

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 Master
en

Médecine vétérinaire

THÈME

**Etude comparative de l'effet
anticoccidien des alcaloïdes de *Fumaria
capreolata* et de deux médicaments
classiquement utilisés en élevage avicole**

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, Romaissa, Reyane, Ramila,
Sabrine et Ghazlene 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

La coccidiose aviaire est une maladie due à des protozoaires spécifiques. Le traitement est basé sur l'utilisation des anticoccidiens, mais le développement rapide de résistances et les coûts élevés des médicaments, ainsi que la demande des consommateurs en produits sans molécules chimiques entraîné un intérêt croissant pour les plantes médicinales comme traitements alternatifs.

Le présent travail consiste, dans un premier temps, à isoler les oocystes d'*Eimeria*, puis d'extraire les alcaloïdes de *Fumaria capreolata*, afin de comparer l'effet de ces derniers avec deux anticoccidiens (Joprox® et Coccidiopan®) fréquemment utilisés par les vétérinaires.

Les résultats obtenus indiquent que l'extrait d'AFC réduit considérablement le nombre des coccidies *in vitro*, avec une concentration létale (DL50) égale à 21,5.

L'effet anticoccidien des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* détruisent 67,18% des oocystes après 24 heures d'exposition en incubation, tandis que Coccidiopan® élimine 65,63%. L'anticoccidien Joprox® présente des résultats supérieurs, avec 68,09% d'oocystes éclatés.

Mots-clés : *Fumaria capreolata*, coccidiose aviaire, anticoccidiens, *in vitro*, alcaloïdes.

Abstract

Avian coccidiosis is a disease caused by specific protozoa. Treatment is based on the use of anticoccidials, but the rapid development of resistance and the high cost of drugs, as well as consumer demand for products without chemical molecules, have led to a growing interest in medicinal plants as alternative treatments.

The present work consists first of isolating *Eimeria* oocysts and then extracting alkaloids from *Fumaria capreolata*, in order to compare their effect with two anticoccidials (Joprox® and Coccidiopan®) frequently used by veterinarians.

The results obtained indicate that the AFC extract significantly reduces the number of coccidia *in vitro*, with a lethal concentration (LD50) equal to 21.5.

The anticoccidial effect of *Fumaria capreolata* alkaloids destroys 67.18% of oocysts after 24 hours of exposure in incubation, while Coccidiopan® eliminates 65.63%. The anticoccidial Joprox® shows superior results, with 68.09% of oocysts burst.

Keywords : *Fumaria capreolata*, avian coccidiosis, anticoccidials, *in vitro*, alkaloids.

ملخص

داء كوكسيديا الطيور هو مرض تسببه الكائنات الأولية المختلفة. يعتمد العلاج على استخدام مضادات الحموضة ، ولكن التطور السريع للمقاومة والتكلفة العالية للأدوية، وكذلك طلب المستهلكين على المنتجات التي لا تحتوي على جزيئات كيميائية أدى إلى اهتمام متزايد بالنباتات الطبية كعلاجات بديلة.

يتكون العمل الحالي، أولاً وقبل كل شيء، من عزل البويضات من *Eimeria*، ثم استخراج القلويدات

من *Fumariacapreolata* من أجل مقارنة تأثير هذا الأخير مع اثنين من مضادات الحموضة (*Joprox*®)

و(*Coccidiopan*®) المستخدمة بشكل متكرر من قبل الأطباء البيطريين.

تعكس النتائج التي تم الحصول عليها أن مستخلص AFC قلل بشكل كبير من عدد الكوكسيديا في المختبر بتركيز مميت (DL50) يساوي 21.5.

التأثير المضاد للقلويات *Fumariacapreolata* يدمر 67.18% من البويضات بعد 24 ساعة في الحضانة، بينما تزيل

Coccidiopan® 65.63%. تُظهر المضادة *Joprox*® نتائج فائقة حيث تنفجر 68.09% من البويضات.

الكلمات المفتاحية: *Fumaria capreolata*، الكوكسيديا الطيرية ، مضادات الحموضة ، في المختبر ، قلويدات.

Liste des figures

Figure 1 : Échantillon de sujets infectés par la coccidiose.....	2
Figure 2 : Cycle évolutif des coccidies chez le poulet (Jeurissen <i>et al.</i> , 1996).....	4
Figure 3 : Localisation lésionnelle des huit espèces de coccidies chez le poulet (en rouge)	7
Figure 4 : Photographies de <i>Fumaria capreolata</i> prises à Ain Benian (photos personnelles)	12
Figure 5 : Photographie de <i>Fumaria capreolata</i> prise à Ain Benian (photo personnelle).....	14
Figure 6 : Sachets de Coccidiopan® (photo personnelle).....	16
Figure 7 : Sachets de Joprox® (photos personnelles)	16
Figure 8 : Pénicilline (photos personnelles).....	17
Figure 9 : Boîte de Fluconazol (photo personnelle).....	17
Figure 10 : Protocole d'extraction des alcaloïdes de <i>Fumaria capreolata</i> (Suau <i>et al.</i> , 2002)	18
Figure 11 : Prélèvement des fientes par raclage (photos personnelles)	19
Figure 12 : Méthode de la flottaison (photos personnelles).....	20
Figure 13 : Préparation de la suspension parasitaire (photos personnelles).....	20
Figure 14 : Préparation du milieu PBS (photos personnelles)	21
Figure 15 : Réalisation des concentrations de médicaments (photos personnelles)	22
Figure 16 : Étapes du protocole pour déterminer l'effet des anticoccidiens (photos personnelles).....	23
Figure 17 : Echantillons de la coccidiose caecale d'un sujet de 32 jours (photos personnelles)	24
Figure 18 : Oocystes d' <i>Eimeria</i> (Gx40) (photos personnelles).	24
Figure 19 : Représentation graphique du nombre d'oocystes détruits et libération de matériaux cellulaires, à 273 nm, en fonction de la concentration des AFC	25
Figure 20 : Représentation graphique de l'effet anticoccidien de Joprox® selon la concentration	26
Figure 21 : Représentation graphique de l'effet anticoccidien de Joprox® dans le temps.....	27
Figure 22 : Représentation graphique de l'effet anticoccidien de Coccidiopan® selon la concentration.	28

Figure 23 : Représentation graphique de l'effet anticoccidien de Coccidiopan® dans le temps	29
Figure 24 : Comparaison de l'effet coccidiocide de l'extrait de <i>Fumaria capreolata</i> et les deux anticoccidiens	30

Liste des tableaux

Tableau 1 : Taxonomie d' <i>Eimeria</i> (Duszynski <i>et al.</i> , 2000).....	3
Tableau 2 : Degré de pathogénicité des sept espèces d' <i>Eimeria</i> et leur localisation (Hachimi <i>et al.</i> , 2008).....	5
Tableau 3 : Différentes espèces d' <i>Eimeria</i> et leurs symptômes (Hamoun, 2002).....	6
Tableau 4 : Classification taxonomique de <i>Fumaria capreolata</i> (Goetz <i>et al.</i> , 2009)	12
Tableau 5 : Matériel de laboratoire et produits chimiques utilisés	15
Tableau 6 : Composition chimique de la solution tampon PBS (Remmal <i>et al.</i> , 2011)	21
Tableau 7 : Effet de Joprox® sur le nombre d'oocystes d' <i>Eimeria</i> ($\times 10^5$) selon la concentration	26
Tableau 8 : Effet de Joprox® sur la libération du contenu intracellulaire absorbant à λ 273 nm selon la concentration.....	26
Tableau 9 : Effet de Coccidiopan® sur le nombre d'oocystes d' <i>Eimeria</i> ($\times 10^5$) selon la concentration	27
Tableau 10 : Effet de Coccidiopan® sur la libération du contenu intracellulaire absorbant à λ 273 nm selon la concentration.....	28
Tableau 11 : Comparaison du nombre des oocystes détruits par les trois anticoccidiens utilisés.....	30

Liste des abréviations

Abs : Absorbance

AFC : Alcaloïdes de *Fumaria capreolata*

DL50: Dose létale à 50%

E : *Eimeria*

HCl : Chlorure d'hydrogène

KCl : Chlorure de potassium

NaCl : Chlorure de sodium

PBS : Phosphate Buffered Saline

Ppm : Partie par million

Sp : Espèce

λ : Longueur d'ondes

Sommaire

Introduction	1
--------------------	---

Partie bibliographique

Chapitre I: La coccidiose aviaire

I.1. Définition.....	2
I.2. Importance	2
I.3. Taxonomie.....	2
I.4. Cycle de développement des espèces d' <i>Eimeria</i>	3
I.5. Épidémiologie.....	4
I.6. Pouvoir pathogène.....	4
I.6.1. Destruction des cellules épithéliales parasitées	4
I.6.2. Perturbations nutritionnelles	5
I.7. Symptômes	5
I.7.1. Coccidiose subclinique.....	5
I.7.2. Coccidiose clinique.....	6
I.8. Lésions.....	6
I.9. Diagnostic.....	7
I.10. Prophylaxie	7
I.11. Traitement.....	8

Chapitre II : Médicaments anticoccidiens

II.1. Anticoccidiens spécifiques	9
II.2. Anticoccidiens non spécifiques	9

Chapitre III : *Fumaria capreolata*

III.1. Phytothérapie.....	11
III.2. Généralité sur les Fumariacées	11
III.2.1. <i>Fumaria capreolata</i>	11
III.2.2. Taxonomie	12
III.2.3. Répartition géographique	12
III.2.4. Composition chimique de <i>Fumaria capreolata</i>	13
III.2.5. Utilisation médicinale de <i>Fumaria capreolata</i>	13
III.3. Alcaloïdes.....	13
III.3.1. Répartition botanique.....	13
III.3.2. Intérêt pharmacologique des alcaloïdes.....	13

Partie Expérimentale

1. Objectif	14
2. Matériel et méthodes	14
2.1. Matériel végétal.....	14
2.2. Matériel de laboratoire et produits chimiques.....	14
2.3. Médicaments	15
2.4. Méthodes.....	17
2.4.1. Extraction et dilution.....	17
2.4.2. Préparation des fientes de poulets.....	19
2.4.2.1. Echantillonnage et prélèvement.....	19
2.4.2.2. Méthode de flottaison	19
2.4.2.3. Préparation de la suspension parasitaire.....	20
2.4.3. Préparation du milieu de culture PBS.	21
2.4.4. Effet des anticoccidiens classiques sur le nombre d'oocystes et la libération du contenu cellulaire absorbant à λ 273 nm.	22
3. Résultat et discussion	24
3.1. Identification et dénombrement des oocyste d' <i>Eimeria</i> spp.	24
3.2. Activité anticoccidienne des extraits alcaloïdiques de <i>Fumaria capreolata</i>	25
3.3. Effet des anticoccidiens sur le nombre d'oocystes et la libération du contenu intracellulaire absorbants à 273 nm.....	25
3.4. Comparaison de l'effet lytique des alcaloïdes de <i>Fumaria capreolata</i> et des anticoccidiens utilisés	29
Conclusion.....	31

Introduction

Les poulets sont élevés dans la plupart des régions du monde et fournissent un type de protéines animales acceptable pour la plus grande partie de la population mondiale. La production en aviculture est susceptible d'être affectée par différents paramètres tels que la température, l'humidité, l'alimentation, l'hygiène et les maladies (virales, bactériennes, fongiques et parasitaires). Parmi les problèmes parasitaires majeurs, la coccidiose aviaire est un problème sérieux et cause d'énormes pertes économiques pour l'industrie de la volaille dans le monde entier (Al-Gawad *et al.*, 2012).

