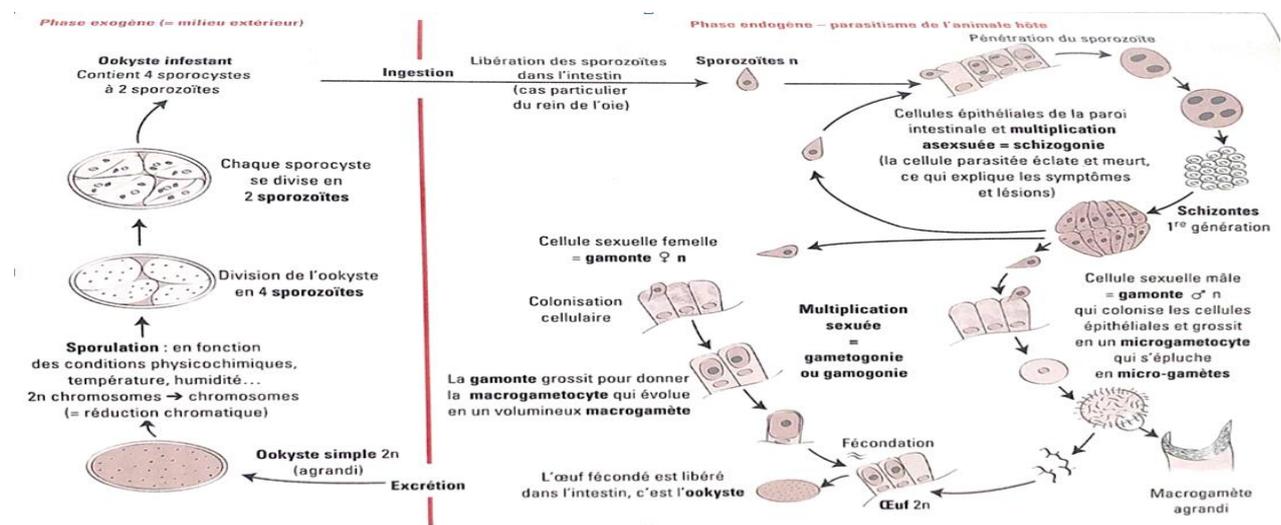


Figure 1 : Cycle évolutif d'*Eimeria* spp (Jean *et al.*, 2011)

### I.4.1. Phase exogène

#### I.4.1.1. Sporulation

Les oocystes éliminés dans les fientes des sujets infectés peuvent rester dans les litières pendant très longtemps. Grâce à des conditions propices de température (15 à 30°C) et d'hygrométrie, les oocystes vont sporuler dans les 48 heures, c'est-à-dire se transformer en structures contenant 4 sporocystes, chacun contenant 2 sporozoïtes. À ce stade, les oocystes sporulés sont prêts à infecter un nouvel hôte après ingestion (Brugère-Picoux *et al.*, 2015).

#### I.4.1.2. Conditions de la sporulation

La sporulation des oocystes dépend principalement de quatre facteurs de base :

- La température optimale pour la sporulation de la plus grande majorité des espèces de coccidies est comprise entre 20 et 25°C. La sporulation dure alors 2 à 3 jours sous réserve d'une humidité et d'oxygénation suffisantes (Yvoré, 1992).

- L'humidité relative minimale est de 30% et optimale à 80% ; dans les élevages intensifs de volailles, c'est à proximité des points d'abreuvement mal établis et laissant s'écouler de l'eau que la contamination est maximale ; en milieu sec, les oocystes n'évoluent pas et succombent rapidement (Bussiéras et Chermette, 1992 ; Euzéby, 1987).
- Oxygénation : la respiration est très active pendant la sporogonie et la consommation d'oxygène est très élevée. En effet, la sporogonie ne peut pas s'accomplir dans des conditions d'anaérobiose, ce qui explique qu'elle ne se réalise pas dans le tube digestif (Bussiéras et Chermette, 1992).
- Espèce coccidienne : la variation du temps de sporulation peut être considérée comme un des critères d'identification des différentes espèces (Chartier et Paraud, 2012). Plus la taille de l'oocyste augmente et plus la durée de sporulation est importante (Euzéby, 1987).

## **I.4.2. Phase endogène**

### **I.4.2.1. Excystation**

La forme sporulée subit le processus d'excystation, puis libération et pénétration des sporozoïtes dans les cellules épithéliales intestinales. La paroi des oocystes est rompue par l'activité de broyage dans le gésier pour libérer deux sporozoïtes de chaque sporocyste, sous l'action combinée des enzymes pancréatiques et des sels biliaires (Price et Barta, 2010).

### **I.4.2.2. Mérogonie (schizogonie)**

Les sporozoïtes sont libérés dans la lumière intestinale, puis ils pénètrent dans les entérocytes de l'épithélium de surface et passent dans les lymphocytes intra-épithéliaux contigus qui sont mobiles, traversent la membrane basale et migrent dans la *lamina propria* vers les cryptes glandulaires de la muqueuse où les sporozoïtes s'arrondissent dans des vacuoles et donnent des trophozoïtes (Brugère-Picoux *et al.*, 2015).

Ensuite, le schizozoïte se divise selon un processus de divisions asexuées multiples, encore appelées mérogonies (ou schizogonies) et chaque schizonte libérera, après rupture cellulaire, plusieurs milliers de mérozoïtes (Brugère-Picoux *et al.*, 2015).

La plupart des mérozoïtes vont à leur tour envahir les cellules épithéliales voisines pour répéter ce processus de multiplication. Selon les espèces d'*Eimeria*, ce processus sera répété entre 2 et 4 fois par invasion de nouvelles cellules épithéliales (Brugère-Picoux *et al.*, 2015).

### **I.4.2.3. Gamogonie**

Après la dernière mérogonie, les mérozoïtes envahissent les cellules hôtes et se transforment en gamétocytes, mâles ou femelles. Les gamétocytes mâles se multiplient par un processus de

division multiple asexuée et ces microgamètes sont libérés dans la lumière intestinale. À l'inverse, le gamétoocyte femelle effectue sa maturation sans division cellulaire, en formant le macrogamète dans la cellule hôte (Brugère-Picoux *et al.*, 2015).

### **I.5. Épidémiologie**

Selon Yvoré *et al* (1982), la contamination par les coccidies est un phénomène presque inévitable en élevage. L'unique source de parasites dans un élevage est représentée par les animaux infectés rejetant les oocystes dans leurs fèces. Contaminés par les oocystes rejetés, la litière, l'aliment et l'eau deviennent également des sources de contamination.

En élevage traditionnel, l'infestation n'est souvent pas sévère compte tenu de son aspect extensif (Yvoré, 1992), sauf lorsqu'il y a un effet cumulatif dans le temps chez les sujets âgés.

Toute la volaille est réceptive aux coccidies mais il existe une différence fondamentale dans la sensibilité qui est variable en fonction de :

- ❖ La souche de volaille et l'âge des sujets.
- ❖ L'état général : les sujets atteints de la maladie de Gumboro font une maladie plus grave.
- ❖ L'espèce de coccidie : *Eimeria tenella* provoque une maladie plus sévère.
- ❖ Le degré d'infestation.

Les oocystes de coccidies sont très résistants, notamment après sporulation, d'où la pérennité de l'infection (Matsui *et al.*, 1989).

Dans le milieu humide, les oocystes conservent leur longévité pendant plusieurs mois à des températures comprises entre 5 et 25°C. En milieu sec, leur survie est beaucoup plus faible: ils ne résistent pas plus de 3 à 4 jours. La chaleur tue les oocystes en 30 minutes à 60°C et en quelques secondes à 80°C (Lister et Knott, 2000). Dans l'eau, les oocystes sont toujours infectants après 14 mois (*E. necatrix*), voire deux ans (*E. tenella*) (Bussiéras et Chermette, 1992).

### **I.6. Pouvoir pathogène**

Les coccidies ont un impact très varié sur l'organisme de l'animal, en provoquant plusieurs traumatismes, parmi lesquels la destruction des cellules épithéliales qui se fait par rupture de la membrane cellulaire, libérant des mérozoïtes, et une action toxique locale responsable d'une nécrose aggravant les hémorragies (Freeman, 1970). En revanche, l'infection induit des perturbations nutritionnelles, une inhibition, par un phénomène toxique, de l'amylase et de la lactase, ainsi qu'une atrophie des villosités, qui résulte en une diminution de la digestion, de l'absorption des nutriments et des pigments caroténoïdes (Adams *et al.*, 1996).

## I.7. Symptômes

La coccidiose s'accompagne de symptômes non spécifiques, comme la prostration et la frilosité. Les animaux se blottissent les uns contre les autres, adoptent une position en boule, les yeux mi-clos ou fermés, les plumes sales, ébouriffées et les ailes pendantes. Cet état s'accompagne d'une perte d'appétit et de poids, et de diarrhée.

La coccidiose caecale est responsable de diarrhée sanguinolente et d'une mortalité élevée, alors que la coccidiose intestinale se traduit par une fonction digestive altérée ; l'absorption des nutriments est alors modifiée, la synthèse protéique est diminuée (impact sur la ponte) et la production globale est mauvaise.

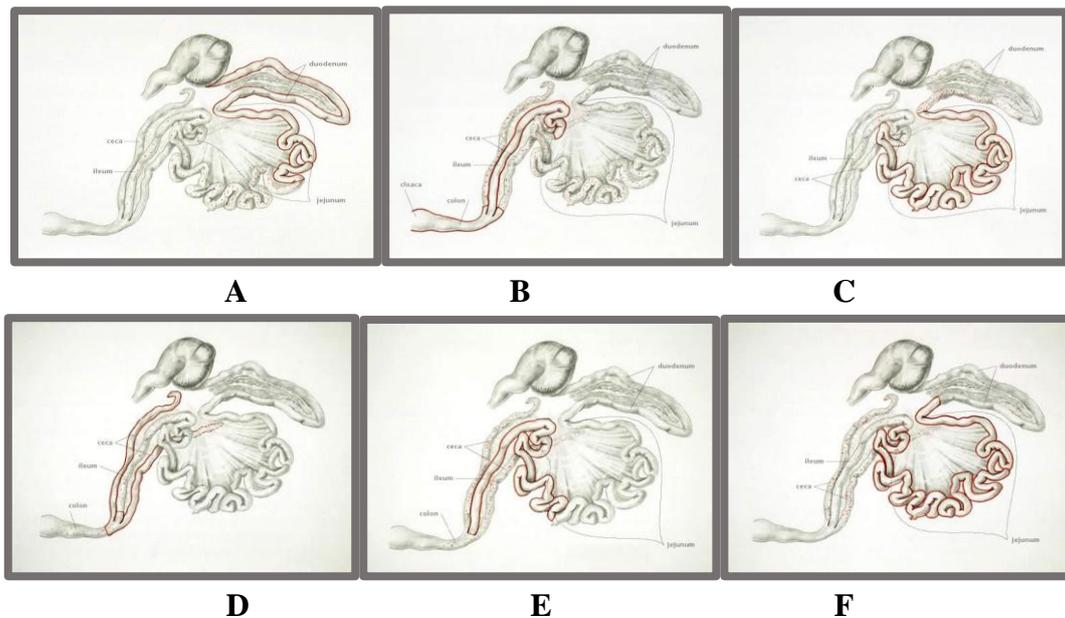
En effet, une fuite de nutriments et de minéraux est à l'origine d'une baisse de la protidémie, de la lipidémie et de la teneur en pigments caroténoïdes sériques responsables de la coloration de la carcasse (Hamon, 2002).

## I.8. Lésions

On observe à l'autopsie des lésions macroscopiques qui varient en fonction des espèces de coccidies; la figure 2 montre la localisation de chaque espèce et le tableau 2 illustre leurs lésions macroscopiques.

**Tableau 2** : Lésions dues aux différentes espèces de coccidies (Fortineau et Troncy, 1985)

<b>Espèces</b>	<b>Localisations des lésions</b>	<b>Lésions macroscopiques et nature du contenu intestinal</b>
<i>Eimeria tenella</i>	Caecas	Lésions blanchâtres et hémorragiques Epaississement de la paroi intestinale
<i>Eimeria necatrix</i>	Intestin grêle (gamétogonie dans le caecum)	Paroi épaissie avec taches blanchâtres et pétéchiées. Exsudat hémorragique
<i>Eimeria brunetti</i>	2eme moitié de l'intestin grêle, caecum-rectum	Pétéchiées et lésions nécrotiques Entérites catarrhales plus ou moins hémorragique
<i>Eimeria maxima</i>	Partie moyenne de l'intestin grêle	Paroi épaissie avec des taches hémorragique. Exsudat rosé
<i>Eimeria acervulina</i>	1 <sup>er</sup> tiers de l'intestin grêle	Pétéchie, paroi épaissie. Annelure blanchâtres pouvant fusionner lors d'infection massive. Exsudat mucoïde
<i>Eimeria praecox</i>	1 <sup>er</sup> tiers de l'intestin grêle	Pas de lésion macroscopique Exsudat mucoïde



**Figure 2** : Localisation lésionnelle des espèces de coccidies chez le poulet

([www.merckvetmanual.com](http://www.merckvetmanual.com))

(**A**) *E. acervulina*; (**B**) *E. brunetti* ; (**C**) *E. maxima* ; (**D**) *E. tenella* ; (**E**) *E. mitis* ; (**F**) *E. necatrix*

➤ Les lésions microscopiques se traduisent par une nécrose épithéliale et une atrophie des villosités intestinales. Ces lésions sont dues aux schizontes pour *E. tenella* et *E. necatrix* ou aux gamontes pour les autres espèces.

Dans la forme nécrotique et hémorragique, on note une destruction complète de l'épithélium et des villosités, associée à des hémorragies (Maissaï, 2015).

## I.9. Diagnostic

Le site du parasitisme varie du duodénum au caecum et le degré de pathogénicité varie de légère à sévère selon les espèces de parasites (Price et Barta, 2010).

Le diagnostic de la coccidiose est réalisé par l'examen clinique des volailles pour les cas individuels, et l'examen parasitologique microscopique *post mortem* sur des matières fécales et des raclures intestinales pour détecter les oocystes ou d'autres formes intermédiaires (schizontes, gamétocystes...) (Adewole, 2012).

## I.10. Moyens de lutte

### I.10.1. Traitement

Le traitement est basé sur l'utilisation d'une gamme variée d'anticoccidiens. Les sulfamides sont encore les plus utilisés, soit seuls, soit associés à d'autres médicaments tels que l'amprolium et les pyrimidines (Saville, 1999). Ils sont utilisés, de préférence, dans l'eau mais ils peuvent aussi être ajoutés dans l'aliment.

Le traitement doit être mis en œuvre dès les premiers cas confirmés de coccidiose clinique et dès que les indices lésionnels le rendront nécessaire. Ces médicaments doivent être administrés de préférence dans l'eau car la soif est mieux conservée que l'appétit dans le cas d'infections à *E. necatrix*, *E. maxima*, et *E. brunetti* (Aitfela, 2012).

## **I.10.2. Prophylaxie**

On distingue la prophylaxie sanitaire et la prophylaxie médicale :

### **I.10.2.1. Prophylaxie sanitaire**

La prévention de la coccidiose aviaire est basée sur la biosécurité des élevages, le respect de la densité, la bonne ventilation, la litière sèche et une température correcte (Taylor *et al.*, 2007) :

- ❖ Isolation : garder les oiseaux dans un environnement confiné, séparés par âge, des humains et contrôle du trafic à l'intérieur et entre les fermes.
- ❖ Hygiène : nettoyer et désinfecter l'équipement et les bâtiments entre les lots, hygiène des travailleurs et visiteurs entrant et sortant de la ferme (Peek *et al.*, 2011).
- ❖ Favoriser un système de ventilation naturel car les coccidies sont 2 fois plus présentes lors de ventilation mécanique.
- ❖ Favoriser un plancher et des murs faciles à nettoyer.
- ❖ Faire un contrôle adéquat des autres maladies.
- ❖ Contrôler la température du bâtiment (Akçay *et al.*, 2011).

Enfin, il faut faire un suivi sanitaire des oiseaux car les coccidies sont des parasites opportunistes qui profitent de l'affaiblissement de l'hôte. Ces derniers doivent être nourris avec une alimentation de bonne qualité et riche en vitamines A et D pour accroître leur résistance.

### **I.10.2.2. Prophylaxie médicale**

#### **I.10.2.2.1. Chimio-prévention**

Actuellement, la chimio-prophylaxie et la chimiothérapie sont largement utilisées pour lutter contre la maladie, mais l'utilisation prolongée de ces médicaments conduit inévitablement à l'apparition de souches d'*Eimeria* résistantes aux médicaments (Tierney *et al.*, 2004 ; Jeurissen *et al.*, 1996).

Le traitement en groupe (tout l'effectif) est réalisé par 2 méthodes :

- ✓ Soit par des traitements anticoccidiens périodiques toutes les 3 semaines ;
- ✓ Soit par la supplémentation permanente de coccidiostatiques (additifs alimentaires) dans l'aliment.

#### **I.10.2.2.2. Vaccination**

Il est indispensable de conserver le maximum d'efficacité des produits anticoccidiens actuels (Hachimi *et al.*, 2008), mais l'apparition de résistances a stimulé la recherche d'autres méthodes alternatives préventives comme la vaccination (Naciri et Brossier, 2009). Les vaccins sont composés de souches sélectionnées de chacune des espèces pathogènes de coccidies qui affectent la volaille. Ces souches présentent un développement rapide *in vivo*, avec un minimum de dommages à l'intestin, mais stimulent une immunité efficace (Taylor *et al.*, 2007).

Il existe différents types de vaccins :

✓ **Vaccins inactivés injectables** : Vaccination des géniteurs. Un transfert des anticorps maternels à la descendance

✓ **Vaccins vivants virulents** : Contre les coccidioses du poulet et du dindon. Il est moins utilisé sur terrain car l'utilisation de souches virulentes peut induire des coccidioses (Marien et de Guessem, 2007).

✓ **Vaccins vivants atténués** : Il s'agit de vaccins tels que Paracox®-8, Paracox®-5 et Livacox®. Le Paracox®-8 (8 souches d'*Eimeria*) cible les volailles à vie longue (reproducteurs, poules pondeuses), tandis que le Paracox®-5, plus récemment mis sur le marché, est réservé au poulet de chair (Naciri, 2001).

## Chapitre II : Étude ethno-pharmacologique de *Fumaria capreolata*

### II.1. Généralités sur les plantes médicinales

Depuis l'antiquité, tous les peuples sur tous les continents ont la vieille tradition d'utiliser des plantes pour se soigner. Malgré les efforts des chimistes pour la synthèse de nouvelles molécules, plus de 25% des médicaments prescrits dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes (Leclercq, 2002).

Les plantes médicinales regroupent l'ensemble des plantes dont un ou plusieurs de leurs organes sont utilisés pour leurs vertus thérapeutiques (Sanago, 2006).

L'expression "drogue végétale", ou plus couramment "drogue", désigne une matière première naturelle servant à la fabrication de médicaments (Ali Shtayeh *et al.*, 2008).

#### II.1.1. Fumariacées

La famille des Fumariacées (figure 3) est une famille de plantes dicotylédones qui comprend 450 espèces réparties en une quinzaine de genres (Suau *et al.*, 2002 a). Les Fumariacées sont des espèces d'herbe annuelle qui sont largement distribués dans la région méditerranéenne, elles sont très riche en alcaloïdes isoquinoliéques (Suau *et al.*, 2005), de goût amer à l'état frais, salé à l'état sec (Jauzein, 1995).

La fumeterre vient du mot latin *Fumus*, qui signifie "fumée de terre" et serait due au fait que le jus de la plante fait pleurer les yeux comme la fumée (Debelmas *et al.*, 1978).



*Fumaria officinalis*



*Fumaria agraria*



*Fumaria muralis*



*Fumaria capreolata*



*Fumaria bastardii*



*Fumaria densiflora*



*Fumaria parviflora*



*Fumaria vaillantii*

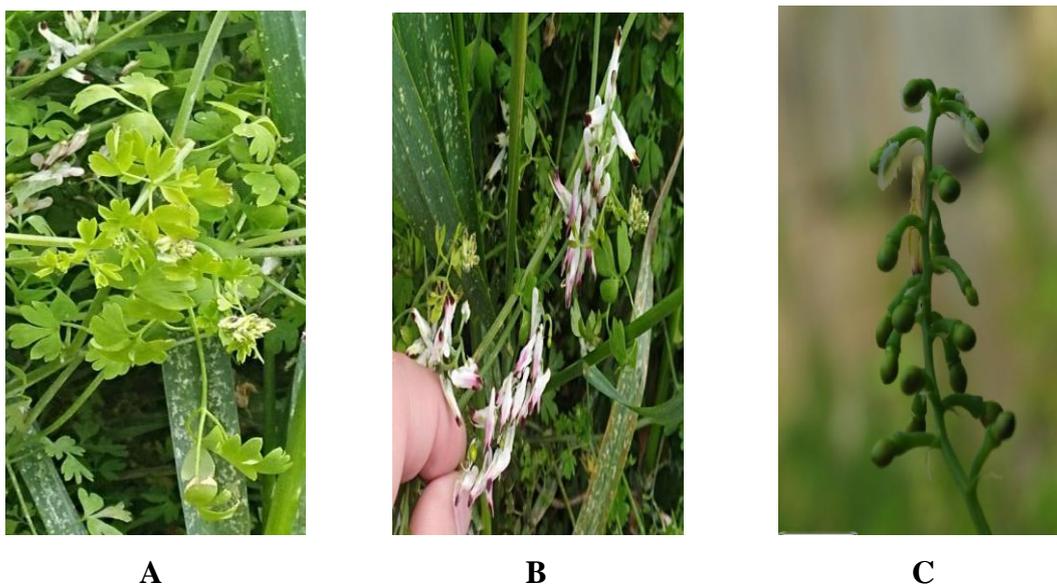
**Figure 3 :** Quelques espèces appartenant à la famille des Fumariacées (Janzein, 1995)

## II.2. *Fumaria capreolata*

### II.2.1. Définition et description botanique de *Fumaria capreolata*

*Fumaria capreolata* est connue sous le nom de "fumeterre blanche" ou "fumeterre grimpante", en anglais "fumittery" ou "earthsmoke", et en kabyle "zalamit" (Orhana *et al.*, 2012) par référence à la pointe des allumettes ou Tijujar yesghi ou tiquiquech yesghi (plume d'oiseau), et en arabe "Chick el Kanoun" ou "Lewliya".