La coccidiose est causée par le développement de coccidies dans l'intestin. Ces affections ont un impact sanitaire direct par les symptômes qu'elles engendrent, et indirect en favorisant le développement d'autres maladies. (Abed *et al.*, 2009).

Les anticoccidiens (traitement étiologique) restent encore le principal moyen de lutte (Sanders, 2005). Cependant, cinquante années d'utilisation des anticoccidiens ont conduit à l'apparition de souches résistantes et, compte tenu de l'absence de nouvelles molécules, leur utilisation sur le terrain doit être raisonnée pour éviter une usure trop rapide (Naciri, 2003).

Récemment, des composés phytochimiques provenant de différents types d'éléments botaniques sont explorés comme alternatives durables pour lutter contre la coccidiose, pour être tout à fait efficace et avoir une influence sur les performances zootechniques (Hady et Zaki, 2012).

Parmi les plantes qui auraient un effet anticoccidien, *Fumaria capreolata* est décrit par certains auteurs.

L'objectif du présent travail, après étude de son efficacité intrinsèque dans une précédente expérimentation, est de comparer l'activité de *Fumaria capreolata* avec celle de certaines molécules classiquement utilisées en élevage avicole.

Ce travail comporte des études bibliographiques sur la coccidiose aviaire et également les anticoccidiens classiques et 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 des deux anticoccidiens classiques en basant sur le dénombrement des oocyste d'une par et l'absorbance au spectrophotomètre d'autre part puis une comparaisons entre les alcaloïdes de *Fumaria capreolata* et les deux anticoccidiens testés.

Partie Bibliographique

Chapitre I : Coccidiose aviaire

I.1. Définition

La coccidiose aviaire est une maladie parasitaire (figure 1) due à la présence et à la multiplication de diverses coccidies du genre *Eimeria* dans les cellules épithéliales de l'intestin (Fortineau et Troncy, 1985).

Elle se manifeste par une entérite hémorragique d'évolution aiguë et mortelle, ou par une forme subclinique (Euzéby, 1987).



Figure 1 : Échantillon de sujets infectés par la coccidiose
(A) Diarrhée ; (B) Dépression (Al-Gawad *et al.*, 2012)

I.2. Importance

La coccidiose présente à la fois une importance médicale et surtout une importance économique. Elle se traduit par un taux de mortalité pouvant atteindre 80 à 100% de l'effectif (Buldgen, 1996). Selon la classification de l'organisation mondiale de la santé animale (OIE), cette protozoose occupe le premier rang des maladies parasitaires des volailles (Lancaster, 1983).

I.3. Taxonomie

La coccidiose est causée par un protozoaire du phylum des *Apicomplexa*, de la famille des *Eimeridae* et du genre *Eimeria* (tableau 1). Sur les 7 espèces d'*Eimeria* responsables de coccidiose (*Eimeria tenella*, *E. acervulina*, *E. necatrix*, *E. maxima*, *E. brunetti*, *E. mitis* et *E. praecox*), seules les 5 premières sont véritablement pathogènes pour les poulets (Dakpogan *et al.*, 2013).

Tableau 1 : Taxonomie d'*Eimeria* (Duszynski *et al.*, 2000)

Embranchement	Protozoaires	Êtres unicellulaires, sans chloroplaste ni vacuole ni paroi
Sous-embranchement	<i>Apicomplexa</i>	Parasite intracellulaire
Classe	<i>Sporozoasidae</i>	Absence de flagelles chez les sporozoïtes
Ordre	<i>Eucoccidiorida</i>	Multiplication asexuée par mérogonie
Sous-ordre	<i>Eimeriorina</i>	Gamogonie dans les cellules épithéliales des organes creux
Famille	<i>Eimeriidae</i>	Parasite monoxène des mammifères et des oiseaux Sporulation exogène
Genre	<i>Eimeria</i>	L'oocyste contient 4 sporocyste contenant chacun 2 sporozoïtes

I.4. Cycle de développement des espèces d'*Eimeria*

Le cycle des coccidies est identique quelle que soit l'espèce considérée ; il comprend deux phases (figure 2), l'une exogène et l'autre endogène à l'hôte ; les volailles se contaminent directement sans la nécessité d'un hôte intermédiaire vecteur : c'est donc un cycle biphasique monoxène direct (Villate, 1997 ; Banfield and Forbes, 1999).

- La phase exogène correspond à la maturation de l'oocyste émis dans les fientes des sujets parasités ; c'est la sporulation ou sporogonie.
- La phase endogène débute par l'ingestion de l'oocyste infestant puis libération et pénétration des sporozoïtes dans les cellules épithéliales intestinales ; ils se divisent de façons répétées suivant un processus de reproduction asexuée massive (schizogonie) suivie d'une gamogonie avec formation des gamètes mâles et femelles, dont la fécondation donne naissance à l'oocyste immature, et le cycle s'achèvera avec la sporulation de l'oocyste immature durant la phase exogène (Kennedy, 1996 ; Villate, 2001).

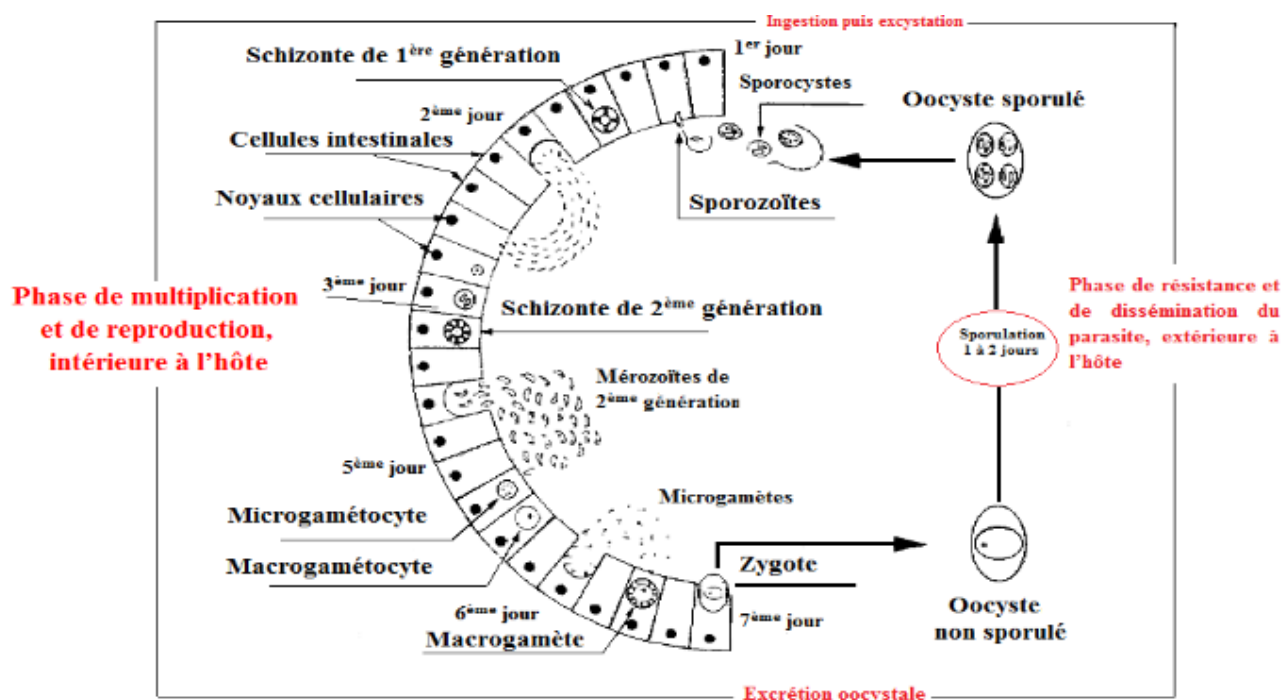


Figure 2 : Cycle évolutif des coccidies chez le poulet (Jeurissen *et al.*, 1996)

I.5.Épidémiologie

La propagation des coccidies par la pollution des aliments et de l'eau avec les excréments des poulets infectés est le moyen le plus commun et direct par lequel cette maladie prolifère. La transmission mécanique indirecte de la coccidiose est assurée par divers animaux, à savoir les oiseaux et les rongeurs, ainsi que les chaussures et les vêtements de l'homme (Carvalho *et al.*, 2011).

I.6.Pouvoir pathogène

Le pouvoir pathogène des coccidies dans un élevage est en fonction des espèces présentes (tableau 2), des quantités qui seront ingérées, des stades de développement (mérogonie ou gamogonie) et de la nécrose et la destruction des cellules épithéliales (Naciri *et al.*, 2003 ; Shirley, 1995) ; il dépend aussi de la réceptivité du poulet et de l'environnement (Naciri *et al.*, 2003).

I.6.1. Destruction des cellules épithéliales parasitées

La destruction 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).

I.6.2. Perturbations nutritionnelles

L'infection induit 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 et de l'absorption des nutriments, et des pigments caroténoïdes (Adams *et al.*, 1996). Le défaut de pigment peut être dû à un déficit d'absorption et de transport (Fukata *et al.*, 1997).

Le tableau 2 classe les espèces selon leur pouvoir pathogène (Hachimi *et al.*, 2008) :

Tableau 2 : Degré de pathogénicité des sept espèces d'*Eimeria* et leur localisation (Hachimi *et al.*, 2008)

Espèce	Localisation	Degré d'agressivité
<i>E. necatrix</i>	Fin du duodénum jusqu'au milieu de l'iléon, formation de ballons	++++
<i>E. tenella</i>	Caeca remplis de sang	++++
<i>E. brunetti</i>	Fin de l'intestin grêle et rectum	+++
<i>E. maxima</i>	Fin du duodénum au milieu de l'iléon	+++
<i>E. mitis</i>	Deuxième moitié de l'intestin grêle	++
<i>E. acervulina</i>	Intestin grêle, surtout au duodénum	++
<i>E. praecox</i>	Duodénum, cylindres de mucus	+

I.7. Symptômes

I.7.1. Coccidiose subclinique

Les coccidioses à effet nutritionnel ou coccidioses subcliniques est souvent légère, caractérisée par une diminution de l'ingéré alimentaire, un mauvais indice de consommation, diarrhée, sous-pigmentation de la peau (Conway et McKenzie, 2007) et occasionnellement de la mortalité (Yvoré, 1986). Ce type d'infections provoque des effets nutritionnels sévères à travers différents stades du processus alimentaire : ingestion, digestion, absorption, transport par le sang, stockage, mobilisation et métabolisme (Ruff, 1986).