Elle est caractérisée par une tige couchée, grimpante ou dressée, simple ou rameuse, dont la hauteur peut atteindre 30 à 80 cm. Ses feuilles sont pennatiséquées, s'accrochant souvent par les pédicelles des lobes (figure 4 A). Ses fleurs, blanches ou jaunâtres, sont pourpre noir à l'extrémité, éperonnées et longues de 9 à 15 mm ; elles forment des grappes lâches de 5 à 20 fleurs ; les sépales sont longs de 4 à 6 mm (figure 4 B). Les fruits de la plante sont subsphériques, non apiculés, lisses, d'un diamètre de 2 à 2,5 mm ; les pédicelles sont fructifères recourbés (figure 4 C) (Benoît, 2013).



**Figure 4 :** Photographies de *Fumaria capreolata* prises à Ain Benian (photos personnelles)

A : Feuilles ; B : Fleurs ; C : Fruit

### II.2.2. Taxonomie de *Fumaria capreolata*

*Fumaria capreolata* appartient à la classe des *Magnoliopsida* (dicotylédones), à la famille des *Fumariaceae* et au genre *Fumaria*.

La classification botanique de la plante est présentée dans le tableau 3.

**Tableau 3 :** Classification taxonomique de *Fumaria capreolata* (Goetz *et al.*, 2009)

<b>Règne</b>	<i>Plantae</i> (plante)
<b>Sous-règne</b>	<i>Tracheobionta</i> (plante vasculaire)
<b>Super-division</b>	<i>Spermatophyta</i> (plante à gaines)
<b>Division</b>	<i>Magnoliophyta</i> (plante à fleurs)
<b>Sous-division</b>	Angiosperme
<b>Classe</b>	<i>Magnoliopsida</i> (dicotylédone)
<b>Sous-classe</b>	<i>Magnoliidae</i>
<b>Ordre</b>	Papavérale
<b>Famille</b>	<i>Fumariaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Fumaria</i>
<b>Espèce</b>	<i>Fumaria capreolata</i>

### II.2.3. Écologie

La fumeterre est une plante herbacée annuelle, avec floraison durant le printemps ; de mars à juin, son habitat est essentiellement les murs, haies et terrains rocailleux et cultivés (*Tela Botanica*, 2011).

### II.2.4. Origine et répartition géographique de *Fumaria capreolata*

*Fumaria capreolata* est originaire de l'Europe du Sud. Elle pousse sur les terres cultivées ou rudérales dans toute la région méditerranéenne et dans les zones tempérées de l'Asie. Elle préfère les sols riches en azote (*Tela Botanica*, 2011). En Algérie, elle est commune dans tout le pays ; elle pousse surtout dans les forêts et les broussailles (Suau *et al.*, 2002 a ; Ait Yousef, 2006).

### II.2.5. Composition chimique de *Fumaria capreolata*

*Fumaria capreolata* contient plusieurs types de composés chimiques (tableau 4) : des acides organiques tels que l'acide caféique, l'acide citrique, l'acide coumarique, l'acide fumarique et l'acide malique. (Sousek *et al.*, 1999). Elle contient aussi des alcaloïdes, essentiellement isoquinoléiques, comme la protopine. (Suau *et al.*, 2002 b).

**Tableau 4 :** Composition chimique de *Fumaria capreolata* (Forgaces *et al.*, 2000)

Composition chimique	Différents composants
<b>Acides organiques</b>	Acide caféique Acide citrique Acide coumarique Acide ferulique Acide malique Acide 3-hydrobenzoïque
<b>Composés phénoliques</b>	Flavonoïdes et Tanins
<b>Polysaccharides hétérogènes</b>	
<b>Acides aminés</b>	
<b>Alcaloïdes isoquinoléiques</b>	Protoberberine, Protopine, Spirobenzyl-isoquinoline et Indenobetazepine

#### ➤ **Alcaloïdes**

Les alcaloïdes figurent parmi les principes actifs les plus importants en pharmacologie et en médecine (Guignard, 1994). Ils sont utilisés comme anti cancer, sédatifs et aussi pour leur effet sur les troubles nerveux. (Iserin *et al.*, 2007). On les retrouve dans toutes les plantes vasculaires, dans divers organes : racine, tiges, feuilles et fruits (Bruneton, 1999).

Leur solubilité dans les solvants varie en fonction du pH ; les alcaloïdes sous forme de base sont solubles dans les solvants apolaires tels que le chloroforme et dans les solvants polaires tel que les alcools et insoluble dans l'eau, alors que les alcaloïdes sous forme de sel sont solubles dans l'eau et les solvants polaires et insoluble dans les solvants apolaires (Komaszewska *et al.*, 2007).

#### **II.2.6. Utilisation médicinale de *Fumaria capreolata***

*Fumaria capreolata* est reconnue pour "faire vivre 100 ans", et présente des propriétés toniques et dépuratives. Elle est utilisée comme hépato-protecteur (Suau *et al.*, 2002b), anti-hypertensif (Goetz *et al.*, 2008) et anti-dermatite (psoriasis), et bien d'autres. Enfin, la protopine a des propriétés bactéricides et antihistaminiques (remède de l'asthme), et les extraits totaux sont anti-arythmiques (Soucek *et al.*, 1999 ; Wichtlet et Anton, 2003).

# Partie Expérimentale

## Partie expérimentale

### 1. Objectifs

L'objectif de cette étude est de tester l'effet *in vitro* de l'extrait de *Fumaria capreolata* sur les oocystes d'*Eimeria*. L'expérimentation est réalisée au sein de l'École Nationale Supérieure Vétérinaire, dans le laboratoire de chimie, parasitologie et biochimie.

### 2. Matériel et méthode

#### 2.1. Matériel végétal

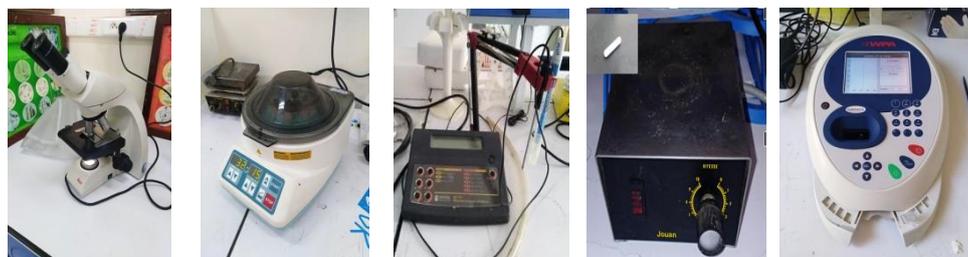
Le présent travail porte sur une espèce de fumeterres, *Fumaria capreolata*. La partie utilisée est la partie aérienne (fleurs, feuilles, fruits et tiges) de la plante saine (exempte de toute attaque fongique ou d'insectes) (figure 5).



**Figure 5 :** Différentes parties aériennes de *Fumaria capreolata* (photo personnelle)

#### 2.2. Matériels de laboratoire

Divers matériels de laboratoire, présentés dans la figure 6, sont utilisés durant la réalisation de l'expérience :



Microscope optique    Centrifugeuse    pH-mètre    Agitateur magnétique    Spectrophotomètre



Balance    Vortex    Étuve    Micropipette    Lames et lamelles



Tubes coniques    Tube à essai    Cellule Mc Master    Boîte de Pétri    Becher

**Figure 6 : Matériel utilisé (photos personnelles)**

### 2.3. Produits chimiques

Plusieurs ingrédients chimiques sont utilisés dans cette étude, tels que  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 (\text{H}_2\text{O})_2$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{NaCl}$  et l'eau distillée pour la préparation du milieu PBS.

De même que le méthanol, l'éther diéthylique, l'acide acétique, l'ammoniaque et le dichlorométhane pour la préparation de l'extrait des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* (AFC).

La pénicilline (antibiotique), le fluconazole (antifongique) et  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  sont également utilisés.

### 2.4. Méthode

#### 2.4.1. Préparation de la matière végétale

- Récolte

Les échantillons de *Fumaria capreolata* sont récoltés dans la commune d'Ain Benian, wilaya d'Alger durant le mois d'avril 2019 (figure 7).



**Figure 7 :** Carte géographique de la région de récolte de *Fumaria capreolata* ([www.googlemaps.com](http://www.googlemaps.com))

- **Identification de la plante**

L'identification de la plante est effectuée à l'École Nationale Supérieure d'Agronomie.

- **Lavage**

Après identification de *Fumaria capreolata*, la plante est nettoyée, lavée avec de l'eau afin de la débarrasser de toute poussière et autres contaminants, puis découpée en petits morceaux.

- **Séchage**

L'échantillon est séché à l'étuve à une température de 40°C pendant une période de dix jours, pour permettre un bon broyage et une meilleure extraction.

- **Broyage**

Le produit obtenu par séchage est réduit en poudre de couleur verte, à l'aide d'un broyeur électrique.

- **Tamissage**

Les particules ainsi obtenues après broyage sont tamisées pour avoir une poudre homogène. La poudre obtenue est conservée à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à extraction (figure 8).



**Figure 8 :** Préparation de la matière végétale (photos personnelles)

### 2.4.2. Extraction des alcaloïdes

L'extrait végétal est réalisé selon le protocole de (Suau *et al* 2002 a), dans le laboratoire de chimie de l'ENSV. Il est obtenu avec 30 g de poudre végétale et de solvant (méthanol ou éthanol) dans un extracteur de Soxhlet (Annexe 1). Ensuite, cet extrait est évaporé dans une étuve à 40°C pendant 48 heures. L'extrait sec est dilapidé avec de l'éther diéthylique (150 ml), ensuite solubilisé dans de l'eau distillée (150 ml) et acidifié avec de l'acide acétique jusqu'à obtenir un pH de 2,5.

Après décantation pendant 48 heures, la phase aqueuse est récupérée pour lui ajouter de l'ammoniac jusqu'à pH 8 et du Dichlorométhane (150 ml). Le mélange est ensuite décanté de nouveau pendant 48 heures.

La phase Dichlorométhane est récupérée dans une boîte de Pétri, puis séchée dans l'étuve à 40°C pendant 48 heures pour obtenir des extraits d'alcaloïdes totaux (figure 9).

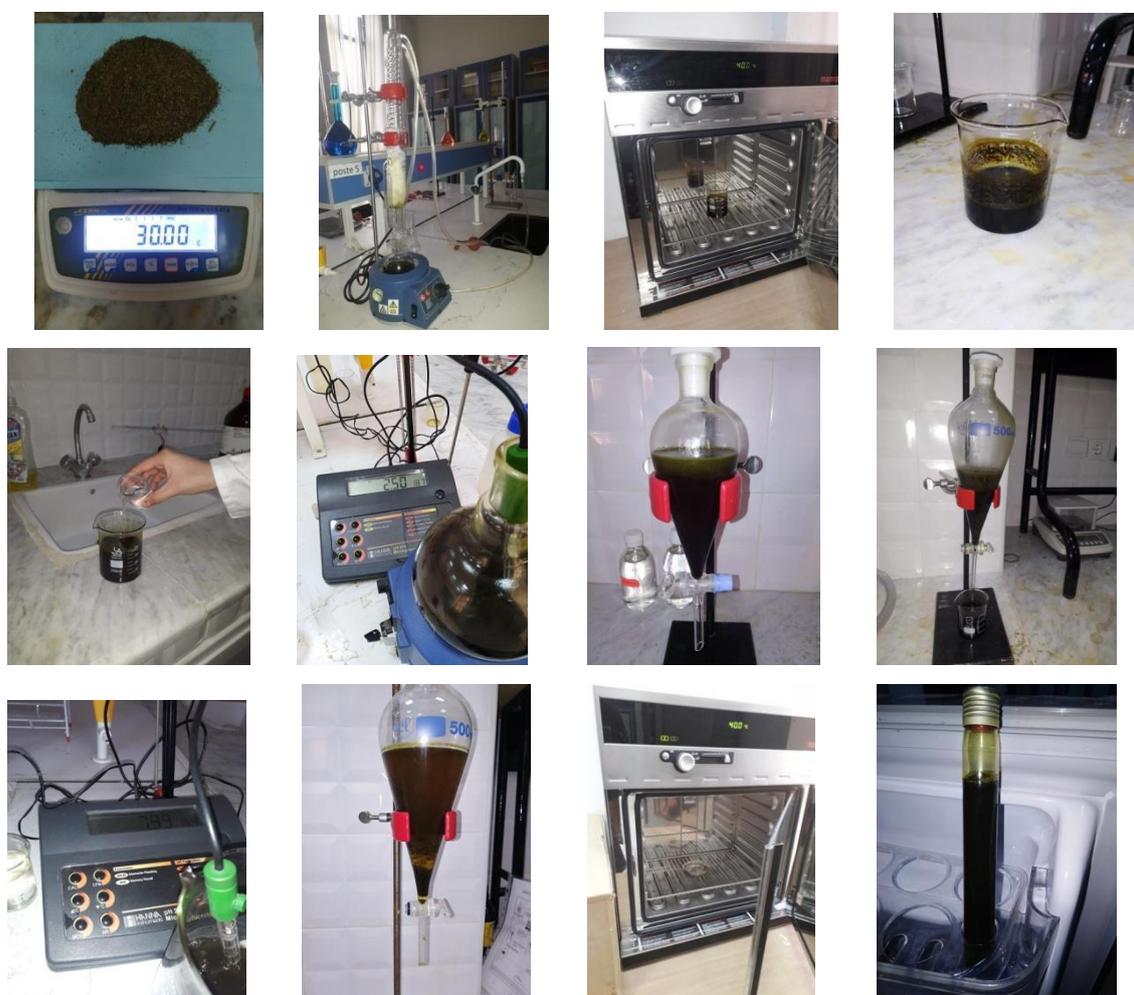


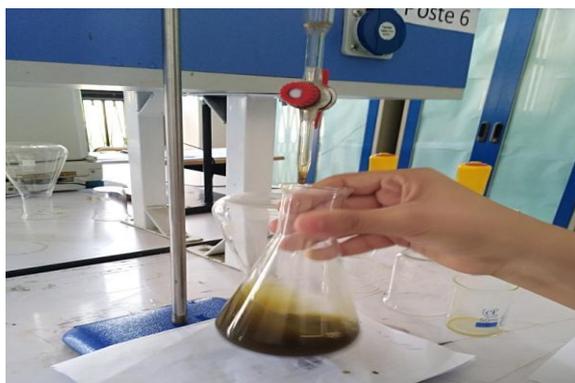
Figure 9 : Protocole d'extraction des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* (photos personnelles)

### 2.4.2.1. Détermination de la concentration des alcaloïdes totaux

Un dosage acido-basique est réalisé afin de déterminer la concentration des alcaloïdes (figure 10). L'extrait est à pH basique, donc la solution d'HCl est choisie pour ce dosage et le rouge de méthylène comme indicateur de pH.

La solution d'HCl est à une concentration connue, 3,646 mg/ml, et elle est ajoutée goutte à goutte jusqu'à apparition du point d'équivalence (changement de couleur). Par la suite, la concentration est calculée selon la formule suivante :

$$C_1V_1 = C_2V_2 \rightarrow C_1 = 43 \text{ mg/ml.}$$



**Figure 10 :** Apparition du point d'équivalence lors du dosage acido-basique (photo personnelle).

### 2.4.2.2. Préparation des dilutions

Différentes dilutions sont réalisées dans le but d'avoir plusieurs concentrations (figure 11).

Les dilutions réalisées sont des dilutions à un demi, où les concentrations obtenues sont :

- 43 mg/ml (solution mère)
- 21,5 mg/ml
- 10.75 mg/ml
- 5.375 mg/ml.



**Figure 11 :** Réalisation des dilutions (photos personnelles)

### 2.4.3. Préparation des fientes de poulet de chair

#### 2.4.3.1. Échantillonnage

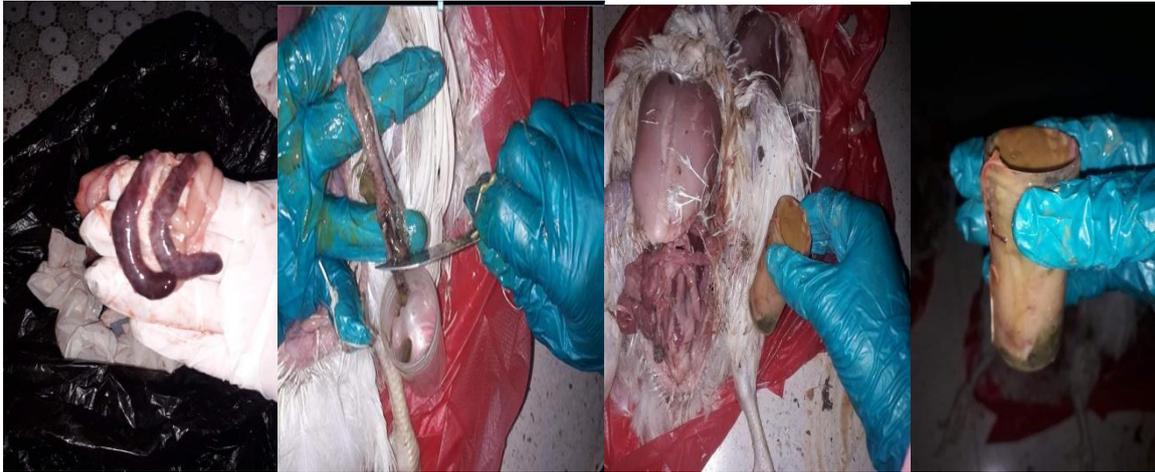
L'échantillonnage est effectué sur 7 sujets de poulets de chair et les fientes collectées dans des élevages de la région d'Eucalyptus (figure 12). Des autopsies sont réalisées dans un cabinet vétérinaire sur des sujets suspectés d'être infectés par la coccidiose. Les intestins sont ensuite récupérés et transportés dans une glacière au laboratoire de parasitologie de l'ENSV.



**Figure 12 :** Étapes de prélèvement des fientes (photos personnelles)

#### 2.4.3.2. Prélèvements

Des prélèvements de matières fécales sont effectués sur les intestins préalablement examinés macroscopiquement. Ensuite, la totalité du contenu est récupérée par méthode de raclage des différents segments intestinaux (figure 13), et conservés à une température de 5 à 10°C.



**Figure 13** : Prélèvement des fientes par raclage (photos personnelles)

### 2.4.3.3. Évaluation des lésions

Les lésions provoquées par la coccidie au niveau des caeca sont évaluées selon l'échelle de (Johnson et Reid, 1970) (tableau 5).

**Tableau 5** : Score lésionnel d'après la méthode de (Johnson et Reid, 1970)

Score	Lésions
0	Absence de lésions
+ 1	Très peu de pétéchies dispersées sur la paroi du caecum ; pas d'épaississement du caecum ; matières fécales normales
+ 2	Plus de pétéchies sur la paroi des caeca ; sang visible dans la matière fécale ; la paroi est quelque peu épaissie ; matières fécales normales
+ 3	Grandes quantités de sang et de débris tissulaires ; paroi caecale fortement épaissie ; peu de matières fécales
+ 4	Beaucoup de sang, liquide ou coagulé en caillots, occupe toute la lumière du caecum distendu ; pas de matières fécales