I.7.2. Coccidiose clinique

Les coccidioses cliniques se manifestent par des signes cliniques marqués ; elles sont causées par des espèces coccidiennes très pathogènes (tableau 3) : *E. tenella*, *E. necatrix* et *E. brunetti*. Les signes cliniques manifestés lors de l'atteinte par ces espèces sont plus évidents : effets nutritionnels traduits par de mauvaises performances, diarrhée hémorragique, atteinte de l'état général, déshydratation et mortalité importante. La perte sanguinolente est estimée entre 7 et 10% du poids vif (Yvoré, 1986).

Tableau 3 : Différentes espèces d'*Eimeria* et leurs symptômes (Hamoun, 2002).

Espèce	Symptômes
<i>E. acervulina</i>	Chute de consommation, mauvaise digestion, mauvaise absorption et utilisation des nutriments
<i>E. maxima</i>	Défaut de pigmentation, chute de croissance, mortalité lors d'infestation sévère
<i>E. necatrix</i>	Chute de consommation et de poids, excrétion sanguinolente, mortalité
<i>E. brunetti</i>	Mauvaise digestion et absorption des nutriments, mortalité lors d'infestation sévères
<i>E. tenella</i>	Excrétion sanguinolente et anémie, chute d'appétit et de poids, mortalité élevée

I.8. Lésions

Durant le cycle évolutif, les différents stades de développement du parasite envahissent un grand nombre de cellules intestinales et les détruisent. Les lésions engendrées sont en relation directe avec le nombre de coccidies qui ont pu accomplir leur cycle évolutif ; elles dépendent non seulement du nombre de cellules détruites mais aussi du type de cellules parasitées (figure 3). Les plus profondes causent les lésions les plus graves (Suls, 1999).

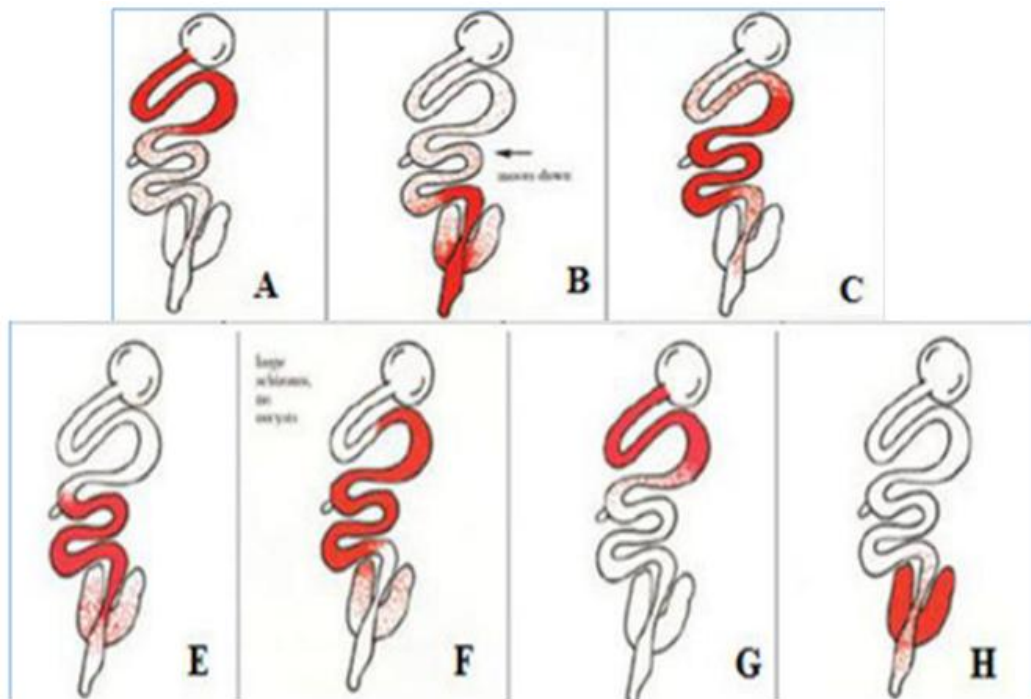


Figure 3 : Localisation lésionnelle des sept espèces de coccidies chez le poulet (en rouge)
(A) *E. acervulina* ; **(B)** *E. brunetti* ; **(C)** *E. maxima* ; **(E)** *E. mitis* ; **(F)** *E. necatrix* ; **(G)** *E. praecox* ; **(H)** *E. tenella* (Conway et McKenzie, 2007)

I.9. Diagnostic

D'une manière générale, le diagnostic *ante mortem* de la coccidiose est facile et est basé sur l'observation des signes cliniques. Il peut se confirmer aisément à l'examen coprologique (Belot and Pangui, 1986). Le diagnostic *post mortem* repose sur l'autopsie qui a pour but de rechercher les lésions de coccidioses et de faire des prélèvements pour des examens microscopiques. Ces examens permettent de mettre en évidence soit la présence d'oocystes de coccidie, soit des lésions caractéristiques de la coccidiose (nécrose, hémorragie,).

I.10. Prophylaxie

I.10.1. Prophylaxie sanitaire

La prévention de la coccidiose aviaire est basée sur la biosécurité en élevage : respect de la densité, bonne ventilation qui permet de réduire le taux d'humidité dans le poulailler, aide à garder la litière sèche et une température correcte (Taylor *et al.*, 2007). Il faut aussi empêcher le contact entre les poulets et les hôtes transporteurs ou la source de contamination, comme les matières fécales, par la mise en cage, accompagnée d'une bonne hygiène. Les oiseaux de différents âges ne doivent pas être posés à proximité parce que les oiseaux plus âgés peuvent servir comme réservoir pour l'infection des jeunes oiseaux (Ruff, 1999).

I.10.2. Prophylaxie médicale

I.10.2.1. Chimio-prévention

Pour lutter contre cette pathologie, des molécules à activité anticoccidienne de deux types, ionophores et produits chimiques, sont développés et sont utilisées à titre préventif en supplémentation dans l'aliment. Ces anticoccidiens ne sont pas des médicaments vétérinaires, ce sont des additifs alimentaires de catégorie des coccidiostatiques (à l'exception du Toltrazuril, le seul anticoccidien utilisable en prévention qui ne soit pas un additif alimentaire). Leur utilisation s'est révélée efficace pendant des années ; ils ont permis l'expansion de l'élevage industriel avicole (Johnson et Reid, 1970).

I.10.2.2. Vaccination

Les industries pharmaceutiques ont cherché à élaborer un vaccin. Il existe sept espèces d'*Eimeria* qui peuvent infecter le poulet, il est donc indispensable de protéger l'animal contre toutes les espèces sous peine de voir émerger dans les élevages des espèces contre lesquelles on n'aurait pas vacciné (Shilley *et al.*, 1983).

I.11. Traitement

En présence de coccidiose déclarée et lorsque les indices lésionnels sont importants, le traitement doit être instauré (Euzéby, 1987). Les médicaments curatifs doivent agir sur les schizontes de deuxième génération et les gamétocytes, qui sont les formes pathogènes (Euzéby, 1987). Ils sont administrés de préférence dans l'eau de boisson car la soif est mieux conservée que l'appétit (Euzéby, 1987).

Chapitre II : Médicaments anticoccidiens

II.1. Anticoccidiens spécifiques

- Toltrazuril :

En solution buvable 2,5%, il agit sur les stades intracellulaires de vie du parasite. C'est pour cela que deux jours de traitement suffisent, même dans les formes cliniques (Villate, 2001).

- Amprolium :

Très bonne activité anticoccidienne et n'est pas toxique aux doses préconisées. C'est un antagoniste de la thiamine (vitamine B1), qui est nécessaire au métabolisme des coccidies. L'amprolium s'utilise sous forme de poudre à 20% ou en solution à 12%, en curatif ou en préventif (Villate, 2001). Son spectre est étendu en l'utilisant dans les mélanges, en particulier avec Lethopabate et Sulfaquinoxaline (Susan et Aillo, 2002).

- Framycétine :

Utilisée seulement pour le traitement de la maladie déclarée, à la dose de 25 mg/kg/jour pendant 3 jours (0,25 g/l d'eau) ; son action préventive est minime (Euzéby, 1987).

- Clopidrol :

Son activité s'exerce en bloquant le transport des électrons dans les mitochondries des sporozoïtes et des trophozoïtes. Comme il s'agit d'un coccidiostatique, son spectre d'activité est large mais le développement de résistance est un problème. (Susan et Aillo, 2002).

- Diavéridine :

Dérivée de la pyrimidine, elle potentialise l'activité anticoccidienne des sulfamides. Grâce à l'association, la posologie du sulfamide est 10 fois moindre que lorsqu'elle est utilisée seule. Sa toxicité est extrêmement réduite. Son activité s'étend aux stades de la schizogonie ; sa distribution se fait dans l'eau de boisson (Villate, 2001).

II.2. Anticoccidiens non spécifiques

Il s'agit surtout des sulfamides qui sont efficaces contre les coccidies des volailles. Leur action s'exerce sur les schizontes de première et deuxième génération. Ils permettent également le développement d'une certaine immunité (Susane et Aillo, 2002).

Ils sont, selon la posologie, utilisés en tant que coccidiostatiques. Ils peuvent être utilisés en association entre eux ou avec d'autres anticoccidiens qui les potentialisent et permettent ainsi d'en réduire la posologie (Fontaine, 1992).

Les sulfamides les plus utilisés dans le traitement curatif des coccidioses aviaires sont :

- Sulfaquinoxaline : Employée seule, à 250-500 ppm, dans l'eau de boisson durant 2 à 3 périodes de 2 à 3 jours, avec interruption du traitement pendant 2 à 3 jours entre chaque période. En association avec la pyriméthamine (effet de potentialisation), à 40-50 ppm dans

l'eau de boisson, soit pendant 5 jours consécutifs, avec arrêt durant 2 jours et reprise du traitement pendant 2 à 3 jours (Fontaine, 1992).

- Sulfamérazine : Employée seule à raison de 2 g/litre d'eau de boisson : 2 périodes de 2 jours consécutifs et 3 jours d'arrêt. En association avec la diavéridine : 215 à 220 ppm en eau de boisson pendant 4 à 5 jours consécutifs (Fontaine, 1992).
- Sulfadiméthoxine : Employée seule : 1 g/litre d'eau de boisson pendant 2 jours, puis 0,5 g/litre d'eau de boisson les 3 jours suivants (Fontaine, 1992).
- Sulfaguanidine : Employée seule à la dose de 1kg pour 1000 litres dans l'eau de boisson (Fontaine, 1992).

Chapitre III : Étude ethno-pharmacologique de *Fumaria capreolata*

III.1. Phytothérapie

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques : *phuton* et *therapeia* qui signifient respectivement "plante" et "traitement". Elle peut donc être définie comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes, qu'elles soient consommées ou utilisées par voie externe.

En raison du coût élevé du développement de nouveaux médicaments, du développement des résistances aux anticoccidiens, et du problème des résidus d'anticoccidiens dans les carcasses d'animaux traités, les travaux sur la phytothérapie anticoccidienne attirent de plus en plus l'attention des chercheurs à travers le monde (Christaki *et al.*, 2012 ; Tipou *et al.*, 2006).