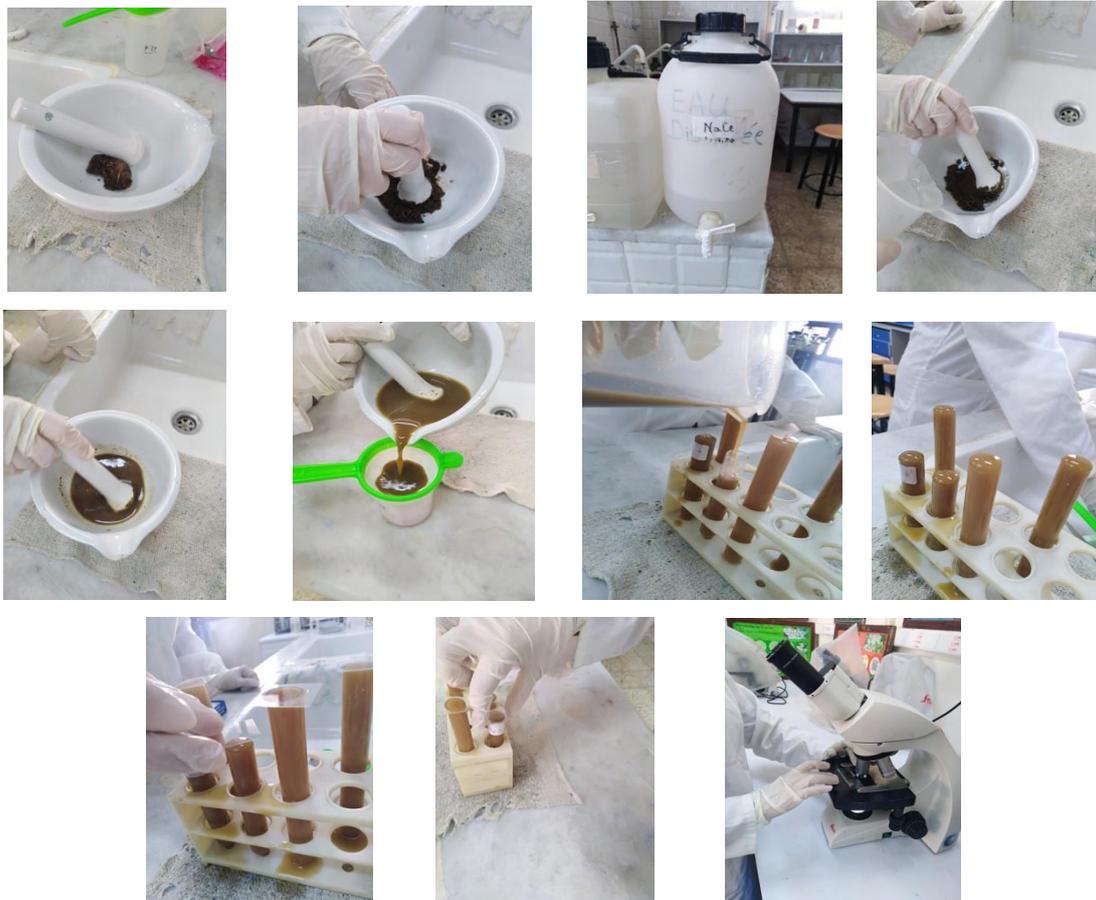
### 2.4.3.4. Méthode de flottaison

La flottation (ou flottaison) est la technique d'enrichissement la plus utilisée en médecine vétérinaire. Elle a pour objectif de concentrer les éléments parasitaires à partir d'une très petite quantité de déjections (Euzéby, 1987). Elle repose sur l'utilisation de solutions sursaturées de NaCl dont la densité (densité = 1,2) est supérieure à celle de la plupart des œufs de parasites ( $d = 1,1$  à  $1,2$ ). Le but est de faire remonter les éléments parasitaires tout en laissant couler les débris fécaux (Hendrix, 1998).

Après introduction du contenu intestinal dans la solution sursaturée, il subit une filtration dans une passoire à thé, puis un transvasement de la suspension dans des tubes coniques de 15 ml jusqu'à formation de ménisques sur lesquels sont déposées des lamelles.

La suspension est laissée pendant 15 min jusqu'à ce que les oocystes remontent à la surface.

Les lamelles sont déposées sur différentes lames, qui sont observées au microscope optique aux objectifs x10 et x40 (Hendrix, 1998 ; Bowman, 1999) (figure 14).



**Figure 14 :** Protocole suivi pour la flottaison (photos personnelles)

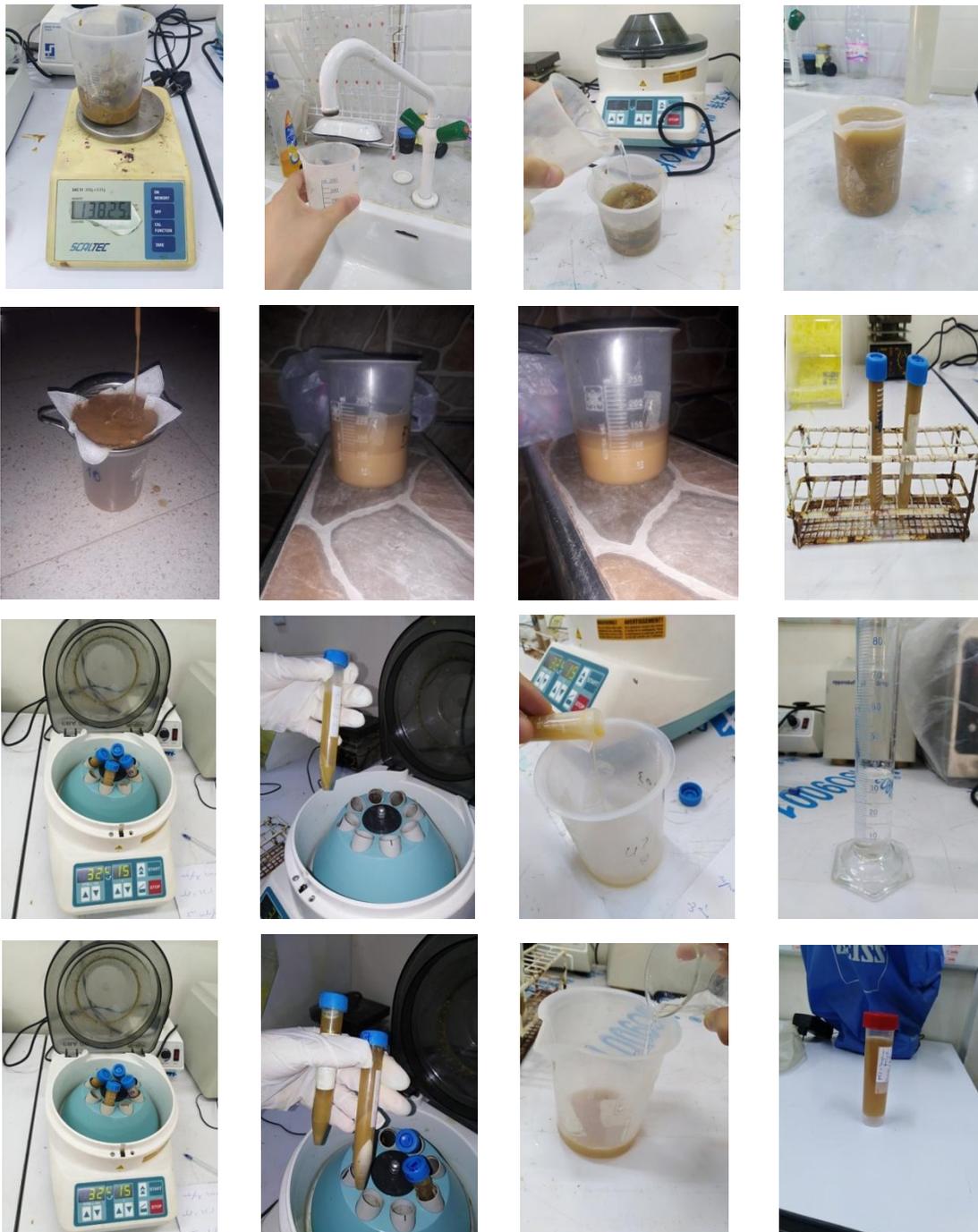
#### **2.4.3.5. Préparation de la suspension parasitaire**

Les différentes étapes (figure 15) du protocole (Remmal *et al.*, 2011) sont comme suit :

- ✓ Un prélèvement de 138,25 g de matière fécale est mélangé à 200 ml d'eau du robinet et le mélange est laissé pendant 2 jours, avec homogénéisation de temps à autre. Le mélange est tamisé à travers une passoire à thé et une compresse non stérile afin d'éliminer les gros débris gênants. La suspension est laissée à sédimenter pendant 24 heures à l'air ambiant.
- ✓ On élimine 2/3 de surnageant et le reste est centrifugé à 3200 tours pendant 15 mn. Le culot est récupéré et mélangé à 35 ml de solution de NaCl jusqu'à homogénéisation. Une deuxième centrifugation est ensuite appliquée.

✓ Après 2 à 3 min, le surnageant est récupéré et ajouté à une quantité d'eau distillée. Le mélange est à nouveau centrifugé.

La suspension parasitaire est prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur et déposée sur la lame de McMaster. Une observation sous microscope est réalisée dans le but d'identifier et dénombrer les oocystes.



**Figure 15 :** Étapes de préparation d'une suspension à partir des fientes (photos personnelles)

### 2.4.3.6. Identification des espèces

L'identification des espèces d'*Eimeria* est effectuée en se basant sur la forme des oocystes et leur localisation dans les différents segments intestinaux (tableau 6).

**Tableau 6** : Différentes espèces d'*Eimeria* qui affectent le poulet de chair (Reid *et al.*, 1978)

	<i>E. tenella</i> : caeca remplis de sang. Oocystes ovoïdes. La sporulation dure 2 à 5 jours. Ø = 1,16 µm
	<i>E. necatrix</i> : fin du duodénum jusqu'au milieu de l'iléon. Formation de ballons. La sporulation dure 2 jours. Ø = 1,19 µm
	<i>E. praecox</i> : duodénum. Cylindres de mucus. Oocystes circulaires. La sporulation dure 2 jours. Ø = 1,24µm
	<i>E. acervulina</i> : intestin grêle, surtout duodénum. Oocystes ellipsoïdes ou ovoïdes. La sporulation dure 1 à 2 jours. Ø = 1,25 µm
	<i>E. mitis</i> : deuxième moitié de l'intestin grêle. Oocystes circulaires. La sporulation dure 2 jours. Ø = 1,01µm
	<i>E. maxima</i> : fin du duodénum au milieu de l'iléon. Oocystes ovoïdes. La sporulation dure 2 jours. Ø = 1,47µm
	<i>E. brunetti</i> : fin de l'intestin grêle et rectum. Oocystes ovoïdes. La sporulation dure 1 à 2 jours. Ø = 1,31 µm

### 2.4.3.7. Dénombrement des oocystes

Le dénombrement est basé sur l'utilisation de la lame McMaster (figure 16). Cette dernière est composée de deux compartiments contigus séparés par une cloison.

La lame McMaster est une cellule de comptage spécialisée, couramment utilisée pour la numération des œufs de parasites et des coccidies dans un échantillon d'excréments.

Chaque chambre contient un quadrillage carré, de 1 cm de côté divisé en six ou dix colonnes selon les modèles. Le volume emprisonné sous chaque quadrillage est de 0,15 ml.

Le comptage du nombre d'oocystes est réalisé selon la méthode classique : la lame McMaster est remplie par la suspension parasitaire et l'observation est effectuée après 5 minutes d'attente sous microscope optique (x 40).