III.2. Généralité sur les Fumariacées

Les Fumariacées sont des espèces d'herbe annuelle qui sont largement distribuées dans la région méditerranéenne ; elles sont très riches en alcaloïdes isoquinoléiques (Suau *et al.*, 2005). Elles sont utilisées en médecine traditionnelle, spécialement l'espèce *Fumaria capreolata* qui est utilisée dans le cas de dysfonctionnement hépatobiliaire et lors de troubles gastro-intestinaux (Benabdesselam *et al.*, 2007).

III.2.1. *Fumaria capreolata*

Fumaria ou Fumeterre est une plante contenant des fleurs blanches, roses ou rouges, avec une extrémité rouge sombre (figure 4). Cette plante est annuelle et s'étale sur le sol ; des vrilles lui permettent de s'élever sur des supports.

Fumaria capreolata est une espèce dont les feuilles sont à segments foliaires aplatis, des fleurs en grappes lâches, des sépales dépassant la moitié de la longueur de la corolle ; son fruit mesure 2,5 mm de diamètre (Petit *et al.*, 2004).

Nom latin : *Fumaria capreolata*

Nom vernaculaire : Fumeterre blanche, Fumeterre grimpante, "Zalamit" en kabyle par référence à la pointe des allumettes ou Tijujar yesghi ou tiquiquech yesghi (plume d'oiseau), "Chick el Kanoun" en arabe ou "Lewliya"



Figure 4 : Photographie de *Fumaria capreolata* prises à Ain Benian (photo personnelle)

III.2.2. Taxonomie

Le tableau 4 ci-dessous montre la taxonomie de la plante :

Tableau 4 : Classification taxonomique de *Fumaria capreolata* (Goetz *et al.*, 2009).

Règne	<i>Plantae</i> (plante)
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i> (plante vasculaire)
Classe	<i>Magnoliopsida</i> (dicotylédone)
Ordre	Papavérale
Famille	<i>Fumariaceae</i>
Genre	<i>Fumaria</i>
Espèce	<i>Fumaria capreolata</i>

III.2.3. Répartition géographique

Plante commune dans toutes les régions tempérées d'Europe (Bernard, 1997), d'Afrique du Nord et d'Asie occidentale (Sturm *et al.*, 2006), on la trouve dans les terrains vagues, sur les bords des chemins et des terres incultes, le long des vieux murs (Deysson, 1979).

Vingt-deux espèces du genre *Fumaria* sont spécifiques à la région ibéro-mauritanienne qui inclut l'Algérie, le Maroc et l'Espagne (Liden, 1986 ; Blanco *et al.*, 1993).

III.2.4. Composition chimique de *Fumaria capreolata*

Fumaria capreolata comporte principalement des alcaloïdes isoquinoléiques, des acides organiques et des sels minéraux. De plus, les espèces *Fumeterre* sont composées de métabolites primaires, voire des acides aminés, des polysaccharides hétérogènes, ainsi que des sels potassiques (Bruneton, 1999 ; Souseck *et al.*, 1999).

III.2.5. Utilisation médicinale de *Fumaria capreolata*

Les fumariacées sont riches en alcaloïdes isoquinoléiques dotés de plusieurs activités pharmacologiques tels que l'activité antimicrobienne, anti-inflammatoire, anti-oxydante et anti-tumorale (Ríos *et al.*, 2005).

III.3. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés naturels, à caractère alcalin, le plus souvent d'origine végétale, donnant des réactions de précipitation avec certains réactifs (Bruneton, 2009). Ils sont constitués d'un noyau azoté, possédant diverses activités pharmacologiques (Rajni *et al.*, 2005).

III.3.1. Répartition botanique

Les alcaloïdes appartiennent le plus souvent au règne végétal (essentiellement les angiospermes) ; ils sont rares chez les champignons et les gymnospermes. Leur teneur est très variable dans les différents organes de la plante ; ils peuvent être localisés dans les racines, les feuilles, les fruits, les écorces et les grains. Ils sont synthétisés généralement dans des sites précis (racine en croissance, chloroplaste ...) et stockés dans des vacuoles cellulaires (Moreau, 1964).

III.3.2. Intérêt pharmacologique des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont connus pour leurs activités pharmacologiques qui sont exercées dans plusieurs domaines (Hopkins, 2003). Ils présentent fréquemment des propriétés pharmacologiques marquées et ils ont de nombreuses utilisations en thérapeutique, notamment sur le système nerveux central, le système nerveux autonome et le système cardiovasculaire. Ils possèdent aussi des propriétés anti-tumorales et anti-parasitaires (Bruneton, 1999).

Partie Expérimentale

Partie expérimentale

1. Objectif

Le but de la recherche est de tester l'effet des anticoccidiens classiques *in vitro* et les comparer avec l'effet de l'extrait de *Fumaria capreolata* sur les oocystes d'*Eimeria*. L'expérimentation est réalisée dans les laboratoires de chimie, parasitologie et biochimie, au sein de l'École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Des plantes de *Fumaria capreolata* (figure 5) sont collectées au mois d'avril 2019, au stade de floraison, dans la région d'Ain Benian, wilaya d'Alger. L'identification botanique de l'espèce est réalisée au sein de l'École Nationale Supérieure d'Agronomie.



Figure 5 : Photographie de *Fumaria capreolata* prise à Ain Benian (photo personnelle)

2.2. Matériel de laboratoire et produits chimiques

Le matériel de laboratoire et les produits utilisés lors de l'expérimentation sont présentés dans le tableau 5 ci-dessous :

Tableau 5 : Matériel de laboratoire et produits chimiques utilisés

Matériel de laboratoire	Produits chimiques
Balance analytique Balance de précision, Max = 220 g, d = 0,1 mg Étuve Soxhlet pH-mètre Spectrophotomètre Microscope optique Lames et lamelles Cellule McMaster Ampoules à décanter Tubes à essais Seringues Bécher Éprouvettes Burettes Boîtes de Pétri Micropipettes 520 µl Micropipettes 100 et 1000 µl Spatules	Eau distillée Dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) Phosphate sodique dihydraté ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) Phosphate de potassium (KH_2PO_4) Chlorure de potassium (KCl) Chlorure de sodium (NaCl) Méthanol Éther diéthylique Acide acétique Ammoniaque Dichlorométhane

2.3. Médicaments

Les médicaments et les anticoccidiens utilisés lors des différents tests sont les suivants :

□ **Cocciopan® :**

C'est un antimicrobien et un coccidiostatique non spécifique, à large spectre, qui inhibe à la fois les bactéries à Gram positif et à Gram négatif, ainsi que certains protozoaires, tels que les coccidies. Il est composé de sulfaquinoxaline sodium, sulfaméthazine sodium, sulfadiazine sodium, ménadione sodium bisulfite (vit K3) et vitamine A. (figure 6).



Figure 6 : Sachet de Coccidiopan® (photo personnelle)

□ Joprox® :

Contient deux substances anticoccidiennes (amprolium hydrochloride et sulphaquinoxaline sodium), ainsi que de la vitamine K₃, additionnées en une seule formule de production pour traiter les différentes formes de coccidioses.(figure7)



Figure 7 : Sachets de Joprox® (photos personnelles)

□ Pénicilline :

Les pénicillines sont des antibiotiques bêtalactamines (figure 8). La pénicilline est une toxine synthétisée par certaines espèces de moisissures du genre *Penicillium*. Elle est utilisée dans cette expérimentation pour empêcher la prolifération bactérienne qui peut altérer la lecture au spectrophotomètre.



Figure 8 : Pénicilline (photos personnelles)

□ **Fluconazole :**

C'est un antifongique apparenté à la famille des imidazolés (figure 9). Ce fongicide est utilisé dans le but d'éviter la formation de champignons microscopiques dans le milieu.



Figure 9 : Boîte de Fluconazol (photo personnelle)

2.4. Méthodes

2.4.1. Extraction et dilution

Pour se débarrasser de la poussière, du sable et autre particules, la partie aérienne de *Fumaria capreolata* est lavée à l'aide d'eau courante puis découpée en petits morceaux, séchée à l'étuve à 40°C pendant dix jours, pour permettre un bon broyage et une meilleure extraction. La partie préalablement séchée est ensuite réduite en poudre à l'aide d'un broyeur électrique (Debuigne, 1999 ; Naczk et Shahidi, 2004).

Le protocole utilisé pour l'extraction des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* est celui de (Suau *et al.* 2002), basé sur une extraction solide-liquide (figure 10).

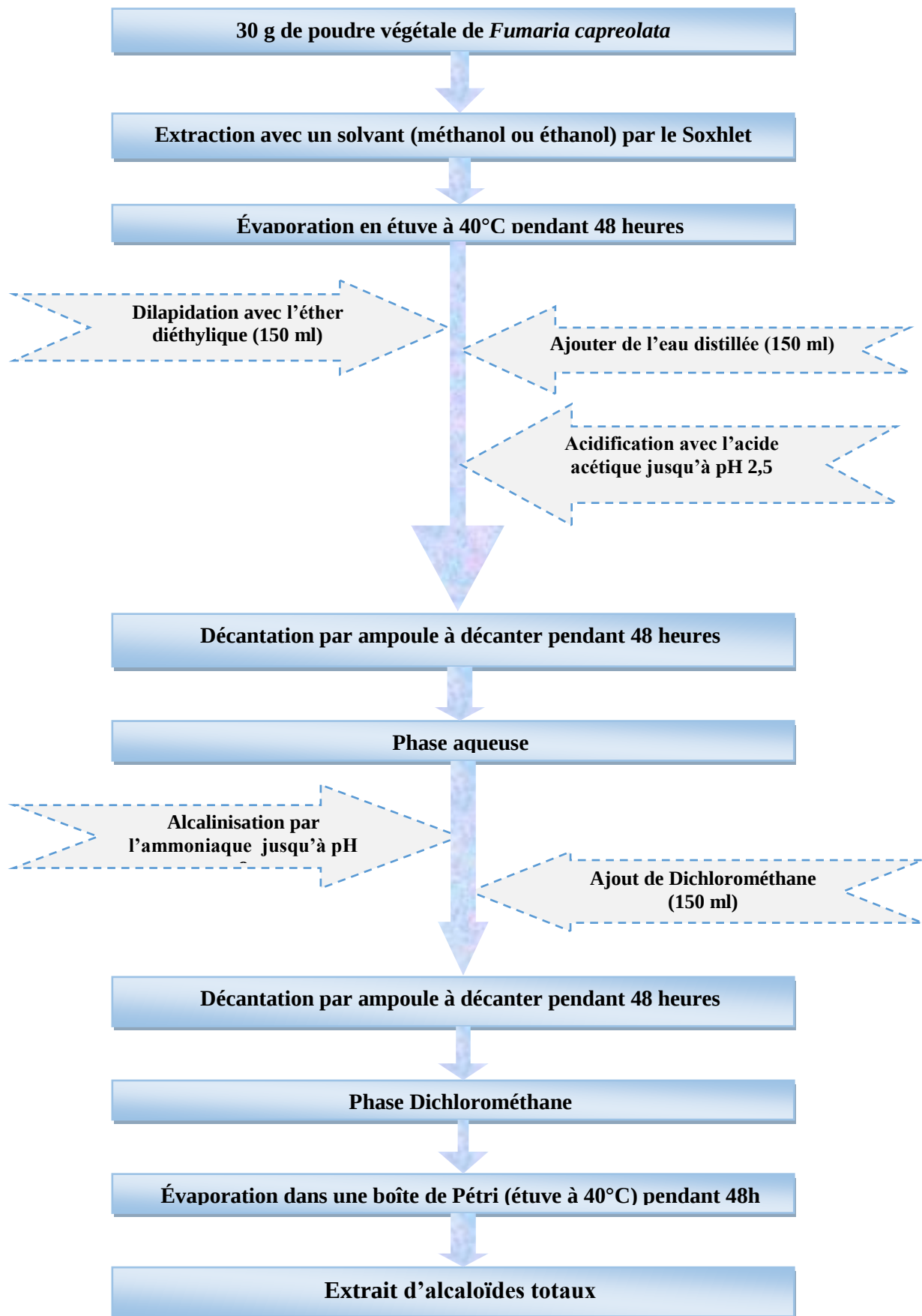


Figure 10 : Protocole d'extraction des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* (Suau *et al.*, 2002)

Dans le but de déterminer la concentration de l'extrait préparé, un dosage est réalisé en utilisant la solution d'HCl, vu que l'extrait est basique, et le rouge de méthylène comme indicateur de pH. Après avoir calculé la concentration de l'extrait préparé selon la formule suivante :

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

Différentes dilutions à un demi sont réalisées dans le but d'avoir plusieurs concentrations ; les concentrations obtenues sont :

- 43 mg/ml (solution mère)
- 21,5 mg/ml
- 10,75 mg/ml
- 5,375 mg/ml.

2.4.2. Préparation des fientes de poulets

2.4.2.1. Échantillonnage et prélèvement

Les poulets infectés par la coccidiose sont autopsiés, leurs intestins enlevés et observés sur toute leur longueur. Après confirmation de la coccidiose, les intestins sont récupérés et le contenu est collecté par un raclage profond de la muqueuse.(figure 11).



Figure 11 : Prélèvement des fientes par raclage (photos personnelles)

2.4.2.2. Méthode de flottaison

Cette méthode consiste à diluer les échantillons de matières fécales dans un liquide d'une densité plus élevée que celle des oocystes (NaCl ; d=1,2), de telle sorte que, sous l'action de la pesanteur, les oocystes montent à la surface du liquide et peuvent être récupérés pour l'examen microscopique (Euzéby, 1987).(figure 12).



Figure 12 : Méthode de flottaison (photos personnelles)

2.4.2.3. Préparation de la suspension parasitaire

Pour préparer la suspension parasitaire, le protocole (Remmal *et al.*, 2011) (figure 13) est le suivant :

- ✓ 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 3.200 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 McMaster. Une observation sous microscope est réalisée dans le but d'identifier et dénombrer les oocystes.

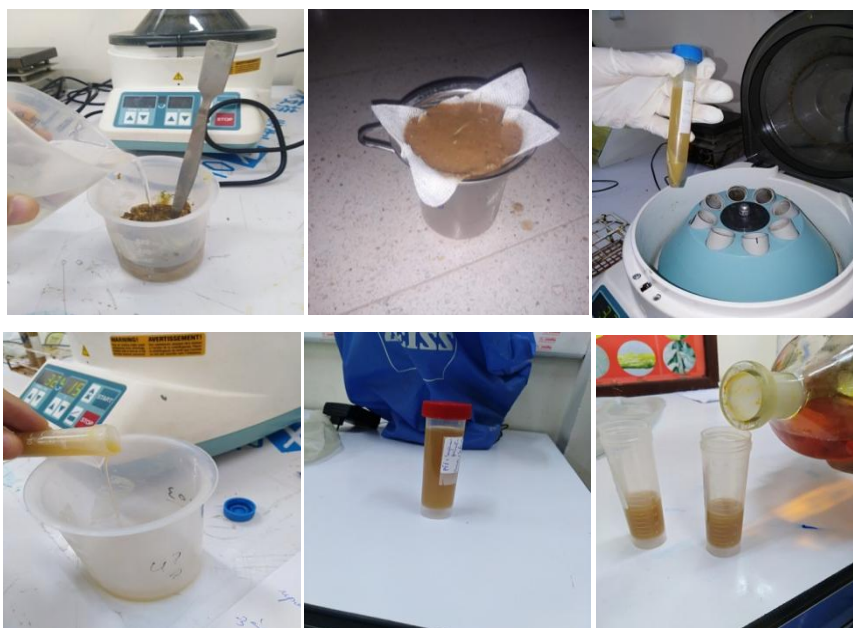


Figure 13 : Préparation de la suspension parasitaire (photos personnelles)

L'identification des espèces d'*Eimeria* est effectuée en se basant sur la forme des oocystes et la localisation dans les différents segments intestinaux du poulet de chair. Le dénombrement des oocystes est basé sur l'utilisation de la lame McMaster où le nombre total des coccidies est déterminé par la formule suivante (Conway et McKenzie, 2007) :

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

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. Préparation du milieu de culture PBS

La solution tampon PBS est préparée (figure 14) à partir des composants indiqués dans le tableau ci-dessous (tableau 6). Le pH est ajusté à 7,4 et la solution est ensuite stérilisée en utilisant l'autoclave pendant 20 mn à 121°C, puis 100 UI/ml de pénicilline et 17 mg/ml de Fluconazole sont ajoutés au milieu PBS (Remmal *et al.*, 2011).

Tableau 6 : Composition chimique de la solution tampon PBS (Remmal *et al.*, 2011)

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



Figure 14 : Préparation du milieu PBS (photos personnelles)

2.4.4. Effet des anticoccidiens classiques sur le nombre d'oocystes et la libération du contenu cellulaire absorbant à λ 273 nm

En vue de tester l'effet lytique des anticoccidiens (figure 15), selon les méthodes décrites par (Remmal *et al.* 2011). sur les oocystes d'*Eimeria* spp. par la mensuration des absorbances à 273 nm des organites cellulaires libérés par les oocystes détruits à l'aide d'un spectrophotomètre UV, différentes pesées d'anticoccidiens (sulfaquinoxaline sodique et amprolium) sont effectuées sur une balance de précision et dissous dans de l'eau distillée dans le but d'obtenir diverses concentrations de médicaments, avec les résultats suivants :

- 0,1 mg/ml
- 0,3 mg/ml
- 0,5 mg/ml
- 1 mg/ml.

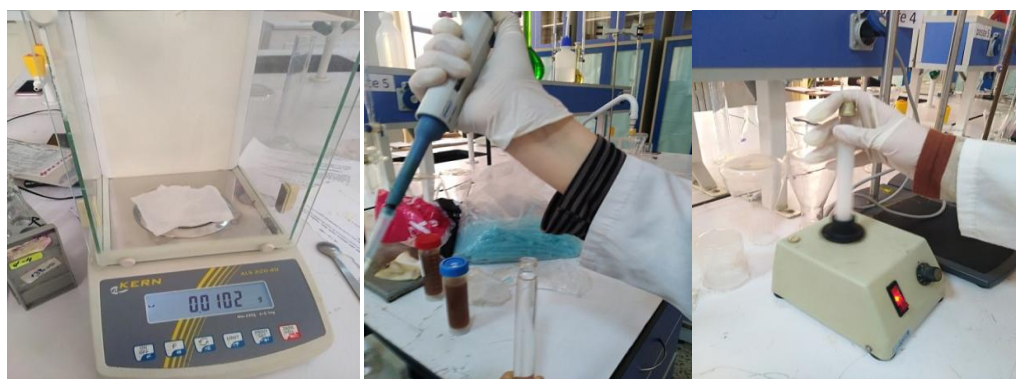


Figure 15 : Réalisation des concentrations de médicaments (photos personnelles)

Une incubation pendant 24 heures, à température ambiante, est faite en tubes à essai stériles et composés de :

- ❖ 200 μ l de la suspension parasitaire contenant $7,68 \times 10^5$ oocystes/ml
- ❖ 1400 μ l de PBS à pH 7,4
- ❖ 400 μ l de produit anticoccidien à concentration croissante : 0,1, 0,3, 0,5 et 1.

Après incubation, les tubes sont centrifugés à 3.200 tours/mn pendant 5 minutes. 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 + produit anticoccidien).

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 est faite à des temps différents : 0, 1, 2, 3, 4 et 24 heures.

Les résultats sont exprimés en variation de l'absorbance à 273nm et du nombre d'oocystes en fonction de la concentration croissante de médicament testé et en fonction du temps.(figure 16).



Figure16 : Étapes du protocole pour déterminer l'effet des anticoccidiens (photos personnelles)

3. Résultat et discussion

3.1. Identification et dénombrement des oocyste d'*Eimeria* spp.

Après avoir autopsié les poulets de chair infectés par la coccidiose, l'examen macroscopique des intestins montre des lésions au niveau des caeca et dernière portion de l'intestin grêle vu l'épaississement de la paroi et la présence d'un contenu hémorragique (Figure17).



Figure 17 : Coccidiose caecale chez un sujet de 32 jours (photos personnelles)

Les analyses coprologiques permettent de mettre en évidence l'espèce responsable des lésions observées.

Après une observation microscopique des oocystes dans les matières fécales, deux espèces responsables de la coccidiose chez le poulet de chair : *Eimeria tenella* et *Eimeria mitis* ont été identifiés.

Un diagnostic microscopique des raclures intestinales est réalisé ; il montre une quantité importante d'oocystes (figure 18).

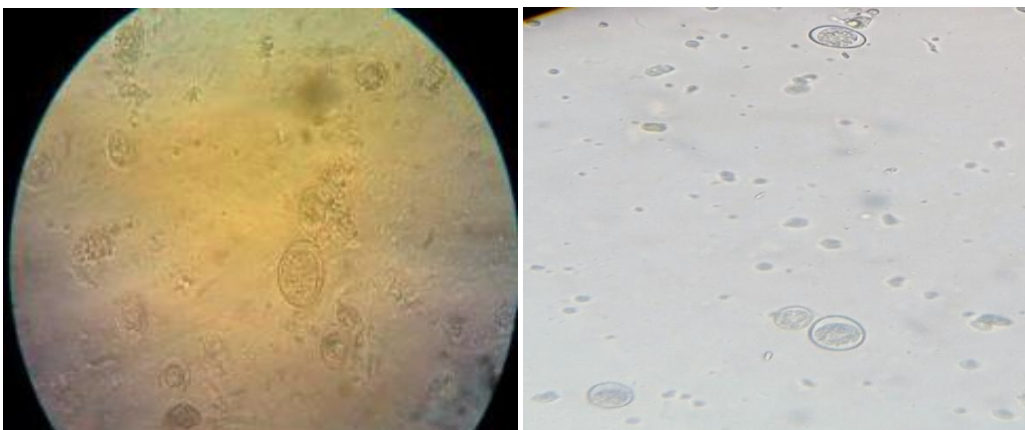


Figure 18 : Oocystes d'*Eimeria* (Gx40) (photos personnelles)

Cette parasitose est généralement exacerbée par la présence de maladies intercurrentes et la qualité médiocre de l'aliment. Les résultats enregistrent, par la technique de numération, à l'aide d'une lame McMaster, un nombre d'oocystes de $7,68 \times 10^5/\text{ml}$. Cette charge parasitaire indique que les différents sujets autopsiés sont très infestés par les coccidies.