**Figure 16 :** Dénombrement des oocystes sur lame McMaster (photos personnelles)

La formule pour déterminer le nombre total des coccidies (Conway et McKenzie, 2007) est la suivante :

$$X = \frac{(N1 + N2) \times 100}{(0,15 \times 2)}$$

X : Nombre d'oocystes / ml de la suspension étudiée

N1+ N2 : Nombre d'oocystes dans les deux réseaux de la cellule McMaster

0,15 : Volume de chaque réseau

2 : Deux réseaux de la cellule McMaster.

#### 2.4.3.8. Conservation des échantillons

Une fois confirmé la présence d'oocystes d'*Eimeria* sp par examen microscopique, une solution de bichromate de potassium ( $K_2Cr_2O_7$ ) est ajoutée comme solution de conservation (figure 17). Les suspensions sont ensuite homogénéisées sur agitateur magnétique et conservées à une température de 4 à 10°C (Conway et McKenzie, 2007).



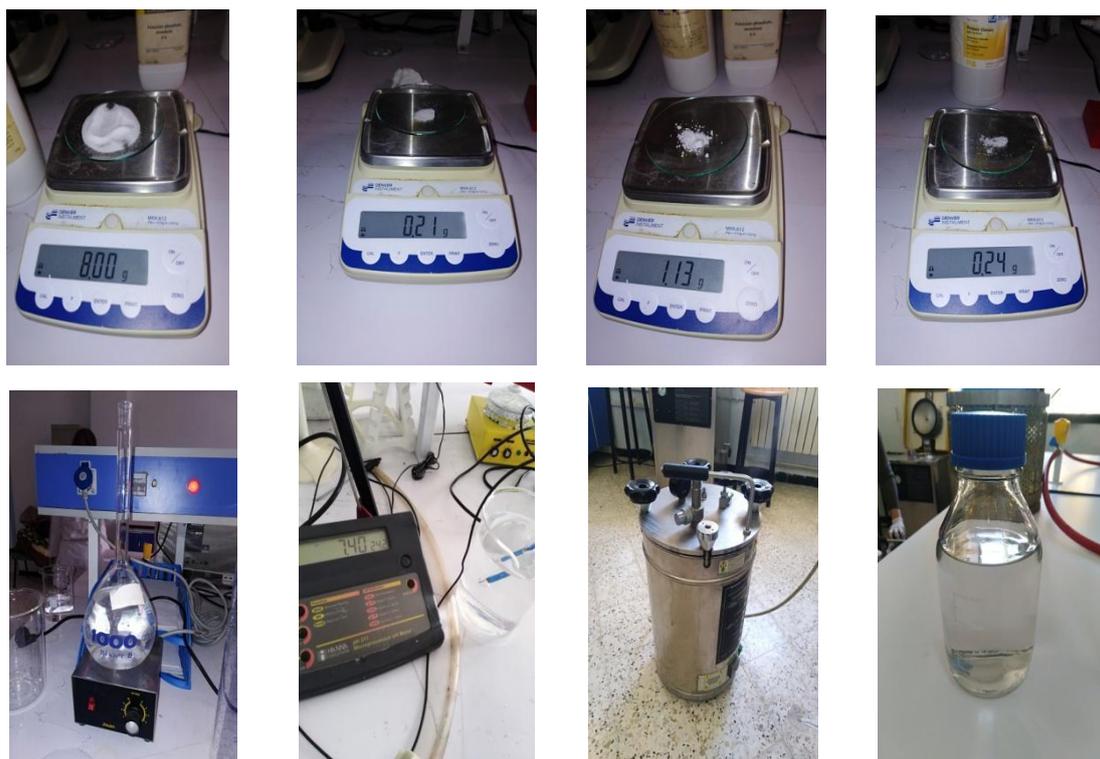
**Figure 17 :** Utilisation du bichromate de potassium (photos personnelles)

#### 2.4.4. Préparation du milieu de culture PBS

La préparation du milieu de culture et la réalisation des tests biologiques sont effectuées le même jour pour éviter toute contamination microbienne durant la manipulation (Remmal *et al.*, 2011). La solution tampon PBS est préparée (figure 18) à partir des composants indiqués dans le tableau ci-dessous (tableau 7) et un litre d'eau distillée. Le pH a été ajusté à 7.4 et la solution a été ensuite stérilisée en utilisant l'autoclave pendant 20 mn à 121C°, puis 100 UI/ml de pénicilline et 17 mg/ml de Fluconazole sont ajoutés au milieu PBS.

**Tableau 7** : Composition chimique de la solution tampon PBS (Remmal *et al.*, 2011)

Composant	Concentration (g/l)
NaCl	8,0
KCl	0,2
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (H <sub>2</sub> O) <sup>2</sup>	1,13
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,24



**Figure 18** : Préparation du milieu PBS (photos personnelles)

#### 2.4.5. Étude de l'activité anticoccidienne de l'extrait de *Fumaria capreolata*

Un spectrophotomètre UV est utilisé dans le but de tester l'effet lytique des alcaloïdes sur les oocystes d'*Eimeria* par la mesure des absorbances à 273 nm des organites cellulaires libérés par les oocystes détruits (figure 19). Ce test est accompli en incubant pendant 24 heures à température ambiante des tubes à essai stériles et composés de :

- 200 µl de suspension parasitaire contenant  $7,68 \times 10^5$  oocystes/ml
- 1400 µl de PBS à pH 7,4
- 400 µl d'extrait de plante à concentration croissante.

Après incubation, les tubes sont centrifugés à 3200 tours pendant 5 mn. Le surnageant est récupéré pour la lecture des absorbances à 273 nm au spectrophotomètre à UV. La correction est effectuée par la soustraction du blanc (PBS + extrait).

Les précipités qui résultent de la centrifugation sont utilisés pour le dénombrement des oocystes lysés à l'aide de la cellule McMaster.

Ce test est répété deux fois pour chaque concentration et la lecture faite à des temps différents : 0, 1, 2, 3, 4 et 24 heures.

Les résultats sont exprimés en variation de l'absorbance à 273 nm et du nombre d'oocystes en fonction de la concentration croissante d'extrait testé, et en fonction du temps.



**Figure 19 :** Étapes du protocole suivi pour déterminer l'effet des AFC (photos personnelles)

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1. Identification des oocystes d'*Eimeria* spp.

Le diagnostic *post mortem* a pour but de rechercher les lésions causées par la coccidiose. Dans un premier temps, l'état des fientes collectées à partir des poulets de chair est apprécié en fonction de la présence ou non de traces hémorragiques dans les échantillons.

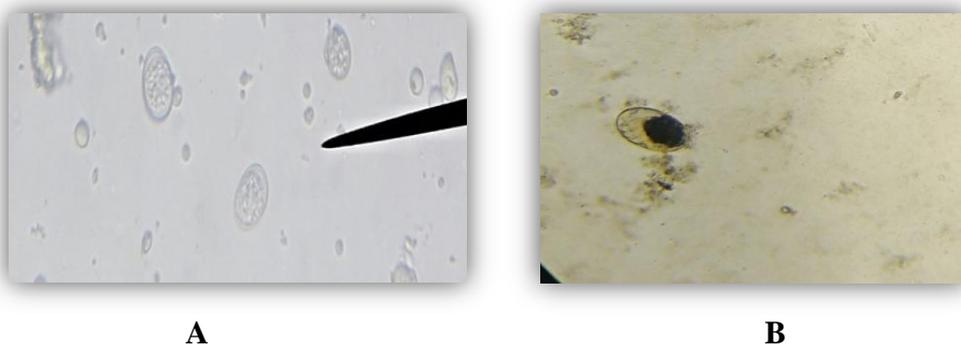
Dans un deuxième temps, l'identification est basée sur la morphologie du parasite, et leur habitat (Reid *et al.*, 1978).

Les résultats obtenus révèlent également que l'ensemble des sujets examinés sont infectés à un degré de +2 (Johnson et Reid, 1970) (figure 20).



**Figure 20** : Cæcum hypertrophié et intestin congestionné et infecté par la coccidiose, d'un sujet de 32 jours (photos personnelles)

Les observations microscopiques des oocystes dans les matières fécales ont permis d'identifier deux espèces responsables de la coccidiose chez le poulet de chair : *Eimeria tenella* et *Eimeria mitis* (figure 21).



**A**

**B**

**Figure 21** : Oocystes d'*Eimeria* (x40)

**A.** Oocyste non sporulé ; **B.** Oocyste sporulé (photos personnelles)

#### 3.2. Dénombrement des oocystes

Un diagnostic microscopique effectué sur des raclures intestinales montre une charge parasitaire importante (figure 22).



**Figure 22 :** Oocystes d'*Eimeria* sp. (x10) (Photo personnelle)

Les résultats enregistrés par la technique du dénombrement à l'aide d'une lame McMaster montrent un nombre d'oocystes de  $7,68 \times 10^5$  oocystes/ml. Cette charge parasitaire indique que les différents sujets autopsiés sont très infestés par les coccidies. Cette pathologie parasitaire pourrait être expliquée par le manque d'hygiène et la qualité médiocre de l'aliment.

### 3.3. Effet des AFC sur le nombre d'oocystes d'*Eimeria* et la libération du contenu intracellulaire

L'effet anticoccidien des AFC est étudié par une méthode en tubes contenant le tampon PBS (Remmal *et al.*, 2011). Cette technique permet de révéler l'action lytique de différentes concentrations croissantes des AFC (5,375 ; 10,75 ; 21,5 et 43 mg/ml) sur *Eimeria*, en mesurant l'absorbance des matériaux cellulaires libérés par les oocystes éclatés ou fragmentés.

D'après les résultats obtenus, les extraits d'AFC provoquent une réduction du nombre d'oocystes, ainsi qu'une libération importante de substances absorbants à longueur d'onde de 273 nm, de manière proportionnelle aux concentrations utilisées (tableaux 8 et 9).

**Tableau 8 :** Effet des AFC sur le nombre d'oocystes d'*Eimeria* ( $\times 10^5$ ) selon la concentration (tableau personnel).