3.2. Activité anticoccidienne des extraits alcaloïdiques de *Fumaria capreolata*

L'extrait d'alcaloïdes de la plante *Fumaria capreolata* montre une activité anticoccidienne où les résultats obtenus sont exprimés dans la figure 19 et en annexe 1.

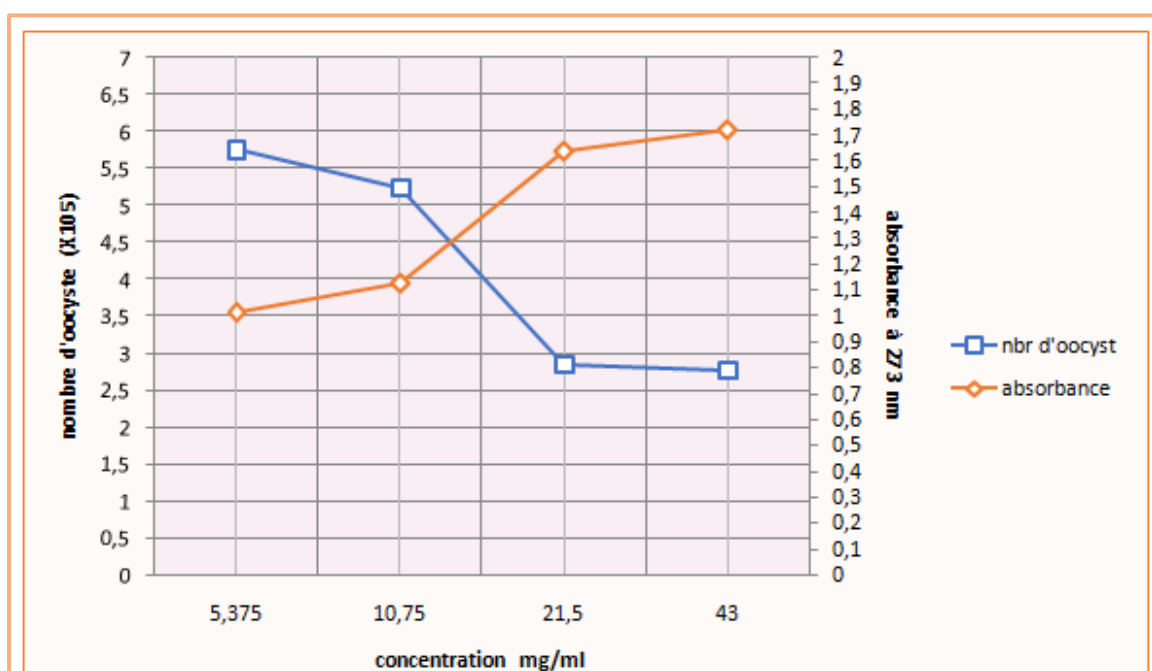


Figure 19 : Représentation graphique du nombre d'oocystes détruits et la libération de matériaux cellulaires, à 273 nm, en fonction de la concentration en AFC

3.3. Effet des anticoccidiens sur le nombre d'oocystes et la libération du contenu intracellulaire absorbants à 273 nm

D'après les résultats illustrés dans la figure 20 et les tableaux 7 et 8, l'anticoccidien Joprox® montre une activité anticoccidienne importante, représentée par une absorbance croissante en fonction de la concentration (0,1 ; 0,3 ; 0,5 et 1 mg/ml), ce qui explique la libération importante du contenu intracellulaires, due à la destruction des oocystes. La charge parasitaire initiale diminue de moitié (DL50) en utilisant la dose à 0,5 mg/ml.

Tableau 7 : Effet de Joprox[®] sur le nombre d'oocystes (X 10⁵) selon la concentration

Concentrat° (mg/ml) Temps (h)	0,1	0,3	0,5	1
0	7,55	6,09	3,43	3,29
1	7,38	5,99	3,29	3,12
2	6,10	5,83	3,07	2,87
3	5,72	5,20	2,79	2,69
4	5,01	4,95	2,61	2,54
24	4,85	4,47	2,45	2,23

Tableau 8 : Effet de Joprox[®] sur la libération du contenu intracellulaire absorbant à λ 273 nm selon la concentration

Concentra° (mg/ml) Temps (h)	0,1	0,3	0,5	1
0	0,485	0,784	0,902	0,985
1	0,748	0,856	1,075	1,135
2	0,988	1,099	1,348	1,405
3	1,047	1,135	1,808	1,899
4	1,276	1,763	2,150	2,373
24	2,027	2,105	2,712	2,947

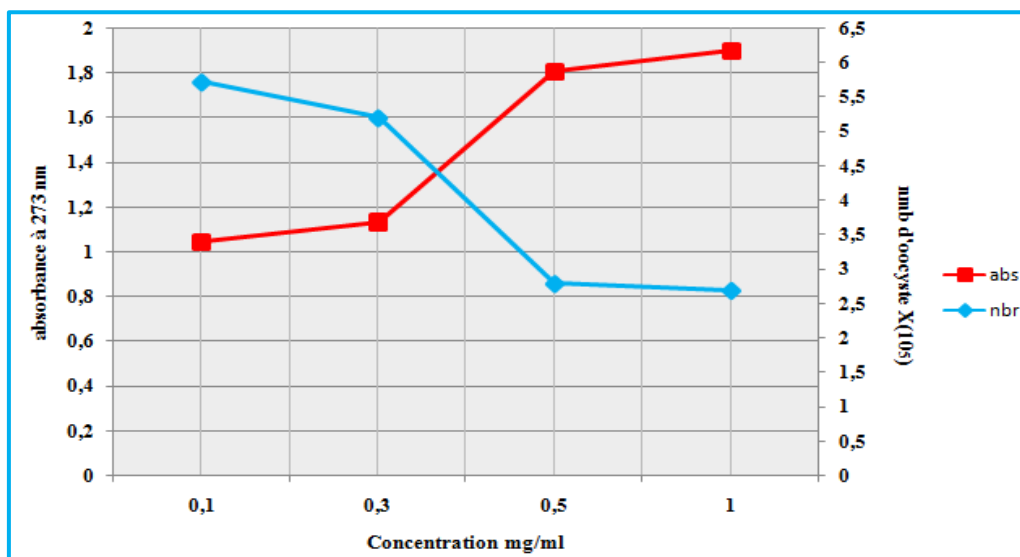


Figure 20 : Représentation graphique de l'effet anticoccidien de Joprox® selon la concentration

Les résultats de la figure 21 indiquent une augmentation de l'effet anticoccidien de Joprox® en fonction du temps.

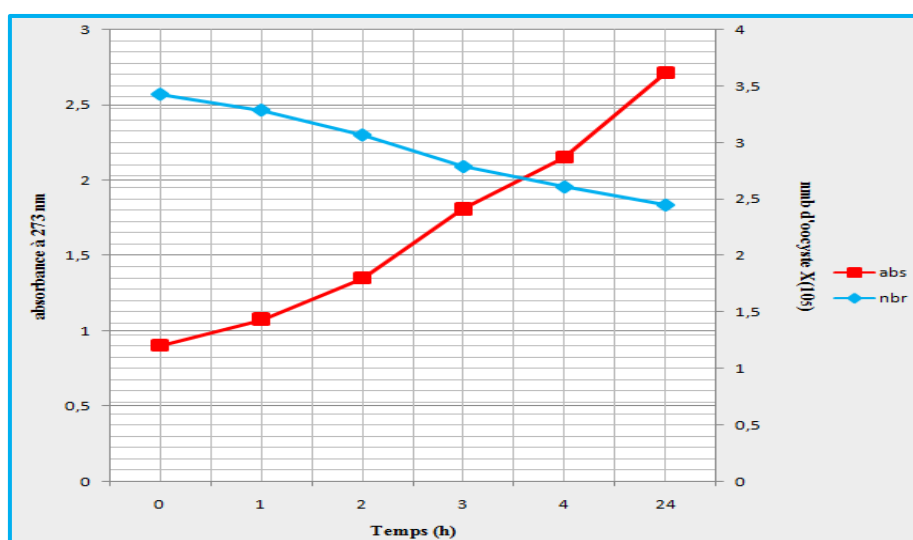


Figure 21 : Représentation graphique de l'effet anticoccidien de Joprox® dans le temps

De même, il est enregistré, sur le graphe en figure 22 et les tableaux 9 et 10, concernant l'effet de Coccidiopan® à des concentrations différentes (0,1 ; 0,3 ; 0,5 et 1 mg/ml), une augmentation graduelle de l'absorbance, ce qui établit une décharge importante des organites intracellulaires des oocystes éclatés, illustrant une diminution remarquable du nombre des coccidies.

Tableau 9 : Effet de Coccidiopan® sur le nombre d’oocystes d’*Eimeria* (X 10⁵) selon la concentration

Concentrat° (mg/ml) Temps (h)	0,1	0,3	0,5	1
0	7,59	6,15	3,93	3,44
1	7,44	6,05	3,65	3,36
2	6,15	5,89	3,35	3,15
3	5,79	5,27	2,93	2,89
4	5,06	4,99	2,78	2,66
24	4,91	4,53	2,64	2,35

Tableau 10 : Effet de Coccidiopan® sur la libération du contenu intracellulaire absorbant à λ 273 nm selon la concentration

Concentrat° (mg/ml) Temps (h)	0,1	0,3	0,5	1
0	0,441	0,747	0,862	0,927
1	0,705	0,804	0,972	1,008
2	0,959	1,072	1,256	1,292
3	1,005	1,098	1,508	1,541
4	1,221	1,652	2,01	2,023
24	2,002	2,015	2,241	2,366

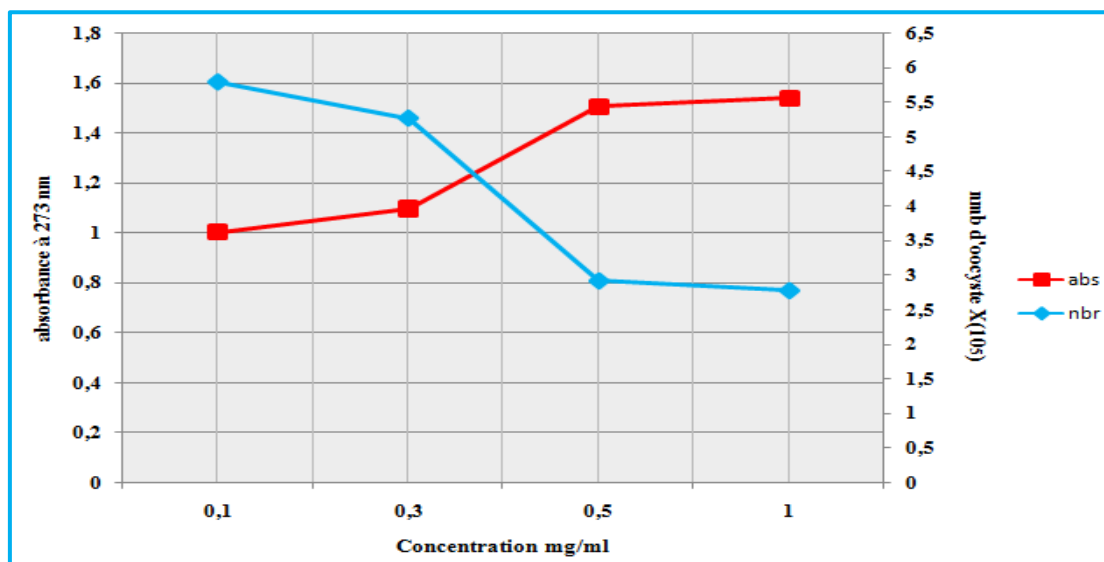


Figure 22 : Représentation graphique de l'effet anticoccidien de Coccidiopan® selon la concentration

On note une évolution croissante de l'activité anticoccidienne de Coccidiopan® en fonction du temps, exprimée dans la figure 23.