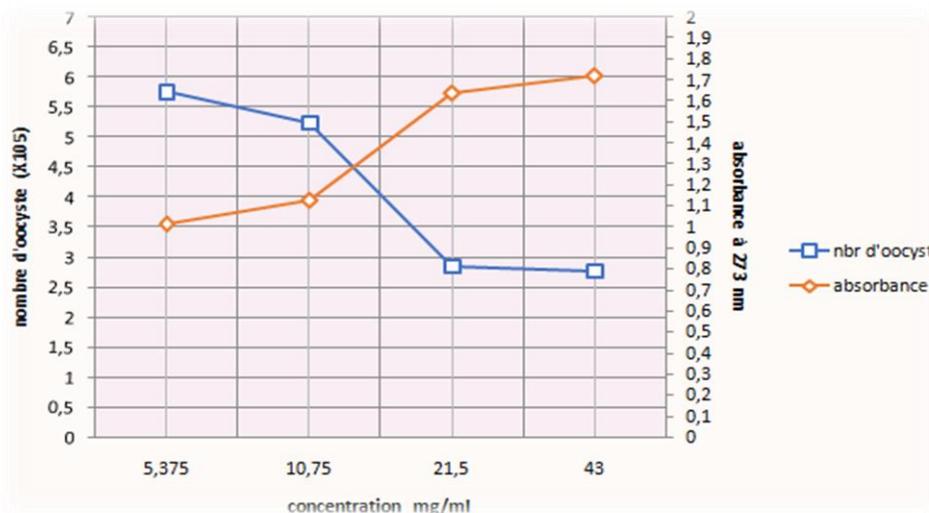
Concentrat° (mg/ml) \ Temps (h)	5,375	10,75	21,5	43
0	7,58	6,12	3,82	3,71
1	7,41	6,01	3,55	3,45
2	6,12	5,86	3,22	3,11
3	5,76	5,24	2,85	2,77
4	5,02	4,98	2,73	2,61
24	4,89	4,50	2,52	2,33

**Tableau 9 :** Effet des AFC sur la libération du contenu intracellulaire absorbant à  $\lambda$  273 nm selon la concentration (tableau personnel).

Concentrat° (mg/ml) \ Temps (h)	5,375	10,75	21,5	43
0	0,463	0,769	0,882	0,977
1	0,735	0,828	1,005	1,025
2	0,978	1,098	1,285	1,345
3	1,013	1,126	1,638	1,721
4	1,25	1,748	2,071	2,159
24	2,011	2,096	2,382	2,468

Les extraits d'AFC testés révèlent différentes aptitudes dans leur habilité à détruire les oocystes d'*Eimeria* sp. La concentration à 5,375 mg/ml de l'extrait est suffisante pour induire un effet coccidiocide par l'éclatement de  $1,92 \times 10^5$  oocystes/ml à t3 à partir d'une charge parasitaire initiale de  $7,68 \times 10^5$  oocyste/ml.

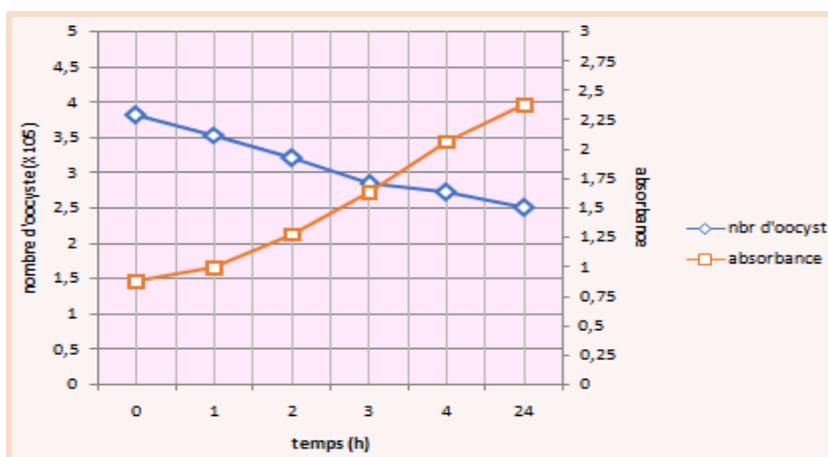
Une action lytique plus importante est enregistrée, avec augmentation de la libération des matériaux cellulaires, avec des extraits d'AFC à des concentrations 21,5 et 43 mg/ml (figure 23).



**Figure 23 :** Représentation graphique du nombre d'oocystes détruits et la libération de matériaux cellulaires, à 273 nm, en fonction de la concentration des AFC (graphe personnel)

La concentration létale à 50% (CL50) de l'extrait de *Fumaria capreolata* est de 21,5 mg/ml. En d'autres termes, c'est la concentration de l'extrait dont l'effet est de réduire de moitié (50%) le nombre initial d'oocystes, qui était de  $7,68 \times 10^5$  oocystes /ml.

L'effet d'extrait d'AFC induit une efficacité positive de la concentration à 21,5 mg/ml sur l'augmentation de l'absorbance à 273 nm qui expliquerait l'éclatement des oocystes et la diminution de leur nombre (figure 24).



**Figure 24 :** Représentation graphique de l'effet des AFC (21,5 mg/ml) sur le nombre d'oocystes et de la variation d'absorbance à 273 nm selon le temps (graphe personnel).

Les résultats démontrent l'activité anticoccidienne des molécules actives de la plante expérimentée, *Fumaria capreolata*, riche en alcaloïdes, acides organiques, composés phénoliques et alcaloïdes isoquinoléiques (Forgaces *et al.*, 2000).

## Conclusion

La coccidiose représente le premier fléau parasitaire de l'aviculture. C'est un problème important à la production des animaux en générale et des volailles en particulier. C'est une pathologie digestive difficile à gérer par les éleveurs et entraîne des pertes économiques très élevées.

La plante *Fumaria capreolata* a été choisie dans cette étude sur la base de son utilisation en médecine traditionnelle locale pour trouver un moyen de lutte biologique contre la coccidiose pour remplacer les molécules anticoccidiennes synthétiques, utilisé sans contrôle et qui gardent des résidus chimiques dans la chair des poulets, très néfaste sur la santé publique par des molécules bioactives.

Le protocole expérimental a permis de mettre en évidence l'efficacité de l'extrait végétal de la plante *Fumaria capreolata* au cours d'une infection parasitaire d'*Eimeria* sp, il s'est avéré qu'il est doté d'une activité anticoccidienne intéressante, à travers la destruction des oocystes *in vitro* qui atteint jusqu'à 69.66%.

Au terme de ce travail, et pour compléter la présente étude, il serait intéressant:

- D'approfondir les recherches sur les propriétés pharmacologiques de *Fumaria capreolata*, afin d'élucider les mécanismes par lesquels agit cette plante et pour appliquer ce traitement dans les élevages avicoles.
- De faire des tests *in vivo* pour évaluer d'autres propriétés antioxydantes, anti-enzymatiques, antimicrobiennes et anti-inflammatoires.

## Références bibliographiques

- ❖ **Adams C, Vahl HA et Veldman A (1996).** Interaction between nutrition and *Eimeria acervulina* infection in broiler chickens : development of an experimental infection model. *Br. J. Nutr.* 75 (6) : 867-873.
- ❖ **Adewole SO (2012).** The efficacy of drugs in the treatment of coccidiosis in chicken in selected poultries. *Academic research international.* 2 (1) : 20-24.
- ❖ **Ait Youcef M (2006).** Plantes médicinales de Kabylie. Edition Ibis Press. Paris. 149-150.
- ❖ **Aitfella R (2012).** Étude de l'activité anticoccidienne de quelques plantes médicinales. Mémoire de Magister en Biochimie et Physiologie Expérimentale. Université Ferhat Abbas, Sétif. 17-20.
- ❖ **Akçay AO, Ertugrul A (2011).** Quantification of risk factors of coccidiosis in broilers by using logistic regression analysis. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi.* 58 (3) : 195-202.
- ❖ **Ali-Shtayeh MS, Jamous RM, Al-Shafie JH, Elgharabah WA, Kherfan FA, Qarariah KH, Khdair IS, Soos IM, Musleh AA (2008).** Traditional knowledge of wild edible plants used in Palestine (Northern West Bank) : A comparative study. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine.* 4 : 1-13.
- ❖ **Benoît B (2013).** *Fumaria capreolata* L. Base de données nomenclaturales de la flore de France. 2 p.
- ❖ **Bowman DD (1999).** Georgi's Parasitology for veterinarian. Saunders (Ed), Philadelphia. 414.
- ❖ **Brugère-Picoux J, Vaillancourt JP, Shivaprasad HL, Venne D, Bouzouaia M, 2015.** Manuel de pathologie aviaire ; Edition AFAS. 721 p.
- ❖ **Bruneton. J 1999.** Pharmacognosie phytochimie, plantes médicinales. Edition: *Technique and Documentation*, Lavoisier, 3eme édition, Paris: 418-419.
- ❖ **Buldgen A, Parent R, Steyaert P et Legrand D (1996).** Aviculture semi-industrielle en climat subtropical : guide pratique. Gembloux : Les presses agronomiques. 122 p.
- ❖ **Bussiéras J et Chermette R (1992).** Parasitologie vétérinaire, Protozoologie. Édité par le service de parasitologie, ENV Alfort.
- ❖ **Chartier C et Paraud C (2012).** Coccidiosis due to *Eimeria* in sheep and goats, a review. *Small Ruminant Research.* 103 : 84-92.
- ❖ **Conway DP et McKenzie ME (2007).** Poultry coccidiosis : Diagnostic and testing procedures. Blackwell Publishing Professional. Third Ed. 1-138, 17-40.
- ❖ **Creveieu G et Naciri M (2001).** Effet de l'alimentation sur les coccidioses chez le poulet, Paris : INRA-Prod. Anim. 14 : 246

- ❖ **Debelmas AM et Delveau P (1978).** Guide des plantes dangereuses. Édition Maloine, Paris. 59.
- ❖ **Djauini M (2006).** Prévalence de l'entérite nécrotique chez le poulet de chair dans la région de Tébessa, Introduction. p 1.
- ❖ **Euzéby J (1987).** Protozoologie médicale comparée. Volume collection Fondation Marcel Mérieux. 475 p.
- ❖ **Forgacs P, Prouvot J, Touche A, Jehanno A (2000).** Alkaloids from *Fumaria capreolata* and *Fumaria bella*. *Journal of natural product*. 1 (46) : 101.
- ❖ **Fortineau O, Troncy PM (1985).** Coccidioses maladies animales majeures : les coccidioses du poulet, *Rev. Elev. Méd. Vét. Nouvelle Calédonie*. 917.
- ❖ **Freeman BM (1970).** Evidence for the production of a toxin by *Eimeria tenella*. XIV Congress Interne. Aviculture, Madrid, Section II. 604-605.
- ❖ **Fritzsche B et Gerriet E (1965).** Maladies des volailles. Vigot frères éditeurs, Paris.
- ❖ **Goetz P, Ghedira K et Le Jeune R (2009).** *Fumaria officinalis* L (Fumariacée) : Matière médicale pratique. *Phytothérapie*. 221-225.
- ❖ **Goetz P, Wuyts D (2008).** Phytothérapie et nutrithérapie de l'hypertension artérielle phytothérapie. 6 : 247-252.
- ❖ **Guignard. J. L. (1994).** Abrégé botanique, 9 eme édition. Édition Masson, Paris.204
- ❖ **Hachimi M, Belghyti D, El Kharrim K, El Guamri Y (2008).** Coccidioses du poulet dans la région du Gharb (Maroc). *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*. 147 : 49-60.
- ❖ **Hamon E (2002).** Approche alternative et raisonnée de la prévention de la coccidiose chez le poulet jeune fermier label en pays de Loire. Thèse pour l'obtention de diplôme de docteur vétérinaire, Faculté de médecine de Nantes.
- ❖ **Hendrix CM (1998).** Diagnostic veterinary Parasitology. Mosby Inc, 2nd Ed, Saint-Louis. 321 p.
- ❖ **Iserin. P, Masson. M, et Restellini. J.P. (2007).** Larousse des plantes médicinales. Identification, préparation, Soins. Ed Larousse, pp14
- ❖ **Jauzein P (1995).** Flore des champs cultivés. Paris : Ed INRA. 557 p.
- ❖ **Jean-Luc Guérin, Dominique Balloy, Didier Villate (2011) ;** Maladie des volailles ; troisième édition. Paris.
- ❖ **Jeurissen SHM, Janse EM, Vermeulen AN. and Vervelde L (1996).** *Eimeria tenella* infections in chickens: aspects of host-parasite interaction. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 54: 231-238.
- ❖ **Johnson J et Reid WM (1970).** Anticoccidial drugs : Lesion scoring techniques in battery and floor-pen experiments with chickens. *Experimental Parasitology*. 28 : 30-36