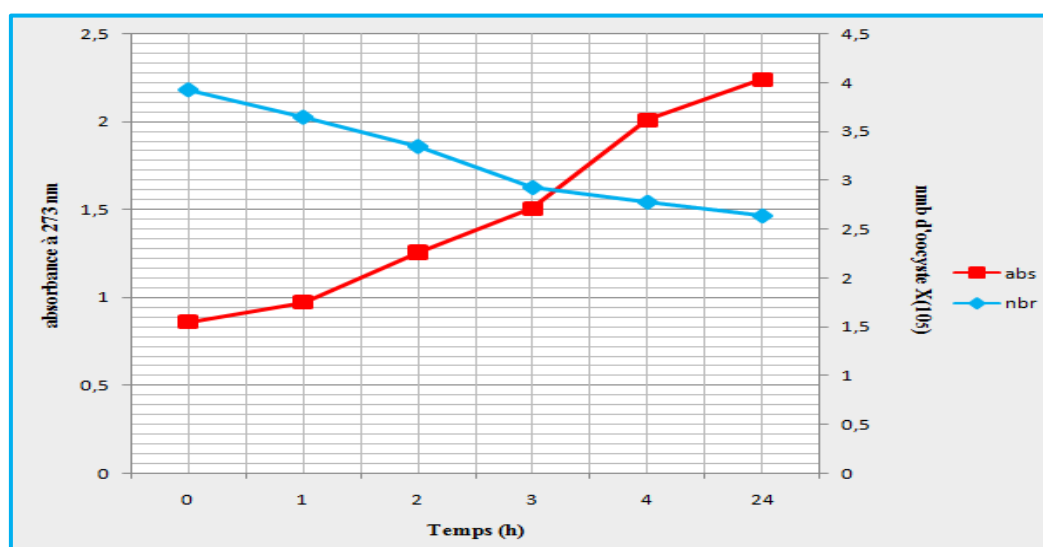


Figure 23 : Représentation graphique de l'effet anticoccidien de Coccidiopan® dans le temps

3.4. Comparaison de l'effet lytique des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* et des anticoccidiens utilisés

Après la réalisation d'une comparaison entre les doses létales à 50% de l'extrait de *Fumaria capreolata* et les deux anticoccidiens, les résultats montrent une réduction du nombre d'oocystes d'*Eimeria* spp. d'une manière proportionnelle par les trois produits.

Ces résultats établissent que le traitement le plus efficace est Joprox®, avec une proportion de 68,09% d’oocystes détruits après 24 heures d'exposition. Pour le même temps d'exposition, l'effet des extraits alcaloïdiques de *Fumaria capreolata* est de 67,18% d'oocystes éclatés, tandis que Coccidiopan® élimine 65,63% (figure 24 ; tableau 11 ; annexe 2).

Tableau 11 : Comparaison du nombre d'oocystes détruits par les trois anticoccidiens utilisés

Anticoccidien Temps (h)	AFC	Coccidiopan®	Joprox®
0	50,26	48,828	55,338
1	53,776	52,473	57,16
2	58,072	56,38	60,026
3	62,89	61,848	63,671
4	64,453	63,802	66,015
24	67,187	65,625	68,098

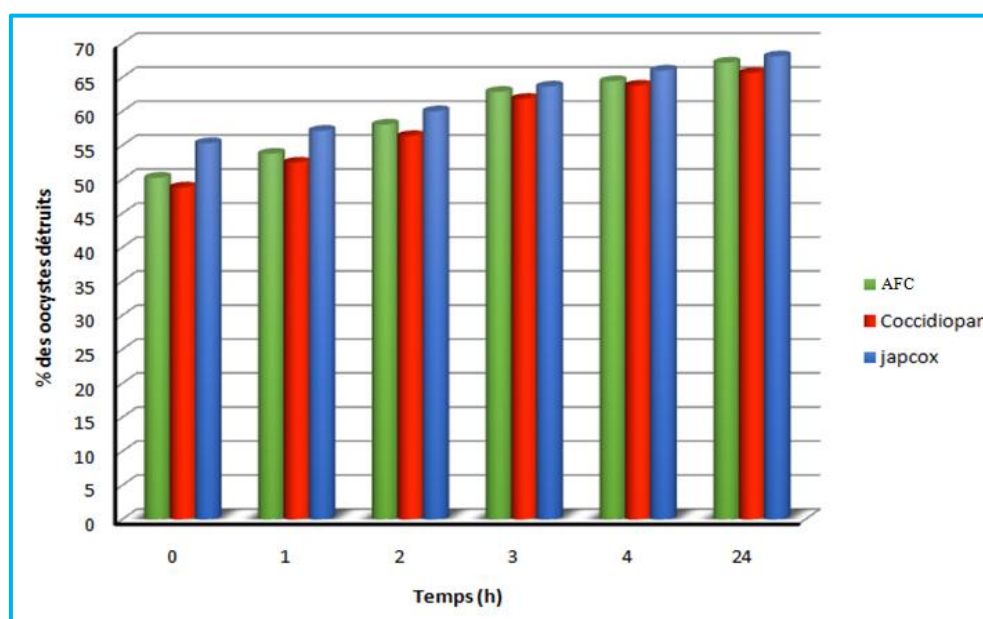


Figure 24 : Comparaison de l’effet coccidiocide de l’extrait de *Fumaria capreolata* et des deux anticoccidiens

L’effet anticoccidien de *Fumaria capreolata* *in vitro* est presque à égalité à celui de Joprox®, il demeure tout de même un traitement alternatif intéressant vu qu’il est d’origine naturelle, sans produits chimiques, donc sans résidus médicamenteux, dans la chair des poulets, néfastes pour la santé publique. Sans compter une amélioration de l’indice de consommation et, par conséquent, des performances de croissance du poulet, avec diminution des coûts sur les médicaments.

Conclusion

En cas d'infection par la coccidiose, la conversion des aliments est réduite et le gain de poids corporel altéré. Dans le cas de coccidiose grave, un syndrome de malabsorption et la déshydratation aboutissent à la mort.

La médecine traditionnelle repose sur l'utilisation de plantes médicinales riches en substances bioactives telles que les alcaloïdes isoquinoléiques qui regroupent une classe importante et qui sont présentes dans diverses familles comme les Fumariacées dont *Fumaria capreolata*.

La présente étude s'intéresse à l'effet lytique des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* sur les oocystes d'*Eimeria* spp., et les comparer avec des anticoccidiens classiques ; Coccidiopan[®] et Joprox[®] *in vitro*.

Les résultats montrent que le nombre des oocystes d'*Eimeria* spp. est réduit par l'extrait de *Fumaria capreolata* et des deux anticoccidiens, d'une manière proportionnelle au temps d'exposition.

En parallèle ils indiquent que le traitement le plus efficace est Joprox[®], avec un nombre de $5,22.10^5$ /ml d'oocystes détruits, suivi par l'extrait alcaloïdique de *Fumaria capreolata* avec $5,15.10^5$ /ml d'oocystes détruits, et Coccidiopan[®] avec $5,04.10^5$ /ml d'oocystes éliminés.

De nombreuses perspectives peuvent être envisagées :

- ✓ Mettre en évidence la toxicité éventuelle des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* sur la santé des poulets de chair.
- ✓ Recherche des effets de l'extrait sur le système immunitaire lors d'une infection coccidienne.
- ✓ Des études complémentaires devront établir la toxicité éventuelle des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* sur la santé humaine, et déterminer, en conséquence, un délai d'attente pour la viande de poulet.

Références bibliographiques

- ❖ **Abed M, Répérant JM, Gordon L, Thomas-Henaff M, Le Bihannic P, Benoit C (2009).** Entérite nécrotique du poulet : modèle de reproduction expérimental de la maladie afin de tester l'effet d'ionophores.
- ❖ **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.
- ❖ **Al-Gawad AA, Mahdy OA, El-Massry AAN and Al-Aziz MSA (2012).** Studies on coccidia of Egyptian balady breed chickens. *Life Science Journal* 9 (3) : 568-576.
- ❖ **Banfield MJ and Forbes JM (1999).** Feed content and structure effects on coccidiosis in broilers. *World poultry*, Elsevier special.
- ❖ **Belot J and Pangui JL (1986).** Observation sur l'excrétion oocystale des volailles dans quelques élevages de Dakar et des environs. *Bull. An. Hlth. Prod, Afr.* 34, 286-289.
- ❖ **Benabdesselam MF, Khentache S, Bougouffa K, Chibane M, Adach S, Chapeleur Y, Max H, Laurain-Mattar D (2007).** Antioxidant activities of alkaloid extracts of two Algerian species of *Fumaria capreolata* and *Fumaria bastardii*. *Rec. Nat. Prot*, 1 (2-3) : 28-35.
- ❖ **Bernard B (1997).** Dictionnaire : plante et champignon. Édition Estem, France. 349.
- ❖ **Blanco OM, Castedo L, Villaverde MC (1993).** Alkaloids from *Platycapnos spicata*. *Phytochemistry*. 32, 1055-1057.
- ❖ **Bruneton J (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Édition Technique and Documentation, Lavoisier, 3ème édition, Paris : 418-419, 239-915.
- ❖ **Bruneton J (2009).** Pharmacognosies phytochimie, plantes médicinales. Édition Technique and Documentation, Lavoisier, 4ème édition, Paris : 952.
- ❖ **Buldgen A, Parent R, Steyaert P et Legrand D (1996).** Aviculture semi-industrielle en climat subtropical : guide pratique. Gembloux : Les presses agronomiques. 122 p.
- ❖ **Carvalho FS, Wenceslau AA, Teixeira M, Carneiro JAM, Melo ADB and Albuquerque GR (2011).** Diagnosis of *Eimeria* species using traditional and molecular methods in field studies. *Veterinary Parasitology*. 176 : 95-100.
- ❖ **Christaki E, Giannenas I, Florou-Paneri P (2012).** Aromatic plants as a source of bioactive compounds. *Agriculture*. 2 : 228-243.
- ❖ **Conway DP and McKenzie ME (2007).** Poultry coccidiosis : diagnostic and testing procedures. Blackwell Publishing Professional, third edition. 1-138.
- ❖ **Debuigne, G (1999).** Dictionnaire des plantes qui guérissent. Éditions Larousse. Paris. 1-74.
- ❖ **Dakpogan HB, Salifou S, Mensah GA, Gbangbotche A, Youssao I, Naciri M and Sakiti N (2013).** Problématique du contrôle et de la prévention de la coccidiose du poulet. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 6 (6) : 6088-6105.
- ❖ **Deysson G (1979).** Organisation et classification des plantes vasculaires, deuxièmes partie : systématique. Édition Sedes, Paris. 277-279.
- ❖ **Duszynski DW, Upton SJ, Couch L (2000).** The coccidian of galliforms. Chicken partridge peacock ; pheasant, quail.
- ❖ **Euzéby J (1987).** Protozoologie médicale et comparée, Volume 2 : *Myxozoa, Microspora, Ascetospora, Apicomplexa*. Paris : Fondation Mérieux.
- ❖ **Fontaine M (1992).** Vade mecum du vétérinaire. 15ème éd. Volume 1, ENV Lyon, 62-257 ; 23.

- ❖ **Fortineau O et Troncy PM (1985).** Coccidiose, 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 Congrès Interne. Aviculture, Madrid, Section II, 604-605.
- ❖ **Fukata T, Komba Y, et Sasai K (1997).** Evaluation of plasma chemistry and haematological studies on chickens infected with *Eimeria tenella* and *Eimeria acervulina*. *Vet. Rec*, 141 (2) : 44-46.
- ❖ **Goetz P, Ghedira K et Le Jeune R (2009).** *Fumaria officinalis* L (Fumariacée) : Matière médicale pratique. *Phytothérapie*. 221-225.
- ❖ **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
- ❖ **Hady MM and Zaki MM (2012).** Efficacy of some herbal feed additives on performance and control of cecal coccidiosis in broilers. *Apcbee Procedia*. 4 : 163-168.
- ❖ **Hamon E (2002).** Approche alternative et raisonnée de la coccidiose chez le poulet jeune fermier label en pays de la Loire. Thèse pour l'obtention du diplôme de docteur vétérinaire, faculté de médecine de Nantes.
- ❖ **Hopkin W (2003).** Physiologie végétale, 2ème édition, Lille : 532.
- ❖ **Jeurissen SHM, Janse EM, Vemeulen AN, 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.
- ❖ **Kennedy M (1996).** Coccidiosis in chicken. Alberta University.
- ❖ **Lancaster JE (1983).** Incidence des maladies aviaires : 5ème conférence de la commission régionale de l'O.I.E. pour l'Afrique. *Rev. Sci. Tech. OIE*. 1088-1081.
- ❖ **Liden M (1986).** Synopsis of *Fumariodeae* (*Papaveraceae*) with a monograph of the tribe *Fumariaceae*. *Opera Botanica* (88) : 1-133.
- ❖ **Moreau F (1964).** Alcaloïdes et plantes alcaloïfères. Édition Presse Universitaires de France, Paris. 11-12.
- ❖ **Naciri M (2003).** Les anticoccidiogrammes, une prévention efficace de la coccidiose de poulet. INRA-Tours.
- ❖ **Naciri M, De Gussem K, Fort G, Bernardet N, Nérat F. et Chaussé AM (2003).** Intérêt des anticoccidiogrammes pour une prévention efficace de la coccidiose du poulet. *Cinquièmes Journées de la Recherche Avicole*, Tours.
- ❖ **Naczka, M, Shahidi, F (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of chromatography* (1054), p : 95-111.
- ❖ **Petit. D, Duhamel F, Hendoux F, Toussaint B, Gaveriaux JP (2004).** Bulletin de la société de botanique du nord de la France. *Bull. Soc. Bot. N. Fr.* 57 (1-2) : 3-8.
- ❖ **Rajni K, Dinesh, Kamni P (2005).** Weak C-H...O hydrogen bonds in alkaloids : An overview. *Bulletin of Materials Science*, 28 (3) : 187-198.
- ❖ **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.
- ❖ **Ríos JL, Recio MC (2005).** Medicinal plants and antimicrobial activity. *J. Ethnopharmacol.* 100 (1-2) : 4-80.

- ❖ **Ruff MD (1986).** Reasons for inadequate nutrient utilization during avian coccidiosis. Research in Avian Coccidiosis. *In* : McDougald, LR, Joyner JP, Long PL (eds). Guidelines on techniques in coccidiosis research, European Commission, Luxemburg. 190-201.
- ❖ **Ruff MD (1999).** Important parasites in poultry production systems. *Veterinary Parasitology*. 84 : 337-347.
- ❖ **Sanders P (2005).** L'antibiorésistance en médecine vétérinaire : enjeux de santé publique et de santé animale. *Bull. Acad. Vét, France*. 158 (2) : 139-145.
- ❖ **Shilley MW, Jeffers TK, Long PL (1983).** Studies to determine the taxonomic status of *E. mitis* and *E. mivati*. Edgan and Seibold. *Parasitol*. 87, 185-199.
- ❖ **Shirley MW (1995).** *Eimeria* species and strains of chickens. *In* : Eckert J, Braun R, Shirley MW, and Coudert P. Biotechnology Guidelines on Techniques in coccidiosis research. Published by the European Commission. Luxembourg. 1-24.
- ❖ **Souseck D, Guedon T, Adam H, Bocharakova E, Taborska I, Manek V (1999).** Alkaloids and organic acids content of eight *Fumaria*. *Phytochemical analysis*. 6-11.
- ❖ **Sturm S, Strasser, EM et Stuppner H (2006).** Quantification of *F. officinalis* isoquinoline alkaloids by nanoqueous capillary electrophoresis-electrospray ion trap mass spectrometry. *Journal of chromatography A*. 2 (11) : 331-338.
- ❖ **Suau R, Cabezudo B, Rico R, Lopez Romero JM et Najera F (2002).** Alkaloids from *Fumaria sepium* and *Fumaria agraria*. *Biochemical systematic and Ecology*. 30 : 263-265.
- ❖ **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. *Analysis*. 16 (5) : 322-327.
- ❖ **Suls L (1999).** The continuing battle against coccidiosis. World poultry, Elsevier special.
- ❖ **Susan et Aillo (2002).** The Merck Veterinary Manuel. 1875.
- ❖ **Taylor MA, Coop RL and Wall RL (2007).** *Veterinary Parasitology*, 3rd edition. Blackwell publishing.
- ❖ **Tipou MA, Akhtar MS, Anjum MI, Raja ML (2006).** New dimension of medicinal plants as animal feed. *Pakistan Vet. J*. 26 (3) : 144-148.
- ❖ **Villate D (1997).** Maladies des volailles (manuel pratique). Ed France Agricole.
- ❖ **Villate D (2001).** Maladies des volailles (manuel pratique). Ed France Agricole. Voeten AC (1987). Coccidiosis : a problem in broilers. *In* : Verstegen MWA and Henken AM. Energy metabolism in farm Animals : Effects of housing, stress, and disease. Martinus Nijhoff Publishers. 410-418.
- ❖ **Yvoré P (1986).** Physiology of the host response to coccidial infections. *In* : McDougald LR, Joyner JP, Long PL (eds). Proceeding of the Georgia coccidiosis conference. Edited by Georgia University, Athens, Georgia, USA. 128-168.

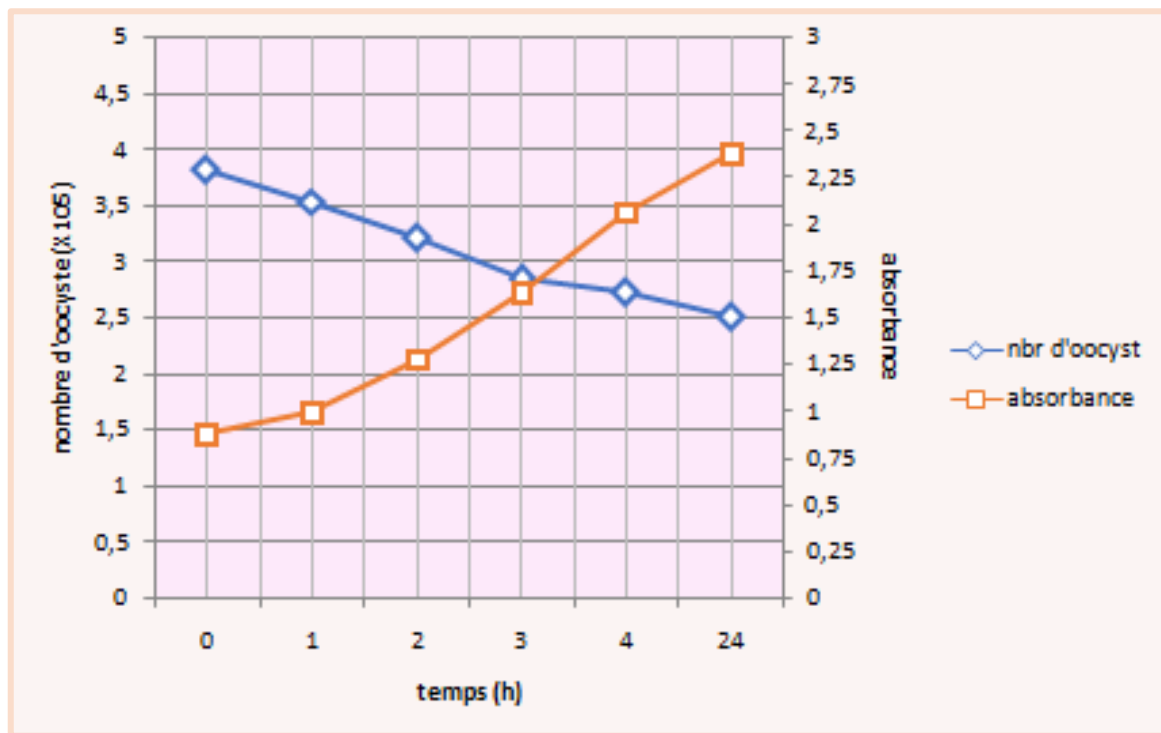
Annexe 1 :

- Effet des AFC sur le nombre d'oocystes d'*Eimeria* ($\times 10^5$) selon la concentration

Concentration (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

- Effet des AFC sur la libération du contenu intracellulaire absorbant à λ 273 nm selon la concentration

Concentration (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



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

Annexe 2 :

Comparaison du nombre d'oocyste dénombré

Anticoccidien Temps (h)	AFC	Coccidiopan	Joprox
0	3,82	3,93	3,43
1	3,55	3,65	3,29
2	3,22	3,35	3,07
3	2,85	2,93	2,79
4	2,73	2,78	2,61
24	2,52	2,64	2,45

Comparaison des absorbances à λ 273 nm :

Anticoccidien Temps (h)	AFC	Coccidiopan	Joprox
0	0,882	0,862	0,902
1	1,005	0,972	1,075
2	1,285	1,256	1,348
3	1,638	1,508	1,808
4	2,071	2,01	2,150
24	2,382	2,241	2,712