- ❖ **Komaszewska. E.W., Petruczynik. A., Jozwiak. G., Kesik. K., Waksmundzka-Hajnos. M (2007).** Quantitative determination of protopine in *Fumaria Officinalis* extracts by high performance liquid chromatography, *Annale universitatis Mariae Curie-Sklodowska*, Lublin-Polonia, pp: 77.
- ❖ **Lancaster E (1983).** Incidence des maladies aviaires : 5<sup>e</sup> conférence de la commission régionale de l'OIE pour l'Afrique. *Rev. Sci. Tech. OIE* 1088-1081.
- ❖ **Leclerq JQ (2002).** Le voyage insolite de la plante au médicament. *Journal de pharmacie de Belgique*. 57 : 11-20.
- ❖ **Lister S et Knott C (2000).** Coccidiosis. Ranger magazine, Crowshall Veterinary service.
- ❖ **Maissai A (2015).** Utilisation de l'armoise et de l'eau de riz en traitement adjuvant de la coccidiose chez le poulet de chair. Université frères Mentouri-Constantine. Institut des sciences vétérinaires. Université de Batna, Faculté des sciences, Département vétérinaire, Option pathologie des animaux domestique.
- ❖ **Marien M and De Guessem M (2007).** Coccidiosis rotation programs are a must. *World poultry*. 23 (7) : 34-35.
- ❖ **Matsui T, Morii T, Iijima T, Kobayashi F, Fujino T (1989).** Transformation of oocysts from several coccidian species by heat treatment. *Parasitol Res*. 75 : 264-267.
- ❖ **Naciri M (2001).** Les moyens de lutte contre la coccidiose aviaire. Nouzilly : INRA, 2001.
- ❖ **Naciri M (2003).** Les anticoccidiogrammes, une prévention efficace de la coccidiose de poulet. INRA-Tours.
- ❖ **Naciri M et Brossier F (2009).** Les coccidioses aviaires : importance et perspectives de recherche. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*. 162 (1) : 47-50.
- ❖ **Nweze NE et Obiwulu IS (2009).** Anticoccidial effects of *Ageratum conyzoides*. *Journal of Ethnopharmacology*. 122 : 6-9.
- ❖ **Orhana IE, Sener B, Musharraf SG (2012).** Antioxidant and hepatoprotective activity appraisal of four selected *Fumaria* species and their total phenol and flavonoid quantities. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 205-209.
- ❖ **Peek HW and Landman WJ (2011).** Coccidiosis in poultry : anticoccidial products, vaccines and other prevention strategies. *Vet Q*. 31 (3) : 143-161.
- ❖ **Pierre-Felicite R (2001).** Contribution à l'étude de l'impact économique de la coccidiose chez la poule pondeuse dans des élevages semi-industriels au Sénégal, thèse N° 7. École inter-états sciences et Médecine vétérinaire (E.I.S.M.V).
- ❖ **Price K et Barta JR (2010).** Immunological control of coccidiosis in poultry, *Studies by Undergraduate Researchers at Guelph*. 4 (1) : 101-108.

- ❖ **Reid MW, Calnek BW, Mc Dougald LR (1978).** Protozoa-coccidiosis : Diseases of poultry. Ames Iowa (USA) : Iowa State University Press. 783-814.
- ❖ **Remmal A, Achahbar S, Bouddine L, Chami N et Chami F (2011).** *In vitro* destruction of *Eimeria* oocysts by essential oils. *Vet. Parasitol.* 182 : 121-126.
- ❖ **Sanago R (2006).** Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako (Mali). 53 p.
- ❖ **Sanders P (2005).** L'antibiorésistance en médecine vétérinaire : enjeux de santé publique et de santé animale. *Bull. Acad. Vét, France.* 158 (2) : 139-145.
- ❖ **Saville P (1999).** La coccidiose aviaire Santé animale : fiche technique N°3/ Communauté du Pacifique.
- ❖ **Sousek J, Guedon D, Adam T, Bochorakova H, Taborska E, Valka I, Simanek, V (1999).** Alkaloids and organic acids content of eight *Fumaria* species. *Phytochemical Analysis.* 6-11.
- ❖ **Suau R, Cabezudo B, Rico R, Lopez Romero JM et Najera F (2002a).** Alkaloids from *Fumaria sepium* and *Fumaria agraria*. *Biochemical systematic and Ecology.* 30 : 263-265.
- ❖ **Suau R, Cabezudo B, Rico R, Lopez Romero JM et Najera F (2002b).** Direct determination of alkaloid contents in *Fumaria* species by GC-MS. *Phytochemical Analysis.* 363-367.
- ❖ **Suau. R., Cabezudo. B., Valpuesta. M., Posadas. N., Diaz. A., Torres. G 2005.** Identification and quantification of isoquinoline alkaloids in the genus *Sarcocapnos* by GC-MC. *Phytochemical Analysis*, 16(5), pp: 322-327.
- ❖ **Taylor MA, Coop RL et Wall RL (2007).** *Veterinary Parasitology*, 3rd edition. Blackwell publishing.
- ❖ **Tela Botanica (2011).** Projet de numérisation de la flore de l'Abbé Coste par le réseau.
- ❖ **Tierney J, Gowing H, Van Sinderen D, Flynn S, Stanley L, McHardy N, Hallahan S and Mulcahy G (2004).** *In vitro* inhibition of *Eimeria tenella* invasion by indigenous chicken *Lactobacillus* species. *Veterinary Parasitology.* 122 : 171-182.
- ❖ **Villate D (1992).** Supplément technique N°26 à la Dépêche vétérinaire du 6-10 juin 1992. Pathologie des volailles. 01 p.
- ❖ **Wichtlet M et Anton R (2003).** Plantes thérapeutiques. *Ed. Tec et Doc.* 229-230.
- ❖ **Yvoré P (1992).** Les coccidioses en aviculture *in* : Manuel de pathologie aviaire. Maisons-Alfort : ENVA. 381 p.
- ❖ **Yvoré P, Naciri M, Laffont JP, Renault L 1982.** Les coccidioses : aspects étiologiques et pathologiques. *Le Point Vétérinaire.* 14 (66) : 23-29.

## **Annexe 1 :**

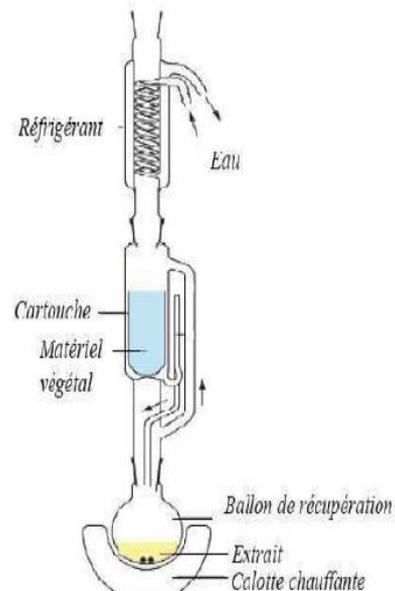
Principe de l'extracteur Soxhlet :

L'extracteur Soxhlet permet le traitement de solides (matériel végétal) en plus grande quantité que la macération, avec des solvants en phase liquide ou partiellement vaporisés où le principe est basé sur le fait que le solvant est en contact permanent avec la poudre.

Le corps de l'extracteur, contient une cartouche en cellulose remplie de matériel végétal. Cette cartouche est fixée sur un réservoir de solvant (ballon) et est surmontée d'un réfrigérant. Le solvant est vaporisé puis condensé tout en restant en contact avec le matériel végétal.

La solution collectée dans le ballon s'enrichit de plus en plus en soluté à chaque cycle d'extraction (Houghton et Raman, 1998).

L'extraction est terminée lorsque le solvant d'extraction devient de plus en plus clair (Lagnika, 2005), c'est-à dire sans une proportion significative de soluté.

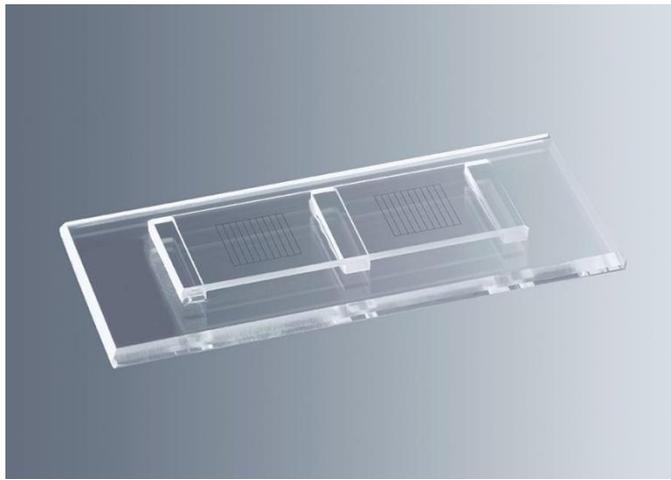


Extracteur Soxhlet

## Annexe 2 :

Mode d'utilisation de la lame McMaster :

- Diluer des fèces dans un liquide de flottation.
- Prélever un échantillon de la suspension à l'aide d'une pipette.
- Remplir chacun des deux compartiments de la lame McMaster avec la suspension.
- Poser la lame sur la platine du microscope et attendre 5 min environ que les œufs remontent.
- Utiliser l'objectif x10 et faire défiler successivement les cellules en comptant les œufs, et en les identifiant au fur et à mesure.



Lame McMaster

La formule pour déterminer le nombre total des coccidies (Conway et McKenzie, 2007) est la suivante :

$$X = \frac{(N1 + N2) \times 100}{(0,15 \times 2)}$$

X : Nombre d'oocystes / ml de la suspension étudiée

N1 + N2 : Nombre d'oocystes dans les deux réseaux de la cellule McMaster

0,15 : Volume de chaque réseau

2 : Deux réseaux de la cellule McMaster.